

Biomedicina

Medicina

A IMPORTANCIA DO USO DA CITOMETRIA DE FLUXO NO DIAGNÓSTICO DOS ERROS INATOS DA IMUNIDADE

Formatado: Fonte: Negrito

Luiza Schmitz de Mattos – luiza.schmitz@hotmail.com

Ana Luísa Hümmelgen - anahummelgen@hotmail.com

Carolina Cardoso de Mello Prando - carolina.prando@fpp.edu.br

INTRODUÇÃO

A citometria de fluxo é uma técnica de grande importância clínica devido à vasta capacidade diagnóstica e eficiência para avaliação de características celulares. A técnica se torna muito útil no diagnóstico dos Erros Inatos da Imunidade (EII) por permitir a análise quantitativa e qualitativa de tipos celulares, além do relativo baixo custo em comparação a investigações genéticas, que do mesmo modo podem servir como método diagnóstico desta classe de distúrbios. Os EIs compreendem um grupo de cerca de 350 doenças genéticas onde um ou mais componentes do sistema imunológico estão em número diminuído ou com função deficiente. Desta forma, portadores de EIs apresentam infecções recorrentes, graves e prolongadas, autoimunidade e maior risco de desenvolver neoplasias. (5,6,7)

REVISÃO DE LITERATURA

Os EIs estão relacionados a alterações na produção ou função no sistema imunológico causando infecções de repetição, além de manifestações de autoimunidade, malignidade e linfoproliferação (1). Os EIs apresentam prevalência estimada em 1/1,200. Até 2018, mais de 344 genes haviam sido descritos a cerca de mais de 350 distúrbios. (1,2)

Outros sinais sugestivos de EII são: histórico familiar de EII ou infecções de repetição, uso prolongado/recorrente de antibióticos, infecção de difícil controle. Após a suspeita clínica, faz-se necessário proceder aos exames imunológicos para confirmação diagnóstica. Em decorrência do alto custo dos testes genéticos, a citometria de fluxo é uma importante ferramenta utilizada na investigação de EIs, além de ser eficaz na monitorização das doenças, bem como em seu prognóstico. (3, 4)

Devido a grande variedade de categorias de imunodeficiências, o uso da citometria de fluxo se torna oportuno pela vasta aplicabilidade em vários contextos como na avaliação da expressão e função celular, imunofenotipagem ou mesmo como teste confirmatório e monitoramentos de doenças específicas. (8).

A técnica da citometria de fluxo é capaz de determinar diferentes parâmetros de diversos tipos celulares em uma suspensão através da dispersão da luz incidida nestes, permitindo obtenção de informações quantitativas, qualitativas, funcionais e fenotípicas. (6). O princípio da técnica é a análise de um fluxo laminar de partículas em suspensão através da dispersão da luz incidida nestas, sendo possível a determinação de diversas características do alvo. O citômetro é composto por três principais sistemas, o óptico, o eletrônico e o de fluídos. O sistema óptico consiste no laser

aplicado no fluxo laminar e na dispersão da luz ou fluorescência quando isso ocorre. A dispersão pode ser frontal ou lateral, determinando respectivamente o tamanho e a granulidade da partícula atingida. O sistema eletrônico compreende os sinais luminosos emitidos na dispersão convertidos para uma forma digital, sendo apresentados por meio de gráficos. O fluxo laminar das partículas ocorre por meio do sistema de fluidos, responsável por garantir a travessia de cada célula pelo laser por meio da pressão. (9,10)

A seguir, estão descritas algumas doenças com suas alterações fenotípicas e o papel da citometria de fluxo em seu acompanhamento diagnóstico.

A imunodeficiência combinada grave (SCID) é definida pela deficiência na produção dos linfócitos T e/ou B e NK. Mutações em 17 genes estão relacionadas ao SCID. Clinicamente, SCID é uma emergência pediátrica que, sem o diagnóstico, resulta em óbito por infecção em 98% dos casos nos primeiros dois anos de vida. A citometria de fluxo pode auxiliar no seu diagnóstico e na sua classificação através da quantificação de subpopulações linfocitárias, incluindo a verificação de produção de linfócitos em estágios iniciais de maturação. Além disso, a ausência de CD132, marcador da cadeia gama comum sugere SCID ligado ao X. (1, 3, 5)

Na síndrome de Hiper-IgM, a análise de regulação de CD40L auxilia no diagnóstico de Hiper-IgM ligada ao X. Os pacientes com tal patologia, apresentam infecções fúngicas e bacterianas oportunistas, além de poder haver malignidade associada. (3, 5)

A agamaglobulinemia ligada ao X (XLA) consiste mutação do gene BTK que gera ausência de células B circulantes em quantidade adequada, com consequente redução significativa de imunoglobulinas. O exame de citometria, permite avaliar a ausência da expressão de células CD19- e/ou CD20-. (3, 5)

Na imunodeficiência comum variável, estabelecida pela alteração de maturação ou função das células B. Seu quadro clínico consiste em infecção recorrente, linfoproliferação e manifestações autoimunes. Pode apresentar-se por mutações em diversos genes, como ICOS, CD19 e BAFFR, sendo os pacientes rastreados com o uso da citometria de fluxo que avalia possíveis alterações na bioquímica relacionada aos genes descritos. (3, 5)

Uma das mais comuns alterações de neutrófilos, a Doença Granulomatosa Crônica, resulta de mutações em genes que codificam as subunidades do sistema NADPH oxidase. Esta se manifesta comumente por infecções bacterianas e fúngicas. Por meio da citometria de fluxo é possível avaliar a produção de peróxido de hidrogênio a partir da redução da substância 123-dihidrorodamina. (3,5)

CONCLUSÃO

Com resultados rápidos e precisos, a citometria de fluxo se torna uma importante técnica na investigação dos EEI, além das mais diversas aplicações, transcendendo o campo da pesquisa. Com os avanços tecnológicos e constante evolução, o método se apresenta altamente promissor e tende a tornar-se eventualmente mais acessível, fornecendo informações importantes por um custo mais baixo em relação a pesquisas genéticas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

1. PICARD, C; et al. International Union of Immunological Societies: 2017 Primary Immunodeficiency Diseases Committee Report on Inborn Errors of Immunity. *J Clin Immunol* (2018) 38:96–128
2. BOUSFIHA, A.A; et al. Primary Immunodeficiency Diseases Worldwide: More Common than Generally Thought. *J Clin Immunol* (2013) 33:1–7
3. KNIGHT, V. The utility of flow cytometry for the diagnosis of primary immunodeficiencies. *Int J Lab Hematol*. 2019;41(Suppl. 1):63–72.
4. SEIDEL, M.G; et al. The European Society for Immunodeficiencies (ESID) Registry Working Definitions for the Clinical Diagnosis of Inborn Errors of Immunity. *J Allergy clin immunol pract* (2019): 1763-1770
5. KANEGANE, H; et al. Flow cytometry-based diagnosis of primary immunodeficiency diseases. *Allergology International* (2017) 1-12
6. BROWN, M; et al. Flow Cytometry: Principles and Clinical Applications in Hematology. *Clinical Chemistry* 46:8, (2000) 1221–1229.
7. AL-HERZ, W; et al. Primary immunodeficiency diseases: an update on the classification from the International Union of Immunological Societies Exert Comittee for Primary Immunodeficiency. *Frontier in imunology*, Article 54, Volume 2 (2011).
8. ABRAHAM, R. S; et al. Flow Cytometry, a Versatile Tool for Diagnosis and Monitoring of Primary Immunodeficiencies. *Clinical and Vaccine Immunology*, American Society for Microbiology (2016) 23:254 –271.
9. BAPTISTA, E.M.E.; et al. Imunofenotipagem por citometria de fluxo. *Universidade Catolica Portuguesa do Porto* (2012).
10. BAKKE, A.C; *The Principles of Flow Cytometry*. *Laboratory Medicine*, N°4, Volume 32 (2001).