



Tese de Mestrado

Suscetibilidade Mendeliana a infeções
micobacterianas, dois casos clínicos

Aluna Rita Santos Pinheiro, n°12661

Dra. Filipa Prata

Clínica Universitária de Pediatria

Ano letivo 2015/2016

Faculdade de Medicina da Universidade de Lisboa

Introdução

A MSMD (suscetibilidade mendeliana a infecções micobacterianas) ou micobacteriose atípica familiar é uma imunodeficiência rara causada por uma resposta imunitária deficiente mediada pelo Interferão-gama (IFN- γ). Nesta síndrome, a consanguinidade parental e as formas familiares são frequentes. (1, 2) A MSMD foi diagnosticada pela primeira vez, numa família, em 1995. (3) O que é característico desta patologia é existir um aumento da suscetibilidade para infecções sistémicas causadas por micobactérias com diferentes graus de virulência, desde micobactérias não tuberculosas, bacilo de *Calmette-Guérin* (BCG) até infecções disseminadas por *Mycobacterium bovis* e *Mycobacterium tuberculosis*. Existe ainda uma predisposição para infecções por agentes intracelulares, nomeadamente *Salmonella spp*, *Listeria spp*, vírus, e menos frequentemente *Toxoplasma gondii*. (4) A propósito desta imunodeficiência apresento o caso clínico de dois irmãos com deficiência parcial do recetor do IFN- γ , assim como uma breve revisão teórica sobre este tema, abordando a via de sinalização do IFN- γ , a apresentação clínica, o diagnóstico, o tratamento e o prognóstico.

Abstract

MSMD or mendelian susceptibility to mycobacterial immunity is a rare immunodeficiency caused by defects in the IFN- γ -mediated immune response. Parental consanguinity and familiar forms are quite frequent. This disease was first diagnosed in 1995. Patients with MSMD present a predisposition to infection by mycobacterial species, from very mildly virulent ones like Bacillus Calmette-Guérin (BCG) to others, such as *Mycobacterium bovis* and *Mycobacterium tuberculosis*. There is also an increased susceptibility to intracellular agents such as *Salmonella spp*, *Listeria spp*, viruses and, less frequently, *Toxoplasma gondii*. Regarding this immunodeficiency, I report the case of two siblings with a partial recessive IFN- γ deficiency, as well as a brief theoretical review, addressing IFN- γ signal pathway, clinical presentation, diagnosis, treatment and prognosis.

Casos clínicos

Ricardo é o primeiro filho de pais jovens, saudáveis e consanguíneos (primos em 1º grau), nascido a 31/01/2002 nos Açores e residente em Angra do Heroísmo. Gravidez e período neonatal sem intercorrências e desenvolvimento psico-motor e estatura-ponderal adequado. Vacinação de acordo com o plano nacional de vacinação (PNV), com BCG efetuado ao 5º dia de vida.

Aos 2 meses de idade foi-lhe diagnosticada dermatite atópica exuberante e BCGite pelo aparecimento de tumefação axilar esquerda. A lesão de BCGite foi progressivamente aumentando de tamanho e adquirindo sinais inflamatórios locais.

Aos 4 meses foi internado no Hospital do Espírito Santo (HES) de Angra do Heroísmo por ferida na região infra-axilar esquerda, com sinais inflamatórios exuberantes, ulcerada e com extensa zona de necrose. O exame anatomo-patológico efetuado nessa altura revelou inflamação granulomatosa não caseosa, sem bacilos álcool-ácido resistentes (BAAR) e no exsudado isolou-se *Pseudomonas* e *S. Aureus*, tendo feito antibioticoterapia endovenosa (ceftazidima + netilmicina) durante 3 semanas e desbridamento cirúrgico. Por persistência da úlcera cutânea, sem melhoria clínica, foi transferido para a Unidade de Infeciologia Pediátrica (UIP) do Hospital de Santa Maria (HSM) aos 6 meses, tendo iniciado terapêutica com etambutol (2 meses), isoniazida e rifampicina e efetuado novo desbridamento cirúrgico, com cicatrização progressiva da lesão inicial. Nesta altura foi pedida serologia para VIH1 e 2 que foi negativa, doseamento de imunoglobulinas e estudo das populações linfocitárias que não apresentavam alterações.

Aparentemente bem até aos 12 meses, altura em que, ainda sob tratamento com rifampicina e isoniazida, surgiu nova tumefação localizada na região anterolateral esquerda do tórax. Realizou ecografia de partes moles que revelou a existência de três nódulos subcutâneos. Foi internado no HES onde se tentou biopsia por punção, sem sucesso, tendo ocorrido drenagem espontânea de um dos nódulos com saída de líquido purulento e isolamento de *S. epidermidis*. Efetuou terapêutica com vancomicina durante 10 dias. Perante a evolução grave e invulgar da situação a criança foi transferida de novo para a UIP do HSM. Nessa altura, para além da lesão na região anterolateral esquerda do tórax de aspeto granulomatoso, sem exsudado, não tinha alterações no exame objetivo. Efetuou vários exames complementares de diagnóstico:

Radiografia do tórax que revelou uma imagem nodular com cerca de 2 cm de diâmetro localizada nos tecidos moles da parede torácica à esquerda.

TAC torácica que evidenciou densificação da parede torácica anterior esquerda de limites imprecisos com disrupção cutânea por ulceração, envolvimento do arco costal adjacente (provável 3º arco costal) com erosão do seu bordo posterior, envolvimento pleural com espessamento e loculação, sem alteração do parênquima pulmonar e sem adenopatias mediastínicas ou hilares.

A citologia aspirativa revelou granulomas com necrose, compatíveis com infecção por micobactéria, sem visualização de BAAR.

Efetuiu terapêutica antibacilar quadrupla (isoniazida, rifampicina, etambutol, estreptomicina), observando-se discreta melhoria da lesão.

A avaliação imunológica básica (hemograma, doseamento imunoglobulinas, subclasses de IgG, populações linfocitárias, frações do complemento C3, C4 e CH50) foi normal. No entanto, atendendo à evolução do quadro com uma infecção grave por micobactéria não tuberculosa (BCG), admitiu-se a hipótese de imunodeficiência relacionada com o eixo interleucina 12/interferão gama (IL-12/INF- γ) tendo sido enviado sangue para estudo na Holanda que foi incompleto: normal produção de IL-12 e de INF- γ mas os recetores de INF- γ não foram estudados. Ficou a ser seguido na consulta de Imunodeficiências primárias do HSM desde essa altura.

Aos 5 anos de idade, ainda sem diagnóstico definitivo, e com história familiar de irmã mais nova com infecção invasiva por *Salmonella spp* aos 2 meses, sugestivo de défice da sinalização do eixo INF γ , decide-se repetir o estudo, desta vez avaliando a função dos recetores, no Hospital *Necker des Enfants malades* em Paris, que foi compatível com défice congénito parcial da via de sinalização do INF γ : produção normal de INF γ em ambos os irmãos. Posteriormente confirmou-se que ambos os irmãos e a mãe eram portadores da mutação I87T responsável pela deficiência parcial da cadeia 1 do recetor do INF γ (INFGR1).

Desde abril 2003 até junho de 2010 (8 anos) esteve bem, assintomático, sem infeções, em terapêutica profilática semanal com azitromicina durante 12 meses (2009 -2010). A 05/06/2010 iniciou um quadro insidioso de cefaleias frontais intensas, fotofobia e febre. Por evolução prolongada e flutuante teve no espaço de 25 dias, três internamentos no

HES, inicialmente com o diagnóstico de sinusite (TC CE 27/05/10) medicado com antibióticos, e posteriormente por meningite. Assumiu-se a hipótese de etiologia tuberculosa pelo predomínio de células mononucleadas e hipoglicorráquia no líquido, RMN CE com lesões cortico-subgaleais e dos gânglios da base, numa criança que tem um déficit imunitário com risco aumentado de infecção por micobactérias. Iniciou terapêutica quádrupla com antibacilares e prednisolona com melhoria transitória, mas 2 semanas depois surge agravamento progressivo pelo que é transferida para a UIP do HSM. Repetiu RM que revelou agravamento das lesões e punção lombar com saída de líquido ligeiramente turvo, com pleocitose (1288 células/mm³), hipoglicorráquia (25 para glicemia de 107 mg/dl) e proteínas 235,8 mg/dl. Por suspeita de meningite bacteriana com eventual cerebrita associou-se ceftriaxona e vancomicina a 02/07. Por serologia para toxoplasmose positiva (IgM positiva, IgI > 700) e confirmação por *Polimerase Chain Reaction* (PCR) de *Toxoplasma* no líquido, iniciou pirimetamina e sulfadiazina a 05/07. Sem sinais de toxoplasmose ocular. Por não haver evidência de infecção por micobactérias (exame direto e cultural líquido negativo para BAAR e PCR para *M. tuberculosis* e *M. bovis* negativa) suspendeu antibacilares. Como complicações da meningo-encefalite por *Toxoplasma gondii* com provável sobreinfecção bacteriana por agente não isolado, teve hidrocefalia aguda com necessidade de colocação de sistema de derivação ventrículo-peritoneal (SDVP), hiponatremia por Síndrome de secreção inapropriada de hormona antidiurética e toxidermia à sulfadiazina que teve de ser substituída por clindamicina. Iniciou nesta altura terapêutica com interferão gama que suspendeu 22 dias depois por exantema associado a Síndrome *influenza-like*.

Aos 11 anos (2013) iniciou um quadro de convulsões generalizadas, inicialmente medicado com valproato de sódio mas sem diminuição das crises e posteriormente com levetiracetam com controlo parcial das crises.

Não voltou a ter intercorrências infecciosas.

A irmã Beatriz, nasceu a 27/4/2005. A gravidez e o período neonatal decorreram sem complicações. Dada suspeita de déficit do eixo IL12-INF γ no irmão não fez vacina BCG e iniciou seguimento na consulta de Imunodeficiência do HSM.

Teve uma otite média aguda ao mês de idade com resposta à antibioticoterapia oral, aos 2 meses foi internada por gastroenterite aguda com doença invasiva por *Salmonella spp*, isolada em hemocultura e coprocultura, aos 3,5 meses foi novamente internada por otite

média aguda sem resposta ao cotrimoxazol oral e necessidade de terapêutica com ampicilina endovenosa. Aos 12 meses tem a confirmação do defeito genético. Desde o diagnóstico, teve duas pneumonias sem necessidade de internamento aos 15 e 23 meses e um abcesso sub-ungueal pós traumatismo aos 32 meses. Fez profilaxia com cotrimoxazol dos 3 aos 5 meses, com amoxicilina dos 6 meses aos 3 anos e meio e com azitromicina dos 4 aos 5 anos.

Esteve assintomática e sem infecções até julho de 2015. De 29/07/15 a 15/08/15, com 10 anos, esteve internada no HES por gastroenterite aguda a *Cryptosporidium*, tendo cumprido terapêutica com paromicina e azitromicina. Durante o internamento tinha serologias positivas para vírus Epstein Barr (EBV) e *Toxoplasma* IgG/IgM com fraca avidéz. Foi avaliada pela Oftalmologia que excluiu coriorretinite e efetuou TAC CE que foi considerada normal. No dia seguinte à alta iniciou quadro de febre e cefaleias intensas pelo que foi reinternada, repetiu TAC CE e análises laboratoriais que se mantinham sem alterações. Fez punção lombar e no exame citoquímico do líquido para além, de 64 células com predomínio de polimorfonucleares não havia mais alterações. Houve um agravamento nas 24 horas seguintes com alterações do estado de consciência e convulsões que motivaram a transferência para o HSM com um diagnóstico presuntivo de meningo-encefalite a *Toxoplasma* dado ter a serologia positiva, medicada com pirimetamina, sulfadiazina e anticonvulsivantes. No HSM realizou RMN CE e EEG com alterações sugestivas de meningo-encefalite, ficou medicada com pirimetamina, sulfadiazina (15 dias, teve de ser alterada para clindamicina por reação exantemática exuberante), ceftriaxone, ciprofloxacina e aciclovir.

A hipótese diagnóstica confirmou-se por PCR de *Toxoplasma* positiva no líquido.

Durante o internamento houve uma melhoria progressiva do quadro, tendo recuperado sem sequelas. Desde essa altura tem estado bem, sem novas infecções.

Discussão

Suscetibilidade Mendeliana a infeções micobacterianas (MSMD)

A MSMD é uma imunodeficiência rara causada por uma resposta imune deficiente mediada pelo IFN- γ . É característico desta patologia haver um aumento da suscetibilidade para infeções sistémicas causadas por micobactérias com diferentes graus de virulência. Existe ainda uma predisposição para infeções por agentes intracelulares, nomeadamente *Salmonella spp*, *Listeria spp*, vírus, e menos frequentemente *Toxoplasma gondii*. (4)

A prevalência desta síndrome é difícil de determinar uma vez que é bastante rara e heterogénea na apresentação clínica. A gravidade da doença e o início da sintomatologia depende da localização e do grau do defeito (parcial ou completo) na via do IFN. Doentes com defeitos completos tipicamente têm infeções disseminadas na primeira infância enquanto que doentes com defeitos parciais ou menos graves, apesar de caracteristicamente apresentarem as infeções na infância, podem ter apenas infeções recorrentes de gravidade ligeira a moderada com início na adolescência/idade adulta. (5) Nos casos descritos, ambos os irmãos tiveram precocemente quadros infecciosos. O Ricardo teve uma BCGite aos 2 meses e a Beatriz, também aos 2 meses, uma infeção disseminada por *Salmonella spp*.

Nos últimos 20 anos foram identificadas nove mutações responsáveis pela MSMD: sete mutações hereditárias autossómicas [(Cadeia 1 do recetor do interferão gama (IFNGR1), Cadeia 2 do recetor do interferão gama (IFNGR2), Signal Transducers and Activators of Transcription (STAT1), interleucina 12 (IL12B e IL12RB1), Ubiquitin-like modifier 13 (ISG15) e fator regulador do interferão 8 (IRF8)] e duas mutações ligadas ao cromossoma X [(modulador NF- kappa-B (NEMO) e citocromo B (CYBB)]. (4, 6)

Podemos dividir as mutações em dois tipos: completas e parciais. (4)

A deficiência do recetor do IFN- γ é a forma mais comum de MSMD. Pode ser autossómica dominante ou recessiva no caso de IFNGR1 ou pode ser autossómica recessiva nos raros casos em que afeta a cadeia IFNGR2. Os dois irmãos apresentam uma mutação autossómica recessiva parcial de IFNGR1. A forma mais grave de deficiência da cadeia IFNGR1 é a forma recessiva e completa, que causa uma incapacidade total de ligação do IFN- γ ao seu recetor ou uma ausência de resposta à sinalização do recetor. (1,

2) Todas as mutações recessivas já identificadas ocorrem na porção do gene que codifica o domínio extracelular da cadeia do recetor, podendo resultar na ausência de expressão do mesmo. (3) De uma forma geral, as mutações que resultam numa perda completa de resposta celular ao IFN- γ estão associadas a formas mais graves de doença, enquanto que as mutações parciais ainda permitem uma sinalização residual de IFN- γ originando uma sintomatologia mais ligeira a moderada. (1, 2, 4). Talvez pelos casos apresentados apresentarem uma deficiência recessiva parcial, verificam-se menos intercorrências infecciosas, com períodos mais longos sem sintomatologia. O Ricardo (atualmente com 14 anos) não manifestou intercorrências infecciosas dos 12 meses aos 8 anos e dos 8 anos à data atual. A Beatriz (atualmente com 10 anos) não apresentou intercorrências infecciosas dos 32 meses aos 10 anos.

Interferão: o que é e como funciona

Os interferões (IFNs) foram originalmente descobertos como agentes que interferem na replicação viral. Atualmente sabe-se que são muito mais que isso. São classificados em tipo I e tipo II de acordo com as especificidades dos recetores e sequências homólogas. (7)

Os IFNs do tipo I são compostos por vários subtipos: interferão- α (IFN- α), interferão- β (IFN- β), interferão- ω (IFN- ω) e interferão- τ (IFN- τ), apenas existente em ruminantes. Todos partilham a mesma estrutura e ligam-se a um mesmo recetor heterodimérico, composto por duas cadeias. Os IFN do tipo I são secretados por quase todos os tipos de células em quantidades ínfimas. As células hematopoiéticas são as principais produtoras de IFN- α e IFN- ω , enquanto que os fibroblastos são os principais produtores de IFN- β , apesar deste poder ser produzido por macrófagos quando sujeitos a estímulos específicos. O estímulo clássico para a expressão de IFN- α e IFN- β é a infeção viral. (7, 8)

O tipo II é apenas constituído pelo IFN- γ e não tem qualquer relação estrutural com os IFN do tipo I. Liga-se a um recetor diferente e está codificado num locus diferente. O IFN- γ , originalmente denominado fator ativador de macrófagos, permite a resposta dos macrófagos a um conjunto diferente de produtos celulares durante a formulação da resposta inata e adquirida. São produzidos pelos linfócitos Natural Killer (NK), que

contribuem para a defesa do hospedeiro contra infeções, os linfócitos T CD4+ e CD8+, que são a maior fonte de IFN- γ durante a resposta imunológica adaptativa, pelos linfócitos B e pelas células apresentadoras de antígeno (APC), contribuindo para a auto ativação das próprias células e células vizinhas. O IFN- γ é regulado tanto por vias excitatórias como por vias inibitórias, nas quais estão integrados, entre outros, a IL-4, IL-10 e glucocorticoides (7–9)

As principais funções do IFN- γ são:

1. Potenciar a atração leucocitária
2. Inibir a replicação viral
3. Estimular macrófagos
4. Inibir a proliferação celular
5. Potenciar a atividade das células NK – lise das células-alvo
6. Modular a expressão de moléculas de complexo principal de histocompatibilidade (MHC)
7. Regular as células B na produção de imunoglobulinas e mudança de classe (7, 10)

Recetor do IFN- γ e Transdução de sinal

O recetor do IFN- γ é um heterodímero de duas cadeias: IFNGR1 e IFNGR2. (7)

O IFNGR1, também conhecida como cadeia α , divide-se num domínio extracelular e noutra intracelular. A porção extracelular do IFNGR1 contém domínios para ligação do IFN- γ , formando-se o complexo IFNGR1/IFN- γ que induz a rápida dimerização das cadeias de IFNGR1, que é posteriormente reconhecido pelo domínio extracelular de IFNGR2. A porção intracelular contém domínios necessários para a transdução de sinal, nomeadamente locais de acoplação para a *Janus tyrosine kinase* (JAK1) e reciclagem do recetor. (11, 12) (Ver anexo I)

O IFNGR2, cadeia β , também possui um domínio intracelular e outro extracelular. O domínio intracelular é necessário para a transdução do sinal e o extracelular interage com o complexo IFNGR1/IFN- γ .

O nível de expressão da cadeia IFNGR2 é regulado de acordo com o estado de diferenciação celular ou ativação celular e é normalmente o fator limitante na resposta do IFN- γ , uma vez que a cadeia IFNGR1 existe normalmente em excesso. (7)

A formação desse complexo induz também a autofosforilação e ativação da JAK2, permitindo a transfosforilação da JAK1. (6) A JAK1 ativada, fosforila o IFNGR1 em locais específicos, sendo o local Y440 de especial importância por permitir a formação de locais de acoplação para o STAT1 no recetor. (7)

Após serem fosforiladas, as duas moléculas de STAT1 dissociam-se do receptor e formam complexos homodiméricos. O STAT1 ativado desloca-se para o núcleo, liga-se a uma sequência específica na região promotora e afeta a transcrição genética de genes reguladores do IFN- γ . (13)

A esta via dá-se o nome de via do JAK-STAT. Esta via sinaliza mais de 50 citocinas, fatores de crescimento e hormonas que afetam a regulação genética. (12) Este tipo de sinalização envolve o recrutamento e ativação de membros da família JAK e STAT, que por sua vez, controlam a transcrição de genes-alvo.

Após a sinalização, as cadeias são internalizadas, e posteriormente dissociadas e recicladas. (8)

Mutação I87T

A mutação I87T é uma mutação autossómica recessiva que causa um quadro de deficiência parcial do IFNGR1. Existem casos desta mutação identificados em Portugal Continental, nos Açores (exposto no caso clínico), no Chile e na Polónia. Doentes com a mesma mutação podem ser provenientes de diferentes países e partilhar haplotipos de tamanhos diferentes. Ao serem analisados estes haplotipos, verificou-se que os doentes de origem Açoriana são geneticamente mais semelhantes aos doentes do Chile e mais distantes dos de Portugal Continental. (4)

A sequenciação direta da cadeia IFNGR1 nestes doentes mostra uma mutação simples que muda o aminoácido 87 de uma isoleucina para uma treonina. Esta única troca diminui a expressão do IFNGR1 na superfície celular, resultando numa resposta diminuída mas

não nula ao IFN- γ . (13 e 14) Consistente com a expressão anormal do recetor, as concentrações plasmáticas de IFN- γ encontram-se elevadas no plasma destes pacientes, sendo habitualmente indetetáveis em indivíduos saudáveis. (4) Quando o Ricardo tinha 1 ano, por suspeita de imunodeficiência relacionada com o eixo IL-12/INF- γ , foi enviado sangue para estudo na Holanda no entanto o estudo foi incompleto uma vez que não avaliou a função dos recetores de INF- γ , tendo apenas sido avaliada a concentração de IL-12 e IFN- γ , que se encontrava normal. O fato da irmã ter tido uma infeção sistémica grave e pouco frequente, conduziu a uma suspeita ainda mais forte de deficiência do eixo IL-12/INF- γ , razão pela qual se decidiu repetir o estudo, desta vez avaliando a função dos recetores, no Hospital *Necker des Enfants malades* em Paris, que foi compatível com défice congénito parcial da via de sinalização do INF γ em ambas as crianças.

Apresentação clínica

A apresentação clínica mais frequente dos doentes com défice do recetor do IFN- γ são as infeções por micobactérias moderadamente virulentas como o BCG (usualmente após a vacinação, causando doença sistémica) e as Micobactérias não tuberculosas (*M. fortuitum*, *M. avium complex*, *M. chelonae*, *M. smegmatis*, *M. kansasii*, *M. szulgai*). (10-13) Após a infeção por BCG podem formar-se dois tipos de granulomas: lepromatoso (correlacionam-se com uma forma grave da doença) e tuberculoso (associa-se a uma forma leve/moderada da doença). Aos 2 meses de idade, o Ricardo desenvolveu uma BCGite com aparecimento de uma tumefacção axilar esquerda que foi progressivamente aumentando de tamanho com sinais inflamatórios locais, ulcerada e com extensa zona de necrose. Aos 12 meses desenvolve um granuloma torácico sugestivo de infeção micobacteriana, que se associa a uma forma leve/moderada da doença.

Apesar de não ser muito comum a infeção por agentes oportunistas, existe um conjunto de agentes infecciosos descritos como causadores de infeção neste tipo de doentes. Infeções por *Salmonella spp*, são referidas em cerca de 50% dos casos. (1) Esta infeção pode manifestar-se como uma simples gastroenterite ou como sépsis/doença disseminada, como teve a Beatriz aos 2 meses de idade. Embora menos frequentes, os seguintes agentes também podem causar infeções: Citomegalovirus, *Herpes simplex*, *Vírus Varicela-zoster*, *Listeria monocytogenes*, *Histoplasma capsulatum*, *Shigella sonnei*, *Haemophilus*

influenzae, *Legionella spp*, *Mycoplasma pneumoniae* e *Klebsiella spp*, e *Toxoplasma gondii*. (1) Ambos os irmãos tiveram um quadro de meningo-encefalite por *Toxoplasma gondii* apesar de não ser um agente etiológico muito comum neste tipo de doentes. Quando existe uma resposta inibida, mas não nula ao IFN- γ , como no das deficiências parciais do recetor, o fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) atua em sinergismo com o IFN- γ , inibindo a replicação de *Toxoplasma gondii*. O facto de ambos os irmãos terem tido esta infeção pode indiciar alguma alteração não diagnosticada na via do TNF- α . (14) Não existem dados sobre história de atopia, evidência de sensibilização a alérgenos comuns ou sinais de autoimunidade neste tipo de doentes. (2) No entanto, contrariamente ao esperado, o Ricardo desenvolveu um quadro de dermatite atópica exuberante aos 2 anos de idade. Deve no entanto ser questionado se este quadro está ou não associado à imunodeficiência primária desta criança. Apesar do uso sistemático de cateteres intravenosos, estas crianças não têm um aumento do número ou da gravidade de infeções por *Candida spp* ou *Staphylococcus aureus* quando comparadas com crianças saudáveis.

Nas deficiências completas do recetor do IFN- γ , a doença manifesta-se de uma forma mais agressiva, mais precocemente, com maior número de infeções, causadas por micobactérias de crescimento mais rápido e com uma menor taxa de sobrevivência comparativamente às deficiências parciais do recetor do IFN- γ . (3)

Sinais e sintomas de febre recorrente, perda de peso, linfadenopatia, hepatoesplenomegalia, e evidência de infeção disseminada para o osso, pele, tecidos moles, pulmões e meninges são referidos, dependendo o seu aparecimento e intensidade da mutação existente em cada doente. Pode ainda ser detetada uma anemia normocítica normocrómica e aumento dos marcadores de inflamação devido ao estado de infeção recorrente. (3)

Mesmo entre doentes com a mesma mutação, o fenótipo clínico difere consideravelmente, tendo em conta as diferentes exposições ambientais, tipos de microrganismos, virulência, resistência a antibióticos, atraso no diagnóstico e tratamento antibiótico adequado. (4) Tal como acontece nesta família, os dois irmãos, que têm a mesma mutação, tiveram diferentes intercorrências infecciosas, em idades diferentes. A suspeita de uma imunodeficiência, também modificou algumas atitudes. Por suspeita de imunodeficiência primária no irmão, a Beatriz não foi vacinada com BCG evitando as complicações que ocorreram no irmão.

Diagnósticos diferenciais

O diagnóstico diferencial em doentes que apresentam infeções micobacterianas não tuberculosas disseminadas são:

- Infeção HIV/SIDA;
- Linfopenia CD4 idiopática,
- Outras imunodeficiências das células T como a imunodeficiência combinada grave;
- Doença granulomatosa crónica;
- Tricoleucemia (15)

Diagnóstico Clínico

Deve suspeitar-se deste diagnóstico em doentes que sofram de infeções por microrganismos intracelulares, nomeadamente micobactérias atípicas, após exclusão de outras causas de imunodeficiência. (1, 3) Para exclusão de imunodeficiências mais comuns, o Ricardo realizou uma avaliação imunológica básica que incluiu hemograma, doseamento imunoglobulinas, subclasses de IgG, populações linfocitárias, fracções do complemento C3, C4 e CH50, VIH1 e 2, não apresentando alterações. Deve também ser ponderado o diagnóstico de MSMD em crianças com o diagnóstico de histiocitose X, sem critérios histológicos, resistentes à quimioterapia. (3) O diagnóstico atempado é de grande importância para o planeamento da atuação clínica. (2) Consanguinidade entre os progenitores é um achado algumas vezes observado, sendo os pais do Ricardo e da Beatriz primos em 1º grau. (3)

Diagnóstico *in vitro*

O rastreio imunológico laboratorial de base é geralmente normal, exigindo testes mais específicos. O diagnóstico *in vitro* pode ser feito de diversas formas. Uma das formas é através da quantificação do IFN- γ no soro através da *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA), permitindo distinguir mutações que originam deficiência completa e parcial. (1, 3) Excesso de IFN- γ no soro indica deficiência completa do recetor uma vez que a produção de IFN- γ se mantém e este não é internalizado. Níveis baixos ou indetetáveis sugerem deficiência parcial do recetor uma vez que o IFN- γ se liga ao recetor mutado apesar de não ser internalizado. (14)

Também são feitos testes funcionais que estudam *in vitro* a resposta do recetor do IFN- γ ao IFN- γ . (3)

Doentes com deficiência completa do recetor do IFN- γ não respondem ao IFN- γ mesmo que a sua concentração plasmática seja elevada, enquanto que em doentes com deficiência parcial existe resposta a altas concentrações de IFN- γ . (2)

Cada família de MSMD tem a sua própria mutação, daí não ser custo-efetivo fazer a sequenciação de todas as mutações existentes. A recomendação atual é combinar a fenotipagem *in vitro* com a sequenciação genética. Após a identificação da mutação no caso índice toda a família deve ser estudada. (3) Desta forma, após o estudo completo realizado em Paris, que incluiu o estudo dos recetores do IFN- γ , concluiu-se que o Ricardo tinha a mutação I87T e a sua família foi estudada tendo sido descoberto que a irmã e a mãe possuíam a mesma mutação.

A identificação da forma de transmissão permite o aconselhamento genético, a deteção de portadores e o diagnóstico atempado dos descendentes. (1, 3)

Tratamento e prognóstico

O tratamento da deficiência do recetor do IFN- γ depende fundamentalmente do tipo de deficiência, completa ou parcial, existindo no entanto algumas medidas que são gerais a todos os doentes. Por ser uma doença rara e ser necessário experiência no diagnóstico e seguimento nestes doentes, estes devem ser seguidos em centros de referência por equipas multidisciplinares. Por essa razão, o Ricardo e a Beatriz são seguidos na consulta de imunodeficiências do HSM/CHLN. (1) O desenvolvimento estatura-ponderal destas crianças deve ser avaliado regularmente. A imunização para a BCG está contraindicada nestes doentes, assim como as restantes vacinas vivas. (2) Não havendo história familiar, o diagnóstico é geralmente feito posteriormente à toma da vacina, por uma BCGite ou por uma tuberculose disseminada pelo BCG. No caso apresentado, a BCGite e posterior desenvolvimento de exuberante granuloma torácico, iniciaram a pesquisa de uma imunodeficiência primária por suspeita de alterações relacionadas com o eixo interleucina 12/interferão gama (IL-12/IFN- γ). No caso de infeção por micobactérias a antibioticoterapia deve ser baseada na sensibilidade aos antibióticos, na maioria dos casos durante um período prolongado. Pode ainda ser necessário a drenagem cirúrgica de coleções purulentas extensas ou refratárias à terapêutica. Terapêutica imunossupressora como por exemplo corticoterapia, deve ser evitada. (3)

Doentes com defeitos parciais no recetor do IFN- γ habitualmente respondem bem ao tratamento antibiótico. Nos casos em que a resposta não é adequada, após avaliação individual, deve ser considerada a associação de terapêutica com IFN- γ ao tratamento antibiótico. Esta associação deve ser iniciada em baixas doses. Em alguns pacientes pode ser necessário aumentar a dose, ajustando-a de acordo com a tolerância do doente. O tratamento deve ser prolongado mesmo após remissão clínica e só posteriormente se deve ponderar a descontinuação terapêutica. (15) O transplante de medula óssea não está indicado nestes casos.

Defeitos completos do recetor do IFN- γ normalmente estão associados a um quadro refratário à antibioticoterapia e por isso quando um antibiótico é eficaz no controlo de uma determinada infeção, não deve ser descontinuado. (3, 5) Apesar de alguns pacientes responderem inicialmente bem aos antibióticos, raramente se consegue uma remissão total e as recaídas são comuns após a descontinuação dos mesmos. Nos defeitos

completos do recetor do IFN- γ , o tratamento com IFN- γ é ineficaz, uma vez não há resposta mesmo com doses crescentes de IFN- γ . (2) Após o diagnóstico devem ser rapidamente colocados em lista de transplante de medula óssea que é o único tratamento definitivo. (16)

Vantagens e desvantagens do tratamento com IFN- γ

A utilização de IFN- γ para tratamento das deficiências parciais do recetor do IFN- γ é controversa e nada linear. A sua utilização depende muito da eficácia do controlo das infeções por parte da terapêutica antibiótica. A sua utilização é ponderada caso a caso, assim como a manutenção do tratamento e as doses, consoante a tolerância do doente ao mesmo. O Ricardo iniciou terapêutica com IFN- γ , que suspendeu 22 dias depois por exantema associado a Síndrome *influenza-like*. Tanto o exantema como o síndrome *influenza-like* encontram-se descritas e são bastante comuns nos doentes que fazem este fármaco.

Pode ocorrer acumulação de IFN- γ em caso de insuficiência hepática ou renal grave. Se ocorrer elevação das transaminases durante o tratamento, este deve ser interrompido ou a dose reduzida para metade.

Este medicamento deve ser administrado por via subcutânea ou intramuscular (2.000.000 unidades/0,5 mL) no músculo deltoideu ou na porção anterior da coxa. A sua absorção é superior a 89% e a semivida intramuscular e subcutânea é respetivamente 3 e 6 horas.

As reações adversas deste fármaco na sua dose *standard* administrada 3 vezes por semana são:

Febre (52%), cefaleias (33%), exantema (17%), arrepios (14%), fadiga (14%), diarreia (14%), eritema no local de administração (14%), vômitos (13%), náuseas (10%), dor abdominal (8%), mialgia e artralgia (6%), depressão (3%).

Doses mais elevadas administradas também 3 vezes por semana, podem cursar com aumento da alanina aminotransferase (ALT) e da aspartato aminotransferase (AST), autoanticorpos, broncoespasmo, confusão, desorientação, sintomas parkinsonianos, alucinações, desmaio, alterações gastrointestinais, hemorragia gastrointestinal, bloqueio de ramo, insuficiência cardíaca, taquicardia, taquipneia, síncope, hipotensão, neutropénia,

trombocitopénia, insuficiência hepática, hiperglicémia, hipertrigliceridémia, hiponatremia, pneumonite intersticial, síndrome lúpus-*like*, pancreatite, proteinúria e insuficiência renal.

O IFN- γ interfere com a toma de derivados da teofilina, tizanidina e zidovudina. São contraindicações para toma de IFN- γ a hipersensibilidade ao composto, derivados da *E. coli* ou qualquer outro componente da formulação.

Para monitorização do doente deve ser pedido um hemograma com plaquetas, função hepática, função renal, ionograma e urina II pré e durante a terapêutica. (17–19)

Apesar da investigação já realizada sobre este fármaco, são necessários mais estudos, abrangendo um maior número de doentes, nomeadamente em idade pediátrica, para o conseguirmos utilizar da melhor forma, minorando os efeitos secundários e conduzindo a uma melhoria da qualidade de vida destas crianças.

Conclusão

A MSMD é uma imunodeficiência rara, causada por uma resposta imunitária deficiente mediada pelo IFN- γ . Caracteriza-se pela suscetibilidade para infeções sistémicas causadas por micobactérias com diferentes graus de virulência, existindo ainda uma predisposição para infeções por agentes intracelulares, nomeadamente *Salmonella spp*, *Listeria spp*, vírus, e menos frequentemente *Toxoplasma gondii*. A clínica das crianças afectadas vai desde infeções fatais por BCG a infeções localizadas e recorrentes por micobactérias atípicas. Esta heterogeneidade do quadro clínico e a raridade da síndrome provavelmente estão implicadas no subdiagnóstico desta situação. Existem diferentes mutações responsáveis por diferentes alterações genéticas.

Os dois irmãos apresentados são portadores da mutação I87T responsável pela deficiência parcial do INFGR1. As infeções que ambos tiveram nos primeiros meses de vida fazem suspeitar de uma imunodeficiência e os agentes implicados (BCG, salmonela, toxoplasma), apontam para um défice no eixo da IL-12/IFN- γ . A consanguinidade dos pais é mais um dado a apoiar esta hipótese de diagnóstico.

É importante lembrar que nestas situações o rastreio imunológico laboratorial de base é geralmente normal, exigindo testes mais específicos, nomeadamente de quantificação do IFN- γ no soro por ELISA, permitindo distinguir mutações que originam deficiência completa e parcial e testes funcionais que estudam *in vitro* a resposta do recetor do IFN- γ ao IFN- γ . A identificação da mutação tem implicações terapêuticas e de prognóstico e a identificação da forma de transmissão permite o aconselhamento genético, a deteção de portadores e o diagnóstico atempado dos descendentes.

Estes doentes devem ser seguidos em centros de referência com equipas multidisciplinares com experiência em imunodeficiência.

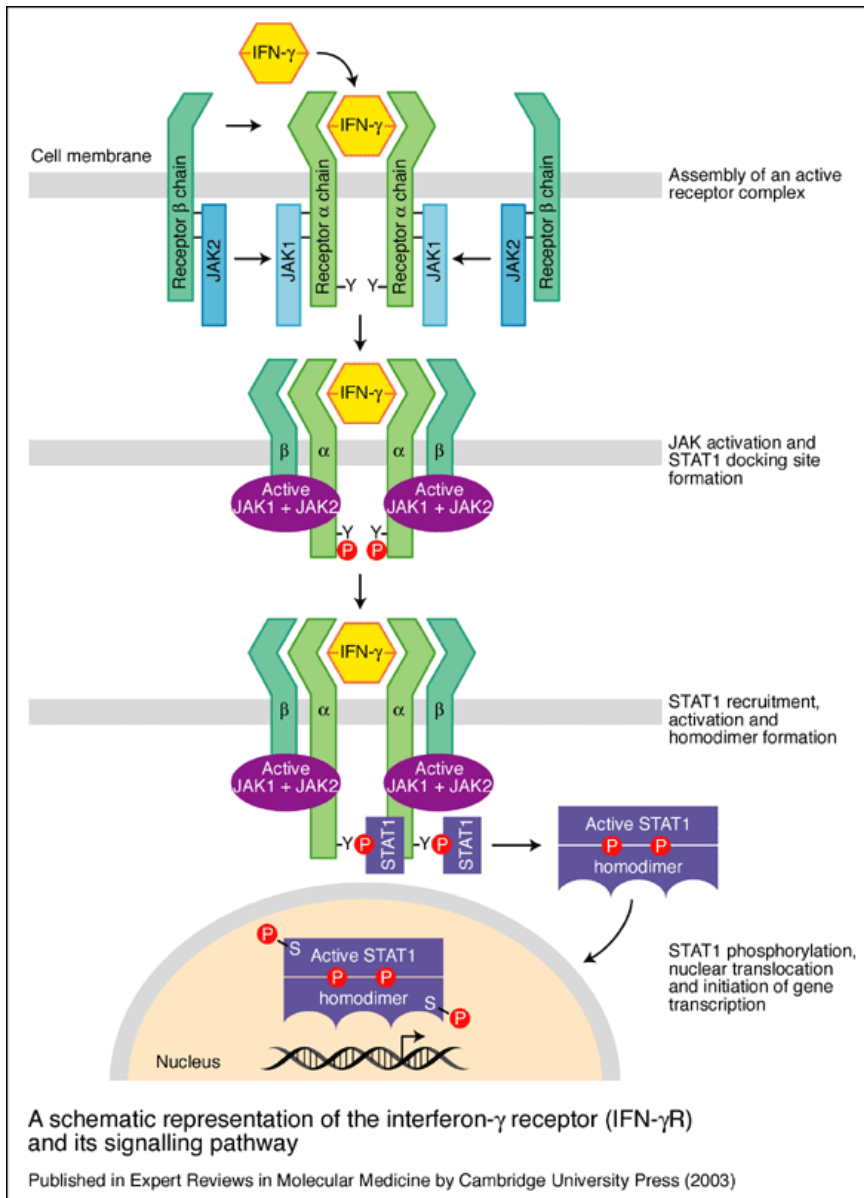
No futuro a investigação deverá incidir na procura de outros defeitos genéticos na base das infeções por micobactérias e na terapêutica genética dos defeitos completos do receptor do IFN- γ .

Bibliografia

1. Mutations in IFNGR1 or IFNGR2 and Interferon- γ Receptor Deficiency – an Overview (2006) Correlagen Diagnostics, Inc.
https://www.correlagen.com/fields/immunology/reviews/IFNGRD_CRLGOvw.pdf (16 January 2016).
2. Remus, N., Reichenbach, J., Picard, C., Rietschel, C., Wood, P., Lammas, D., et al. (2001) Impaired Interferon Gamma-Mediated Immunity and Susceptibility to Mycobacterial Infection in Childhood. *Pediatric Research*, **50**, 8–13.
3. Caragol, I. and Casanova, J.-L. (2003) Inherited disorders of the Interleukin-12/ Interferon-gamma axis: Mendelian predisposition to mycobacterial disease in man. *Immunologia*, **22**, 263–276.
4. Sologuren, I., Boisson-Dupuis, S., Pestano, J., Vincent, Q.B., Fernandez-Perez, L., Chappier, A., et al. (2011) Partial recessive IFN- γ R1 deficiency: genetic, immunological and clinical features of 14 patients from 11 kindreds. *Human Molecular Genetics*, **20**, 1509–1523.
5. Uzel, G. (2015) Mendelian susceptibility to mycobacterial diseases: Specific defects. In Stiehm, E.R., TePas, E. (eds), UpToDate. UpToDate.
<http://www.uptodate.com/contents/mendelian-susceptibility-to-mycobacterial-diseases-specific-defects> (16 January 2016).
6. Bustamante, J., Boisson-Dupuis, S., Abel, L. and Casanova, J.-L. (2014) Mendelian susceptibility to mycobacterial disease: genetic, immunological, and clinical features of inborn errors of IFN- γ immunity. *Seminars in immunology*, **26**, 454–470.
7. Schroder, K. (2003) Interferon- γ : an overview of signals, mechanisms and functions. *Journal of Leukocyte Biology*, **75**, 163–189.
8. Alvarez, D. (2005) Interferon-gamma Receptor Deficiency (IFN γ R deficiency). Department of Biology, Davidson College.
http://www.bio.davidson.edu/courses/immunology/students/spring2006/v_alvarez/ifngr_deficiency.html (16 January 2016).
9. Abbas, A.K., Lichtman, A.H. and Pillai, S. (2015) Cellular and molecular immunology. Eighth edition., Elsevier Saunders, Philadelphia, PA.
10. Seadi, C. (1998) Princípios básicos de imunologia. 1ª edição., Editora da ULBRA.
11. Bach, E.A., Aguet, M. and Schreiber, R.D. (1997) THE IFN γ RECEPTOR:A Paradigm for Cytokine Receptor Signaling. *Annual Review of Immunology*, **15**, 563–591.
12. Subramaniam, P.S., Torres, B.A. and Johnson, H.M. (2001) SO MANY LIGANDS, SO FEW TRANSCRIPTION FACTORS: A NEW PARADIGM FOR SIGNALING THROUGH THE STAT TRANSCRIPTION FACTORS. *Cytokine*, **15**, 175–187.

13. Lillemeier, B.F. (2001) STAT1 from the cell membrane to the DNA. *The EMBO Journal*, **20**, 2508–2517.
14. Janssen, R., van Wengen, A., Verhard, E., de Boer, T., Zomerdiijk, T., Ottenhoff, T.H.M., et al. (2002) Divergent Role for TNF- in IFN- -Induced Killing of *Toxoplasma gondii* and *Salmonella typhimurium* Contributes to Selective Susceptibility of Patients with Partial IFN- Receptor 1 Deficiency. *The Journal of Immunology*, **169**, 3900–3907.
15. Uzel, G. (2015) Mendelian susceptibility to mycobacterial diseases: An overview. In Stiehm, E.R., TePas, E. (eds), UpToDate. UpToDate.
http://www.uptodate.com/contents/mendelian-susceptibility-to-mycobacterial-diseases-an-overview?source=see_link (16 January 2016).
16. Roesler, J., Horwitz, M.E., Picard, C., Bordigoni, P., Davies, G., Koscielniak, E., et al. (2004) Hematopoietic stem cell transplantation for complete IFN-gamma receptor 1 deficiency: a multi-institutional survey. *The Journal of Pediatrics*, **145**, 806–812.
17. ACTIMMUNE - interferon gamma-1b injection, solution (prescribing information) (2015) HZNP USA Inc.
18. Key, L.L., Rodriguiz, R.M., Willi, S.M., Wright, N.M., Hatcher, H.C., Eyre, D.R., et al. (1995) Long-term treatment of osteopetrosis with recombinant human interferon gamma. *The New England Journal of Medicine*, **332**, 1594–1599.
19. Marciano, B.E., Wesley, R., De Carlo, E.S., Anderson, V.L., Barnhart, L.A., Darnell, D., et al. (2004) Long-term interferon-gamma therapy for patients with chronic granulomatous disease. *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America*, **39**, 692–699.

Anexo 1



Agradecimentos

Este trabalho de Mestrado é a conclusão e a afirmação de 6 anos de dedicação e esforço à medicina. Faço destes agradecimentos um gesto de carinho para com todos aqueles que contribuíram para que estes 6 anos fossem de alegria, de crescimento pessoal e de aquisição de conhecimentos.

Quero agradecer inicialmente à Dra. Filipa Prata pelo apoio prestado durante a realização desta tese. Pela sua disponibilidade, múltiplas reuniões e vontade de pertencer a este projeto.

Quero também agradecer ao Departamento de Pediatria do HSM, principalmente à unidade de infeciologia pediátrica, pela colaboração na consulta dos processos e simpatia das várias pessoas com quem tive a oportunidade de me cruzar.

Uma palavra especial ao Marcos Janela pela sua ajuda neste trabalho e por fazer parte da minha vida.

Aos meus pais, irmão e restante família agradeço o apoio incondicional dado ao longo de toda a minha vida. Obrigada por compreenderem, ajudarem e acompanharem o meu percurso.

Dirijo um agradecimento especial aos meus amigos. Aos amigos de sempre, aos que chegaram agora, aos amigos especiais, aos amigos do estudo, às pausas para café, aos jantares, às cantorias, aos órgãos organizativos dos quais fiz parte.

Obrigada Faculdade de Medicina de Lisboa