

Joana Maria Ferreira Coelho

Imunodeficiências Primárias dos Fagócitos – prognóstico e terapêutica

Universidade Fernando Pessoa

Faculdade Ciências da Saúde

Porto, 2015



Joana Maria Ferreira Coelho

Imunodeficiências Primárias dos Fagócitos – prognóstico e terapêutica

Universidade Fernando Pessoa

Faculdade Ciências da Saúde

Porto, 2015

Joana Maria Ferreira Coelho

Imunodeficiências Primárias dos Fagócitos – prognóstico e terapêutica

---

Assinatura

Trabalho apresentado à Universidade Fernando Pessoa como parte dos requisitos para a  
obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

Porto, 2015

## **Sumário**

As imunodeficiências primárias são a consequência de anomalias genéticas que ocorrem no sistema imunológico. Dentro dos vários grupos de imunodeficiências primárias estão inseridas as imunodeficiências primárias dos fagócitos, que resultam de defeitos congênitos que afetam o número e/ou função das células fagocitárias. Estas células têm um papel importante na defesa e homeostasia do organismo, uma vez que permitem a eliminação de microrganismos patogênicos, de agentes estranhos e de outras células. Uma disfunção ao nível dos fagócitos desencadeará uma maior suscetibilidade para infecções e outros tipos de enfermidades. As imunodeficiências primárias dos fagócitos podem ser classificadas em vários grupos de doenças, de acordo com o componente fagocitário afetado. Para essas doenças existem uma série de tratamentos, e apesar de alguns ainda se encontrarem em fase de estudo, as técnicas que hoje em dia se utilizam têm melhorado bastante o prognóstico dos pacientes, permitindo-lhes uma maior qualidade de vida e uma diminuição da mortalidade.

## **Abstract**

Primary immunodeficiencies are the result of genetic abnormalities that happen in the immune system. Within the many groups of primary immunodeficiencies are inserted primary immunodeficiencies of phagocytes, which result from birth defects that affect the number and/or function of phagocytic cells. These cells are important in the organism defense and homeostasis, because they allow the elimination of pathogens, strange agents and other cells. A phagocyte dysfunction increases the susceptibility to infections and other diseases. Primary immunodeficiencies of the phagocytes can be classified in several groups of diseases, according to the component of phagocytic system that is affected. For these diseases there are several treatments, and although some still in a study phase, the techniques that are used today have greatly improved the prognosis of patients providing them a higher quality of life and decreased mortality.

## **Agradecimentos**

Aos meus pais, irmã, avós e namorado quero deixar um profundo e sincero agradecimento por todo o apoio, carinho e incentivo que me deram durante este percurso e por terem sempre acreditado que conseguiria alcançar os meus objetivos e ultrapassar os meus limites.

Quero também deixar um agradecimento especial à Professora Doutora Sandra Soares, orientadora da dissertação, pela disponibilidade e por todos os conselhos e críticas construtivas que me ajudaram a evoluir e a melhorar este trabalho. A ela um muito obrigada por toda a dedicação com que me guiou durante estes meses de trabalho e pesquisa.

## Índice

Índice de Figuras .....	3
Índice de tabelas .....	4
Lista de abreviaturas .....	5
I. Introdução.....	8
II. Sistema imunológico .....	10
1. Conceitos gerais.....	10
III. Imunodeficiências.....	12
2. Imunodeficiências fisiológicas .....	12
3. Imunodeficiências patológicas .....	12
IV. Tipos de imunodeficiências primárias .....	14
V. Imunodeficiências Fagocitárias.....	17
4. Conceitos gerais.....	17
5. Défices quantitativos .....	20
5.1 Neutropenias Congénitas.....	20
i. Síndrome de Kostmann .....	21
a. Caraterísticas gerais .....	21
ii. Neutropenia cíclica.....	22
a. Características gerais .....	22
iii. Síndrome de Shwachman Diamond .....	23
a. Características gerais .....	23
iv. Tratamento .....	24
v. Prognóstico.....	25
6. Défices funcionais .....	25
i. Doença granulomatosa crónica (DGC) .....	25
a. Características gerais .....	25
b. Tratamento.....	27
c. Prognóstico .....	28
ii. Deficiências do eixo IFN- $\gamma$ / IL-12 (Interferão gama/ Interleucina 12).....	28
a. Características gerais .....	28
b. Tratamento.....	29

c.	Prognóstico .....	29
iii.	Deficiências de grânulos .....	30
a.	Características gerais .....	30
iii.i	Deficiência de grânulos específicos .....	30
iii.ii	Deficiência de mieloperoxidase .....	31
b.	Tratamento.....	33
c.	Prognóstico .....	34
iv.	Síndrome de Chediak-Higashi .....	34
a.	Características gerais .....	34
b.	Tratamento.....	35
c.	Prognóstico .....	36
v.	Deficiência de adesão dos leucócitos .....	36
a.	Características gerais .....	36
b.	Tratamento.....	39
c.	Prognóstico .....	40
VI.	Conclusão .....	41
VII.	Bibliografia.....	42

## Índice de Figuras

- Figura 1** - Percentagem dos grupos de imunodeficiências primárias existentes em 2014 segundo a Sociedade Europeia de Imunodeficiências. Adaptado de <http://esid.org/Working-Parties/Registry/ESID-Database-Statistics>..... 14
- Figura 2** - Processo de fagocitose de uma bactéria. Adaptado de Owen et al., 2013 .... 18
- Figura 3** - Parte do mecanismo dependente de oxigénio, que ocorre durante o processo de fagocitose, mediado pela enzima Mieloperoxidase (MPO). Adaptado de Ren et al., 2012. .... 19
- Figura 4** - Esquema ilustrativo das fases do processo de amadurecimento de um neutrófilo que ocorrem na medula óssea, com interrupção ao nível da fase de promielócito. Adaptado de Paul, 2003. .... 21
- Figura 5** - Mecanismos do processo de migração leucocitária através de um vaso sanguíneo. Adaptado de Aster et al., 2012. .... 37

## Índice de tabelas

**Tabela 1** - Conceitos gerais relativamente aos principais grupos de imunodeficiências primárias. Adaptado de Notarangelo, 2010. .... 15

**Tabela 2** - Mutações e suas respectivas consequências referentes aos genótipos possíveis de existir na deficiência de mieloperoxidase. Adaptado de Ren et al., 2012. .... 33

### **Lista de abreviaturas**

C/EBP $\epsilon$  - Fator de transcrição específico mieloide (do inglês *CCAAT/enhancer protein  $\epsilon$* )

CR3 - Recetor tipo 3 do complemento (do inglês *Complement Receptor type 3*)

CR4 - Recetor tipo 4 do complemento (do inglês *Complement Receptor type 4*)

DGC – Doença granulomatosa crónica

DHR - Dihidrorodamina

ELA2 - Elastase tipo 2 (do inglês *Elastase-2*)

G-CSF - Fator estimulante de colónias de granulócitos (do inglês *Granulocyte-colony stimulating factor*)

ICAM-1 – Molécula de adesão intercelular tipo 1 (do inglês *Intercellular Adhesion Molecule 1*)

IFN- $\gamma$  – Interferão-gama

IFNGR1 ou CD119 – Recetor 1 de interferão gama (do inglês *Interferon-gamma Receptor 1*)

IFNGR2 – Recetor 2 de interferão gama (do inglês *interferon-gamma Receptor 2*)

IgA –Imunoglobulina A

IL-1 – Interleucina 1

IL12B – Interleucina 12B

IL-12R - Recetor de interleucina 12

IL12RB1 - Subunidade beta do recetor 1 de interleucina 12 (do inglês *Interleukin 12 Receptor, Beta 1 Subunit*)

IRF8- Fator regulador do interferão-8 (do inglês *Interferon regulatory factor 8*)

ISG15 – Gene 15 estimulado pelo interferão (do inglês *Interferon-stimulated gene 15*)

LAD - Deficiência de adesão leucocitária (do inglês *Leucocyte Adhesion Deficiencies*)

LFA-1- Antígenos funcionais leucocitários do tipo 1 (do inglês *Leucocyte Functional Antigen type 1*)

LYST – Tráfico lisossomal (do inglês *Lysosomal Trafficking*)

MPO – Mieloperoxidase

NBT - Teste do Nitroazul de Tetrazolio (do inglês *Nitro Blue Tetrazolium*)

NETs - Redes extracelulares de neutrófilos (do inglês *Neutrophil Extracellular Traps*)

NK – Células *Natural Killer*

SBDS – Síndrome de Shwachman Bodian Diamond (do inglês *Shwachman Bodian Diamond Syndrome*)

SGD – Deficiência de grânulos específicos (do inglês *Specific Granule Deficiency*)

STAT1- Fator activador da transcrição e tradução de sinal do tipo 1 (do *inglês Signal Transducers and Activators of Transcription 1*)

TNF – *Fator de necrose tumoral* (do *inglês tumor necrosis factor*)

## **I. Introdução**

O sistema imunológico é responsável pela defesa do nosso organismo face a agressões endógenas ou exógenas com vista a manter o equilíbrio homeostático. Essas agressões podem tomar a forma de agentes infecciosos e/ou produtos tóxicos produzidos pelos mesmos, substâncias estranhas, células tumorais e mesmo transplantes. Neste sistema existem dois mecanismos de atuação, conjunta, face ao agente agressor: imunidade inata (primeira linha de defesa do organismo e sem memória imunológica) e imunidade adaptativa (resposta mais lenta e que se desenvolve ao longo de exposições repetidas). Uma ausência ou defeito num dos componentes da imunidade inata ou adaptativa irá originar uma imunodeficiência que consoante a origem pode ser classificada em fisiológica ou patológica. As imunodeficiências fisiológicas estão associadas ao desenvolvimento normal do sistema imunológico como a hipoglobulinemia do recém-nascido e a imunosenescência, e as patológicas não fazem parte da fisiologia normal de desenvolvimento do sistema imunológico, possuindo uma causa subjacente, que pode ser, genética (imunodeficiências primárias) ou adquirida (imunodeficiências secundárias). (Arosa *et al.*, 2007)

As imunodeficiências primárias são o resultado de anomalias genéticas que afetam componentes do sistema imunológico, tendo como consequência uma falha ou desenvolvimento irregular da imunidade humoral ou celular. Esta condição faz com que o organismo fique mais suscetível a infeções, alergias, doenças autoimunes e neoplasias. As infeções são recorrentes, de longa duração, e sem resposta favorável à terapêutica habitual. O seu aparecimento normalmente ocorre no primeiro ano de vida embora possa expressar-se também em idades mais avançadas (Arosa *et al.*, 2007; Owen *et al.*, 2013).

Os principais grupos de imunodeficiências primárias são identificados de acordo com o componente do sistema imunológico afetado, assim, podemos classificar as imunodeficiências primárias em: imunodeficiências de anticorpos; imunodeficiências de

linfócitos T; imunodeficiências combinadas de linfócitos B e T; imunodeficiências dos fagócitos e imunodeficiências do complemento (Arosa *et al.*, 2007; Owen *et al.*, 2013).

As imunodeficiências primárias dos fagócitos dizem respeito a defeitos congênitos do número e/ou função dos fagócitos e tal como na maioria das imunodeficiências primárias, manifestam-se nos primeiros anos de vida. Os fagócitos (maioritariamente macrófagos, monócitos, neutrófilos, mastócitos e células dendríticas) têm um papel muito importante na primeira linha de defesa do organismo contra infecções, uma vez que atuam por mecanismos que destroem os microrganismos, fazendo, igualmente a reparação do tecido lesado. Uma deficiência primária ao nível dos fagócitos irá levar a uma ausência ou baixa eficácia da função fagocitária, e conseqüentemente o indivíduo irá contrair infecções múltiplas e recorrentes maioritariamente bacterianas ou fúngicas. As manifestações clínicas mais frequentes são abscessos cutâneos e viscerais, dificuldade na cicatrização de feridas, infecções pulmonares, hepáticas ou ósseas. Este tipo de imunodeficiência é normalmente classificado em dois grandes grupos: défices quantitativos (neutropenias) e défices funcionais. Dos défices quantitativos fazem parte patologias como neutropenia severa congénita, neutropenia cíclica e Síndrome de Shwasman-Diamond; relativamente a défices funcionais, as patologias mais prevalentes são: doença crónica granulomatosa, deficiências do eixo IFN- $\gamma$ /IL-12, deficiências de grânulos, Síndrome de Chediak-Higashi e deficiência de adesão dos leucócitos (Parslow *et al.*, 1997; Oliveira *et al.*, 2011).

A terapêutica utilizada neste tipo de patologias consiste essencialmente no uso de antibióticos e antifúngicos para tratar as infecções associadas ao deficiente funcionamento do sistema imunológico. São ainda usadas terapias como o transplante de medula, transfusão de granulócitos, administração de IFN- $\gamma$  e terapia génica (ainda em fase experimental) (Parslow *et al.*, 1997).

## II. Sistema imunológico

### 1. Conceitos gerais

O sistema imunológico é constituído por uma vasta gama de moléculas, células, tecidos e órgãos, que interatuam de modo a reconhecer especificamente agentes estranhos ao organismo, que podem ser externos (macromoléculas e microrganismos) ou internos no caso de células do próprio organismo que estejam alteradas. Este reconhecimento estimula o desencadeamento de uma resposta efetora, que levará à eliminação ou inativação desses mesmos agentes. (Arosa *et al.*, 2007).

As principais células do organismo que fazem parte do sistema imunológico são, linfócitos, monócitos, macrófagos, células dendríticas e granulócitos (neutrófilos, eosinófilos, basófilos e mastócitos). (Arosa *et al.*, 2007).

Os linfócitos têm um papel fundamental, uma vez que são os responsáveis pelo reconhecimento específico dos agentes estranhos e pela produção da resposta imune contra esses mesmos agentes. Deste tipo de células é possível distinguir três grandes famílias, os linfócitos B, linfócitos T e linfócitos NK (do inglês *Natural Killer*). Os linfócitos B associados à imunidade humoral, possuem na sua estrutura recetores específicos que, ao se ligarem a um determinado antigénio irão ativar a diferenciação dos linfócitos B em plasmócitos; estes por sua vez irão produzir anticorpos que, ao reconhecerem os antigénios, irão ativar outras células do sistema imunológico, para que estas destruam esses mesmos antigénios. Por outro lado, os linfócitos T associam-se à imunidade celular e dividem-se em três subfamílias funcionais: os linfócitos T auxiliares ou T *helper* (Th) que, têm como função ajudar outras células do sistema imunológico a exercerem a sua ação, através da produção de citocinas, os linfócitos T citotóxicos (Tc), que eliminam células neoplásicas do hospedeiro ou que estejam infetadas por um agente (ex. vírus), e os linfócitos T reguladores ou supressores (Treg/Ts) que regulam a ativação da respostas imunológica específica e suprimem a resposta a antigénios *self*. Por fim, os linfócitos NK são responsáveis por destruir de forma espontânea, células que reconhecem como anormais ou infetadas, e, por produzir

fatores solúveis que ativam outras células com capacidades microbicidas. (Arosa *et al.*, 2007)

Relativamente aos monócitos, estes podem diferenciar-se e dar origem aos macrófagos e células dendríticas. Os macrófagos têm como principais funções, a fagocitose, a apresentação de antígenos aos linfócitos T e a eliminação de microrganismos, por sua vez, as células dendríticas têm como principal tarefa captar antígenos, transportá-los aos órgãos linfoides secundários ou fazer a sua eliminação e estimular também, a ativação T. (Arosa *et al.*, 2007)

Os granulócitos são também células do sistema imunológico, do qual fazem parte, os neutrófilos (capazes de realizar fagocitose), os eosinófilos (responsáveis pela resposta contra parasitas), os basófilos (libertam substâncias como a histamina e estão associados a respostas alérgicas) e os mastócitos (ativados por dano tecidual e também importantes na resposta alérgica). (Arosa *et al.*, 2007)

Os mecanismos de reação do sistema imunológico compreendem dois grandes grupos: imunidade inata ou natural e adaptativa ou adquirida. A resposta inata é a primeira linha de defesa do organismo e está presente em cada indivíduo desde a nascença. Tem como principais características, o facto de ser rápida, limitada e menos específica que a resposta adaptativa. Da sua constituição fazem parte, barreiras físicas (ex. pele), barreiras químicas (ex. secreções das mucosas e pH ácido do estômago), barreiras bioquímicas (ex. lisozimas presentes na saliva), proteínas do complemento e vários tipos celulares: células NK e células fagocitárias (maioritariamente neutrófilos e macrófagos). (Arosa *et al.*, 2007; Immune Deficiency Foundation, 2013)

O processo de fagocitose é um dos mecanismos mais importantes da resposta inata uma vez que permite a digestão e eliminação de agentes patogénicos por parte de células fagocitárias, processo este que, mais à frente, será abordado em pormenor (pág. 17,18 e 19) (Arosa *et al.*, 2007; Cruvinel *et al.*, 2010).

Por outro lado, a resposta adaptativa não está presente à nascença e vai-se desenvolvendo ao longo da vida de cada indivíduo. É uma resposta mais tardia,

específica e tem capacidade de memória sendo mediada pelos linfócitos B e T. (Arosa *et al.*, 2007).

### **III. Imunodeficiências**

O sistema imunológico, como qualquer outro sistema do nosso organismo, está sujeito à ocorrência de falhas ao nível do sistema inato e/ou adaptativo (Arosa *et al.*, 2007; Owen *et al.*, 2013)

Existem dois grandes tipos de imunodeficiências, as fisiológicas e as patológicas em que em cada uma delas ocorre uma falência ou ausência de um ou mais componentes do sistema imunológico. (Owen *et al.*, 2013)

#### 2. Imunodeficiências fisiológicas

As imunodeficiências fisiológicas, tal como o nome indica, resultam de acontecimentos normais do desenvolvimento de cada indivíduo. A hipoglobulinemia do recém-nascido é um desses casos e caracteriza-se pela falta de anticorpos no organismo de um recém-nascido, devido à imaturidade do sistema imunológico, nomeadamente das células B e T. Assim, como consequência, a criança ficará mais vulnerável para contrair infeções, sendo por isso fundamental o aleitamento materno, pois é uma fonte rica em anticorpos, nomeadamente IgA, e outros fatores de defesa que irão desempenhar um papel muito importante na proteção do bebé. (Chinen *et al.*, 2010; Owen *et al.*, 2013)

A imunosenescência ou imunodeficiência do idoso, é também uma imunodeficiência fisiológica e tem como causa o processo normal de envelhecimento, nomeadamente a involução tímica, do qual, resulta uma diminuição progressiva das funcionalidades do sistema imunológico. Como consequência, haverá uma perda gradual das capacidades de defesa contra infeções e uma maior suscetibilidade para desenvolver neoplasias. (Chinen *et al.*, 2010; Owen *et al.*, 2013)

#### 3. Imunodeficiências patológicas

Ao contrário das fisiológicas, as imunodeficiências patológicas são o resultado de anomalias do sistema imunológico que nada têm a ver com o normal desenvolvimento do organismo. Estas anomalias podem ser adquiridas no decorrer da vida do indivíduo ou podem já estar presentes desde o seu nascimento. Assim, é possível classificar as imunodeficiências patológicas de acordo com a sua origem em primárias e secundárias. (Arosa *et al.*, 2007; Owen *et al.*, 2013)

As imunodeficiências primárias têm origem genética e são o resultado de alterações ou mutações ao nível dos genes podendo ser transmitidas de pais para filhos. Manifestam-se essencialmente nos primeiros anos de vida e a maioria dos indivíduos que as possui apresentam infeções consecutivas que não respondem aos tratamentos de forma esperada. Além do sistema imunológico, este tipo de imunodeficiências pode afetar outros sistemas do organismo, nomeadamente, o gastrointestinal, neurológico e cardiovascular. (Batalha *et al.*, 2011)

Atualmente são reconhecidos cerca de 185 tipos de imunodeficiências primárias e cada uma delas pode ser classificada de acordo com o componente do sistema imunológico afetado, podendo assim, ser agrupadas essencialmente em cinco categorias: imunodeficiências de anticorpos, imunodeficiências de linfócitos T, imunodeficiências combinadas de linfócitos B e T, imunodeficiências fagocitárias e imunodeficiências do complemento. Embora estes sejam os grupos com maior relevância, de acordo com a figura 1 é possível verificar que a Sociedade Europeia de Imunodeficiências acrescenta também como grupos de imunodeficiências primárias: “outras imunodeficiências primárias bem definidas”, “síndromes autoinflamatórias” e “síndromes auto-imunes e de desregulação imune”. (ESID; Immune Deficiency Foundation, 2013)

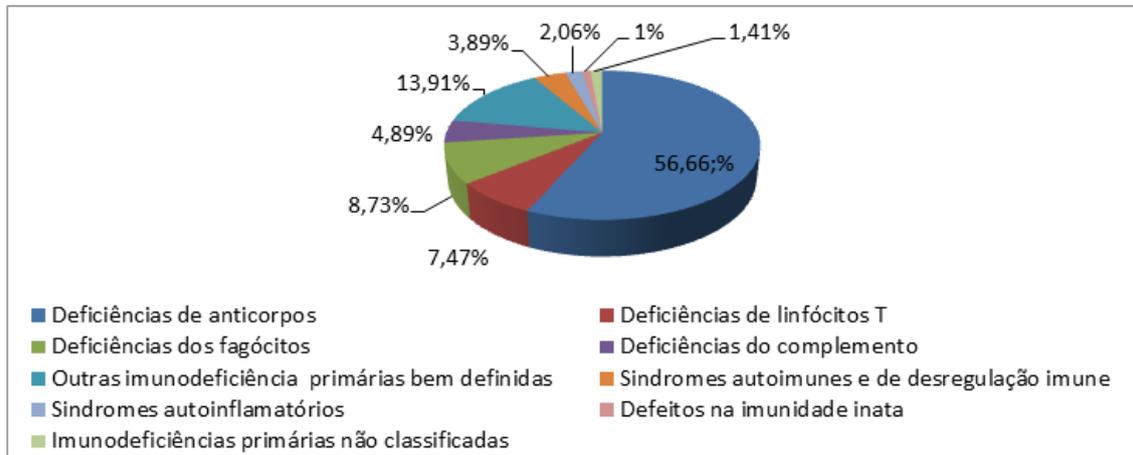


Figura 1 - Percentagem dos grupos de imunodeficiências primárias existentes em 2014 segundo a Sociedade Europeia de Imunodeficiências. Adaptado de <http://esid.org/Working-Parties/Registry/ESID-Database-Statistics>

Das imunodeficiências patológicas fazem também parte as imunodeficiências secundárias como consequência da exposição a alguns fatores extrínsecos, nomeadamente, malnutrição (ex. carência de ferro e algumas vitaminas), uso de substâncias imunossupressoras (usadas para o tratamento de algumas doenças autoimunes como a artrite reumatoide), doenças metabólicas (ex. uremia e diabetes mellitus), infeções virais (ex. Vírus da Imunodeficiência Humana), traumas ou cirurgias e condições ambientais (ex. radiação ultra violeta). (Chinen *et al.*, 2010)

#### IV. Tipos de imunodeficiências primárias

Os cinco tipos de imunodeficiências primárias possuem variadas características e manifestações clínicas, que podem ser agrupadas, como se pode observar na Tabela 1. (Notarangelo, 2010)

Tabela 1 - Conceitos gerais relativamente aos principais grupos de imunodeficiências primárias. Adaptado de Notarangelo, 2010.

<b>GRUPO</b>		
<b>Imunodeficiências de anticorpos</b>	Características gerais	<p>Imunodeficiências primárias mais frequentes;</p> <p>Há uma perda da capacidade do organismo produzir anticorpos;</p> <p>Resulta de defeitos no processo de produção e amadurecimento dos linfócitos B ou de problemas na interação dos linfócitos B com os linfócitos T.</p> <p>Risco de contrair infeções ou de vir a desenvolver doenças auto-imunes e neoplasias.</p>
	Idade de início	Entre os 3 e os 6 meses
	Manifestações clínicas	Infeções respiratórias bacterianas de repetição (otite, sinusite, pneumonia); Infeções gastrointestinais; Infeções cutâneas; Meningoencefalite; Sépsis.
<b>Imunodeficiências de linfócitos T</b>	Características gerais	<p>Produto de anomalias no desenvolvimento e função das células T;</p> <p>Reações de imunidade celular ficam afetadas;</p> <p>Maior incidência de neoplasias e infeções intracelulares graves de difícil controlo;</p> <p>Indivíduos não chegam à idade adulta na maioria dos casos.</p>
	Idade de início	Precoce
	Manifestações clínicas	Hipocalcemia e insuficiência cardíaca (Anomalia de DiGeorge); Candidíase mucocutânea crónica; Ataxia; Alopecia; Acidose láctica.
<b>Imunodeficiências combinadas</b>	Características gerais	<p>Originárias de anomalias imunológicas que afetam as células T e B;</p> <p>Indivíduos afetados apresentam maior predisposição para contrair infeções.</p>
	Idade de início	Durante o 1º ano de vida

	Manifestações clínicas	Desenvolvimento retardado; Candidíase oral; Infecções severas (meningites, Infecções sinopulmonares, septicemia); Diarreia crônica infecciosa.
<b>Imunodeficiências fagocitárias</b>	Características gerais	Anomalia no número e/ou função dos fagócitos, que põe em causa o seu papel no combate a infecções fúngicas e bacterianas.
	Idade de início	Precoce
	Manifestações clínicas	Úlceras orais; Infecções do trato respiratório superior e inferior; Otites; Periodontites; Abscessos em órgãos profundos ou cutâneos; Adenites; Obstruções gastrointestinais ou urinárias; Osteomielites; Dificil cicatrização de feridas.
<b>Imunodeficiências do complemento</b>	Características gerais	Ocorrência de deficiências nas funções do sistema do complemento;  Resulta no aparecimento de infecções bacterianas recorrentes e uma tendência para o desenvolvimento de doenças auto-imunes, uma vez que o sistema do complemento é importante para reconhecer e eliminar microrganismos infecciosos e solubilizar e remover imunocomplexos.
	Idade de início	Qualquer idade
	Manifestações clínicas	Infecções piogénicas; Meningites; Síndrome hemolítico urémico; Angioedema;

## V. Imunodeficiências Fagocitárias

### 4. Conceitos gerais

Alguns agentes patogênicos têm capacidades que lhes permitem ultrapassar as barreiras epiteliais do nosso organismo e desta forma conseguem chegar até aos tecidos. Quando isto acontece, uma série de recetores de membrana e proteínas solúveis atuam, reconhecendo esses patogénios, opsonizando-os e facilitando a sua, posterior, fagocitose (Owen *et al.*, 2013)

As células fagocitárias propriamente ditas ou fagócitos ( ex. neutrófilos e macrófagos) permitem ao sistema imunológico eliminar alguns corpos estranho, nomeadamente fungos, bactérias e até células mortas. (Peakman *et al.*, 2011)

Em 1880 o biólogo Metchnikoff descreveu o processo de fagocitose após estudar o sangue de alguns animais, pois reparou que alguns glóbulos brancos, os quais denominou por fagócitos, “engoliam” microrganismos e outros corpos estranhos. Hoje em dia sabe-se que Metchnikoff estava correto e que o processo de fagocitose é um dos principais mecanismos efetores da imunidade inata. (Owen *et al.*, 2013)

Quando há uma infeção no organismo, os fagócitos são “chamados” para o local afetado através de mediadores quimiotáticos libertados pelas células ou pelo próprio agente patogénico. Quando os fagócitos chegam ao local da infeção, ocorre em primeiro lugar a ligação dos recetores existentes na sua superfície membranar – PRRs (recetores de reconhecimento de padrões) aos recetores do agente patogénico- PAMPs (moléculas associadas ao patogénio), esse agente patogénico, por sua vez é envolvido e incorporado numa vesícula (fagossoma) para o interior da célula. No citoplasma, esse fagossoma irá fundir-se com a membrana de lisossomas (vesículas com enzimas hidrolíticas) obtendo-se um fagolisossoma onde o conteúdo proveniente dos lisossomas irá digerir e destruir os agentes patogénicos (Figura 2). (Cruvel *et al.*,2010; Owen *et al.*, 2013)

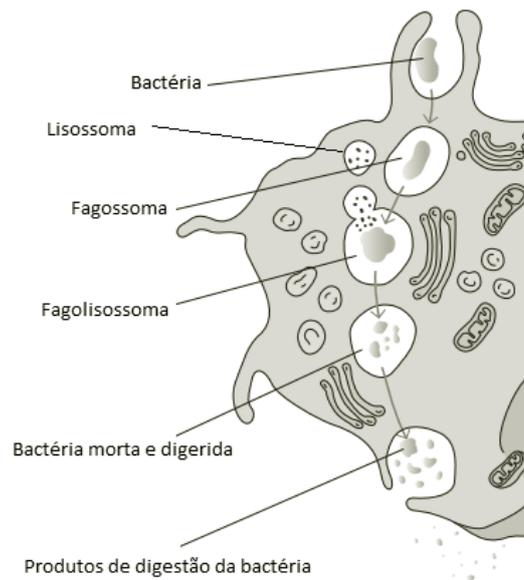


Figura 2 - Processo de fagocitose de uma bactéria. Adaptado de Owen et al., 2013

Essa digestão e destruição do patogénico, ao nível do fagolisossoma, pode ocorrer por vários mecanismos, os independente de oxigénio e o dependente de oxigénio.

No mecanismo independente de oxigénio há a libertação de moléculas provenientes dos lisossomas que, de uma forma específica, irão levar à destruição do corpo estranho. Algumas dessas moléculas são: enzimas hidrolíticas (ex: lisozimas e fosfolipases), que têm a capacidade de digerir a parede de algumas bactérias e vírus; proteínas e péptidos antimicrobianos, que conseguem lesar as membranas celulares de microrganismos e assim levar à sua destruição; proteínas que sequestram o ferro e o zinco (ex: lactoferrina e calprotectina), que atuam ligando-se ao ferro ou zinco impedindo que estes sejam utilizados por algumas bactérias, que necessitam deles para sobreviver; e a síntese de óxido nítrico, que é tóxico para alguns fungos, bactérias e parasitas. (Arosa *et al.*, 2007)

Relativamente ao mecanismo dependente de oxigénio, este resulta do facto de durante a fagocitose haver um aumento do consumo de oxigénio que dá origem a uma “explosão” respiratória, também conhecida por *burst*, que desencadeará a produção de uma elevada quantidade de radicais livres de oxigénio. Durante este processo estão também a ser produzidas grandes quantidades de energia e dá-se a ativação do complexo enzimático denominado NADPH oxidase (do inglês *nicotinamide adenine dinucleotide phosphate-oxidase*). Este complexo enzimático irá converter o oxigénio ( $O_2$ ) em superóxido ( $O_2^{\cdot-}$ ) que por sua vez será convertido em peróxido de hidrogénio ( $H_2O_2$ ) por uma enzima

chamada superóxido dismutase, e além do  $H_2O_2$  existem outros radicais tóxicos como  $OH^*$  que se formam por outras reações. Este  $H_2O_2$  por si só já possui capacidades microbicidas mas para que a eliminação dos agentes seja mais rápida e eficaz, a enzima mieloperoxidase (existente apenas em neutrófilos e monócitos) irá transformar algum desse  $H_2O_2$  em ácido hipocloroso (HOCl) (através da oxidação de íons cloro ( $Cl^-$ )), que é um composto tóxico para uma série de microrganismos, incluindo bactérias, fungos e vírus. (Figura 3). (Arnhold *et al.*, 2010; Homme *et al.*, 2013; Ren *et al.*, 2012)

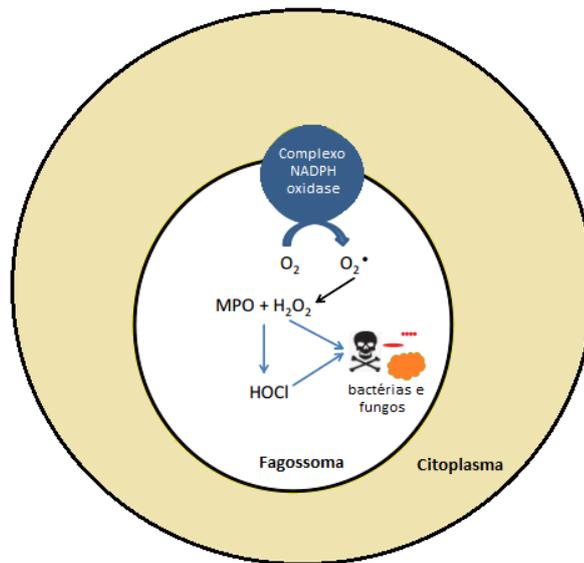


Figura 3 - Parte do mecanismo dependente de oxigênio, que ocorre durante o processo de fagocitose, mediado pela enzima Mieloperoxidase (MPO). Adaptado de Ren *et al.*, 2012.

Para que a tarefa dos fagócitos em eliminar microrganismos e reparar tecidos não fique comprometida é importante que a sua diferenciação na medula óssea ocorra adequadamente e que um conjunto de capacidades estejam a funcionar tais como: reconhecimento de moléculas estranhas, adesão a microrganismos, ao endotélio e a alguns leucócitos, endocitose de microrganismos, produção de elementos microbicidas, secreção de citocinas para que estas estimulem a ação de outras células, migração até aos locais onde a sua ação é necessária e utilização de enzimas líticas para a eliminação dos microrganismos. (Arosa *et al.*, 2007)

Quando um indivíduo nasce com um défice que afeta um ou vários destes mecanismos, assume-se que se está na presença de uma imunodeficiência fagocitária ou imunodeficiência primária dos fagócitos. Este tipo de deficiências é bastante raro e de

grande gravidade. Ocorrem nos primeiros anos de vida, no período neonatal e muito raramente em idades mais avançadas, e manifestam-se através de sintomas causados por infecções recorrentes sobretudo por fungos e bactérias. (Arosa *et al.*, 2007)

Em termos de diagnóstico as imunodeficiências fagocitárias são classificadas em dois grandes grupos, sendo estes: défices quantitativos, que se caracterizam por um número diminuto de neutrófilos; e défices funcionais, em que, apesar de haver uma normal quantidade de neutrófilos, existem problemas funcionais que envolvem outras células, órgãos ou sistemas. (Arosa *et al.*, 2007; Oliveira *et al.*, 2011)

## 5. Défices quantitativos

### 5.1 Neutropenias Congénitas

Os neutrófilos são o tipo de granulócitos mais abundantes no sangue e são de extrema importância no que toca à mediação das etapas iniciais da resposta inflamatória, tendo como principal função realizar a fagocitose. Quando a quantidade de neutrófilos no sangue se encontra abaixo dos padrões normais (1500/ $\mu$ L) estamos perante um caso de neutropenia e como consequência desse défice, o organismo ficará mais vulnerável para contrair infecções por fungos e bactérias. (Donadieu *et al.*, 2011; Ribeiro *et al.*, 2011)

No que diz respeito à sua origem, as neutropenias podem ser de origem secundária ou genética (neutropenias congénitas) sendo estas últimas consideradas imunodeficiências primárias. (Arosa *et al.*, 2007)

Os três tipos de neutropenias congénitas mais prevalentes mundialmente são o Síndrome de Kostmann, a neutropenia cíclica e o Síndrome de Schwasman-Diamond. (Arosa *et al.*, 2007)

## i. Síndrome de Kostmann

### a. Caraterísticas gerais

O síndrome de Kostmann, também conhecido como neutropenia congênita grave do tipo 3, é uma doença de carácter hereditário do tipo autossômica recessiva e manifesta-se logo após o nascimento. Esta doença rara tem como causa conhecida uma mutação no gene *HAX1* que se localiza no cromossoma 1q21.3. Este gene é de grande importância no processo de amadurecimento dos neutrófilos na medula óssea e a sua mutação irá ter como efeito um bloqueio da diferenciação dos neutrófilos ao nível do estágio de promielócito não ocorrendo assim a sua passagem para mielócito (Figura 4). (Errante *et al.*, 2013)

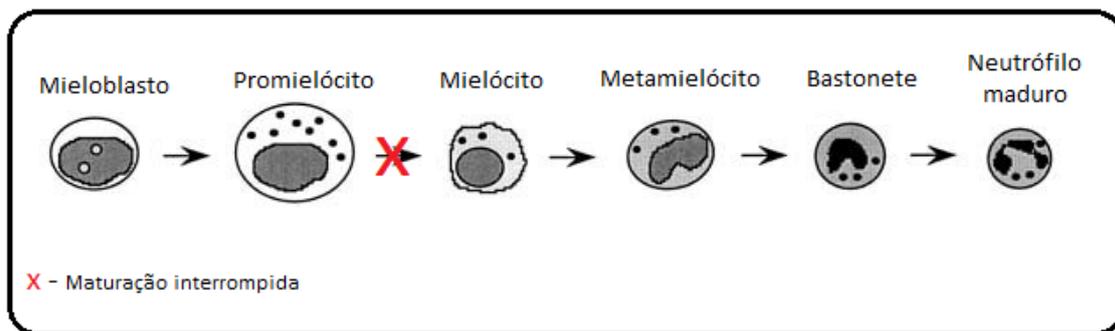


Figura 4 - Esquema ilustrativo das fases do processo de amadurecimento de um neutrófilo que ocorrem na medula óssea, com interrupção ao nível da fase de promielócito. Adaptado de Paul, 2003.

Desta forma os neutrófilos raramente amadurecem completamente e como tal, serão praticamente inexistentes (< 200 neutrófilos/ $\mu$ l de sangue). Como consequência, os indivíduos portadores deste síndrome padecem de infeções bacterianas graves e recorrentes nos primeiros meses de vida, que em muitos dos casos levam à morte da criança. Estas infeções ocorrem geralmente ao nível dos pulmões, pele, mucosas, ouvidos, fígado e seios nasais, podendo apresentar-se por exemplo na forma de onfalites, abscessos cutâneos e do fígado, otites e pneumonias que na maioria das vezes são provocadas por bactérias como *Streptococcus*, *Staphilococcus*, *Pseudomonas*, *Peptostreptococcus* e também por alguns fungos. Outra característica clínica que tem vindo a ser reportada é a ocorrência de anomalias neurológicas nomeadamente atrasos no desenvolvimento e epilepsia (Errante *et al.*, 2013; Aytekin *et al.*, 2010)

Quanto ao diagnóstico, o primeiro teste a ser requerido após se suspeitar desta doença é um hemograma, a partir do qual se consegue detetar se a quantidade de neutrófilos é inferior ao desejável. Caso o resultado indique neutropenia, é feita uma análise à medula óssea para confirmar a paragem da maturação dos neutrófilos na fase de promielócito e é realizado um diagnóstico diferencial. (Roques *et al.*, 2014)

## ii. Neutropenia cíclica

### a. Características gerais

De prevalência rara, a neutropenia cíclica é uma doença hereditária autossómica dominante que se manifesta maioritariamente durante o primeiro ano de vida do indivíduo. (Arosa *et al.*, 2007)

A causa conhecida desta enfermidade é uma mutação do cromossoma 19p13.3 no gene *ELANE* que codifica a proteína elastase (ELA2) existente nos neutrófilos. Esta mutação irá desregular o funcionamento da enzima ELA2, secretada pelos neutrófilos durante a fagocitose assim como afetar a produção de NETs (do inglês *Neutrophil extracellular traps*) ou redes extracelulares de adesinas. Este tipo de neutrófilos sofre apoptose e possui um tempo de vida mais curto que o normal. Como consequência irão ocorrer períodos de neutropenia (menos de 1000 neutrófilos/ $\mu$ l de sangue) durante cerca de 3 a 5 dias que se irão repetir a cada 21 dias, aproximadamente. Juntamente com as variações de neutrófilos poderão também ocorrer oscilações na quantidade de plaquetas, linfócitos, eosinófilos e monócitos. Desta forma, é durante o período de neutropenia que os pacientes têm o seu sistema imune mais débil e como tal há uma grande tendência para que surjam infeções, que na maioria dos casos são, periodontite, infeções na cavidade oral, impetigo e outras infeções cutâneas. (Arosa *et al.*, 2007; Donadieu *et al.*, 2011; Weinrauch *et al.*, 2002)

Nesta patologia são particularmente recorrentes as infecções causadas por *Shigella*, *Salmonella* e *Yersinia*, uma vez que esta elastase é decisiva na degradação de proteínas bacterianas associadas à sua virulência. (Weinrauch *et al.*, 2002)

Para diagnosticar esta doença são realizados hemogramas duas vezes por semana durante um período de seis semanas para assim se conseguir detetar o padrão cíclico característico deste tipo de neutropenia. (Errante *et al.*, 2013)

### iii. Síndrome de Shwachman Diamond

#### a. Características gerais

Esta é uma doença causada por mutações no gene *SBDS* situado no cromossoma 7q11.22. Este gene é responsável por codificar uma proteína ribossômica também denominada SBDS. A função desta proteína é ainda desconhecida mas pensa-se que desempenha um papel essencial na biogénese dos ribossomas (estruturas celulares que participam na síntese de proteínas, importantes para o normal metabolismo celular). (Errante *et al.*,2013)

A insuficiência pancreática é a característica que mais se destaca nos pacientes com síndrome de Shwachman Diamond assim como algumas anomalias hematológicas sendo a neutropenia a que tem maior incidência, seguindo-se a anemia, trombocitopenia e pancitopenia. Como consequência há um enfraquecimento da resposta imune a agentes patogénicos e por isso os pacientes sofrem frequentemente de várias infecções graves de carácter bacteriano maioritariamente, sendo as mais comuns: infecções do trato respiratório (ex. pneumonia e sinusite), otites, infecções cutâneas (ex. paroníquia) e infecções na cavidade oral. São também relatados casos de desconforto respiratório, tórax estreito, atraso mental, problemas gastrointestinais (ex. intolerância ao glúten), crescimento retardado desde o segundo ano de vida e outras anomalias do esqueleto. (Errante *et al.*,2013; Donadieu *et al.*,2011)

Dado que a sintomatologia desta síndrome é muito semelhante à de outras patologias, nomeadamente fibrose cística, anemia de Falconi, anemia de Blackfan-Diamond, síndrome de Person e intolerância ao glúten, por vezes o diagnóstico pode ser realizado erradamente e assim sendo é provável que a quantidade estimada de pessoas que possuem esta doença seja muito inferior à que existe na realidade. (Errante *et al.*,2013; Donadieu *et al.*,2011)

#### **iv. Tratamento**

Para a maioria dos indivíduos portadores de qualquer uma destas três doenças, a terapêutica utilizada em primeiro lugar é a administração de antibióticos, antifúngicos e imunoglobulinas para que haja uma prevenção e controlo das infeções que por norma surgem no período de neutropenia. (Errante *et al.*,2013)

Em casos mais graves em que a terapia acima mencionada por si só não é suficiente para controlar as infeções, recorre-se também à administração subcutânea de G-CSF (fator estimulante de colónias de granulócitos), uma citocina produzida naturalmente pelo organismo, estimulante da produção e amadurecimento dos granulócitos, que levará a um aumento da quantidade de neutrófilos no sangue. A quantidade de citocina a ser usada irá depender do funcionamento do organismo de cada paciente, não havendo por isso uma dose exata para este tratamento. Esta técnica na maioria dos casos apresenta resultados favoráveis embora não seja uma terapia curativa e por esse motivo terá de ser realizada ao longo de toda a vida do doente. (Aytekin *et al.*,2010 ; Ribeiro *et al.*,2011)

Em alguns casos o uso de G-CSF pode ter como efeito secundário o desenvolvimento de leucemias e mielodisplasias. Nestes casos, o transplante de medula óssea é o tratamento a ser adotado. Apesar de ser curativo para a doença, o transplante de medula óssea não é escolhido como primeira opção devido ao risco de rejeição e há dificuldade em encontrar um dador compatível. (Ribeiro *et al.*,2011)

## v. **Prognóstico**

Graças à descoberta do tratamento com G-CSF, hoje em dia os pacientes portadores de qualquer uma destas neutropenias congénitas, podem usufruir de uma vida dita normal, com muito maior qualidade e em consequência a sua esperança de vida também aumentou, embora, continuem a ocorrer casos de indivíduos que enfrentam infeções bastante graves, já que o seu sistema imunitário continua mais debilitado comparativamente ao de um indivíduo sem a doença, sendo por isso imprescindível que estes pacientes sejam regularmente acompanhados por profissionais de saúde para que haja uma prevenção ou intervenção mais rápida nessas mesmas infeções. (Rezai *et al.*, 2008).

### 6. Défices funcionais

#### i. **Doença granulomatosa crónica (DGC)**

##### a. Características gerais

A doença granulomatosa crónica é autossómica recessiva, e é causada por mutações que podem ocorrer em vários genes que codificam subunidades da enzima NADPH oxidase. Esses genes são: *CYBA* (codifica a subunidade  $pp22^{phox}$ ), *CYBB* (codifica a subunidade  $gp91^{phox}$ ), *NCF1* (codifica a subunidade  $p47^{phox}$ ), *NCF2* (codifica a subunidade  $p67^{phox}$ ) e *NCF4* (codifica a subunidade  $p67^{phox}$ ). Uma mutação em algum destes genes terá como consequência, anomalias ao nível do complexo enzimático NADPH oxidase. Como foi abordado anteriormente (pág. 18 e 19) este complexo enzimático atua durante o processo de fagocitose, pelo mecanismo dependente de oxigénio e é responsável por converter moléculas de oxigénio em superóxido, importantes para que se obtenha no final desse processo ácido hipocloroso (elemento que apresenta toxicidade para diversos microrganismos). Desta forma uma anomalia ao nível da NADPH oxidase irá afetar todo este processo, deixando assim o organismo mais indefeso contra certas infeções. (Arosa *et al.*, 2007; Kang *et al.*, 2010; Blaese *et al.*, 2013; Polańska, 2009)

Como consequência, os indivíduos com DGC sofrem recorrentemente de infecções por certos fungos e bactérias que se manifestam essencialmente nos primeiros meses de vida. Estas infecções podem ocorrer em qualquer órgão ou tecido do organismo do doente, sendo que, os mais comuns são a pele, os ossos, os pulmões, o fígado, os gânglios linfáticos e muito raramente o cérebro. (Arosa et al., 2007)

A pneumonia é a infecção mais comum nos doentes com DGC, sendo que, na maioria dos casos é causada pelo fungo *Aspergillus*, e menos frequentemente por outros organismos como *Staphylococcus aureus*, *Burkholderia cepacia*, *Klebsiella pneumoniae*, *Nocardia* e *Serratia marcescens*. Além de pneumonia pode ocorrer o aparecimento de adenites supurativas, abscessos nos pulmões e tecido subcutâneo causados por *Staphylococcus aureus*, o desenvolvimento de osteomielites provocadas por *Serratia marcescens* e ainda a ocorrência de sepsis tendo como responsáveis espécies de *Salmonella*, *Staphylococcus aureus* e *Burkholderia cepacia*. (Oliveira et al., 2010; Reust et al., 2013)

Como consequência de estar a ocorrer no organismo do doente uma excessiva resposta inflamatória celular em que o microrganismo, mesmo assim, acaba por persistir, pode ocorrer também a formação de granulomas (pequena massa de tecido inflamado) que poderão causar obstrução do trato gastrointestinal e geniturinário. (Arosa et al., 2007)

Sempre que um paciente apresente infecções deste caráter, de forma severa e recorrente deve suspeitar-se de DGC e proceder-se à realização de exames para descartar a possibilidade de se estar na presença desta doença. Os principais métodos de diagnóstico utilizados para esta patologia são: citometria de fluxo pelo teste de oxidação da dihidrorodamina (DHR), teste do nitrozul de tetrazolio (NBT) e é ainda importante a realização de estudos de genética molecular para que se possa confirmar o diagnóstico, caracterizar o defeito genético em causa e para que seja possível detetar a doença numa fase pré-natal. (Arosa et al., 2007; Blaese et al., 2013)

b. Tratamento

Logo que a DGC seja detetada é necessário adotar uma terapia agressiva e intensiva para garantir a sobrevivência do paciente. Assim, uma profilaxia com antibióticos e antifúngicos é indispensável para que seja possível um controlo das infeções oportunistas características deste tipo de doença. (Arosa *et al.*, 2007; IPOPI., 2007)

Em conjunto com as medidas profiláticas são frequentemente adotados outros métodos terapêuticos, como é o caso da administração subcutânea de interferão gama (IFN- $\gamma$ ) cuja utilização tem demonstrado uma diminuição da frequência e severidade das infeções. Embora o seu mecanismo de ação ainda esteja em estudo, sabe-se que um tratamento com IFN- $\gamma$  induz a produção de óxido nítrico no interior de células fagocíticas, essencialmente nos neutrófilos. Este óxido nítrico é depois utilizado no decorrer do processo de fagocitose, pelo mecanismo independente de oxigénio, para a eliminação de microrganismos uma vez que este é um composto tóxico para fungos, parasitas, algumas bactérias e células tumorais. Apesar do IFN  $\gamma$  não reverter o defeito na produção de superóxido está demonstrado que a sua administração, subcutânea, 3 vezes por semana, reduz em 67% a ocorrência de novas infeções e não apresenta toxicidade significativa. (Arosa *et al.*, 2007; Lyseng-Wilamson, 2015; Marciano *et al.*, 2004)

O transplante de medula óssea permite a cura desta doença, mas é essencialmente realizado em doentes com DGC cujo historial clínico mostra casos de morbilidade significativos. (Arosa *et al.*, 2007; IPOPI, 2007).

Recentemente foi utilizada terapia génica em pacientes com mutações ao nível do gene CYBB, que codifica a subunidade p67<sup>phox</sup> e que está ligada ao cromossoma X (representa cerca de 60% dos casos com DGC), através da transferência de genes em células hematopoiéticas estaminais. O resultado inicial mostrou-se favorável, com melhorias ao nível de infeções fúngicas e bacterianas. Contudo a longo prazo os pacientes voltaram a apresentar as mesmas características iniciais pelo facto de terem ocorrido falhas nos genes transferidos, falhas essas que em alguns casos agravaram a situação uma vez que promoveram o crescimento de células malignas mieloides. Hoje

em dia continuam a ser investigadas formas que permitam melhorar esta técnica mas estão ainda em fase de teste. Uma delas consiste na criação de vetores de transferência de genes de segurança que permite por exemplo, uma expressão mieloide mais restrita do transgene. (Stein *et al.*, 2014)

c. Prognóstico

Os pacientes com DGC têm vindo a obter melhorias na sua qualidade e tempo de vida, é de esperar que crianças com esta doença consigam chegar e viver na idade adulta. Embora as previsões para estes pacientes sejam favoráveis é necessário que tenham em conta que estarão sempre em risco de contrair infeções graves ao longo das suas vidas, sendo por isso indispensável que se permaneçam cautelosos e tomem todas as medidas para evitar infeções. (Júnior, 2009)

ii. **Deficiências do eixo IFN- $\gamma$ / IL-12 (Interferão gama/ Interleucina 12)**

a. Características gerais

O eixo IFN- $\gamma$ / IL-12 é determinante na ativação dos fagócitos, para que estes atuem essencialmente contra micobactérias e alguns vírus. (Blease *et al.*, 2013)

Ao ser detetada uma infeção por algum destes agentes, os macrófagos iniciam a secreção de IL-12 que através do seu recetor IL-12R irá estimular as células T e NK a produzir INF- $\gamma$ . Este por sua vez irá desencadear a síntese de óxido nítrico (por parte das células fagocitárias) que é um composto tóxico para fungos, bactérias e outros agentes infecciosos. (Arosa *et al.*, 2007; Oliveira *et al.*, 2011)

Ao longo do tempo têm sido descobertos vários defeitos que afetam os processos do eixo IFN- $\gamma$ / IL-12, nestes estão envolvidas mutações em sete genes. Entre estes, existem genes que codificam recetores (*IFNGR1* ou *CD119*, *IFNGR2* e *IL12BR1*), outros codificam determinadas subunidades das citocinas (*IL12B*) e outros estão envolvidos na transdução de sinal (*STAT1*, *ISG15* e *IRF8*). Indivíduos que sejam portadores de algum

destes defeitos ficarão desprotegidos contra infecções por microrganismos como *Mycobacterium bovis*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Salmonella* spp e vírus como o Herpes Simples, por exemplo. (Alejo *et al.*, 2014)

Outra particularidade desta doença é que no que toca à deficiência de *IFNGR1*, podem existir dois tipos de doentes, aqueles com ausência total de *IFNGR1*, cuja hereditariedade é autossômica recessiva e a gravidade da doença é maior, havendo nestes casos um maior risco de mortalidade, e aqueles que são de origem autossômica dominante em que apenas existe uma diminuição da quantidade de *IFNGR1* e desta forma o risco de morte é menor. (Arosa *et al.*, 2007)

No que diz respeito ao diagnóstico desta doença, por norma é realizada uma citometria de fluxo que irá permitir averiguar a expressão de *CD119*, de *STAT1* e de *IL-12B*. Por fim para que haja uma confirmação do diagnóstico deve ser feita uma sequenciação dos genes afetados. (Alejo *et al.*, 2014; Oliveira *et al.*, 2011)

#### b. Tratamento

Consoante a mutação e agentes patogénicos que afetam cada paciente, deve ser feita uma adaptação do tratamento. Desta forma, inicialmente deverá ser feita a seleção de medicamentos antimicrobianos cuja sua ação seja a mais indicada para o tipo de infeção ou infeções que o paciente contraiu ou possa vir a contrair. (Caragol *et al.*, 2003; Goldman *et al.*, 2012)

Outra medida utilizada, à exceção dos casos em que há uma ausência total de *IFNGR1*, é a administração subcutânea de IFN- $\gamma$ , que por norma tem resultados bastante favoráveis quando coadjuvada com agentes antimicrobianos. No caso dos indivíduos que possuem uma total deficiência em *IFNGR1* o único tratamento que surge efeito é o transplante de medula óssea, uma vez que todos os outros levam ao aparecimento de recaídas. (Arosa *et al.*, 2007; Goldman *et al.*, 2012)

#### c. Prognóstico

Embora as terapêuticas acima referidas permitam controlar bastante a doença, ainda existe uma grande taxa de mortalidade, principalmente, em indivíduos que possuem uma total ausência de *IFNGR1* e que não tenham sido sujeitos ao transplante de medula. (Arosa *et al.*,2007; Goldman *et al.*, 2012)

É ainda de salientar que os pacientes devem ser constantemente vigiados pelo médico, uma vez que estão sempre em risco de contrair infecções graves. (Arosa *et al.*,2007; Goldman *et al.*, 2012)

### iii. Deficiências de grânulos

Os neutrófilos apresentam grânulos na sua constituição cuja sua formação ou função pode ser anormal, dizendo-se que se está perante uma deficiência de grânulos. Essas deficiências podem ser essencialmente de dois tipos: deficiência de grânulos específicos e deficiência de mieloperoxidase.(Arosa *et al.*,2007)

#### a. Características gerais

##### iii.i Deficiência de grânulos específicos

A deficiência de grânulos específicos (SGD – do inglês *specific granule deficiency*), é uma doença bastante rara de caráter autossômico recessivo, que apresenta como particularidade uma ausência ou diminuição dos grânulos específicos (ou secundários) dos neutrófilos. (Arosa *et al.*,2007)

Estruturalmente os neutrófilos têm um núcleo trilobado e possuem no citoplasma três tipos de grânulos (grânulos primários ou azurófilos, grânulos secundários ou específicos e grânulos terciários), no interior dos quais estão contidas substâncias importantes para a eliminação de agentes patogénicos. (Arosa *et al.*,2007)

Nos pacientes portadores de deficiência de grânulos específicos, como o nome indica, há nos neutrófilos uma ausência ou diminuição destes, havendo por isso uma diminuição ou inexistência das proteínas e enzimas que estes grânulos armazenam

(essencialmente lactoferrinas, lisosimas, proteínas de ligação da vitamina B<sub>12</sub>) e que são fundamentais já que têm atividade bactericida e/ou bacteriostática e participam na mobilização de mediadores inflamatórios ao nível extracelular (processo de quimiotaxia). (Goldman *et al.*, 2012; Hoffman *et al.*, 2013)

Como consequência de todos estes defeitos e carências a imunidade dos indivíduos portadores da doença fica comprometida e haverá com frequência o aparecimento de infecções fúngicas e bacterianas graves que normalmente afetam sobretudo a pele e sistema respiratório. Essas infecções são maioritariamente causadas por *Pseudomonas aeruginosas*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* e *Enterobactereaceae*. (Hoffman *et al.*, 2013)

Relativamente à causa desta doença, foi detetada em alguns pacientes uma ausência do fator C/EBP $\epsilon$  (do inglês *CCAAT/enhancer protein  $\epsilon$* ). Este é um fator de transcrição específico mieloide, essencial na diferenciação dos granulócitos, nomeadamente na transcrição de proteínas granulares. (Hanger *et al.*, 2010; Shigemura *et al.*, 2014; Gombart *et al.*, 2001)

No entanto, nem todos os indivíduos que possuem SGD apresentam ausência de C/EBP $\epsilon$ , o que demonstra que esta é uma doença heterogénea e que sendo assim outros mecanismos moleculares podem estar envolvidos, mecanismos esses que ainda se encontram em estudo. (Gombart *et al.*, 2001; Leung *et al.*, 2011)

Para diagnosticar esta doença são normalmente utilizadas três técnicas que permitem estudar aprofundadamente os componentes dos grânulos dos neutrófilos. Essas técnicas são: Western-blot, microscopia eletrónica e citometria de fluxo. (Shigemura *et al.*, 2014; Goldman *et al.*, 2012)

### iii.ii Deficiência de mieloperoxidase

A mieloperoxidase é uma enzima da família das peroxidases que atua na eliminação de microrganismos patogénicos através do processo de fagocitose pelo mecanismo dependente de oxigénio. Esta enzima encontra-se em abundância nos grânulos azurófilos (ou primários) dos neutrófilos, onde também se encontram outras proteínas com ação antimicrobiana, e em menor quantidade nos grânulos dos monócitos

(acabando por desaparecer quando os monócitos se diferenciam em macrófagos). (Arosa *et al.*, 2007; Ren *et al.*, 2012)

Como foi explicado anteriormente (pág. 18 e 19) durante o mecanismo dependente de oxigénio que ocorre no processo de fagocitose, a enzima mieloperoxidase é de grande importância, uma vez que é responsável por converter o peróxido de hidrogénio ( $H_2O_2$ ), em ácido hipocloroso (HOCl), um composto com elevada toxicidade para inúmeros microrganismos (bactérias, fungos e vírus). E embora o peróxido de hidrogénio ( $H_2O_2$ ) por si só já possua capacidades microbicidas, a sua conversão pela mieloperoxidase em ácido hipocloroso (HOCl) irá tornar a eliminação dos patogénicos mais rápida e eficaz. (Arnhold *et al.*, 2010; Homme *et al.*, 2013; Rene *et al.*, 2012)

Posto isto, uma ausência da enzima mieloperoxidase não irá impedir a eliminação dos agentes patogénicos por parte dos neutrófilos, uma vez que, a ação microbicida do  $H_2O_2$  e das restantes proteínas continua a existir, apenas haverá uma ação mais lenta contra os microrganismos. Assim sendo, são raros os casos de indivíduos que contraem infeções pelo facto de possuírem deficiência de mieloperoxidase. No entanto, têm sido reportados casos em que a diabetes mellitus ou cancro, na ausência da enzima mieloperoxidase, funcionam como cofator para haver o aparecimento de infeções graves por espécies de *Candida* ao nível da pele, mucosas, meninges e ossos. (Ren *et al.*, 2012; Goldman *et al.*, 2012)

Hereditariamente, a deficiência de mieloperoxidase é uma doença autossómica recessiva e a sua expressão é altamente variável, uma vez que na sua origem podem estar mutações de diversos genótipos. (Ren *et al.*, 2012)

Estudos genéticos demonstraram cinco genótipos como os principais na origem desta doença, estando quatro deles relacionados com mutações no gene *Mieloperoxidase* (*MPO*) em que há uma troca de aminoácidos na região que codifica o gene *MPO* (R569W, Y173C, M251T e R499C) e um outro correspondente a uma mutação que afeta a estrutura da enzima mieloperoxidase (G501S) (tabela 2). (Ren *et al.*, 2012)

Tabela 2 - Mutações e suas respectivas consequências referentes aos genótipos possíveis de existir na deficiência de mieloperoxidase. Adaptado de Ren et al., 2012.

Genótipo	Mutação	Consequência
R569W	Substituição de aminoácido de triptofano por arginina no codão 569 do gene <i>MPO</i> .	Formação de proteínas inativas de mieloperoxidase que não chegam aos grânulos azurófilos.
Y173C	Substituição de aminoácido de tirosina por cisteína ao nível do codão 173 do gene <i>MPO</i> .	Enrolamento incorreto da proteína originando mieloperoxidase com anomalias que será eliminada posteriormente pelo sistema ubiquitina-proteasoma.
M251T	Substituição de metionina por treonina, ao nível do codão 251 do gene <i>MPO</i> .	Formação de mieloperoxidase madura mas com atividade enzimática muito baixa.
R499C	Substituição de aminoácido de arginina por cisteína no codão 499 do gene <i>MPO</i> .	Transcrição de uma mieloperoxidase com anomalias, anomalias essas, que farão com que a proteína seja eliminada pelo sistema ubiquitina-proteasoma.
G501S	Mutação genética ao nível da região onde se liga o grupo heme proteína mieloperoxidase.	Alteração da integridade estrutural da enzima MPO que não terá estabilidade para exercer a sua ação.

Quanto ao diagnóstico, a técnica mais utilizada para a detecção de deficiência de mieloperoxidase, é a coloração imuno-histoquímica em esfregaços de sangue periférico, para se observar se há ausência de marcação da peroxidase. (Goldman *et al.*, 2012)

#### b. Tratamento

Quer na deficiência de grânulos específicos quer na deficiências de mieloperoxidase não existe um tratamento específico, apenas são adotadas terapêuticas com agentes antimicrobianos para que haja uma prevenção e/ou controle das infecções que possam surgir uma vez que os indivíduos têm o seu sistema imune debilitado. (Ren *et al.*, 2012; Goldman *et al.*, 2012)

No caso da deficiência de mieloperoxidase é ainda de salientar que deve ser feito um controle rigoroso da glicose sanguínea em pacientes que também possuam diabetes

mellitus já que este é considerado, como referido atrás, um cofator para se contraírem determinadas infeções. (Goldman *et al.*, 2012; Leung *et al.*, 2011)

c. Prognóstico

No que diz respeito ao futuro dos pacientes portadores da deficiência de grânulos específicos ou da deficiência de mieloperoxidase, é de esperar que estes cheguem à idade adulta e usufruam de uma vida dentro da normalidade, claro está, que para tal devem ser seguidas à risca todas as terapêuticas que sejam consideradas as mais indicadas para cada um deles. (Goldman *et al.*, 2012; Hoffman *et al.*, 2013)

**iv. Síndrome de Chediak-Higashi**

a. Características gerais

Esta síndrome transmite-se de forma autossómica recessiva e tem uma incidência bastante rara. Pensa-se que a sua origem esteja associada a mutações no gene *LYST* (do inglês *Lysosomal Trafficking*) que se localiza no cromossoma 1q42-44 e que codifica para uma proteína também denominada *LYST* que pode ser encontrada no citoplasma de várias células e tecidos. Ainda não se sabe ao certo qual o seu mecanismo de ação mas pensa-se que a sua função esteja envolvida na regulação do tamanho dos lisossomas e outros grânulos e na mediação do processo de fusão que pode ocorrer entre as membranas de alguns organelos, como por exemplo lisossomas e fagossomas. (Arosa *et al.*, 2007; Introne *et al.*, 2015; Lozano *et al.*, 2014)

As anomalias biológicas que caracterizam esta doença são várias, passando nomeadamente pelo aparecimento de organelos citoplasmáticos com tamanho gigante anormal (ex: lisossomas e melanossomas) em praticamente todas as células granuladas (granulócitos, mastócitos, melanócitos, neurónios, fibroblastos, plaquetas), o que indica que estas células não amadureceram de forma correta e consequentemente as suas funções estarão comprometidas; Ocorrência de anomalias ao nível dos mecanismos de

fusão entre membranas (ex: atraso na fusão entre a membrana de um lisossoma com a de um fagossoma durante o processo de fagocitose); Baixa capacidade de desgranulação por parte dos fagócitos; Atrofia difusa do cérebro e medula óssea e diminuição da capacidade citotóxica dos linfócitos T e NK. (Arosa *et al.*, 2007; Introne *et al.*, 2015; Lozano *et al.*, 2014; Nagai *et al.*, 2013)

Como consequência os indivíduos portadores desta síndrome apresentam, desde muito cedo, manifestações clínicas como, infecções recorrentes (causadas na maioria das vezes por *Staphylococcus aureus* e espécies  $\beta$ -hemolíticas de *Streptococcus*), albinismo oculocutâneo parcial, tendência para sangramento e hematomas e atrasos ao nível neurológico. (Arosa *et al.*, 2007; Nagai *et al.*, 2013)

Assim sendo, quando uma criança apresenta albinismo oculocutâneo parcial juntamente com um histórico de infecções recorrentes e/ou episódios de hemorragias frequentes, deve ser considerada a hipótese de se estar na presença da Síndrome de Chediak-Higashi e proceder-se de imediato ao diagnóstico. O primeiro passo será a execução de uma análise microscópica a esfregaços de sangue periférico, e se a criança for mesmo portadora da síndrome, irão observar-se grânulos de tamanho anormal no citoplasma de granulócitos. Pode ainda ser feita a observação microscópica de cabelo, que irá revelar a presença de grânulos de melanina de dimensões maiores que o normal. Por fim, a confirmação do diagnóstico é dada pela análise genética do DNA (do inglês *Deoxyribonucleic Acid*) do paciente tentando detetar-se uma mutação ao nível do gene *LYST*. (Hans *et al.*, 2006; Introne *et al.*, 2015; Lozano *et al.*, 2014)

#### b. Tratamento

No que diz respeito ao tratamento, não existe nada em específico para a Síndrome de Chediak-Higashi. O transplante de medula óssea deve ser a prioridade, uma vez que permitirá curar os defeitos hematológicos e imunológicos. Caso este não seja possível, para que haja um controlo das manifestações clínicas pode recorrer-se ao uso de antimicrobianos para se tentar tratar e prevenir as infecções e por vezes pode ser necessário recorrer ao transplante de plaquetas devido à ocorrência de hemorragias graves. Relativamente às complicações neurológicas que esta síndrome acarreta,

normalmente recorre-se ao tratamento de especialistas de reabilitação nessa área. (Hans *et al.*, 2006; Introne *et al.*, 2015; Lozano *et al.*, 2014)

c. Prognóstico

O prognóstico nestes casos não é muito favorável, uma vez que se não forem submetidos a um transplante de medula os pacientes acabam por falecer antes mesmo de chegarem à idade adulta. (Hans *et al.*, 2006)

v. **Deficiência de adesão dos leucócitos**

a. Características gerais

Uma invasão no organismo por parte de um agente estranho, desencadeia um processo de inflamação aguda, que se caracteriza essencialmente pela ocorrência de vasodilatação, aumento da permeabilidade dos capilares, aumento do fluxo sanguíneo, migração de leucócitos para a zona lesada e algumas outras reações. (Arosa *et al.*, 2007; Aster *et al.*, 2012)

Os leucócitos têm um papel muito importante na defesa do organismo contra agentes infecciosos e consistem essencialmente em neutrófilos, linfócitos, monócitos, eosinófilos e basófilos. (Aplegate., 2012)

Quando os macrófagos, presentes nos tecidos, detetam um agente estranho, irão fagocitá-lo e libertar citocinas, nomeadamente TNF e IL-1, que irão induzir as células endoteliais das paredes dos vasos sanguíneos, a ativarem à sua superfície moléculas chamadas selectinas (selectina-P e selectina-E) que irão “chamar para si” leucócitos que se encontram em circulação na corrente sanguínea. Esses leucócitos possuem à sua superfície uma glicoproteína denominada Sialil-LewisX que possui uma afinidade (fraca) para as selectinas P e E das células endoteliais, formando-se assim, uma fraca

ligação entre elas. Como esta ligação é de baixa intensidade, a força da corrente sanguínea leva ao “rolamento” dos leucócitos ao longo do epitélio vascular. No decorrer deste processo estão simultaneamente a ser produzidas, no tecido infectado, quimiocinas que irão chegar aos leucócitos. Os leucócitos vão reconhecer essas quimiocinas e as integrinas de adesão (moléculas que os leucócitos também possuem na sua superfície), irão sofrer uma alteração estrutural e passar de baixa afinidade para alta afinidade, afinidade essa, que irá permitir a ligação forte destas integrinas a um ligando existente na membrana das células endoteliais, o ICAM-1. Desta ligação resulta a forte adesão dos leucócitos às células endoteliais e posteriormente os leucócitos ganham uma forma achatada que lhes permitirá atravessara parede dos vasos sanguíneo, já que, com o processo inflamatório houve um aumento da permeabilidade capilar, e assim conseguirão migrar para os locais da infecção e exercer a sua ação antimicrobiana (fagocitose, libertação de enzimas lisossomais e geração de espécies reativas de oxigênio) (Figura 5). (Aster *et al.*, 2012)

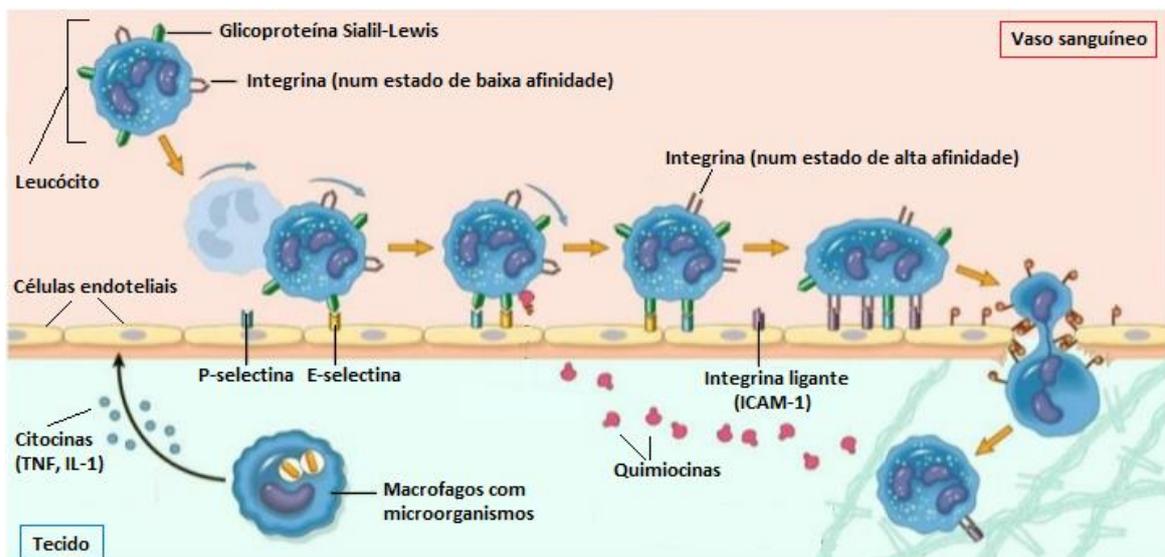


Figura 5 - Mecanismos do processo de migração leucocitária através de um vaso sanguíneo. Adaptado de Aster *et al.*, 2012.

Por vezes, durante o processo de migração leucocitária, ocorrem falhas na etapa de adesão dos leucócitos às células epiteliais, o que compromete a chegada dos leucócitos

ao local da infecção e conseqüentemente a sua ação contra os agentes patogênicos. (Arosa *et al.*, 2007; Errante *et al.*,2011)

Estas anomalias são designadas por deficiências de adesão dos leucócitos ou LAD (do inglês *Leucocyte Adhesion Deficiencies*) e caracterizam-se por defeitos genéticos que afetam a expressão e função de algumas moléculas (nomeadamente as integrinas), que participam na adesão dos leucócitos não só a células epiteliais mas também a microrganismos e a outras células imunológicas. Até ao momento foram identificados três tipos de LAD, sendo que, todas elas são de origem autossômica recessiva: LAD tipo 1, LAD tipo 2 e LAD tipo 3. (Arosa *et al.*, 2007; Errante *et al.*,2011)

A LAD tipo 1 é a deficiência de adesão leucocitárias mais prevalente e afeta principalmente os neutrófilos. Manifesta-se clinicamente por infeções fúngicas e bacterianas como periodontites, úlceras cutâneas, gengivites, abscessos e ainda atrasos na cicatrização de feridas, ausência de formação de pus e queda retardada do cordão umbilical. (Arosa *et al.*, 2007; Errante *et al.*,2011; Schmidt *et al.*,2012)

São apontadas como causa desta doença várias mutações ao nível do gene *ITGB2*, que codifica a cadeia CD18 comum à família das beta-2-integrinas, o que resultará numa ausência ou deficiente expressão das beta-2-integrinas que se encontram à superfície dos leucócitos. Desta forma, as mutações irão impedir a formação das seguintes integrinas: *CD18/CD11a* ou *LFA-1* (do inglês *Leucocyte Functional Antigen type 1*) – importantes na mediação da adesão dos leucócitos às células endoteliais e a outros leucócitos; *CD18/CD11b* ou *CR3* (do inglês *Complement Receptor type 3*) – capacidade de se ligar a C3b, promovendo a fagocitose de partículas opsonizadas pelo C3b; *CD18/CD11c* ou *CR4* (do inglês *Complement Receptor type 4*) – liga-se a C4 e medeia a adesão dos leucócitos. (Arosa *et al.*, 2007; Errante *et al.*,2011)

Para este caso o diagnóstico é feito por citometria de fluxo e é avaliada a presença de expressão de CD18 em leucócitos de sangue periférico. A gravidade da situação do paciente é menor se, apesar de diminuída, se detete alguma expressão de CD18. (Arosa *et al.*, 2007)

Relativamente à LAD tipo 2, esta pode ser também designada por doença congénita de glicosilação-IIc e tem como base molecular uma mutação no gene *SLC35C1* que codifica para o transportador de fucose-difosfato de guanosina, responsável pelo

transporte de fucose-difosfato de guanosina desde o citosol até ao complexo de Golgi, onde será usado como substrato para a reação de fucosilação que é importante na formação da glicoproteína Sialil-Lewis (CD15). Esta anomalia, fará com que não ocorra a etapa de “rolamento” do processo de migração leucocitária em que há a ligação fraca entre a glicoproteína Sialil-Lewis com as selectinas E e P das células endoteliais (Figura 5), consequentemente os leucócitos não chegarão ao local da infeção onde iriam exercer a sua ação antimicrobiana. (Arosa *et al.*, 2007; Errante *et al.*, 2011; Schmidt *et al.*, 2012)

As manifestações clínicas que ocorrem nos pacientes portadores desta deficiência são semelhantes às da LAD tipo 1, acrescentando-se atrasos no crescimento físico e mental e presença do grupo sanguíneo de Bombay (não expressam o antígeno H). (Arosa *et al.*, 2007; Etzioni., 2009)

Para o diagnóstico, é também utilizada a técnica de citometria de fluxo, para se detetar a expressão de CD15 em leucócitos de sangue periférico. E ainda a realização de um hemograma para detetar se há presença do grupo sanguíneo de Bombay (está sempre presente em doentes com LAD tipo 2). (Arosa *et al.*, 2007; Etzioni., 2009)

Quanto à LAD tipo 3, esta é uma anomalia bastante rara e os pacientes sofrem de infeções e outros sintomas semelhantes aos que ocorrem em LAD tipo 1 podendo ainda apresentar um síndrome hemorrágico grave chamado trombostenia de Glanzmann. (Etzioni., 2009; Vijver *et al.*, 2013)

Pensa-se que esta doença seja causada por mutações no gene *FERMT3* que codifica a proteína kindlina-3 das células hematopoiéticas, proteína essa que tem um papel importante na ativação de todas as beta-integrinas. Ao não haver ativação das beta-integrinas, não haverá ao nível dos leucócitos, a ativação das integrinas responsáveis pela adesão dos leucócitos às células endoteliais dos vasos sanguíneos (etapa que ocorre durante o processo de migração leucocitária durante uma infeção (Figura 5)). Desta forma, os leucócitos não chegarão ao local da infeção como aliás também acontece em todas as outras LADs. (Etzioni., 2009; Vijver *et al.*, 2013)

## b. Tratamento

Para os doentes com LAD tipo 1 a única cura possível é o transplante de células hematopoéticas, embora pacientes que apresentam alguma expressão de CD18 possam sobreviver se houver um controlo das infeções com antibacterianos e antifúngicos. Encontra-se ainda em estudo a possibilidade de ser feita terapia génica nestes pacientes mas ainda não existe nada em concreto. (Arosa *et al.*, 2007; Etzioni., 2009)

Na LAD tipo 2 a terapêutica utilizada é o controlo das infeções com antibióticos e antifúngicos e em alguns casos pode ser feita a administração de fucose que irá ajudar a melhorar a ação dos leucócitos. (Etzioni., 2009)

No que diz respeito ao tratamento da LAD tipo 3, este apenas é possível com o transplante de medula óssea. (Etzioni., 2009)

### c. Prognóstico

Em relação à LAD tipo 1, os pacientes que apresentam uma condição grave (ausência total de expressão de CD18) acabam por morrer nos primeiros anos de vida caso não lhes seja feito um transplante de células hematopoiéticas. Em casos menos graves, em que existe alguma expressão de CD18, há uma grande possibilidade dos pacientes chegarem à idade adulta, se houver um controlo das infeções. (Arosa *et al.*, 2007; Etzioni., 2009)

No caso de indivíduos portadores de LAD tipo 2, são escassos os casos de morte devido às infeções, por isso, regra geral os pacientes sobrevivem até à idade adulta. (Etzioni., 2009)

O prognóstico para os doentes com LAD tipo 3 não é muito favorável, visto que, se não for feito um transplante de medula logo no início da infância, os pacientes acabam por falecer. (Etzioni., 2009)

## VI. Conclusão

As imunodeficiências primárias dos fagócitos caracterizam-se pela presença de defeitos genéticos que afetam a quantidade e/ou função das células fagocitárias ou fagócitos (ex. neutrófilos). Estas células são de grande importância para a defesa do nosso organismo uma vez que permitem eliminar agentes patogénicos como bactérias e fungos.

Destas imunodeficiências fazem parte um conjunto de doenças nas quais um ou mais componentes fagocitários se encontram afetados ao nível genético. Como consequência os indivíduos portadores destas doenças apresentam manifestações clínicas que passam essencialmente pelo aparecimento de infeções graves e recorrentes como por exemplo, infeções pulmonares, hepáticas ou ósseas e abscessos cutâneos e viscerais.

De uma forma geral em todas estas enfermidades o tratamento inicial passa pela administração de antibióticos e/ou outros antimicrobianos, para que haja um controlo e prevenção das infeções. Em alguns casos é possível efetuar imunoterapia onde é feita a administração de compostos como G-CSF e IFN- $\gamma$ .

A cura total da imunodeficiência fagocitária pode ser alcançada com um transplante de medula óssea, embora a dificuldade no encontro de um dador compatível e as complicações subjacentes da reação de rejeição tornem outros campos de estudo atrativos, como o caso da terapia génica.

Na maioria das imunodeficiências fagocitárias a terapia génica está ainda na sua fase inicial com exceção da DGC em que a mesma já foi utilizada em grupos de pacientes que não respondiam aos tratamentos convencionais, com alguns resultados encorajadores. Mais estudos são necessários para a consolidação destes resultados

O prognóstico para a maioria dos pacientes tem-se mostrado favorável uma vez que, se forem cumpridas à risca as terapêuticas específicas para cada um deles, é de esperar que consigam chegar à idade adulta e usufruir de uma vida dentro da normalidade.

## VII. Bibliografia

Alejo, N. R., Argumedo, L.S. (2014). Innate Defects of the IL-12/IFN- $\gamma$  Axis in Susceptibility to Infections by *Mycobacteria* and *Salmonella*. *Journal of interferon & cytokine research*. 34(5), pp. 307-317.

Applegate, E. (2012). *Anatomia e Fisiologia*. 4ª Edição, Brasil, Elsevier

Arosa, F. et al. (2007). *Fundamentos de Imunologia*. 1ª Edição, Lisboa, LIDEL.

Arnhold, J. Flemming, J. (2010). Human myeloperoxidase in innate and acquired immunity. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 500(1), pp. 92-106.

Aster, K. A. et al. (2012). *Robbins Basic Pathology*. 9ª Edição, Canada, Elsevier Saunders.

Aytekin, C. et al. (2010). Kostmann disease with developmental delay in three patients. *European Journal of Pediatrics*. 169(6), pp.759-762.

Batalha, S. et al. (2011). Imunodeficiências primárias – Revisão da fisiopatologia, classificação, abordagem, diagnóstico e terapêutica, *Saúde Infantil*, 33(3), pp.97-102.

Blaese, R. M. et al. (2013). *Patient & Family Handbook for Primary Immunodeficiency Diseases*. 4ª Edição, USA, Immune Deficiency Foundation.

Caragol, I., Casanova, J-L. (2003). Inherited disorders of the Interleukin-12/Interferon-gamma axis: Mendelian predisposition to mycobacterial disease in man. *Immunología*. 22(3), pp. 263-276.

Chinen, J. et al. (2010). Secondary immunodeficiencies, including HIV infection, *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 125(2), pp.195-203.

Cruvel, W. M. *et al.* (2010). Fundamentos da imunidade inata com ênfase nos mecanismos moleculares e celulares da resposta inflamatória, *Revista Brasileira Reumatológica*, 50(4), pp.434-461.

Donadieu, D. *et al.* (2011). Congenital neutropenia: diagnosis, molecular bases and patient management. *Orphanet Journal of Rare Diseases*. 26(6), pp.1-28.

Errante, P. R. *et al.* (2011). Deficiência de adesão leucocitária tipo I. *Revista Brasileira de Alergia e Imunopatologia*. 34(6), pp. 225-233.

Errante, P. R. *et al.* (2013). Neutropenia Congênita. *Brazilian Journal of Allergy and Immunology*. 1(1), pp.23-38.

ESID – European Society for Immunodeficiencies. [Em linha]. Disponível em <<http://esid.org/Working-Parties/Registry/ESID-Database-Statistics/>>. [Consultado em 05/03/2015].

Etzioni, A. (2009). Deficiência de adesão leucocitária tipo I. [Em linha]. Disponível em <[http://www.orpha.net/consor/cgi-bin/OC\\_Exp.php?lng=PT&Expert=99842](http://www.orpha.net/consor/cgi-bin/OC_Exp.php?lng=PT&Expert=99842)>. [Consultado em 05/07/2015].

Etzioni, A. (2009). Deficiência de adesão leucocitária tipo II. [Em linha]. Disponível em <[http://www.orpha.net/consor/cgi-bin/OC\\_Exp.php?lng=PT&Expert=99843](http://www.orpha.net/consor/cgi-bin/OC_Exp.php?lng=PT&Expert=99843)>. [Consultado em 05/07/2015].

Etzioni, A. (2009). Deficiência de adesão leucocitária tipo II. [Em linha]. Disponível em <[http://www.orpha.net/consor/cgi-bin/OC\\_Exp.php?lng=PT&Expert=99844](http://www.orpha.net/consor/cgi-bin/OC_Exp.php?lng=PT&Expert=99844)>. [Consultado em 05/07/2015].

Goldman, L., Schafer, A. I. (2012). *Goldman's Cecil Medicine*. 24ª Edição, Filadélfia, Elsevier Saunders.

Gombart, A. F. *et al.* (2001). Neutrophil-specific granule deficiency: homozygous recessive inheritance of a frameshift mutation in the gene encoding transcription factor CCAAT/enhancer binding protein-ε. *Blood Journal*. 97(9), pp. 2561-2567.

Hajishengallis, E. *et al.* (2014). Neutrophil Homeostasis and Periodontal Health in Children and Adults. *Journal of Dental Research*. 93(3), pp. 231-237.

Hanger, M. *et al.* (2010). Neutrophil granules in health and disease. *Journal of internal medicine*. pp. 25-34.

Hans, D. *et al.* (2006). Primary Immunodeficiency Diseases : A Molecular & Cellular Approach, 2ª Edição, USA, Oxford University.

Hoffman, R. *et al.* (2013). *Hematology: Diagnosis and Treatment*. 6ª Edição, Filadélfia, Elsevier.

Homme, M. *et al.* (2013). Myeloperoxidase deficiency in mice exacerbates lung inflammation induced by nonviable *Candida albicans*. *Inflammation Research*. 62(11), pp. 981-990.

Immune Deficiency Foundation. (2013) The Immune System and Primary Immunodeficiency [Em linha]. Disponível em < <http://primaryimmune.org/about-primary-immunodeficiencies/relevant-info/the-immune-system/>>. [Consultado em 09/04/2015].

Introne, W. J. *et al.* (2015). Chediak-Higashi Syndrome. *GeneReviews*. pp. 1-25

IPOPI. (2007). Chronic Granulomatous Disease. USA, Immune Deficiency Foundation.

Júnior, P. R. (2009). Imunodeficiências primárias: aspectos relevantes para o pneumologista. *Jornal Brasileiro de Pneumologia*. 35(10), pp.1008-1017.

Kang, E.M. (2010). Retrovirus gene therapy for X-linked chronic granulomatous disease can achieve stable long-term correction of oxidase activity in peripheral blood neutrophils. *Blood Journal*. 115(4), pp.783-791

Leung, D. Y. M. et al. (2011). *Pediatric Allergy: Principles and Practice*. 2ª Edição, Elsevier.

Lozano, M. L. et al. (2014). Towards the targeted management of Chediak-Higashi syndrome. *Orphanet Journal of Rare Diseases*. 9(1), pp. 1-11.

Lyseng-Williamson, K. A. (2015). Interferon  $\gamma$ -1b in chronic granulomatous disease and severe malignant osteopetrosis: a guide to its use in the USA. *Drugs and Therapy Perspective*. 31(7), pp. 213-220.

Marciano, BE. et al. (2004). Long-term interferon-gamma therapy for patients with chronic granulomatous disease. *Clinical Infectious Diseases – Oxford Journals*. 39(5), pp. 692-699.

Nagai, K. et al. (2013). Clinical characteristics and outcomes of chédiak–Higashi syndrome: A nationwide survey of Japan. *Pediatric Blood & Cancer*. 60(10), pp. 1582-1586.

Notarangelo, L. D. (2010). Primary immunodeficiencies, *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 125(2), pp.182-194.

Oliveira, J. B. et al. (2010). Laboratory evaluation of primary immunodeficiencies. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 125(2), pp.297-305.

Oliveira, S. F. et al. (2011). Defeitos da fagocitose, *Saúde Infantil*, 33(3), pp.122-127.

Owen, J.A. et al. (2013). *Kubby Immunology*. 7ª Edição, New York, W. H. Freeman and Company.

- Parslow, T. *et al.* (1997). *Medical Immunology*. 10ª Edição, Appleton & Lange.
- Paul, W. E. (2003). *Fundamental Immunology*., 5ª Edição, Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins.
- Peakman, M., Vergani, D. (2011). *Imunologia Básica e Clínica*. 2ª Edição, Rio de Janeiro, Elsevier.
- Polańska, B. (2009). Chronic granulomatous disease – primary phagocytic immunodeficiency. *Central European Journal of Immunology*. 34(3), pp.182-191.
- Ren, R. *et al.* (2012). The Molecular Pathophysiology, Differential Diagnosis, and Treatment of MPO Deficiency. *Clinical & Experimental Pathology Journal*. 2(3), pp. 1-8.
- Reust, C. E. *et al.* (2013). Evaluation of Primary Immunodeficiency Disease in Children. *American Family Physician*. 87(11), pp.773-778.
- Rezai, N. *et al.* (2008). *Primary Immunodeficiency Diseases*. 1ª Edição, Springer-Verlag Berlin Heidelberg
- Ribeiro, L. *et al.* (2011). Uma visão da abordagem da neutropenia. *Nascer e Crescer - revista do hospital de crianças maria pia*. 20(4), pp.255-261.
- Roques, G. *et al.* (2014). Neurological findings and genetic alterations in patients with Kostmann syndrome and HAX1 mutations. *Pediatric Blood Cancer*. 61 (1), pp.1041-1048.
- Schmidt, S. *et al.* (2012). The molecular basis of leukocyte recruitment and its deficiencies. *Molecular Immunology*. 55(1), pp. 49-58.

Shigemura, T. *et al.* (2014). Clinical Course in a Patient With Neutrophil-Specific Granule Deficiency and Rapid Detection of Neutrophil Granules as a Screening Test. *Journal of Clinical Immunology*. 34(7), pp. 780-783.

Stein, S. *et al.* (2014). Gen- und Zelltherapie monogener erkrankungen des Blutsystems. *Georg Speyer Haus Institut für tumorbiologie und experimentelle therapie*. pp. 64-66.

.Vijver, E. V. *et al.* (2013). Kindlin-3-independent adhesion of neutrophils from patients with leukocyte adhesion deficiency type III. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 133(4), pp. 1215-1218.

Weinrauch, Y *et al.* (2002). Neutrophil elastase targets virulence factors of enterobacteria. *Nature*. 417, pp. 91-94.

Zambetti, N. A. *et al.* (2015). Deficiency of the ribosome biogenesis gene *Sbds* in hematopoietic stem and progenitor cells causes neutropenia in mice by attenuating lineage progression in myelocytes. *European Hematology Association*. 100(9), pp. 1-39.