

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA FACULDADE DE MEDICINA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

CARACTERIZAÇÃO CLÍNICO-MOLECULAR DAS DOENÇAS INFLAMATÓRIAS
INTESTINAIS DE INÍCIO MUITO PRECOCE

TATYANA BORGES DA CUNHA KOCK

UBERLÂNDIA

2024

TATYANA BORGES DA CUNHA KOCK

CARACTERIZAÇÃO CLÍNICO-MOLECULAR DAS DOENÇAS INFLAMATÓRIAS
INTESTINAIS DE INÍCIO MUTIO PRECOCE

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Uberlândia, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor em Ciências da Saúde

Área de concentração: Ciências da Saúde

Orientador: Dr. Gesmar Rodrigues Silva Segundo

UBERLÂNDIA

2024

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da UFU, MG, Brasil.

K76c
2024

Kock, Tatyana Borges da Cunha, 1975-
Caracterização clínico-molecular das doenças inflamatórias
intestinais de início mutuo precoce [recurso eletrônico] / Tatyana Borges
da Cunha Kock. - 2024.

Orientador: Gesmar Rodrigues Silva Segundo.
Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Uberlândia, Programa de
Pós-graduação em Ciências da Saúde.
Modo de acesso: Internet.
Disponível em: <http://doi.org/10.14393/ufu.te.2024.5063>
Inclui bibliografia.

1. Ciências médicas. I. Segundo, Gesmar Rodrigues Silva, 1973-,
(Orient.). II. Universidade Federal de Uberlândia. Programa de Pós-
graduação em Ciências da Saúde. III. Título.

CDU: 61

André Carlos Francisco
Bibliotecário Documentalista - CRB-6/3408



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Ciências da
Saúde - Acadêmico

Av. Pará, 1720, Bloco 2H, Sala 11 - Bairro Umarama, Uberlândia-MG, CEP 38400-902
Telefone: (34) 3225-8628 - www.ppcsafamed.ufu.br - ppcsafamed@ufu.br



ATA DE DEFESA - PÓS-GRADUAÇÃO

Programa de Pós-Graduação em:	Ciências da Saúde				
Defesa de:	Defesa de Tese Doutorado Nº 15/PPGCSAUDE				
Data:	18.09.2024	Hora de início:	17:00h	Hora de encerramento:	21:00h
Matrícula do Discente:	12013CSD019				
Nome do Discente:	Tatyana Borges da Cunha Kock				
Título do Trabalho:	Caracterização clínico-molecular das doenças inflamatórias intestinais de início precoce na infância e adolescência.				
Área de concentração:	Ciências da Saúde				
Linha de pesquisa:	2: Diagnóstico, Tratamento e Prognóstico das Doenças e Agravos à Saúde				
Projeto de Pesquisa de vinculação:	Análise de Exposição e Sensibilização a Diferentes Alérgenos em Pacientes com Alergia Respiratória e Alimentar				

Reuniu-se em sala virtual, em web conferência, a Banca Examinadora, designada pelo Colegiado do Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde, assim composta: Professores Doutores: Elisa de Carvalho (UNB), Ekaterini Simões Goudouris (UFRJ), Fernando de Almeida Machado (UFU), Erica Rodrigues Mariano de Almeida Rezende (UFU) e Gesmar Rodrigues Silva Segundo, orientador da candidata.

Iniciando os trabalhos o(a) presidente da mesa, Prof. Dr. Gesmar Rodrigues Silva Segundo, apresentou a Comissão Examinadora e o candidato(a), agradeceu a presença dos membros da banca, e concedeu a Discente a palavra para a exposição do seu trabalho. A duração da apresentação do Discente e o tempo de arguição e resposta foram conforme as normas do Programa.

A seguir o senhor(a) presidente concedeu a palavra, pela ordem sucessivamente, aos(às) examinadores(as), que passaram a arguir o(a) candidato(a). Ultimada a arguição, que se desenvolveu dentro dos termos regimentais, a Banca, em sessão secreta, atribuiu o resultado final, considerando o(a) candidato(a):

Aprovada.

Esta defesa faz parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Doutor.

O competente diploma será expedido após cumprimento dos demais requisitos, conforme as normas do Programa, a legislação pertinente e a regulamentação interna da UFU.

Nada mais havendo a tratar foram encerrados os trabalhos. Foi lavrada a presente

ata que após lida e achada conforme foi assinada pela Banca Examinadora.



Documento assinado eletronicamente por **Geomar Rodrigues Silva Segundo, Professor(a) do Magistério Superior**, em 18/09/2024, às 20:25, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Érica Rodrigues Mariano Da Almeida Rezende, Professor(a) do Magistério Superior**, em 18/09/2024, às 20:27, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Ekaterini Simões Goudouris, Usuário Externo**, em 18/09/2024, às 20:30, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Elias de Carvalho, Usuário Externo**, em 19/09/2024, às 08:44, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Fernando de Almeida Machado, Professor(a) do Magistério Superior**, em 24/09/2024, às 12:35, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://www.sei.ufu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **5714715** e o código CRC **9FA3BEB6**.

Referência: Processo nº 23117.062149/2024-56

SEI nº 5714715

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos pacientes e seus responsáveis, que confiaram a nós um bem valioso, seu material genético, e permitiram compartilhar informações de sua doença, que hoje se misturam com sua história pessoal, e que me fazem aprender a cada dia. E a todos que direta, ou indiretamente, contribuíram para que este trabalho se concretizasse.

“A generosidade de compartilhar o conhecimento é um ato de humanidade.”

Daniel L. Becker

AGRADECIMENTOS

A Deus, meu exemplo de amor ao próximo, por me dar a força e a coragem necessária, para vencer as adversidades no caminho e seguir em frente.

Ao meu orientador, Dr. Gesmar Rodrigues Segundo, por acreditar em minha capacidade, confiando-me um trabalho importante e desafiador. Pela generosidade em compartilhar seu conhecimento e por ser paz nos momentos de turbulência. Minha gratidão e admiração.

Ao meu marido, Ulisses, por todo companheirismo e por reconhecer a importância deste trabalho para minha formação, sendo paciente, compreensivo, tolerante. Sua presença constante e suas palavras de encorajamento fizeram toda diferença nesta caminhada.

Aos meus pais, Darcy e José Alfredo, agradeço por tudo o que fazem/ fizeram por mim. Eles sempre foram meu porto seguro, oferecendo amor, apoio e orientação em todos os momentos da minha vida. A meu pai por sempre ser meu exemplo de médico humano e amoroso.

Aos meus familiares, pela compreensão por todos os momentos que fui ausente. Em especial meus irmãos, Kamyla e Alfredo, que participaram da minha caminhada profissional desde sempre, incentivando-me e dando apoio e sendo exemplo de dedicação à profissão que exercem.

À minha funcionária, Lilian, por cada ato de carinho, como uma simples xícara de café, enquanto eu me concentrava nos estudos.

Às colegas gastropediatras Lucélia Schmidt, Érica Fukushima, Patrícia Oliveira, Sofia Jacomo e Mariana Di Paula que, sem hesitação, se disponibilizaram participar do estudo, sendo fundamentais para que sua execução fosse possível.

À Flávia Araújo, que tão prontamente me auxiliou na análise estatística, compartilhando seu conhecimento.

À querida prima Valdete que, com todo zelo e cuidado, fez a revisão e a formatação da tese, demonstrando seu profissionalismo e domínio da língua portuguesa.

À Gastropediatria da Universidade Federal de Uberlândia (UFU), que me confiou a tarefa de conduzir o ambulatório de Doenças Inflamatórias Intestinais e segue me apoiando sempre.

Ao Departamento de Pediatria da UFU por compreender o meu distanciamento para dedicação ao Doutorado e me apoiar a seguir em frente.

A todos os colegas com quem divido minhas rotinas profissionais e aos amigos, por compreenderem minha ausência, quando necessário, e pelas palavras de incentivo sempre.

A todos os professores da pós-graduação, por compartilharem o conhecimento.

Às secretárias da pós-graduação, Gisele e Viviane, pela atenção e orientação.

Enfim, a todos que caminharam comigo e tonaram possível a chegada até aqui, participando da construção de uma profissional e de uma pessoa melhor.

RESUMO

Introdução: A Doença Inflamatória Intestinal de Início Muito Precoce (VEOIBD) representa um subgrupo da Doença Inflamatória Intestinal (DII) pediátrica cujos sintomas ocorrem antes dos 6 anos de idade, correspondendo a 4 a 10% dos casos de DII. Sua incidência vem aumentando cerca de 7% ao ano. Crianças apresentam quadros graves com envolvimento pancolônico, baixa resposta ao tratamento e alta morbimortalidade. A genética tem forte papel na etiologia, sendo o diagnóstico molecular fundamental para guiar um tratamento mais assertivo. **Objetivo:** Este estudo teve como objetivo caracterizar VEOIBD e demonstrar a importância do diagnóstico molecular. **Métodos:** Crianças com diagnóstico confirmado de DII e com início dos sintomas antes dos 6 anos de idade realizaram painel genético alvo para Erros Inatos da Imunidade (EII). Informações sobre quadro clínico, diagnóstico e tratamento foram compilados, de forma retrospectiva, a partir de um questionário semiestruturado, elaborado pelos pesquisadores. Os pacientes foram recrutados de serviços diferentes, escolhidos de forma aleatória, e incluídos no estudo, após consentimento dos responsáveis legais. Foram analisados os resultados dos testes genéticos e selecionados genes associados ou com possível associação com a DII. **Resultados:** Foram incluídos 32 participantes com idade média de início dos sintomas de 2 anos e 3 meses e de diagnóstico de 4 anos e 2 meses, com mediana de 10 meses para confirmação diagnóstica. Houve predomínio do sexo feminino e de história familiar positiva para DII, em 22%. Metade dos pacientes tiveram diagnóstico de Retocolite Ulcerativa (RCU), 40,63% de Doença de Crohn (DC) e 9,37% de DII não classificada (IBD-U). Diarreia com sangue foi o sintoma mais prevalente, seguido por dor abdominal. Além disso, foram observados déficit ponderal, em 43,75%, e manifestações extraintestinais em 40,62%. Anemia foi observada em 47%, elevação de provas inflamatórias sistêmicas em 84%, e plaquetose em todos os pacientes. A calprotectina fecal esteve elevada em todos os pacientes que tiveram sua dosagem realizada. Atividade moderada a grave da doença, com predomínio de comprometimento colônico e pouco envolvimento ileal foram prevalentes. Na avaliação histológica, infiltrado inflamatório crônico, linfoplasmocitário, com atividade acentuada, foram os achados mais encontrados. Corticoide foi utilizado para indução de remissão em todos os pacientes. Imunobiológico foi primeira escolha em dois pacientes. As Tiopurinas foram largamente utilizadas em comboterapia. A Mesalazina foi usada em poucos pacientes com RCU. Metade dos pacientes foram escalonados para anti-fator de necrose tumoral alfa (anti-TNF). A falha de resposta ao tratamento inicial foi observada em 59,63%. Na avaliação dos testes genéticos, foi possível o diagnóstico molecular em 34% dos pacientes, incluindo sete pacientes com variantes consideradas patogênicas, com recorrência do gene TNFRSF13B, e quatro pacientes com variantes de risco aumentado para DII relacionados a NOD2. Em relação às variantes de significado incerto (VUS), em cinco pacientes foram identificadas variantes com possível associação com DII. **Conclusão:** O estudo permitiu demonstrar o caráter mais agressivo da VEOIB, necessitando, precocemente, o uso combinado de imunossupressores e imunobiológicos. Soma-se a isso a importância do diagnóstico molecular para o diagnóstico mais assertivo e melhor compreensão das interações imunes nesses pacientes, permitindo fazer escolhas terapêuticas direcionadas para via patológica em questão.

Palavras-chave: Doença Inflamatória Intestinal de Início Muito Precoce, Fatores Imunológicos, Mucosa Intestinal, Painéis Genéticos Alvo, Pediatria.

ABSTRACT

Introduction: Very early onset inflammatory bowel disease (VEOIBD) represents a subgroup of Pediatric Inflammatory Bowel Disease (IBD) with symptoms occurring before the age of 6, accounting for 4 to 10% of IBD cases. Its incidence has been increasing by about 7% per year. Children present severe cases with pancolonic involvement, low response to treatment, and high morbidity and mortality. Genetics plays a strong role in etiology, making molecular diagnosis essential to guide more assertive treatment. **Objective:** This study aimed to characterize VEOIBD and demonstrate the importance of molecular diagnosis. **Methods:** Children with a confirmed diagnosis of IBD and symptom onset before the age of 6 underwent a targeted genetic panel (TGP) for Inborn Errors of Immunity (IEI). Information on clinical presentation, diagnosis, and treatment was compiled retrospectively from a semi-structured questionnaire prepared by the researchers. Patients were recruited from different services, chosen randomly, and included in the study after obtaining consent from legal guardians. Genetic test results were analyzed, and genes associated or possibly associated with IBD were selected. **Results:** Thirty-two participants were included, with a mean age of symptom onset of 2 years and 3 months and a diagnosis age of 4 years and 2 months, with a median of 10 months for diagnostic confirmation. There was a predominance of females and a positive family history of IBD in 22%. Half of the patients were diagnosed with Ulcerative Colitis (UC), 40.63% with Crohn's Disease (CD), and 9.37% with unclassified IBD (IBD-U). Bloody diarrhea was the most prevalent symptom, followed by abdominal pain. Weight deficit was observed in 43.75% and extraintestinal manifestations in 40.62%. Anemia was observed in 47%, elevated systemic inflammatory markers in 84%, and thrombocytosis in all patients. Fecal calprotectin was elevated in all patients who had their levels measured. Moderate to severe disease activity, with predominant colonic involvement and little ileal involvement, was prevalent. In histological evaluation, chronic lymphoplasmacytic inflammatory infiltrate with marked activity was the most common finding. Corticosteroids were used to induce remission in all patients. Biologics were the first choice in two patients. Thiopurines were widely used in combination therapy. Mesalazine was used in a few patients with UC. Half of the patients were escalated to anti-tumor necrosis factor alpha (anti-TNF). Initial treatment failure was observed in 59.63%. In the evaluation of genetic tests, molecular diagnosis was possible in 34% of patients, including seven patients with pathogenic variants, with recurrence of the TNFRSF13B gene, and four patients with increased risk variants for IBD related to NOD2. Regarding variants of uncertain significance (VUS), five patients had variants with possible association with IBD. **Conclusion:** The study demonstrated the more aggressive nature of VEOIBD, requiring early use of combined immunosuppressants and biologics. Additionally, the importance of molecular diagnosis for more accurate diagnosis and better understanding of immune interactions in these patients was highlighted, allowing for targeted therapeutic choices for the specific pathological pathway involved.

Keywords: Very Early Onset IBD, Intestinal Mucosa, Target Genetic Panels, Immunological Factors, Pediatrics.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ADA	Adalimumabe
CE	Corticóide
DC	Doença de Crohn
DHR	Dihidrorodamina
DII	Doença Inflamatória Intestinal
EDA	Endoscopia Digestiva Alta
EII	Erros Inatos do Sistema Imune
GWAS	<i>Genomic-wide Association Study</i> (Estudo de Associação Genômica)
IBD-U	Doença Inflamatória Intestinal não Classificada
HF	História Familiar
IDP	Imunodeficiência Primária
IFX	Infliximabe
IMS	Imunossupressor
MEI	Manifestações Extraintestinais
NEE	Nutrição Enteral Exclusiva
PCR	Proteína C Reativa
RCU	Retocolite Ulcerativa
TGI	Trato Gastrointestinal
TGP	<i>Target Genetics Panel</i> (Painel Genético Alvo)
TNF	Fator de Necrose Tumoral
VEOIBD	<i>Very Early Onset Inflammatory Bowel Disease</i>
VHS	Velocidade de Hemossedimentação
WES	<i>Whole Exome Sequencing</i> (Sequenciamento de todo Exoma)
WGS	<i>Whole Genome Sequencing</i> (Sequenciamento de todo Genoma)

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	12
1.1. Doença Inflamatória Intestinal de Início Muito Precoce	12
1.2. Manifestações Clínicas	13
1.3. Diagnóstico	14
1.3.1. Diagnóstico Laboratorial.....	15
1.3.2. Diagnóstico Endoscópico/ Histológico	16
1.3.3. Diagnóstico Molecular	17
1.4. Tratamento	19
2. OBJETIVOS	22
3. ARTIGO 1	23
4. ARTIGO 2	38
REFERÊNCIAS	69
APÊNDICE A: Ficha cadastral do paciente	74
APÊNDICE B: Termo de Consentimento para menores de 18 anos	81
APÊNDICE C: Termo de Assentimento para 7 a 12 anos	84
APÊNDICE D: Termo de Assentimento para 12 a 18 anos	86
ANEXO I – PAINEL GENÉTICO EII	88
ANEXO II – DECLARAÇÃO COMPROMISSO INVITAE	89
ANEXO III – PARECER APROVAÇÃO CONEP	90

1. INTRODUÇÃO

1.1. Doença Inflamatória Intestinal de Início Muito Precoce

A Doença Inflamatória Intestinal (DII) é uma doença complexa, caracterizada por inflamação crônica do intestino (BOUHUYIS *et al.*, 2022). Ainda que a DII seja uma doença predominantemente de adultos jovens, com pico de incidência entre 20-30 anos, na DC, e 30-40 anos, na RCU, ela pode ocorrer em qualquer idade, sendo que essa doença se apresenta em 25% dos pacientes antes dos 18 anos de idade (AFZALI *et al.*, 2018). A Classificação de Montreal definiu como DII Pediátrica aqueles pacientes com idade de início antes dos 17 anos. Posteriormente, a Classificação de Paris incluiu um subgrupo representado pelos menores de 10 anos, denominado DII de Início Precoce (EOIBD). A DII de Início Muito Precoce (VEOIBD) representa um subgrupo da DII pediátrica cujo início dos sintomas e/ou o diagnóstico ocorre antes dos 6 anos de idade, sendo ainda subclassificada em DII infantil, para os menores de 2 anos e neonatal, abaixo de 28 dias (LEVINE *et al.*, 2011). Aproximadamente, 20% dos pacientes com DII podem se apresentar antes dos 10 anos, e 5% antes dos 5 anos de idade (UHLIG *et al.*, 2014).

Embora, internacionalmente, a incidência da DII pediátrica é maior em regiões industrializadas, como Canadá, Europa e Nova Zelândia, a DII se tornou uma doença global. Desde o final do século 20, áreas historicamente com baixa prevalência de DII, como África, Ásia e América Latina, experimentaram um aumento substancial dessa doença (KUENZIG *et al.*, 2022). No Brasil, a incidência passou de 0,08 por 100.000 habitantes, em 1988, para 7,98 em meados de 2005, e 13,49, em 2018 (KOTZE *et al.*, 2020). A incidência da DII pediátrica está em torno de 26 por 100.000 crianças com curvas de tendências atuais demonstrando aumento global. Estima-se um aumento de 20% a 30% de novos casos de DII, antes dos 20 anos de idade, e de 7% ao ano, entre 6 meses e 5 anos (AFZALI *et al.*, 2018). Entretanto, ainda não é possível construir gráficos de tendência para a DII de Início Muito Precoce (KUENZIG *et al.*, 2022).

A DII, comumente, inclui três grupos principais: Doença de Crohn (DC), Retocolite Ulcerativa (RCU), e DII não classificada (IBD-U). Entretanto, na faixa etária pediátrica, a distinção entre DC e RCU é difícil (VENEMA *et al.*, 2017). O termo DII não classificada (IBD-U) é usado para os casos de colite, cujos achados endoscópicos e histológicos não são suficientes para diferenciar entre DC e RCU. Aproximadamente, 20% das crianças, com

menos de 6 anos, e 30% dos menores de 3 anos são diagnosticadas com IBD-U, o que reflete a ausência de um fenótipo refinado para caracterizar esses pacientes com VEOIBD (SHIM, 2019). À medida que a doença progride, alguns dos casos classificados com DII não classificados se definem como DC ou RCU, posteriormente (THURGATE *et al.*, 2019).

A DII é uma desordem complexa, de causa multifatorial. A etiologia da DII permanece incerta. O que tem sido proposto é a interação de fatores genéticos, ambientais, microbiota e sistema imune (UHLIG *et al.*, 2014; GUAN, 2019). Além disso, outros fatores têm sido relacionados com a explosão de casos, tais como exposição a antibióticos, consumo de alimentos processados, ricos em carboidratos e gorduras saturadas, obesidade. Desta forma, uma resposta imune desregulada é desencadeada por esses gatilhos ambientais em pacientes geneticamente predispostos (CROWLEY e MUISE, 2018; ASHTON *et al.*, 2023; VENEMA *et al.*, 2017). O envolvimento genético fica mais evidente na VEOIBD, com envolvimento oligo ou monogênico, ainda que defeitos genéticos tenham sido detectados em apenas 15% a 20% dos pacientes com formas muito precoces da DII (KELSEN *et al.*, 2019). Nesse grupo, os defeitos genéticos parecem alterar a homeostase do sistema imune intestinal por mecanismos diversos, representados por vários defeitos do sistema imune adaptativo e inato, que incluem alteração da ativação das células T e B, defeitos das células fagocíticas, desordens hiper ou autoinflamatórias, defeitos na regulação imune ou na barreira epitelial (PARENTE *et al.*, 2022). A desordem não está presente no nascimento, pois o fenótipo total desenvolve ao longo do tempo. Isso evidencia a importância de um diagnóstico molecular em crianças pequenas, sobretudo, na presença de história familiar, comorbidades associadas e manifestações extraintestinais (UHLIG *et al.*, 2021).

1.2. Manifestações Clínicas

Os sintomas mais comuns na DII incluem a tríade caracterizada por diarreia, dor abdominal e perda de peso. Entretanto, apenas 25% a 40 % dos pacientes apresentam a combinação destes sintomas (BOUSVAROS *et al.*, 2007). Na RCU, como em geral o cólon está acometido, a diarreia com sangue é o sintoma mais habitual, podendo estar acompanhado de dor abdominal e de sintomas baixos, como urgência fecal, evacuações noturnas e tenesmo (AZIZ *et al.*, 2017). Na DC, como pode haver envolvimento de qualquer segmento do trato gastrointestinal (TGI), os sintomas dependem dos segmentos comprometidos. Crianças com comprometimento ileal experimentam dor abdominal intermitente, anorexia, perda de peso e

falência do crescimento e alteração do hábito intestinal com diarreia intermitente. Pode haver ainda doença perianal e manifestações orofaciais como úlceras orais (AZIZ *et al.*, 2017).

Comumente, crianças menores apresentam acometimento mais extenso, muitas vezes, manifestando-se como uma pancolite, o que explica os sintomas, predominantemente, de sangramento retal e/ou diarreia com sangue, associados frequentemente à perda de peso com déficit ponderal importante. Redução do crescimento linear, diminuição da mineralização óssea e retardo puberal são consequências da liberação de citocinas pelo intestino inflamado (KATSUHIRO *et al.*, 2020; GONZALEZ *et al.*, 2018). A desnutrição crônica tem etiologia multifatorial e leva a deficiências nutricionais importantes. Aproximadamente 65% dos pacientes apresentam anemia (BOUHUYS *et al.*, 2023).

Acima de 24% dos pacientes, podem cursar com manifestações extraintestinais, envolvendo vários órgãos. As manifestações extraintestinais mais comuns envolvem o sistema musculoesquelético (artrite, entesitis), pele (pioderma gangrenoso, eritema nodoso, alopecia), mucosas (aftas, estomatites), olhos (episclerite, uveíte) e trato hepatobiliar (colangite esclerosante, hepatite autoimune). Essas manifestações são mais frequentes em crianças pequenas, com estudos mostrando desenvolvimento de, pelo menos, uma comorbidade extraintestinal durante o curso clínico da doença em até 76% dos casos (NAMBU e MUISE., 2021). Infecções recorrentes, doença perianal, desordens autoimunes e lesões de pele podem estar presentes e podem refletir deficiências imunológicas primárias subjacentes (NAMBU *et al.*, 2021). Mais de 26% dos pacientes relatam manifestações extraintestinais antes do diagnóstico e 74% após o diagnóstico da DII (ROGLER *et al.*, 2021).

1.3. Diagnóstico

O diagnóstico deve se basear na combinação de história clínica, exame físico, investigação laboratorial, endoscópica com avaliação histológica, e exames de imagem para avaliação do intestino delgado (LEVINE *et al.*, 2014; GREEN *et al.*, 2023; VERNON-ROBERTS e DAY, 2023). É fundamental a exclusão de causas infecciosas de colite (LEVINE *et al.*, 2014).

1.3.1. Diagnóstico Laboratorial

Os exames laboratoriais devem incluir, minimamente, hemograma completo e provas inflamatórias sistêmicas. Exames para avaliação nutricional, como albumina, ferritina, ferro sérico e função hepática, podem ser úteis (VERNON-ROBERTS e DAY, 2023; MAASER *et al.*, 2019). Marcadores sorológicos podem ser usados para suporte diagnóstico, uma vez que a acurácia dos testes disponíveis, pANCA e ASCA, é limitada e, portanto, ineficaz para diferenciar DC colônica de RCU (MAASER *et al.*, 2019). Na investigação inicial, as causas mais comuns de colite devem ser descartadas, partindo de exames menos complexos para exames mais complexos (OUAHED *et al.*, 2019). Em pacientes com diarreia crônica, os principais agentes de infecções intestinais devem ser descartados, incluindo *Clostridium spp*, nos maiores de 12 meses. A doença celíaca, assim como outros distúrbios autoimunes, deve ser lembrada na presença de diarreia crônica. Em lactentes com menos de 12 meses com sangue nas fezes, a colite alérgica deve ser considerada.

A calprotectina fecal tem demonstrado ser o marcador de inflamação intestinal mais sensível na DII, entretanto, sua baixa especificidade não discrimina DII de outras causas de inflamação intestinal. Ela é liberada por células do sistema imunológico, principalmente, neutrófilos, em resposta à inflamação, podendo estar elevada em outras condições, como colites infecciosas, colites alérgicas, síndrome do intestino irritável, entre outras. O guideline europeu definiu como *cut off* valores entre 100 e 250 mcg/g. Por um lado, pacientes pediátricos, sobretudo menores de 6 anos, podem apresentar níveis de calprotectina que ultrapassam 500 mcg/g devido à imaturidade do sistema imune intestinal, devendo haver cautela na interpretação (KELSEN *et al.*, 2020). Por outro lado, ela tem boa correlação com índices endoscópicos de atividade da doença, sendo importante para acompanhamento de resposta ao tratamento e reconhecimento dos episódios de recaídas (MAASER *et al.*, 2019; ASHTON *et al.*, 2023). Mais recentemente, o consenso europeu sobre o uso da calprotectina fecal em crianças demonstrou que valores, variando entre 400 a 800 mg/g, podem prever uma exacerbação da doença. Por essa razão, recomendou-se que sua dosagem sérica deve ser incluída na investigação laboratorial de pacientes com DII, pelo menos, a cada 6 meses durante o acompanhamento, mesmo em remissão, a menos que o quadro clínico sugira uma recaída, considerando a avaliação endoscópica em pacientes com DII em remissão clínica, com um valor de calprotectina fecal acima de 300 mg/g, pois esse nível de corte prevê com precisão a inflamação da mucosa (KONINCKX *et al.*, 2021).

Mais recentemente, como uma grande proporção de etiologias em menores de 6 anos e, sobretudo, em menores de 2 anos, pode refletir deficiências imunológicas primárias subjacentes, destacando a importância de um sistema imunológico desregulado na patogênese da VEOIBD, a investigação de desordens do sistema imune deve ser considerada (NEMATIE E TEIMOURIAN, 2017; PAZMANDI *et al.*, 2019; CONRAD e KELSEN; 2019). Em um primeiro momento, a suspeita de Erros Inatos do Sistema Imune (EII) como causa de DII estava restrita a pacientes com início dos sintomas na infância ou formas severas. Com a mudança da epidemiologia da DII, tem ficado, cada vez mais, difícil definir a população que vai se beneficiar de uma investigação para EII (CONRAD e KELSEN; 2019). Desta forma, a triagem imunológica deve ser realizada nos pacientes com VEOIBD e incluir, inicialmente, avaliação de títulos vacinais e dosagens de imunoglobulinas para avaliação de defeitos em células de memória, análise funcional de células T e B (fenotipagem), teste oxidação de neutrófilos conhecido como dihidrorodamina (DHR), e, se necessário, outros perfis alvo para avaliação do sistema imune sistêmico e de mucosa (OUAHED *et al.*, 2019).

1.3.2. Diagnóstico Endoscópico/ Histológico

Como todos os pacientes que apresentem sinais e sintomas consistentes com DII, endoscopia e colonoscopia continuam sendo o *gold standard* para o diagnóstico (KELSEN *et al.*, 2020). Na presença de um marcador inflamatório intestinal elevado, a ileocolonoscopia deve ser realizada e múltiplas biópsias devem ser obtidas de cada segmento (OLIVA *et al.*, 2020). Em situações não emergenciais, em crianças com suspeita de DII, a investigação deve incluir a combinação de EDA e ileocolonoscopia de preferência.

Todo paciente com DII deve ter um diagnóstico histológico consistente com os critérios de Porto modificados (AZIZ *et al.*, 2017; MAASER *et al.*, 2019). Em 2014, os critérios de Porto foram revisados para crianças e adolescentes, baseado no fato de que a classificação da DII pediátrica é complexa e caracterizada por um espectro de fenótipos, incluindo formas não usuais e atípicas (LEVINE *et al.*, 2014). A apresentação mais típica da RCU é a inflamação contínua do cólon, começando distalmente a partir do reto, sem envolvimento, a não ser pela presença de ileíte de refluxo (*backwash*), com distorção arquitetural e infiltrado linfoplasmocitário focal ou difuso. Apresentações atípicas da RCU podem incluir inflamação macroscópica sem envolvimento do reto, arquitetura normal de cripta com ausência de sinais de cronicidade, demonstrando uma duração mais curta da inflamação, envolvimento cecal, colite aguda grave com envolvimento transmural e presença

de ulcerações gástricas isoladas não serpinginosas. A DC tipicamente se mostra como uma inflamação não contínua com úlceras aftosas ou lineares, de forma saltitante, demonstrando um padrão de calçamento, podendo comprometer qualquer segmento do TGI. A presença de granulomas, longe de ruptura de criptas, estenose, doença perianal ou fistulizante, inflamação ileal na presença de ceco normal e espessamento de alças intestinais jejunais ou ileais são achados compatíveis com DC, que podem ser encontrados em crianças. Crianças com colite e achados atípicos, que não se encaixam como RCU ou DC, devem ser classificadas em DII não classificada, do termo em inglês *unclassified inflammatory bowel disease* (IBD-U). Esses achados podem incluir envolvimento mais intenso proximal que distal, inflamação aguda focal, úlceras esofágicas ou duodenais não explicadas por outras causas, assim como duodenite crônica focal, infiltrado inflamatório inespecífico, entre outros achados. O uso de escores endoscópicos pode ajudar a padronizar os achados patológicos, entretanto, a descrição dos achados endoscópicos ainda se mostra subjetiva e, por vezes, incompleta, o que pode dificultar a aplicação desses escores (OLIVA *et al.*, 2020).

Logo, o diagnóstico da DII é clínico patológico, integrando histologia com achados macroscópicos, e exames de imagem do intestino delgado (KELSEN *et al.*, 2020). Na VEOIBD, geralmente a inflamação é inespecífica com características tanto da DC como da RCU. Ao contrário da DII de Início na Idade Adulta, crianças com RCU geralmente apresentam-se com pancolite, enquanto crianças com DC, na maioria dos casos, têm envolvimento ileocolônico e, raramente, acometimento ileal isolado (MESQUITA *et al.*, 2020). Na avaliação histológica, os achados incluem distorção arquitetural moderada a grave, aumento dos eosinófilos no infiltrado inflamatório, apoptose e achatamento de vilosidades em intestino delgado. A presença dos eosinófilos parece sugerir uma resposta pró-inflamatória mais robusta, consistente com um mecanismo hiper ou autoinflamatório subjacente. A presença de granuloma pode demonstrar associação com doença granulomatosa crônica (CONRAD *et al.*, 2019).

1.3.3. Diagnóstico Molecular

A maioria das informações relacionadas ao envolvimento genético na DII foram obtidas dos estudos do genoma humano que já revelaram mais de 260 loci relacionados à DII. Diferente do poligênico da DII do adulto, a VEOIBD pode estar associada a mutações, com envolvimento de um único gene, o qual denominamos de doença monogênica (UHLIG *et al.*, 2017; NAMEIRAKPAM *et al.*, 2019). Nos estudos mais recentes, a etiologia monogênica

tem sido responsável por 15% a 20% das DII de início muito precoce (NAMBU e MUISE, 2021). O primeiro relato foi publicado em 2009, por Glockers *et al.*, que descreveram uma mutação no receptor de interleucina 10 (GLOCKER *et al.*, 2009). Nos anos seguintes, aproximadamente, 50 genes foram descritos relacionados à doença monogênica; muitos destes envolvidos com imunodeficiências (BIANCO *et al.*, 2014).

Na última década, com o advento do sequenciamento de última geração, do termo inglês Next Generation Sequence (NGS), a abordagem diagnóstica da DII mudou para análise genotípica detalhada, com a vantagem de avaliar simultaneamente múltiplos genes de forma mais rápida e com menor custo. Desde 2014, painéis alvo por NGS demonstram ser úteis, sobretudo, em pacientes com sintomas atípicos (NIJMAN *et al.*, 2014). Um painel genético, com 40 genes relacionados à DII monogênica, foi proposto em 2018 (CROWLEY e MUISE, 2018). Mais recentemente, um posicionamento do Grupo Europeu incluiu 75 genes relacionados à DII monogênica (UHLIG *et al.*, 2021). Esses painéis representam um segmento do painel para EII, que cobre mais de 400 genes responsáveis por Imunodeficiências Primárias (IDP). Quando o painel para VEOIBD falhar em encontrar o gene responsável, recomenda-se a realização do painel para EII. Se ambos os painéis falharem em reconhecer o gene ou as variantes gênicas, o algoritmo atual sugere fazer o sequenciamento de todo exoma. Já o sequenciamento de todo o genoma está reservado para casos nos quais o sequenciamento do exoma se mostrou negativo e ainda há indícios fortes de doença monogênica (KELSEN e SULLIVAN, 2017).

Apesar da descoberta de novos genes ter aumentado ao longo do tempo, defeitos monogênicos têm sido detectados em apenas 15% a 20% dos pacientes que apresentam formas muito precoces da DII (GRAHAM e XAVIER, 2020). Nos grandes centros, a prevalência pode chegar a 31% (NAMBU e MUISE, 2021). Entretanto, a avaliação das contribuições do envolvimento mono ou oligogênico, e da carga genética dos loci de risco de DII comum pode ajudar a melhorar ainda mais os modelos diagnósticos, além da genética mendeliana clássica (NEMATI E TEIMOURIAN, 2017).

A análise e a interpretação do genoma devem ser feitas por especialistas treinados. Todas as variantes encontradas devem ser classificadas como patogênicas, potencialmente patogênicas e significado incerto. Formas precoces de DII, muitas vezes, são a manifestação de um EII ou de disfunção da barreira epitelial e apresentam manejos específicos, sendo fundamental o diagnóstico molecular para um tratamento mais personalizado (GRAHAM e XAVIER, 2020).

1.4. Tratamento

Até recentemente, o tratamento padrão da DII envolvia a terapia convencional que segue o escalonamento progressivo de medicamentos (TURNER *et al.*, 2012). Essa abordagem permite personalizar o tratamento de acordo com a gravidade e a resposta dos pacientes, minimizando os efeitos colaterais dos medicamentos mais fortes até que sejam necessários, e inclui linhas sucessivas de tratamento começando pelos aminosalicilatos. Se os aminosalicilatos não forem suficientes, adiciona-se os corticóides (CE), para controle da inflamação aguda, seguidos pelos imunomoduladores, usados em casos mais graves ou resistentes, até chegar aos agentes biológicos como os inibidores do fator de necrose tumoral, conhecidos como anti-TNF, que são mais potentes e específicos.

Posteriormente, as evidências foram mostrando que o tratamento da DII em crianças deve ser individualizado, considerando aspectos relacionados à idade, localização e comportamento da doença, presença de déficit ponderoestatural, efeitos adversos potenciais das medicações e qualidade de vida (CROWLEY e MUISE, 2018; ASHTON *et al.*, 2019; JONGSMA *et al.*, 2022). A classificação da doença em leve, moderada ou grave, por meio de escores específicos, também é útil para guiar o tratamento. Desta forma, a estratificação de risco é interessante para identificar pacientes com possíveis desfechos desfavoráveis que necessitam de um manejo mais agressivo com uso precoce de imunobiológicos (JONGSMA *et al.*, 2022; LOMAZI *et al.*, 2023).

Na DC pediátrica luminal (classificação B1 de Paris), com comportamento puramente inflamatório, a primeira escolha, para indução da remissão, consiste na Nutrição Enteral Exclusiva (NEE), caracterizada pelo uso de uma dieta líquida completa e balanceada como única fonte de alimento por 6 a 8 semanas. A NEE parece alterar a resposta imune da mucosa intestinal, reduzindo a inflamação local e restaurando a barreira epitelial. Entretanto, problemas de adesão à dieta com intolerância à fórmula são relatados e, por isso, dietas alternativas têm sido discutidas (LOMAZI *et al.*, 2023). Além disso, efeitos adversos têm sido relatados em pacientes com NEE, incluindo diarreia e vômitos. É importante destacar que pacientes, que não apresentaram remissão dos sintomas ou queda da calprotectina fecal em até 12 semanas de terapia, doença extensa, úlceras colônicas profundas, comportamento estenosante (classificação B2 de Paris) ou fistulizante (classificação B3 de Paris), não são elegíveis para NEE, devendo ser consideradas estratégias terapêuticas mais invasivas (RHEENEN *et al.*, 2021), assim como não há evidências que mostrem benefícios na RCU (TURNER *et al.*, 2018).

Em relação aos medicamentos, os corticoides (CE) são úteis para indução de remissão tanto na DC como na RCU. Por um lado, os corticoides são medicamentos anti-inflamatórios potentes usados no tratamento dos episódios agudos da DII por seu efeito rápido, sendo a prednisona ou prednisolona os mais utilizados em casos moderados a severos. Por outro lado, não são recomendados para uso a longo prazo por causa dos seus impactos, sobretudo, no crescimento, além do risco de osteoporose, hipertensão, diabetes, supressão adrenal, entre outros. Apesar de ser, cada vez mais, desencorajada a administração de CE, pelos efeitos colaterais, ainda há uma taxa elevada de uso em crianças menores, sobretudo aquelas com VEOIBD (KELSEN *et al.*, 2020).

Na RCU, CE ou aminossalicilatos (ASA), ou ambos, são usados para indução da remissão. Os aminossalicilatos funcionam inibindo a produção de substâncias inflamatórias, como as prostaglandinas e os leucotrienos, através da inibição das enzimas ciclooxigenases (COX). Atualmente, os mais utilizados são os derivados do ácido 5-aminossalicílico (5-ASA), também conhecidos como mesalazina, atuando diretamente no intestino para reduzir a inflamação. Esses derivados podem ser administrados por via oral ou retal. A monoterapia é indicada para manter a remissão na RCU leve a moderada. Na DC, entretanto, não há uma indicação precisa (TURNER *et al.*, 2012).

Entretanto, a maioria dos pacientes pediátricos com RCU leve a moderada não irá responder ao uso dos aminossalicilatos isoladamente para manter a remissão, com taxas de resposta que podem variar de 35% a 55% (KELSEN *et al.*, 2020). Neste caso, o uso de imunomoduladores pode ser útil. Os imunomoduladores são medicamentos que alteram a resposta do sistema imunológico através de vários mecanismos, como inibição de citocinas inflamatórias e/ou supressão de atividade das células T, tendo uma função imunossupressora. Os imunomoduladores continuam sendo muito utilizados no tratamento de manutenção para ambos, DC e RCU, dando preferência pelas tiopurinas (azatioprina ou 6-mercaptopurina) ao metotrexate (LOMAZI *et al.*, 2023). Os imunomoduladores também têm uma ação na prevenção de imunogenicidade contra a terapia antifator de necrose tumoral. Logo, seu uso em comboterapia com os anti-fator de necrose tumoral (anti-TNF) é desejável, sobretudo, em pacientes que iniciaram o tratamento com infliximabe (KELSEN *et al.*, 2020).

Os imunobiológicos são medicamentos desenvolvidos a partir de substâncias biológicas, como anticorpos e proteínas, que atuam no sistema imunológico, modulando a resposta imunológica, inibindo seletivamente a ação de citocinas e outros mediadores inflamatórios. Os inibidores do fator de necrose tumoral, anti-TNF, são uma classe de medicamento biológico, que atua bloqueando a ação do fator de necrose tumoral (TNF). O

TNF é uma citocina produzida em excesso em doenças autoimunes como a DII, causando inflamação crônica e danos aos tecidos. Na pediatria, o Infiximabe e o Adalimumabe estão liberados para uso (LOMAZI *et al.*, 2023).

Existe um aumento progressivo das evidências sugerindo que a introdução precoce desses medicamentos pode ser muito benéfica para determinados pacientes com fenótipos graves e potenciais desfechos desfavoráveis. A estratégia *top down* é uma abordagem que começa com tratamentos mais agressivos desde o início, utilizando-se os imunobiológicos, com o objetivo de controlar rapidamente a inflamação e prevenir complicações a longo prazo. Os agentes anti-TNF, como o infliximabe ou o adalimumabe, têm sido largamente usados como primeira linha na DII pediátrica e VEOIBD. Entretanto, cerca de 30% dos pacientes são não respondedores, e cerca de 20% dos respondedores primários desenvolvem perda de resposta em 1 ano (ASSA *et al.*, 2020; LEVINE *et al.*, 2023). Crianças menores, muitas vezes, apresentam o clearance aumentado da droga, requerendo doses mais elevadas, começando com 10 mg/Kg, infusões mais frequentes e otimização do regime terapêutico baseado na dosagem do nível sérico da droga e na monitorização da formação de anticorpos anti-infiximabe (KELSEN *et al.*, 2020; LEVINE *et al.*, 2023). Ainda assim, o uso do anti-TNF na doença pediátrica, particularmente, em doença refratária a CE, é o maior passo nos últimos 25 anos no controle da DII, levando à remissão, melhora do crescimento e cicatrização da mucosa (BRAMUZZO *et al.*, 2019).

As novas terapias que têm surgido atuam em vias específicas da inflamação, envolvendo terapia monoclonal, como o anti-integrina (vedolizumabe) ou o anti-IL23 (ustekinumabe), e drogas de pequenas moléculas, como os inibidores da JAK (tofacitinib) (ASHTON *et al.*, 2019). Pacientes que não respondem bem à terapia anti-TNF podem se beneficiar desses fármacos (FABISZEWSKA *et al.*, 2021). Entretanto, ainda existem poucas evidências para seu uso em DII pediátrica, não estando liberadas para uso em crianças (KELSEN *et al.*, 2019).

A terapia para VEOIBD ainda não está bem estabelecida, pois a maioria dos dados disponíveis ainda se baseiam em relatos ou em uma série pequena de casos (MESQUITA *et al.*, 2020). Esses pacientes podem necessitar do uso combinado de imunossuppressores e de agentes biológicos, com possibilidade de falha de tratamento ou mesmo necessidade de uma cirurgia precoce. Em 2 anos de evolução, 39% dos pacientes têm aumento da extensão da doença e progressão (KIM *et al.*, 2018).

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral: Realizar o estudo genético por sequenciamento de última geração (*Next Generation Sequence* = NGS) de pacientes com diagnóstico de doença inflamatória intestinal de início muito precoce e correlacionar com as informações clínicas.

2.2. Objetivos Secundários

Objetivo secundário 1: Identificar os principais genes e variantes gênicas relacionados ou possivelmente relacionados à DII, em uma amostra de pacientes com DII de Início Muito Precoce.

Objetivo secundário 2: Caracterizar o quadro clínico e os achados laboratoriais, endoscópicos e histológicos da DII de Início Muito Precoce.

3. ARTIGO 1

Título: Características clínicas, laboratoriais e histológicas de pacientes com Doença Inflamatória Intestinal de Início Muito Precoce

RESUMO

Objetivo: Caracterizar a Doença Inflamatória Intestinal de Início Muito Precoce em pacientes brasileiros. **Métodos:** Estudo retrospectivo envolvendo crianças com diagnóstico de doença inflamatória intestinal (DII) antes dos 6 anos de idade, recrutados de diferentes serviços, submetidas a coleta de informações clínicas através de um questionário semiestruturado. **Resultados:** Foram incluídos 32 participantes, a maioria do sexo feminino, com idade média de início dos sintomas de 2 anos e 3 meses, de diagnóstico de 4 anos e 2 meses e mediana para confirmação diagnóstica de 10 meses. História familiar positiva para DII em 22%. Diagnóstico de Retocolite Ulcerativa (RCU), em 50% dos pacientes, Doença de Crohn (DC), em 40,63%, e Doença Inflamatória não Classificada (IBD-U), em 9,37%. Diarreia com sangue foi o sintoma mais prevalente, seguido por dor abdominal. Déficit ponderal ao diagnóstico foi observado, sobretudo, na DC. Anemia esteve presente em 47% dos pacientes, elevação de provas inflamatórias sistêmicas, em 84%, e plaquetose, em 100%. A calprotectina fecal teve mediana elevada em todos os grupos. Presença de atividade moderada a grave, com predomínio colônico, e o pouco envolvimento ileal prevaleceu. O Corticoide foi utilizado, na fase aguda, em todos os pacientes. Imunobiológico foi primeira escolha em dois pacientes e, em comboterapia com Tiopurinas, em 53,12%. Poucos pacientes usaram mesalazina. Houve falha de resposta ao tratamento inicial, em 56,25% dos pacientes. **Conclusão:** A VEOIB apresenta comprometimento extenso, predomínio do envolvimento colônico intenso infiltrado inflamatório, e falha de resposta ao tratamento, necessitando do uso combinado de imunossuppressores e imunobiológicos de forma precoce.

Palavras-chave: Doença Inflamatória Intestinal de Início Muito Precoce, Inflamação, Mucosa Intestinal, Criança.

ABSTRACT

Objective: To characterize Very Early Onset Inflammatory Bowel Disease in Brazilian patients. **Methods:** This was a retrospective study involving children diagnosed with inflammatory bowel disease (IBD) before 6 years of age, recruited from different services, submitted to a semi-structured for the collection of clinical information. questionnaire. **Results:** A total of 32 participants were included, most of them female, with a mean age at symptom onset of 2 years and 3 months, a diagnosis age of 4 years and 2 months, and a median for diagnostic confirmation of 10 months. Positive family history for IBD in 22%. Diagnosis of Ulcerative Colitis (UC) in 50% of the patients, Crohn's Disease (CD) in 40.63%, and Unclassified Inflammatory Disease (IBD-U) in 9.37%. Bloody diarrhea was the most prevalent symptom, followed by abdominal pain. Weight deficit at diagnosis was observed, mainly, in CD. Anemia was present in 47% of the patients, increased systemic inflammatory tests in 84%, and thrombocytosis in 100%. Fecal calprotectin had a high median in all groups. Moderate to severe activity was present, with colonic predominance, and little ileal involvement prevailed. Corticosteroids were used in the acute phase in all patients. Immunobiologic was the first choice in two patients and, in combotherapy with thiopurines, in 53.12%. Few patients used mesalazine. There was failure to respond to the initial treatment in 56.25% of the patients. **Conclusion:** VEOIB has extensive involvement, predominance of intense colonic involvement inflammatory infiltrate, and failure to respond to treatment, requiring the combined use of immunosuppressants and immunobiologicals early.

Keywords: Very Early Onset Inflammatory Bowel Disease, Inflammation, Intestinal Mucosa, Child.

INTRODUÇÃO

A Doença Inflamatória Intestinal (DII) resulta de uma resposta imune anormal a diferentes fatores ambientais, em pacientes geneticamente predispostos.¹ Habitualmente, é classificada em Doença de Crohn (DC), Retocolite Ulcerativa (RCU), e DII não classificada (IBD-U). A DII tem se tornado uma doença global, sendo que, no Brasil, a incidência passou de 0,08 por 100.000 habitantes, em 1988, para 7,98, em meados de 2005, e 13,49, em 2018, sendo que a idade de apresentação mais frequente é a segunda década de vida.^{1,2} Nas últimas décadas, a incidência em crianças tem aumentado em vários países, incluindo nações historicamente com baixas taxas.^{1,3} A incidência da DII pediátrica está em torno de 26 por 100.000 crianças, com a DII Início Muito Precoce (VEOIBD), diagnosticada antes dos 6 anos de idade, compreendendo 4–10% dos casos.¹ Estima-se um aumento de 20% a 30% de novos casos, antes dos 20 anos de idade, e de 7% ao ano, entre 6 meses e 5 anos.^{1,3}

Com aumento do número de crianças com DII, a VEOIBD tem sido, cada vez mais, observada e estudada para uma melhor compreensão. Enquanto fatores ambientais representam os principais atores na fisiopatologia da DII em adultos e adolescentes, na VEOIBD, a contribuição genética é forte, o que confere a ela uma apresentação fenotípica diferente do adulto.¹ Os sintomas mais comumente observados incluem diarreia, dor abdominal e perda de peso. O diagnóstico definitivo pode ser obtido com a realização dos exames endoscópicos e análise microscópica minuciosa dos fragmentos de mucosa biopsiados, embora testes laboratoriais séricos e de fezes possam ser úteis para aumentar a suspeita de DII.^{4,5}

Embora a prevalência seja menor em adultos, as crianças enfrentam grandes impactos biopsicossociais, visto que existem poucas terapias aprovadas para esta faixa etária e desfechos variáveis ao longo do tempo, o que torna o diagnóstico e o manejo dessas crianças um desafio para os profissionais de saúde.⁴ Neste contexto, este estudo visa caracterizar o quadro clínico e os achados laboratoriais, endoscópicos e histológicos da DII de Início Muito Precoce em crianças brasileiras.

Metodologia

Trata-se de estudo retrospectivo, envolvendo participantes recrutados, entre abril de 2022 a janeiro de 2024, por gastroenterologistas pediátricos de serviços diferentes do Brasil, escolhidos de forma aleatória. Os critérios de inclusão foram idade menor que 6 anos do

início dos sintomas, e o diagnóstico de DII confirmado por história clínica, exames laboratoriais, endoscópicos e histológicos. Foram excluídas crianças com diagnóstico de cromossomopatias. O estudo foi aprovado pelo Conselho Nacional de Saúde-Ética em Pesquisa (CAAE: 45623019.9.1001.5152).

Durante consulta de rotina com gastroenterologista pediátrico, o participante e seu responsável legal recebia esclarecimentos sobre a pesquisa e, uma vez consentida sua participação, era incluído no estudo. Um questionário semiestruturado, elaborado pelos pesquisadores, foi utilizado para coleta dos dados, que incluiu idade de início dos sintomas e ao diagnóstico, sexo, principais sintomas, história familiar de DII, presença de manifestações extraintestinais, atividade da doença, exames laboratoriais pertinentes, achados endoscópicos e histológicos, medicação de escolha ao diagnóstico e mudanças de esquema terapêutico até o momento da coleta dos dados. Os critérios de Porto foram utilizados para classificação da doença em DC, RCU e IBD-U, dividindo os pacientes em grupos.⁶ A localização da doença seguiu a classificação de Paris.⁷ A gravidade foi definida baseada no índice de atividade da doença para DC (PCDAI) e para RCU (PUCAI).^{8,9} A análise dos resultados das biópsias intestinais incluíram achados histológicos da DII pediátrica e avaliação da atividade da doença conforme a intensidade do infiltrado neutrofílico (quiescente se ausência de neutrófilos, leve se neutrófilos limitados a lâmina própria ou criptite isolada, moderado se presença de abscessos crípticos ou grave se inflamação difusa com ulceração ou tecido de granulação).^{6,10} Foi considerada falha terapêutica, a não resposta ao tratamento inicial, com manutenção da atividade da doença e/ou das provas inflamatórias elevadas, mesmo após otimização do esquema de administração do fármaco.

Análises qualitativas e quantitativas incluíram variáveis categóricas e numéricas. As variáveis categóricas foram organizadas em tabelas de frequência, expressas em número (porcentagem). Como teste de normalidade, usou-se o Teste de Shapiro-Wilk. As medidas de tendência central para as variáveis contínuas se apresentam em medianas e intervalo interquartilício ou médias e desvio padrão. Para fins de comparação entre os grupos, foi utilizado o teste do qui-quadrado para as variáveis categóricas. Para avaliar a variância entre as medidas de tendência central, utilizou-se o teste c-ANOVA para variáveis com distribuição normal e o teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis para aquelas sem distribuição não normal. Os resultados foram considerados significativos quando menores que 0,05 ($p \leq 0,05$). Todas as análises foram realizadas por meio do programa GRAPHPAD PRISM 7.0.

Resultados

O estudo incluiu 32 crianças com VEOIBD, 65,63% do sexo feminino, com idade média de início dos sintomas de 2 anos e 3 meses e de diagnóstico de 4 anos e 2 meses, semelhantes entre os grupos (Tabela 1). 37,5% dos pacientes tinham menos de 2 anos ao início do quadro. O tempo médio para confirmação diagnóstica foi de 10,5 meses. História familiar de DII esteve presente em 22% dos pacientes. A maioria teve diagnóstico de RCU (50%), seguido da DC (40,63%) e IBD-U (9,37%). Diarreia com sangue foi o sintoma mais prevalente em todos os grupos, seguido por dor abdominal. Déficit ponderal foi mais frequente na DC e na IBD-U, com diferença significativa. A doença perianal foi observada em 2 pacientes com DC. Manifestações extraintestinais (MEI) ao diagnóstico foram descritas em 40,62% dos pacientes, mais prevalente na DC que na RCU, envolvendo, sobretudo, pele e mucosas, mas também foram observadas manifestações autoimunes como hepatite e anemia hemolítica. Doença em atividade moderada a grave prevaleceu em todos os grupos. Atividade leve foi observada em 4 pacientes (3 com RCU e 1 com IBD-U). Nenhum paciente estava em remissão clínica.

Todos os pacientes apresentaram plaquetose e elevação de provas inflamatórias. Níveis mais baixos de hemoglobina foram vistos na DC, assim como VHS foi, significativamente, mais elevado neste grupo. A calprotectina fecal, dosada em 66% dos pacientes, esteve aumentada, com ampla variação, sem diferença significativa em três grupos, ainda que valores maiores tenham sido encontrados na DC.

Houve predomínio do envolvimento colônico e pouco envolvimento ileal. A pancolite esteve presente em 87,50% dos pacientes. Na RCU e IBD-U, os segmentos mais comumente acometidos foram o cólon em toda sua extensão (E4) ou até a flexura hepática (E3). Comprometimento isolado do reto (E1) foi observado em apenas 1 paciente com RCU. Na DC, predominou o envolvimento colônico (L2) e ileocolônico (L3). O trato digestivo alto (TGI) esteve envolvido em metade dos pacientes, sobretudo, na DC, com presença de gastrite e/ou duodenite erosiva (L4a), e apenas 1 paciente com envolvimento jejunal/ íleo proximal (L4b).

Na colonoscopia, o achado microscópico predominante foi infiltrado inflamatório crônico com predomínio linfoplasmocitário (Tabela 2). Na RCU, foi observada inflamação crônica focal, com criptite e microabscessos e distorção arquitetural. Na DC, úlceras em V, inflamação transmural e fibrose foram achados característicos. Todos os pacientes com IBD-U apresentaram infiltrado inflamatório inespecífico. Em apenas 1 paciente foi visualizado

granuloma. Em 22% dos pacientes, não havia informações sobre infiltrado neutrofílico. Logo, a atividade histológica foi avaliada em 78% dos pacientes, mostrando-se moderada a acentuada na sua maioria. Atividade leve foi observada em apenas 3 pacientes, nenhum com DC, com raros eosinófilos de permeio, sem ulcerações.

A nutrição enteral exclusiva (NEE) foi a escolha inicial em 3 lactentes com diarreia sanguinolenta profusa, na forma de fórmula de aminoácidos ofertada, via oral, por 3 semanas e interrompida por dificuldade de adesão. O corticoide (CE) sistêmico, como medicação única na fase aguda inicial, foi utilizado por 53% dos pacientes e, em combinação com IMS, desde o início, em 37,5%. O uso de anti-fator de necrose tumoral (anti-TNF) foi primeira escolha terapêutica em 2 pacientes com DC. Em 53,12%, foi necessário o uso do biológico, por não alcançarem a remissão com o tratamento inicial; o infliximabe foi a escolha na maioria dos pacientes, e adalimumabe em apenas dois. Um paciente teve diagnóstico de Erros Inatos do Sistema Imune (EII) e passou a receber imunoglobulina endovenosa. A falha de resposta à terapêutica inicial foi de 56,25%, sendo maior na DC. A mesalazina, em monoterapia, foi utilizada em poucos pacientes com RCU.

Discussão

O estudo possibilitou caracterizar a VEOIB e demonstrar que, embora essas crianças apresentem aspectos clínicos e laboratoriais semelhantes ao adulto, existem diferenças que podem interferir na escolha terapêutica e na resposta ao tratamento. A maioria das crianças com VEOIBD, de forma semelhante a outros estudos, mostrou atividade moderada a grave ao diagnóstico, em especial nos pacientes com DC.¹¹⁻¹⁶ A gravidade é maior em idades precoces, como demonstrado no estudo norte-americano, no qual 48% das crianças menores de 6 anos apresentavam atividade moderada, em comparação com apenas 28% nos maiores de 10 anos.¹² Atividade leve, ainda que ocorra, é relativamente incomum.¹³

Por um lado, em geral, a DC é a forma mais comum da DII pediátrica, e parece aumentar com a idade.¹³ Por outro lado, na VEOIB, RCU e IBD-U são mais comuns em crianças maiores.¹⁷ Neste estudo, a RCU teve uma prevalência discretamente maior que a DC, semelhante a outros estudos.^{12,17,18} Por sua heterogeneidade, há dificuldade de distinguir entre DC e RCU na VEOIBD, com aumento do diagnóstico de IBD-U.⁵ A prevalência da IBD-U ao diagnóstico foi em torno de 10%, como em outros estudos.^{12,13} Diferentemente da coorte francesa, que encontrou diagnóstico de IBD-U em 31%, com uma mudança de diagnóstico de IBD-U, ao longo do tempo, para DC ou RCU.¹⁷

Embora o sexo feminino tenha predominado na literatura, há predomínio masculino na DII pediátrica, mas essa proporção gradualmente se torna igual entre os sexos após a puberdade.¹⁹ A mediana de idade de início foi menor que outros estudos, com início mais tardio na RCU que na DC.^{13,16,19} O estudo história familiar positiva esteve associado à idade de início de sintomas. Dos 7 pacientes com familiares com DII, 4 (57%) tinham menos de 2 anos quando do início dos sintomas. Na amostra total, a prevalência foi de 22%. Sabe-se que a genética desempenha um forte papel na etiologia da doença em crianças com VEOIBD, o que pode estar associado com o início dos sintomas em crianças, cada vez mais, novas.¹⁸ Neste estudo, os menores de 2 anos representaram 37,5% dos pacientes.

A mediana de idade ao diagnóstico, observada na presente coorte, foi menor que a série americana de 2015 (4,2 anos) e semelhante à Japonesa (2,4 anos).^{12,20} Houve um atraso na confirmação diagnóstica, semelhante a outros estudos.^{10,12,20} O atraso no diagnóstico é observado na DII pediátrica e, em parte, pode ser atribuído a sintomas inespecíficos comuns a outras doenças do TGI, como a alergia à proteína do leite de vaca não IgE mediada e colites infecciosas.^{5,6} No estudo indiano, com menores de 17 anos, acima de 40% tiveram diagnóstico após 6 meses do início dos sintomas.¹⁵ Por outro lado, esse mesmo estudo, demonstrou que o atraso é menor que em crianças maiores que naquelas com VEOIBD, atribuindo ao fato da gravidade de apresentação da doença levar à procura por atendimento de forma mais precoce.

A tríade diarreia, dor abdominal e perda de peso, comum em pacientes adultos, esteve presente em apenas 22% dos pacientes. O sintoma mais prevalente foi a diarreia com sangue, seguida por dor abdominal, que foi mais prevalente na DC, de maneira semelhante a outros estudos.^{13,15,17,19,20,21} Sangramento retal é mais frequente ao diagnóstico em pacientes com VEOIBD, refletindo sua localização colônica, enquanto dor abdominal e perda de peso são mais frequentes em crianças maiores.^{13,15} Perda de peso pode estar presente desde o início, sobretudo nos pacientes com DC, cujo envolvimento ileal pode contribuir. Doença perianal foi pouca observada se comparada a outros estudos.^{14,19,20} Manifestações extraintestinais (MEI) estão frequentemente presentes nos pacientes com VEOIBD.²² Neste estudo, a prevalência de MEI foi maior que no estudo norte-americano e japonês, com taxas próximas a 26%, mas, de forma semelhante ao último, a prevalência foi maior na DC.^{19,20}

Para pacientes com dor abdominal crônica, diarreia, ou ambos, história familiar positiva, perda de peso ou presença de manifestação extraintestinal, a junção de história clínica, hemograma, provas inflamatórias sistêmicas e calprotectina fecal pode ajudar a guiar o diagnóstico.²³ Plaquetose e aumento de provas inflamatórias, como observados neste

estudo, são habitualmente encontrados.^{13,21} No estudo da Índia, valores de VHS, acima de 20mm, e PCR, acima de 5mg/dl, foram observados em 87,3% e 74,7% dos pacientes, respectivamente.²¹ A calprotectina fecal tem demonstrado ser o marcador de inflamação intestinal mais sensível, embora não seja capaz de discriminar a DII de outras causas de inflamação intestinal.^{7,23} No presente estudo, nos pacientes que tiveram dosagem de calprotectina realizada, 73% apresentavam níveis elevados com medianas acima de 600 mcg/g. Maiores valores foram observados na DC, como já relatado.²¹ Um estudo com crianças menores de 16 anos, com e sem diagnóstico de DII, demonstrou que 46% das crianças com valores acima de 250 tinham o diagnóstico DII, subindo para mais de 60% com níveis acima de 600mcg/g.²⁴

Na presença de sintomas gastrointestinais com marcador fecal elevado, a colonoscopia deve ser realizada.²³ A predominância do envolvimento colônico em crianças menores foi confirmada neste estudo. No estudo americano de 2015, 67% das crianças menores de 6 anos tinham doença colônica isolada e, nas crianças maiores, 49%.¹² O comprometimento colônico extenso (E3/E4), observado neste estudo na RCU e na IBD-U, é consistente com as características da colite de início na infância, assim como colite extensa (L2) com pouco acometimento ileal (L3) observado na DC. O envolvimento ileal é menos comum em crianças menores, mas parece aumentar com a idade.²⁵ Semelhantemente a outros estudos, não foi observado ileíte terminal isolada (L1).^{14,20,26} O envolvimento do TGI alto pode chegar a 51% dos casos, sobretudo na DC, com comprometimento, de forma habitual, do estômago e duodeno, observado neste estudo de forma similar a um estudo europeu.²⁵

Em relação à avaliação histológica, os achados foram compatíveis com a DII pediátrica, mas também são comumente encontrados na DII do Adulto.^{18,27} A inflamação crônica intensa, com predomínio linfoplasmocitário, distorção arquitetural, sem ileíte associada, característico da VEOIB, foi observada, sobretudo na RCU.²⁷ Na série canadense de Montreal, 100% dos pacientes com RCU/IBD-U apresentavam colite crônica sem ileíte associada.¹⁶ A VEOIBD também pode se apresentar como inflamação leve e inespecífica contendo alterações comuns a ambos, DC e RCU, aumentando o diagnóstico de IBD-U, semelhante ao observado neste estudo.²⁸ Granuloma é observado na VEOIBD, sobretudo nos menores de 2 anos, no qual a associação com doença monogênica e EII é maior.²⁸ Neste estudo, apenas 1 paciente, com DC, apresentou granuloma na biópsia, diferentemente de outros estudos^{11,19,27} Por outro lado, em cerca de 40% dos pacientes, acúmulos linfóides estavam presentes na histologia. Tanto o acúmulo linfóide quanto os granulomas podem ser respostas do sistema imunológico a inflamações crônicas no intestino. Eles podem coexistir

na DC, onde o sistema imune está constantemente ativado.²⁸ Em crianças menores, inflamação ativa pode ser observada por meio de uma atividade histológica acentuada como observado neste estudo, reforçando seu comportamento mais agressivo.^{16,27}

Nesta pesquisa, todas as crianças receberam corticóide em algum momento do tratamento. Os corticóides são úteis para indução de remissão tanto na DC como na RCU.²⁹ Apesar de seu uso ser, cada vez mais, desencorajado pelos efeitos colaterais, ainda há uma taxa elevada de uso em crianças menores, sobretudo aquelas com VEOIBD.^{18,19,20} Na tentativa de evitar o uso do corticóide, a terapia enteral, tem se mostrado promissora, tanto como primeira escolha terapêutica, quanto como suporte nutricional. Neste estudo, os pacientes que receberam NEE como terapêutica inicial tinham DC, mas não conseguiram completar o tratamento. Problemas de adesão à dieta com intolerância à fórmula já têm sido relatados.³⁰

Outros estudos também demonstram que, no grupo mais jovem com DC, há mais exposição a corticosteroides e imunossuppressores, da mesma forma, na RCU, uma proporção maior recebe imunomoduladores como mesalazina e tiopurinas.^{12,15} A tiopurina como imunossupressor, em comboterapia com anti-TNF, foi a principal escolha terapêutica para manutenção da remissão. O uso precoce de tiopurinas em crianças pode beneficiar na redução do risco para cirurgia, particularmente se iniciada ao diagnóstico.²⁹ O estudo tailandês mostrou uma taxa de uso precoce de IMS de 51,8%.¹⁴ Em contrapartida, foi pequeno o uso de aminosalicilatos como monoterapia, restringindo-se a pacientes com RCU, diferentemente de outros estudos.^{12,14,16,19} Apesar da eficácia dos aminosalicilatos estar claramente documentada na RCU, não há evidência de que são capazes de induzir cicatrização da mucosa e sua indicação se reserva para doença leve a moderada.²⁹

Uma particularidade da VEOIBD é a baixa resposta ao tratamento, com aumento das evidências, sugerindo que a introdução precoce de imunobiológicos pode ser benéfica para determinados pacientes com fenótipos graves e potenciais desfechos desfavoráveis.^{29,30} Neste estudo 2, pacientes com DC receberam infliximabe como primeira escolha, considerando-se a gravidade da doença e comprometimento ponderoestatural. E de forma semelhante ao estudo japonês, pouco mais da metade dos pacientes necessitou do uso de imunobiológicos, também com uso mais prevalente na DC (47% e 56% nos pacientes com RCU e DC, respectivamente).²⁰ O estudo norte-americano, de 2021, demonstrou aumento do uso de biológicos de 18 para 41% em 5 anos de tratamento na VEOIBD.¹⁹

Uma das limitações deste estudo foi a dificuldade de padronização dos achados colonoscópicos e histopatológicos, uma vez que a colonoscopia foi realizada por profissionais

diferentes, sem a utilização de escores endoscópicos. Essa falta de padronização, entretanto, já tem sido relatada na literatura, sobretudo para VEOIBD.²⁸ A calprotectina fecal ao diagnóstico não foi dosada em todos os pacientes, por limitações técnicas de alguns serviços. Como em todo estudo retrospectivo, a falta de algumas informações e a possibilidade de vieses devem ser consideradas.

Concluindo, a DII tem acometido crianças cada vez menores, sendo a VEOIBD um exemplo de doença grave, com envolvimento extenso do cólon, resistente ao tratamento, necessitando do uso combinado, de forma precoce, de imunossupressores e imunobiológicos e com possível associação com outras doenças como EII, o que a torna um desafio para pediatras e gastroenterologistas. Apesar das limitações, este estudo fornece dados importantes acerca da VEOIBD, auxiliando na suspeição, diagnóstico e tratamento desses pacientes, tanto de forma regional quanto global.

REFERÊNCIAS

- [1] Afzali A, Katz S. Inflammatory Bowel Disease in the Baby to Baby Boomer: Pediatric and Elderly Onset of IBD. *Curr Treat Options Gastro*. setembro de 2018;16(3):289–305.
- [2] Kotze PG, Underwood FE, Damião AOMC, Ferraz JGP, Saad-Hossne R, Toro M, et al. Progression of Inflammatory Bowel Diseases Throughout Latin America and the Caribbean: A Systematic Review. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*. fevereiro de 2020;18(2):304–12.
- [3] Kuenzig ME, Fung SG, Marderfeld L, Mak JWY, Kaplan GG, Ng SC, et al. Twenty-first Century Trends in the Global Epidemiology of Pediatric-Onset Inflammatory Bowel Disease: Systematic Review. *Gastroenterology*. abril de 2022;162(4):1147-1159.e4.
- [4] Arai K. Very Early-Onset Inflammatory Bowel Disease: A Challenging Field for Pediatric Gastroenterologists. *Pediatr Gastroenterol Hepatol Nutr*. 2020;23(5):411.
- [5] Vernon-Roberts A, Day AS. Promoting early testing and appropriate referral to reduce diagnostic delay for children with suspected inflammatory bowel disease, a narrative review. *Transl Pediatr*. julho de 2023;12(7):1416–30.
- [6] Levine A, Koletzko S, Turner D, Escher JC, Cucchiara S, De Ridder L, et al. ESPGHAN Revised Porto Criteria for the Diagnosis of Inflammatory Bowel Disease in Children and Adolescents. *J pediatr gastroenterol nutr*. junho de 2014;58(6):795–806.
- [7] Levine A, Griffiths A, Markowitz J, Wilson DC, Turner D, Russell RK, et al. Pediatric modification of the Montreal classification for inflammatory bowel disease: The Paris classification. *Inflammatory Bowel Diseases*. junho de 2011;17(6):1314–21.
- [8] Hyams JS, Ferry GD, Mandel FS, et al. Development and validation of a pediatric Crohn's disease activity index. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1991;12:439-447.
- [9] Turner D, Otley AR, Mack D, et al. Development, validation, and evaluation of a pediatric ulcerative colitis activity index: a prospective multicenter study. *Gastroenterology* 2007;133 423-432.
- [10] Vespa E, D'Amico F, Sollai M, Allocca M, Furfaro F, Zilli A, et al. Histological Scores in Patients with Inflammatory Bowel Diseases: The State of the Art. *JCM*. 11 de fevereiro de 2022;11(4):939.
- [11] Fang YH, Luo YY, Yu JD, Lou JG, Chen J. Phenotypic and genotypic characterization of inflammatory bowel disease in children under six years of age in China. *World J Gastroenterol*. 7 de março de 2018;24(9):1035–45.
- [12] Oliva-Hemker M, Hutfless S, Al Kazzi ES, Lerer T, Mack D, LeLeiko N, et al. Clinical Presentation and Five-Year Therapeutic Management of Very Early-Onset

Inflammatory Bowel Disease in a Large North American Cohort. *The Journal of Pediatrics*. setembro de 2015;167(3):527-532.e3.

- [13] Dhaliwal J, Walters TD, Mack DR, Huynh HQ, Jacobson K, Otley AR, et al. Phenotypic Variation in Paediatric Inflammatory Bowel Disease by Age: A Multicentre Prospective Inception Cohort Study of the Canadian Children IBD Network. *Journal of Crohn's and Colitis*. 21 de maio de 2020;14(4):445–54.
- [14] Tanpowpong P, Jitwongwai S, Kijmassuwan T, Sriphongphankul H, Osatakul S, Damrongmanee A, et al. Multicenter registry of pediatric inflammatory bowel disease from a developing country. *BMC Pediatr*. 1º de abril de 2024;24(1):225.
- [15] Banerjee R, Pal P, Nabi Z, Shava U, Ganesh G, Reddy DN. Very early onset inflammatory bowel disease in a South Asian country where inflammatory bowel disease is emerging: a distinct clinical phenotype from later onset disease. *Intest Res*. 31 de outubro de 2021;19(4):398–407.
- [16] Chapuy L, Leduc B, Godin D, Damphousse A, Patey N, Dal Soglio D, et al. Phenotype and outcomes of very early onset and early onset inflammatory bowel diseases in a Montreal pediatric cohort. *Front Pediatr*. 4 de abril de 2023;11:1157025.
- [17] Bequet E, Sarter H, Fumery M, Vasseur F, Armengol-Debeir L, Pariente B, et al. Incidence and Phenotype at Diagnosis of Very-early-onset Compared with Later-onset Paediatric Inflammatory Bowel Disease: A Population-based Study [1988–2011]. *ECCOJC*. 31 de outubro de 2016;jjw194.
- [18] Krauthammer A, Weintraub I, Shaoul R, Lev-Tzion R, Broide E, Wilschanski M, et al. Infantile-onset inflammatory bowel disease has variable long-term outcomes. *Front Pediatr*. 2023;11:1097779.
- [19] Kerur B, Benchimol EI, Fiedler K, Stahl M, Hyams J, Stephens M, et al. *Natural History of Very Early Onset Inflammatory Bowel Disease in North America: A Retrospective Cohort Study*. *Inflammatory Bowel Diseases*. 16 de fevereiro de 2021;27(3):295–302.
- [20] Usami M, Takeuchi I, Kyodo R, Hirano Y, Kashiwagi K, Fujikawa H, et al. Clinical features of very early-onset inflammatory bowel disease in Japan: a retrospective single-center study. *Intest Res*. outubro de 2022;20(4):475–81.
- [21] Mansour HH, Seddek SS, Meguid MEAEL, Eskander AE, Galal ST. Very-early-onset inflammatory bowel disease versus late-onset inflammatory bowel disease in relation to clinical phenotype: A cross-sectional study. *Indian J Gastroenterol*. abril de 2023;42(2):185–91.
- [22] Zheng HB, De La Morena MT, Suskind DL. The Growing Need to Understand Very Early Onset Inflammatory Bowel Disease. *Front Immunol*. 26 de maio de 2021;12:675186.
- [23] Bouhuys M, Lexmond WS, Van Rheezen PF. Pediatric Inflammatory Bowel Disease. *Pediatrics*. 1º de janeiro de 2023;151(1):e2022058037.

- [24] Orfei M, Gasparetto M, Hensel KO, Zellweger F, Heuschkel RB, Zilbauer M. Guidance on the interpretation of faecal calprotectin levels in children. Pai N, organizador. PLoS ONE. 11 de fevereiro de 2021;16(2):e0246091.
- [25] De Bie CI, Paerregaard A, Kolacek S, Ruemmele FM, Koletzko S, Fell JME, et al. Disease Phenotype at Diagnosis in Pediatric Crohn's Disease: 5-year Analyses of the EUOKIDS Registry. *Inflammatory Bowel Diseases*. fevereiro de 2013;19(2):378–85.
- [26] Kelsen JR, Conrad MA, Dawany N, Patel T, Shraim R, Merz A, et al. The Unique Disease Course of Children with Very Early onset-Inflammatory Bowel Disease. *Inflammatory Bowel Diseases*. 27 de setembro de 2019;izz214.
- [27] Conrad MA, Carreon CK, Dawany N, Russo P, Kelsen JR. Distinct Histopathological Features at Diagnosis of Very Early Onset Inflammatory Bowel Disease. *Journal of Crohn's and Colitis*. 26 de abril de 2019;13(5):615–25.
- [28] Ye Z, Wang Y, Tang Z, Wang X, Sun L, Wang L, et al. Understanding endoscopic and clinicopathological features of patients with very early onset inflammatory bowel disease: Results from a decade of study. *Digestive and Liver Disease*. janeiro de 2024;56(1):50–4.
- [29] Kelsen JR, Sullivan KE, Rabizadeh S, Singh N, Snapper S, Elkadri A, et al. North American Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition Position Paper on the Evaluation and Management for Patients With Very Early-onset Inflammatory Bowel Disease. *J pediatr gastroenterol nutr*. março de 2020;70(3):389–403.
- [30] Lomazi EA, Oba J, Rodrigues M, Marmo MC da R, Sandy NS, Sdepanian VL, et al. BRAZILIAN CONSENSUS ON THE MANAGEMENT OF INFLAMMATORY BOWEL DISEASES IN PEDIATRIC PATIENTS: A CONSENSUS OF THE BRAZILIAN ORGANIZATION FOR CROHN'S DISEASE AND COLITIS (GEDIIB). *Arq Gastroenterol*. 24 de março de 2023;59:85–124.

TABELAS

Tabela 1. Características demográficas e clínicas dos pacientes com VEOIBD

Característica	Total (32)	DC (13)	RCU (16)	IBD-U (3)	p
Gênero (% feminino)	65,63%	69,23%	62,50%	66,67%	0,9298
Idade início dos sintomas (meses)	27,50 (16-60)	24,00 (5-60)	36,00 (23-72)	10,00 (1-72)	0,2379
Idade de diagnóstico (meses)	50,31(±34,24)	36,00 (15-96)	45,00 (27-84)	17,00 (12-77)	0,4153
Tempo para Confirmação diagnóstica (meses)	10,50 (6-17)	10,00 (4-24)	11,50 (2-17)	7,00 (5-11)	0,7058
História familiar de DII	7 (21,88%)	2 (15,38%)	4 (25,00%)	1 (33,33%)	0,7253
Sintomas ao diagnóstico					
Diarreia com sangue ^a	27 (84,37%)	11 (84,62%)	14 (87,50%)	2 (66,67%)	0,6595
Diarreia sem sangue ^a	4 (12,50%)	2 (15,38%)	1 (6,25%)	1 (33,33%)	0,3944
Dor abdominal ^a	15 (46,87%)	8 (61,54%)	7 (43,75%)	0	0,1472
Déficit ponderal ^a	14 (43,75)	10 (76,92%)	1 (6,25%)	3 (100%)	<0,0001*
Doença perianal ^a	2 (6,25%)	2 (15,38%)	0	0	0,2104
Manifestações Extraintestinais	13 (40,62%)	10 (76,92%)	2 (12,50)	1 (33,33%)	0,0067*
Exames laboratoriais					
Hemoglobina (g/dl) ^b	10,71	9,50	11,95	11,9	0,0035*
média (DP)	(±2,49)	(7-10,9)	(11,5-13,3)	(10,3-13,8)	
Hematócrito (%) ^c	33 (±7)	28,81 (±6,23)	36,66 (±5,02)	38,00(±1,84)	0,0012*
Plaquetas (mm ³) ^c	477000	654000	557000	584000	0,6916
média (DP)	(±197430)	(±236531)	(±165702)	(±168690)	
VHS (mm/h) ^b	41,1 (±36,6)	50,00 (30-87)	17,50 (13-55)	2,00 (1-30)	0,0138*
média (DP)					
Calprotectina fecal (mcg/g) ^b	1690	4487	1610	673,5	0,3036
mediana (IIQ)	(600,5-5657)	(208-6000)	(67-6000)	(610-737)	
Localização Geral					
Pancolônica	28 (87,50%)	10 (76,92%)	14 (87,50%)	2 (66,67%)	0,0296
Envolvimento ileal	7 (21,87%)	5 (38,46%)	1 (3,12%)	1 (33,33%)	
Reto isolado	1 (3,12%)	0	1 (3,12%)	0	
Localização da doença - RCU					
Proctite – E1			1 (6,25%)		
Colite esquerda – E2			4 (25,00%)		
Colite extensa – E3			5 (31,25%)	1 (33,33%)	
Pancolite – E4			6 (37,50%)	2 (66,67%)	
Localização da doença - DC					
Íleo terminal –L1		0			
Colônica apenas – L2		8 (61,54%)			
Ileocolônica – L3		5 (38,46%)			
Comprometimento alto, proximal ao ângulo de Treitz – L4a		8 (61,54%)			
Comprometimento alto, distal ao ângulo de Treitz - L4b		1 (7,69%)			
Envolvimento do TGI alto ^b	14 (43,75%)	9 (69,23%)	3 (18,75%)	2 (66,67%)	0,0171*
Atividade da doença					
Leve ^a	4 (12,50)	0	3 (18,75%)	1 (33,30%)	
Moderada ^a	16 (50,00)	6 (46,15%)	8 (50,00%)	2 (66,67%)	
Grave ^a	12 (37,50)	7 (53,85%)	5 (31,25%)	0	

a- Qui-quadrado / b- Kruskal-Wallis / c- ANOVA

DII = doença inflamatória intestinal, VHS=velocidade de hemossedimentação, DP=desvio padrão, IIQ=intervalo interquartil

Tabela 2. Achados Histológicos

	Total (n=32)	DC (n=13)	RCU (n=16)	CI (n=3)	p
Achados Microscópicos					
Inflamação crônica focal (microabscessos, criptite) ^b	18 (56,25%)	5 (38,46%)	13 (81,25%)	0	0,0083*
Linfoplasmocitose basal ^b	14 (43,75%)	3 (23,08%)	10 (62,50%)	1 (33,33%)	0,0965
Sinais de cronicidade: distorção arquitetura, metaplasia de células de Paneth, Depleção de mucinas ^b	16 (50%)	3 (23,08%)	13 (81,25%)	0	0,0015*
Inflamação transmural ^b	12 (37,50%)	12 (92,31%)	0	0	<0,0001*
Ulcerações ^b	10 (31,25%)	8 (61,54%)	2 (12,50%)	0	0,0085*
Fibrose de submucosa ^b	4 (12,50%)	4 (30,77%)	0	0	0,0354*
Infiltrado não específico em lâmina própria ^b	4 (12,50%)	1 (7,69%)	1 (6,25%)	3 (100,00%)	0,0001*
Úlceras em V (fissuras) ^b	2 (6,25%)	2 (15,38%)	0	0	0,2104
Granuloma não caseoso ^b	1 (3,12%)	1 (7,69%)	0	0	0,4703
Atividade Histológica					
Inativa/Quiescente/Normal: sem infiltrado epitelial por neutrófilos ^b	2 (6,25%)	1 (7,69%)	1 (6,25%)	0	0,8842
Atividade Leve: neutrófilos limitados a lâmina própria ou criptite isolada ^b	3 (9,37%)	0	2 (12,50%)	1 (33,33%)	0,1690
Atividade Moderada: criptite com abscessos cripticos ^b	4 (12,50%)	1 (7,69%)	3 (18,75%)	0	0,5287
Atividade acentuada: inflamação ativa difusa com ulcerações ^b	16 (64%)	8 (61,54%)	7 (43,75%)	1 (33,33%)	0,5284
Sem informação ^b	7 (21,87%)	3 (23,08%)	3 (18,75%)	1 (33,33%)	0,8467

a - Teste Exato de Fisher / b- Qui-quadrado

Tabela 3. Escolha Terapêutica

	Total	DC (n=13)	RCU (n=16)	CI (n=3)	p
Nutrição Enteral Exclusiva ^a	3 (9,37%)	3 (23,08%)	0	0	0,0890
Corticóide isolado ^a	17 (53,12%)	5 (38,46%)	11 (68,75%)	1 (33,33%)	0,2057
CE+ IMS desde o início ^a	12 (37,50%)	6 (46,15%)	4 (25,00%)	2 (66,67%)	0,4513
Anti-TNF desde o início	2 (6,25%)	2 (15,38%)	0	0	0,2104
Anti-TNF após falha de resposta ao tratamento inicial+IMS	17 (53,12%)	9 (69,23%)	6 (37,50%)	2 (66,67%)	0,2077
Monoterapia com IMS	9 (28,12%)	2 (23,08%)	7 (43,75%)	0	
Monoterapia com Mesalazina ^a	3 (9,37%)	0	3 (18,75%)	0	0,1911
Outros (Imunoglobulina) ^a	1 (3,12%)	0	0	1	0,0068*
Falha terapêutica ^a	18 (56,25%)	10 (76,92%)	6 (37,50%)	2 (66,67%)	0,0355*

a- Qui-quadrado

CE=corticóide, IMS=Imunossupressor, TNF=Fator de Necrose Tumoral

4. ARTIGO 2

Título: Características clínico-moleculares da Doença Inflamatória Intestinal de Início Muito Precoce em crianças brasileiras

RESUMO

Introdução: Na Doença Inflamatória Intestinal de Início Muito Precoce (VEOIBD), diferentemente de outras idades, alterações genéticas, levando a desordens do sistema imune ou disfunção da barreira epitelial, têm sido demonstradas. O presente estudo visa identificar genes e variantes gênicas relacionados com doença inflamatória intestinal (DII) em crianças com VEOIB. **Métodos:** Crianças com diagnóstico de VEOIBD realizaram painel genético alvo (TGP), contendo 426 genes relacionados a erros inatos do sistema imune (EII). A avaliação inicial identificou genes relacionados à DII e associados à clínica do paciente. Posteriormente, variantes individuais foram avaliadas e divididas em patogênicas/provavelmente patogênicas, alelo de risco aumentado, e variantes de significado incerto com possível associação com DII. **Resultados:** Foram incluídos 32 pacientes com VEOIBD, com predomínio discreto de RCU em relação à DC e à IBD-U, com envolvimento colônico extenso com intensa inflamação intestinal e raro comprometimento ileal, atividade da doença moderada a grave e falha de resposta ao tratamento inicial em 59,37% dos pacientes. Inicialmente, 31 genes associados à DII, relacionados ao quadro clínico do paciente, chamaram atenção em 23 pacientes. O diagnóstico molecular foi possível em 34% dos pacientes, incluindo 7 pacientes com variantes patogênicas, sendo TNFRSF13B o gene mais frequentemente envolvido, e 4 pacientes com variantes em NOD2. Outras variantes de significado incerto, com possível associação causal com DII, foram identificadas em 5 pacientes (GUCY2C, IFH11, NFAT5, NLRP3, NLRP1, TGFB1, SAMD9). **Conclusão:** O uso de painéis genéticos alvo, em crianças com VEOIBD, proporciona a identificação de variantes associadas à DII, permitindo um diagnóstico molecular mais preciso que proporciona identificar a via imunológica envolvida e, desta forma, direcionar o tratamento de forma personalizada.

Palavras-chave: Doença Inflamatória Intestinal de Início Muito Precoce, Fatores Imunológicos, Painéis Genéticos Alvo, Testes genéticos, Criança.

ABSTRACT

Introduction: In very early-onset inflammatory bowel disease (VEOIBD), unlike in other age groups, genetic alterations leading to immune system disorders or epithelial barrier dysfunction have been demonstrated. The present study aims to identify genes and genetic variants related to inflammatory bowel disease (IBD) in children with VEOIBD. **Methods:** Children diagnosed with VEOIBD underwent targeted genetic panel (TGP) screening, containing 426 genes related to inborn errors of the immune system (IEI). The initial evaluation identified genes related to IBD and associated with the patient's clinical condition. Subsequently, individual evaluation of variants was done and divided into pathogenic/probably pathogenic, increased risk allele, and variants of uncertain significance with possible association with IBD. **Results:** Thirty-two patients with VEOIBD were included, with a slight predominance of UC in relation to CD and IBD-U, with extensive colonic involvement with intense intestinal inflammation and rare ileal involvement, moderate to severe disease activity and failure to respond to initial treatment in 59.37% of patients. Initially, 31 genes associated with IBD, related to the patient's clinical presentation, caught attention in 23 patients. Molecular diagnosis was possible in 34% of patients, including 7 patients with pathogenic variants, with TNFRSF13B being the most frequently involved gene, and 4 patients with variants in NOD2. Other variants of uncertain significance, with a possible causal association with IBD, were identified in 5 patients (GUCY2C, IFHI1, NFAT5, NLRP3, NLRP1, TGFB1, SAMD9). **Conclusion:** The use of targeted genetic panels in children with VEOIBD allows the identification of variants associated with IBD, enabling a more accurate molecular diagnosis that collaborates in the identification of the immunological pathway involved and, thus, directing personalized treatment.

Keywords: Very Early Onset Inflammatory Bowel Disease; Immunological Factors; Targeted Genetic Panels; Genetic Testing; Child.

INTRODUÇÃO

A doença inflamatória de início muito precoce, VEOIBD (do inglês *very early onset inflammatory bowel disease*), representa um subgrupo da doença inflamatória intestinal (DII) pediátrica, cujo início dos sintomas ocorre antes dos 6 anos de idade. Pode corresponder a 4% a 10% dos casos de DII em crianças.^{1,2,3} Nas últimas décadas, entretanto, estudos demonstram aumento da incidência de 7% ao ano nos menores de 5 anos de idade.¹ Diferentemente de crianças maiores e adultos, com envolvimento poligênico em sua maioria, a VEOIBD tem um envolvimento mono ou oligogênico.^{1,4,5,6,7} Embora existam poucos estudos relacionando as variantes gênicas e o curso da doença, a análise genética tem grande impacto na prática clínica, podendo auxiliar no diagnóstico e no desenvolvimento de tratamentos mais precisos.

A maioria das informações relacionadas ao envolvimento genético na DII foram obtidas de Estudos de Associação Genômica (GWAS), que já revelaram mais de 260 loci envolvidos na DII. Essas descobertas têm aumentado ao longo do tempo, entretanto, defeitos genéticos têm sido detectados em apenas 15 a 20% dos pacientes com formas muito precoces da DII.^{8,9} Os primeiros genes implicados no risco de desenvolver a doença surgiram em meados dos anos 2000, mas foi em 2009 que houve um grande marco com a descoberta de uma mutação no receptor de interleucina 10.^{10,11} Nos anos seguintes, mais de 50 genes foram descritos, associados à VEOIBD.^{12,13} Na última década, com o advento do sequenciamento de última geração (NGS), a abordagem diagnóstica da DII mudou para análise molecular detalhada, com a vantagem de avaliar simultaneamente múltiplos genes de forma mais rápida e com menor custo. Mais recentemente, o grupo europeu listou 75 genes relacionados à VEOIBD.¹⁴

Formas precoces de DII, muitas vezes, são a manifestação de um erro inato da imunidade (EII), ou de disfunção da barreira epitelial, e apresentam manejos específicos, destacando a importância de um sistema imunológico desregulado na patogênese da VEOIBD.^{15,16} Desde 2014, painéis alvo por NGS demonstram ser úteis, sobretudo, em pacientes com sintomas atípicos.¹⁷ De forma mais recente, esses painéis alvo têm sido usados para identificar variantes genéticas causadoras de doença em pequenas coortes de pacientes com VEOIBD.¹⁸ Dada a importância do diagnóstico molecular neste grupo de pacientes, este estudo tem como objetivo identificar variantes que possam ter associação com DII, em uma amostra de pacientes com VEOIBD.

Metodologia

Trata-se de estudo transversal, com participantes entre 0 de 18 anos, com DII com início dos sintomas antes dos 6 anos, recrutados entre abril de 2022 e janeiro de 2024. A amostra foi constituída por pacientes acompanhados por gastroenterologistas pediátricos de instituições do Brasil, após consentimento dado pelos responsáveis legais, durante consulta de rotina. Todos os pacientes tiveram diagnóstico de DII confirmados por colonoscopia e foram classificados em Doença de Crohn (DC), Retocolite Ulcerativa (RCU) ou Doença Inflamatória Intestinal Não Classificada (IBD-U), de acordo com os Critérios de Porto.¹⁹ A localização da doença foi baseada na Classificação de Paris.²⁰ Informações clínicas foram coletadas, de forma retrospectiva, por meio de questionário elaborado pelos pesquisadores, incluindo idade de início e idade ao diagnóstico, sintomas clínicos, manifestações extraintestinais, história familiar, achados de exames complementares e escolhas terapêuticas, para melhor caracterização do quadro clínico do paciente. A avaliação dos achados histológicos foi direcionada para achados compatíveis com VEOIBD.²¹

Amostras de saliva foram coletadas para realização do teste genético, por meio de swab oral, e enviadas para o exterior, para análise pela empresa INVITAE. Para realização dos testes genéticos, esse estudo recebeu recursos da Jeffrey Modell Foundation, que é uma agência de fomento à pesquisa em imunodeficiências primárias, com parceria com a INVITAE. Pequena parte das amostras foram analisadas também pelo laboratório Fleury Genômica. Ambos utilizam a técnica de sequenciamento genético de última geração (NGS), por meio da plataforma Illumina, e se baseiam na versão GRCh37 do Genoma Humano para detecção e análise de variantes. O painel genético elegido foi de EII, contendo 426 genes. Os dados gerados pelo sequenciamento foram analisados por processos customizados de bioinformática (pipeline v3.10). As variantes receberam a classificação, segundo o Colégio Americano de Genética Médica (ACMG), em patogênicas, provavelmente, patogênicas e de significado incerto.

Para triagem das variantes de interesse, foram considerados genes com associação com DII e compatíveis com o quadro clínico do paciente, tendo como referência o fenótipo previamente descrito para o gene em questão, utilizando-se como base de dados OMIM (omim.org), ClinVar (ncbi.nlm.nih.gov/clinvar), e MedGen (ncbi.nlm.nih.gov/medgen). As variantes foram avaliadas individualmente, observando a conformidade entre herança e zigosidade. Posteriormente, o efeito sobre a proteína codificada foi levado em conta, baseando-se nas análises prévias realizadas pelos laboratórios responsáveis. As diretrizes da ACMG especificam que o impacto funcional das mutações deve ter sido avaliado, para

classificar a variante como patogênica, assim como variantes possivelmente patogênicas têm impacto funcional inferido de mutações semelhantes e demonstram correlação clínica convincente.²² Para tanto, os laboratórios utilizam-se de algoritmos para predizer se há efeito deletério ou presumivelmente deletério sobre a função da proteína, incluindo simulações computacionais em laboratório (*in silico*).

Desta forma, após avaliação individualizada, as variantes triadas foram divididas em variantes patogênicas/ provavelmente patogênicas associadas com DII, variantes com risco aumentado para DII e variantes de significado incerto com probabilidade de associação com DII.

Neste estudo, realizou-se análises qualitativas e quantitativas, incluindo variáveis categóricas e numéricas relacionadas aos dados clínicos coletados. As variáveis categóricas foram organizadas em tabelas de frequência, expressas em número (porcentagem). Como teste de normalidade, usou-se o Teste de Shapiro-Wilk. As medidas de tendência central para as variáveis contínuas se apresentam ora em medianas e intervalo interquartil, ora em médias e desvio padrão. Todas as análises foram realizadas por meio do programa GRAPHPAD PRISM 7.0.

Resultados

Um total de 32 pacientes com VEOIBD foram incluídos no estudo, com mediana de idade do início dos sintomas de 2 anos e 3 meses, sendo 37,5% dos pacientes com início de idade menor que 2 anos. A média ao diagnóstico foi de 4 anos e 2 meses, com atraso na confirmação diagnóstica de cerca de 11 meses (Tabela 1). Houve predomínio do sexo feminino em 65,63%. Diarreia com sangue foi o sintoma mais prevalente, seguido por dor abdominal. Déficit ponderal foi observado em 43,75% dos pacientes, ao diagnóstico. Doença em atividade moderada a grave foi encontrada na maioria dos pacientes. O diagnóstico de DII mais prevalente foi RCU, seguido por DC e IBD-U. A história familiar esteve presente em 21,88% dos pacientes, e manifestações extraintestinais, incluindo manifestações autoimunes, foram observadas em 40,62%. Em 81,25% dos pacientes houve envolvimento pancolônico e apenas 21,87% tiveram comprometimento ileal. Cerca de 44% dos pacientes apresentavam alterações em trato gastrointestinal alto, envolvendo, sobretudo, estômago e duodeno. A presença de um infiltrado inflamatório crônico com predomínio linfoplasmocitário e presença de acúmulo linfóide na lâmina própria foram frequentes. Também foi observada a presença de neutrófilos e eosinófilos em proporção semelhante e uma atividade histológica moderada a

acentuada. Em apenas um paciente foi descrito presença de granuloma. Doença perianal e atrofia vilositária foram observadas em três pacientes.

Anemia, plaquetose e provas inflamatórias elevadas foram os principais achados laboratoriais. Na triagem imunológica, cerca de 80% dos pacientes tiveram as imunoglobulinas dosadas e em 72% foi realizada a dosagem das subpopulações de linfócitos T e B (tabela 2). Apenas dois pacientes apresentaram redução nos níveis de imunoglobulinas (Ig), um com níveis baixos de IgM e IgG, e outro apenas com redução isolada de IgM. Subpopulações linfocitárias com valores abaixo do P10 foram observadas, sobretudo, para os linfócitos B CD19 e linfócitos T CD56 (células NK) em 52,9% e 41,2% respectivamente.

Com relação à avaliação genética, o painel de EII identificou, ao todo, 149 variantes envolvendo 110 genes (Tabela S1), considerando os resultados genéticos dos 32 pacientes. Após triagem, 31 genes chamaram a atenção, pela associação com DII e relação com os sintomas apresentados, em 23 pacientes (Figura 1). O painel não detectou variantes em dois pacientes, e em sete pacientes não foram encontradas variantes em genes considerados de atenção. Das 43 variantes envolvidas com esses genes de atenção, 75% foram classificadas como de significado incerto (VUS). Por fim, na análise individual, 16 pacientes foram triados e suas características genótípicas e fenotípicas estão descritas na Tabela 3, que foi subdividida em três tabelas (3A, 3B e 3C), conforme o grupo ao qual o paciente pertence, levando em conta a classificação da variante considerada.

Em sete pacientes (21,87%), foram identificadas variantes patogênicas e/ou provavelmente patogênicas associadas à DII (tabela 3A). Nesse grupo, todos os pacientes tiveram início dos sintomas antes dos dois anos de idade, apresentando diarreia com sangue e envolvimento pancolônico; 42,85% tinham história familiar de DII; 57,14% apresentavam déficit ponderal; 71,42% apresentavam manifestações extraintestinais; e 57,14% necessitaram do uso precoce de biológicos. O gene TNFRS13B apresentou mutações em 5 dos 7 pacientes, sendo que 4 já haviam sido classificados pelos critérios da ACMG como patogênicas (pacientes 17, 21, 22, 23) e um como sendo de significado incerto (paciente 20), entretanto, deletéria *in silico*. Três pacientes apresentavam redução de subpopulações de linfócitos T, e um paciente apresentava redução dos níveis séricos de IgM e IgG, com diagnóstico confirmado de EII. Outras duas variantes envolveram os genes KMT2D (paciente 7) e FOXP3 (paciente 13), ambas de significado incerto, mas cuja avaliação *in silico* mostrava ter efeito disruptivo. Os pacientes 7 e 17 apresentavam variantes nos genes IRF8 e SOCS1, respectivamente, de significado incerto, mas consideradas tolerantes e sem

associação com o quadro do paciente. O paciente 7 tinha ainda uma variante em TTC7A cuja zigosidade não estava de acordo com a herança.

Em quatro pacientes (pacientes 4, 9, 11 e 15) foram encontradas variantes consideradas de risco aumentado para DII em heterozigose no gene NOD2 (Tabela 3B). Os pacientes 4 e 9 carregavam a mesma variante em NOD2, p.Arg702, ambos com diagnóstico de RCU. O paciente 1, com diagnóstico de DC, apresentou duas variantes em NOD2: variante p.Gly908, associada ao risco aumentado para DC, e p.Gln233, de significado incerto, mas que mostrava ser deletéria, podendo estar associada a Síndrome de Blau, na qual 30% dos pacientes podem evoluir com DC. O paciente 15 apresentava além da variante p.Leuco1007, em NOD2, outras variantes, envolvendo os genes BACH2, NFAT5, RELA e RTLE1, cujas alterações na proteína codificada eram consideradas tolerantes e não havia associação fenotípica com o quadro clínico do paciente.

Com relação às variantes de significado incerto, em cinco pacientes foram identificadas variantes com probabilidade de associação com DII (Tabela 3C). Neste grupo, a média de início dos sintomas foi de 3 anos e 11 meses, todos com envolvimento extenso do cólon, sendo que 80% cursavam com pancolite e apenas 3 (60%) tinham envolvimento ileal (2 com rigidez de válvula ileocecal e 1 com subestonse ileal). A maioria (60%) estava em uso de ani-TNF. Dois pacientes apresentavam envolvimento oligogênico: paciente 1 com variantes em GUCY2C e NLRP3, e paciente 10 com variantes em NFAT5 e TGFB1. Três pacientes (18, 29 e 32) tinham envolvimento monogênico com variantes nos genes IFH11, NLRP1 e SAMD9. Esses pacientes tinham envolvimento extenso do cólon com intenso infiltrado inflamatório, envolvimento do intestino delgado (1 com comprometimento ileal e 2 com alterações em duodeno, incluindo alteração de vilosidades), 2 (66,67%) tinham alterações em linhagens linfocitárias e estavam em uso de infliximabe por falha de resposta ao tratamento inicial.

Discussão

Os recentes avanços em estudos genéticos, com uso de novas tecnologias como NGS, têm revelado, a cada ano, novos genes codificadores de proteínas relacionados a homeostase intestinal e envolvidos na gênese da inflamação.²³ Neste estudo, foi possível estabelecer um diagnóstico genético bem definido em 11 pacientes (34,4%), incluindo 7 pacientes (21,8%) com doença monogênica, que apresentavam variantes patogênicas ou provavelmente patogênicas para DII, e 4 pacientes (12,8%) com variantes de risco aumentado para DII.

Lega *et al.* (2020), utilizando, de forma semelhante, um painel para EII, identificou variantes patogênicas em 13% dos pacientes, envolvendo os genes WAS, CYBA, CYBB, FOXP3, CD40L, XIAP, TTC37, DKC1 e NOD2.²⁴ A identificação bem-sucedida de variantes causais conhecidas, geralmente, varia entre 5% e 20%, sendo que alguns estudos chegam a reportar uma cobertura acima de 31%.¹⁸ O presente estudo optou pela utilização de um painel genético para EII pela sua capacidade de detectar uma ampla gama de variantes em genes específicos que afetam diretamente a função imunológica, fornecendo uma visão abrangente das possíveis causas genéticas da DII e de possíveis causas subjacentes que podem estar relacionadas a defeitos imunológicos. A maioria dos painéis atualmente disponíveis para DII são praticamente uma fração do painel para EII que cobre mais de 400 genes.⁵

As porcentagens de pacientes com genética estabelecida variam muito. Os resultados dos estudos são influenciados por vários fatores, incluindo a representação geográfica das coortes, a seleção da população do estudo em relação ao fenótipo clínico (coortes não selecionadas, coortes com defeitos imunológicos não diagnosticados ou diarreia congênita), a idade de início da DII, o uso de tecnologias diferentes de sequenciamento e o grau de classificação patogênica e validação funcional das variantes, o que torna difícil a comparação. Ashton *et al.* (2016), estabeleceu diagnóstico molecular, através de um painel com 51 genes, em 4% das 574 crianças com DII Pediátrica incluídas no estudo, envolvendo os genes COL7A1, SKIV2L, LIG4, CYBA, FERMT1 E XIAP.²⁵ Petersen *et al.* (2017), utilizaram um painel com 28 genes, em 71 crianças com diagnóstico de DII abaixo dos 10 anos de idade, e encontraram 19 variantes de interesse em 14 pacientes, sendo cinco consideradas patogênicas, envolvendo os genes IL10, WAS, DCK1.²⁶ Charbit-Henrion *et al.* (2018), realizaram uma combinação de testes funcionais, com painel de 66 genes relacionados à VEOIBD e sequenciamento completo do exoma (WES), para avaliação de crianças com colite grave de início precoce, e identificaram variantes causadoras de doença em 32% dos pacientes.²⁷ Crowley *et al.* (2020) encontraram variantes patogênicas em 7,8%, utilizando TGP envolvendo 67 genes, associadas aos genes XIAP, DOCK8, FOXP3, GUCYC2 e LRBA, em uma amostra na qual apenas 4% tinham menos de 6 anos ao início dos sintomas.²⁸ Ashton *et al.* (2020), em uma coorte pediátrica com 401 pacientes com DII, com painel de 68 genes, encontraram variantes patogênicas ou provavelmente patogênicas em 11,5% dos pacientes, sendo que 16,7% delas foram observadas em menores de 6 anos, com variantes recorrentes nos genes NOD2, TRIM22, CD40LG, WAS, NCF2, STAT1, DKC1 E DCLREIC.²⁹ O presente estudo apresentou uma porcentagem maior de pacientes com diagnóstico molecular, mesmo em relação ao trabalho que utilizou painel semelhante para

EII.²⁴ Diferentemente dos estudos anteriores, não foram encontradas variantes patogênicas em genes comumente associados com DII, como WAS, XIAP e IL10. Assim como não foram observadas variantes em genes associados à doença granulomatosa crônica, como CYBA, CYBB e NCF2.

No presente estudo, entre os pacientes com variantes patogênicas/ provavelmente patogênicas, o gene TNFRSF13B esteve envolvido em 5 pacientes. Embora com fenótipos variados (2 com RCU, 2 com DC, e 1 com IBD-U), os pacientes com variantes em TNFRSF13B tinham início dos sintomas antes dos 2 anos de idade, doença grave com acometimento intestinal extenso, intenso infiltrado inflamatório com presença de neutrófilos em 80% dos pacientes, manifestações extraintestinais, como eczema e dermatite, manifestações autoimunes e infecções de repetição, e 80% tiveram baixa resposta ao tratamento inicial. O gene TNFRSF13B (*Tumor Necrosis Factor Receptor Superfamily Member 13B*) codifica a proteína TACI (*Transmembrane Activator and Calcium-modulating cyclophilin ligand Interactor*), que é encontrada na superfície das células B, com função reguladora, desempenhando papel crucial na sobrevivência e maturação dessas células e na produção de anticorpos.³⁰ Sua deficiência pode causar defeitos de tolerância periférica a autoantígenos e estimulação infecciosa persistente, em resultado à erradicação ineficaz dos antígenos, levando à inflamação da mucosa intestinal com colite grave, podendo estar associada à imunodeficiência comum variável e manifestações autoimunes.³¹ Uma das pacientes, com mutação neste gene, apresentava hipogamaglobulinemia IgA e IgG e teve diagnóstico confirmado de IDP, recebendo imunoglobulina endovenosa. Mutações nesse gene já foram associadas à VEOIBD.^{12,32} Outro estudo traz um relato de caso de uma paciente que carregava uma variante no gene TNFRSF13B, com diagnóstico tardio de imunodeficiência e de uma colite classificada como IBD-U, mas que desde os 3 anos de idade apresentava infecções de repetição, incluindo agentes como herpes e varicela.³³

Outras duas variantes consideradas patogênicas envolveram os genes FOXP3 e KMT2D. A FOXP3 (*Forkhead box protein 3*) é uma proteína que regula a diferenciação e ativação das células T reguladoras, desempenhando um papel necessário na manutenção da homeostase imunológica e da autotolerância periférica.³³ Variantes no gene da FOXP3 são associadas à síndrome IPEX (Imunodesregulação, Poliendocrinopatia, e Enteropatia ligada ao X), com grandes variações na sua apresentação clínica. Mutações de sentido trocado (*missense*) e pequenas deleções estão associadas a um fenótipo clínico mais leve com variações na apresentação clínica, como observado no paciente em questão, sendo relacionado tanto com DC, como RCU.^{1,23,28,33}

A variante no gene KMT2D, observada nesse estudo, envolve uma inserção, com efeito deletério *in silico*. O gene KMT2D está associado à síndrome de Kabuki, desordem genética rara, com espectro clínico amplo e variado, incluindo facies peculiar, alterações esqueléticas, retardo mental, falência de crescimento e eczema. Os pacientes apresentam defeitos de diferenciação dos linfócitos B, o que pode explicar as manifestações imunes como hipogamaglobulinemia e doenças autoimunes como a DC.^{34,35} O paciente com mutação em KMT2D, embora não apresentasse todas as alterações fenotípicas, tinha DC com colite grave, deficiência de IgM, infecções de repetição, alopecia, eczema e estava em investigação de transtorno do espectro autista. Um estudo em pacientes com síndrome de Kabuki revelou variantes gênicas em KMT2D, e também em KDM6, associadas a um espectro amplo de manifestações clínicas, incluindo doenças autoimunes, como a DII, hipogamaglobulinemia e infecções de repetição.³⁴ Outro estudo trouxe o relato de caso de uma paciente com Síndrome de Kabuki, cujo fenótipo clínico foi se desenvolvendo ao longo do tempo, com manifestações renais, articulares e intestinais com envolvimento colônico compatível com DC e do trato digestivo alto.³⁵ A expressividade do fenótipo na VEOIB é, com frequência, incompleta em ambas as desordens autossômicas dominante e recessiva, e pode ser resultado de efeitos modificadores do gene, fatores ambientais e mudanças epigenéticas.^{6,22}

As variantes no NOD2 (*Nucleotide-binding and oligomerization domain-containing 2*) foram identificadas pela primeira vez em 2001, associadas ao risco de desenvolver DII no adulto.¹⁰ A proteína NOD2 está expressa em células epiteliais intestinais, particularmente nas células de Paneth do intestino delgado, participando da homeostase intestinal, induzindo a produção de citocinas pro e anti-inflamatórias e mediando efeitos antibacterianos.^{36,37} Em pacientes com VEOIBD, sua relevância clínica ainda não está bem estabelecida. A maioria dos pacientes exibem um quadro de DC (90%), ainda que possa haver associação com outros fenótipos inflamatórios como RCU. Há envolvimento ileal, embora o envolvimento colônico seja mais comum em adultos.³⁷ Pacientes com, pelo menos, uma variante deste alelo, são propensos a um risco duas a quatro vezes maior de desenvolver DC, enquanto indivíduos portadores de duas ou mais variantes em NOD2 têm um risco 15 a 40 vezes maior. O envolvimento de mais de um alelo parece ser mais comum em crianças.³⁷ O paciente 11, com diagnóstico de DC grave, apresentou duas variantes em NOD2, podendo sugerir uma interação entre genes. Uma das variantes em NOD2, de significado incerto, com possível efeito deletério, pode estar associada à síndrome de Blau que apresenta fenótipo mais grave de DC associada à uveíte, artrite e erupções cutâneas granulomatosas. O paciente em questão apresentou fundo de olho normal, mas, por outro lado, desenvolveu manifestações de pele,

que foram caracterizadas como psoríase. Esse paciente continua em observação. Um outro estudo pesquisou as principais variantes em NOD2 (p.R702W, p.G908R e p.10007fs) relacionadas à DII em pacientes com diagnóstico de DC, e verificou, naqueles que carregavam essas variantes, um perfil de pacientes com maior atividade de doença (moderada a grave) na população pediátrica se comparado aos que tiveram início na idade adulta, o que indica a necessidade de uma estratégia de tratamento mais intensiva e precoce nos pacientes que carregam esta variante.³⁶

As variantes de significado incerto (VUS) são alterações genéticas, cuja associação com doenças ainda não é bem compreendida, sendo uma dificuldade na avaliação genética de doenças raras.³⁸ Por outro lado, em alguns casos, as VUS podem ser reclassificadas em patogênicas ou benignas à medida que mais informações se tornam disponíveis, demonstrando sua relevância clínica e a importância do seu monitoramento ao longo do tempo.³⁸ Neste estudo, em 5 paciente (20,6%) foram observadas variantes consideradas como VUS, com possibilidade de associação com a VEOIBD (Tabela 3C).

Em três pacientes foram observadas apenas uma VUS com provável associação com a doença: IFHI1, NRLP1 e SAMD9. O gene IFHI1, que codifica a proteína MDA5 (*melanoma differentiation associated protein 5*), participa na resposta imune inata a microrganismos, incluindo patógenos intestinais comuns. E variantes neste gene, com perda de função, podem cursar com enteropatia que simulam DII, como demonstrado no estudo envolvendo 42 crianças com VEOIBD, no qual identificou, em 8 pacientes, variantes em IFHI1 associadas à deficiência parcial ou total da proteína MDA5, com penetrância e expressividade variáveis.³⁹

NLRP1 faz parte da família dos receptores do tipo NOD, mas, diferentemente do NLRP3, sua associação com a DII ainda não está bem estabelecida, e parece estar associada a uma desregulação, levando à liberação de citocinas pro-inflamatórias como IL-18 e IL- β 1.⁴⁰ Esses receptores fazem parte dos inflamossomas e estão envolvidos na regulação do sistema imune inato, promovendo uma resposta inflamatória protetora. A ativação desregulada dos inflamossomas está associada a várias doenças autoinflamatórias, incluindo DII.⁴¹

Mutações do tipo sentido trocado com ganho de função em SAMD9 causam a síndrome MIRAGE, uma desordem complexa que envolve mielodisplasia, restrição de crescimento, hipoplasia adrenal, alterações genitais, infecções de repetição e enteropatia. A síndrome MIRAGE é fenotipicamente mais diversa do que o relatado originalmente, conforme observado em uma revisão da literatura recente, podendo os pacientes não apresentarem insuficiência adrenal ao diagnóstico, desenvolvendo a hipoplasia adrenal ao longo do tempo.⁴² Ainda que não exista uma associação bem estabelecida com DII, estudos

mais recentes demonstram envolvimento do trato gastrointestinal em relato de caso de pacientes com história de prematuridade e início precoce de diarreia com *déficit* de crescimento e intensa inflamação intestinal.^{43,44} Logo, a expressão fenotípica pode ser variável e a chance de desenvolvimento da doença na sua totalidade pode não ser de 100% (penetrância reduzida).^{21,31} A paciente com mutação em SAMD9 apresentou sangue nas fezes aos 10 dias de vida, com diagnóstico inicial de alergia a proteína do leite de vaca, respondendo inicialmente com uso de fórmula de aminoácido. Entretanto, aos 3 anos voltou a ter sangramento, quando foi confirmado DII com colite grave, envolvimento duodenal e infecções de repetição, mas sem outras manifestações associadas até o presente momento.

Dois pacientes tiveram envolvimento de mais de um gene, previamente relacionados com a VEOIBD (GUCY2C, NFAT5, TGFB1 e NLRP3).^{9,12,13} No paciente 1 foram encontradas uma variante em GUCY2C, considerada deletéria *in silico*, e outra variante em NLRP3, avaliada como tolerada *in silico*. Variantes em GUCY2C (*guanylate cyclase 2*) estão associadas à diarreia crônica de início precoce com envolvimento ileal, semelhante ao paciente em questão.¹³ Já NLRP3 faz parte da família dos receptores tipo NOD, encontrados em células imunes, como neutrófilos, e podem desencadear respostas inflamatórias através da IL1-beta e IL-18, e já foram associados não só à susceptibilidade a DII, sobretudo, a DC, mas também à RCU.⁴¹ Alguns estudos mais recentes têm demonstrado que a interação entre variantes, algumas consideradas benignas quando isoladas, podem estar associadas a doenças quando presentes em conjunto com outras variantes da mesma via imunológica ou que atuam de forma sinérgica de alguma forma. A interação entre variantes gênicas é um novo desafio para o entendimento da influência da genética em doenças inflamatórias. A DII pediátrica representa um espectro que pode variar de variantes monogênicas extremas a variantes complexas, poligênicas, mais prevalentes nos adolescentes.⁴⁵

Outro paciente apresentava variante em NFAT5 e uma variante em TGFB1. O gene NFAT5 (*Nuclear factor of activated T cells*) é uma proteína que codifica um fator de transcrição que regula a função e adaptação da célula imune em resposta ao estresse. Sua haploinsuficiência resulta em desregulação imune e inflamação crônica do intestino, podendo cursar com enterocolopatia e manifestações autoimunes.⁴⁶ Por outra via patogênica, a TGFB1 (*Transforming growth factor beta 1*) está relacionada à homeostase intestinal, e mutações com perda de função estão associadas à DII de início na infância com colite grave.⁴⁷ Apesar dessas variantes serem consideradas toleradas, esse paciente foi colocado nesse grupo pela raridade das variantes e pela possibilidade de interação entre vias, como comentando no parágrafo anterior.

Nesse mesmo sentido, ressaltamos também que todos os pacientes portadores de alelos de risco em NOD2 apresentavam outras variantes em genes previamente associados com VEOIBD, reforçando a suspeita de que interações gênicas possam contribuir para o desenvolvimento da VEOIBD em alelos de risco. O mesmo fato ocorreu em dois dos pacientes com variantes patogênicas ou provavelmente patogênicas neste estudo. Outro ponto importante é que outras manifestações clínicas, características de pacientes com EII, podem se apresentar de forma mais tardia como a hipogamaglobulinemia, característica da imunodeficiência comum variável nos pacientes com variantes em TNFRSF13B, e, talvez por esse fato, os pacientes participantes desta pesquisa ainda não apresentassem um quadro clínico mais exuberante característico dos EII.

Este estudo tem limitações, visto que os dados foram coletados retrospectivamente, comprometendo a qualidade das informações e permitindo viés de seleção. Além disso, houve dificuldade de padronização dos achados endoscópicos e histopatológicos, uma vez que a colonoscopia foi realizada por profissionais diferentes, e também houve falta de uniformidade na avaliação histológica. Essa falta de padronização, entretanto, já tem sido relatada na literatura, sobretudo para VEOIBD.²² A avaliação imunológica não foi realizada em todos os pacientes por limitações do serviço ou por não fazer parte da rotina. Os testes de função, para confirmar distúrbios imunológicos específicos, não foram realizados, por não se tratar do objetivo deste estudo. Na literatura, tem sido descrita a limitação de disponibilidade de testes funcionais na rotina diagnóstica de pacientes com DII¹⁴, mesmo porque não foi encontrado no estudo pacientes com variantes associadas à doença granulomatosa crônica ou deficiência de IL-10. Mesmo assim, consideramos de alto valor os achados moleculares nos pacientes com VEOIBD, pois eles acrescentam conhecimento aos escassos dados da literatura que se tem até o momento.

Esta pesquisa demonstrou que o painel genético de EII foi útil para a caracterização genética da VEOIBD, pois ajudou a ampliar o conhecimento do espectro clínico da DII em crianças menores, e, além disso, ajudou a compreender as vias patológicas envolvidas na gênese da inflamação intestinal, estimulando a rever as escolhas terapêuticas na busca de um tratamento mais assertivo. Desta forma, foi possível demonstrar que o diagnóstico molecular é fundamental nos casos de início precoce e nas apresentações não usuais e graves, com achados histológicos atípicos, história de infecções de repetição, manifestações extraintestinais, incluindo autoimunes. Tratamentos guiados para um defeito específico podem levar à remissão mais rápida e evitar possíveis complicações em crianças com VEOIBD. Com o aumento da incidência de DII nos menores de 6 anos, os desafios

permanecem devido à heterogeneidade dessa população, sendo necessárias mais pesquisas para desenvolver estratégias úteis para avaliar, diagnosticar e tratar pacientes com esses distúrbios, envolvendo o conhecimento combinado de gastroenterologia, imunologia e genética.

REFERÊNCIAS

1. Zheng HB, de la Morena MT, Suskind DL. The Growing Need to Understand Very Early Onset Inflammatory Bowel Disease. *Front Immunol.* 2021;12:675186
2. Shim JO. Recent Advance in Very Early Onset Inflammatory Bowel Disease. *Pediatr Gastroenterol Hepatol Nutr.* janeiro de 2019;22(1):41–9.
3. Crowley E, Muise A. Inflammatory Bowel Disease: What Very Early Onset Disease Teaches Us. *Gastroenterol Clin North Am.* dezembro de 2018;47(4):755–72.
4. Uhlig HH, Schwerd T, Koletzko S, Shah N, Kammermeier J, Elkadri A, et al. The diagnostic approach to monogenic very early onset inflammatory bowel disease. *Gastroenterology.* novembro de 2014;147(5):990-1007.e3.
5. Katsuhiko A. Very Early-Onset Inflammatory Bowel Disease: A Challenging Fields for Pediatric Gastroenterologists. *Pediatr Gastroenterol Hepatol Nutr.* 2020; 23(5):411-422
6. Nambu R, Muise AM. Advanced Understanding of Monogenic Inflammatory Bowel Disease. *Front Pediatr.* 22 de janeiro de 2021;8:618918.
7. Kim KY, Lee EJ, Kim JW, Moon JS, Jang JY, Yang HR, et al. Higher Morbidity of Monogenic Inflammatory Bowel Disease Compared to the Adolescent Onset Inflammatory Bowel Disease. *Pediatr Gastroenterol Hepatol Nutr.* janeiro de 2018;21(1):34–42
8. Kelsen JR, Sullivan KE. Inflammatory Bowel Disease in Primary Immunodeficiencies. *Curr Allergy Asthma Rep.* agosto de 2017;17(8):57.
9. Graham DB, Xavier RJ. Pathway paradigms revealed from the genetics of inflammatory bowel disease. *Nature.* fevereiro de 2020;578(7796):527–39.
10. McGovern DPB, Kugathasan S, Cho JH. Genetics of Inflammatory Bowel Diseases. *Gastroenterology.* outubro de 2015;149(5):1163-1176.e2.
11. Glocker EO, Kotlarz D, Boztug K, Gertz EM, Schäffer AA, Noyan F, et al. Inflammatory bowel disease and mutations affecting the interleukin-10 receptor. *N Engl J Med.* 19 de novembro de 2009;361(21):2033–45.
12. Bianco AM, Girardelli M, Tommasini A. Genetics of inflammatory bowel disease from multifactorial to monogenic forms. *World J Gastroenterol.* 21 de novembro de 2015;21(43):12296–310.
13. Pazmandi J, Kalinichenko A, Ardy RC, Boztug K. Early-onset inflammatory bowel disease as a model disease to identify key regulators of immune homeostasis mechanisms. *Immunological Reviews.* janeiro de 2019;287(1):162–85.
14. Uhlig HH, Charbit-Henrion F, Kotlarz D, Shouval DS, Schwerd T, Strisciuglio C, et al. Clinical Genomics for the Diagnosis of Monogenic Forms of Inflammatory Bowel

- Disease: A Position Paper From the Paediatric IBD Porto Group of European Society of Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 1º de março de 2021;72(3):456–73.
15. Hall CHT, De Zoeten EF. Understanding very early onset inflammatory bowel disease (VEOIBD) in relation to inborn errors of immunity. *Immunological Reviews.* março de 2024;322(1):329–38.
 16. Ouahed J, Spencer E, Kotlarz D, Shouval DS, Kowalik M, Peng K, et al. Very Early Onset Inflammatory Bowel Disease: A Clinical Approach With a Focus on the Role of Genetics and Underlying Immune Deficiencies. *Inflamm Bowel Dis.* 12 de maio de 2020;26(6):820–42.
 17. Nijman IJ, van Montfrans JM, Hoogstraat M, Boes ML, van de Corput L, Renner ED, et al. Targeted next-generation sequencing: a novel diagnostic tool for primary immunodeficiencies. *J Allergy Clin Immunol.* fevereiro de 2014;133(2):529–34.
 18. Kelsen JR, Sullivan KE, Rabizadeh S, Singh N, Snapper S, Elkadri A, et al. North American Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition Position Paper on the Evaluation and Management for Patients With Very Early-onset Inflammatory Bowel Disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* março de 2020;70(3):389–403.
 19. Levine A, Koletzko S, Turner D, Escher JC, Cucchiara S, de Ridder L, et al. ESPGHAN revised porto criteria for the diagnosis of inflammatory bowel disease in children and adolescents. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* junho de 2014;58(6):795–806.
 20. Levine A, Griffiths A, Markowitz J, Wilson DC, Turner D, Russell RK, et al. Pediatric modification of the Montreal classification for inflammatory bowel disease: the Paris classification. *Inflamm Bowel Dis.* junho de 2011;17(6):1314–21.
 21. Richards S, Aziz N, Bale S, Bick D, Das S, Gastier-Foster J, et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med.* maio de 2015;17(5):405–24.
 22. Conrad MA, Carreon CK, Dawany N, Russo P, Kelsen JR. Distinct Histopathological Features at Diagnosis of Very Early Onset Inflammatory Bowel Disease. *Journal of Crohn's and Colitis.* 26 de abril de 2019;13(5):615–25.
 23. Uhlig HH, Muise AM. Clinical Genomics in Inflammatory Bowel Disease. *Trends Genet.* setembro de 2017;33(9):629–41.
 24. Lega S, Pin A, Arrigo S, Cifaldi C, Girardelli M, Bianco AM, et al. Diagnostic Approach to Monogenic Inflammatory Bowel Disease in Clinical Practice: A Ten-Year Multicentric Experience. *Inflamm Bowel Dis.* 11 de abril de 2020;26(5):720–7.
 25. Ashton JJ, Andreoletti G, Coelho T, Haggarty R, Batra A, Afzal NA, et al. Identification of Variants in Genes Associated with Single-gene Inflammatory Bowel Disease by Whole-exome Sequencing. *Inflamm Bowel Dis.* outubro de 2016;22(10):2317–27.

26. Petersen BS, August D, Abt R, Alddafari M, Atarod L, Baris S, et al. Targeted Gene Panel Sequencing for Early-onset Inflammatory Bowel Disease and Chronic Diarrhea. *Inflamm Bowel Dis.* dezembro de 2017;23(12):2109–20.
27. Charbit-Henrion F, Parlato M, Hanein S, Duclaux-Loras R, Nowak J, Begue B, et al. Diagnostic Yield of Next-generation Sequencing in Very Early-onset Inflammatory Bowel Diseases: A Multicentre Study. *J Crohns Colitis.* 29 de agosto de 2018;12(9):1104–12.
28. Crowley E, Warner N, Pan J, Khalouei S, Elkadri A, Fiedler K, et al. Prevalence and Clinical Features of Inflammatory Bowel Diseases Associated With Monogenic Variants, Identified by Whole-Exome Sequencing in 1000 Children at a Single Center. *Gastroenterology.* junho de 2020;158(8):2208–20.
29. Ashton JJ, Mossotto E, Stafford IS, Haggarty R, Coelho TAF, Batra A, et al. Genetic Sequencing of Pediatric Patients Identifies Mutations in Monogenic Inflammatory Bowel Disease Genes that Translate to Distinct Clinical Phenotypes. *Clin Transl Gastroenterol.* fevereiro de 2020;11(2):e00129.
30. Zhang Y, Li J, Zhang YM, Zhang XM, Tao J. Effect of TACI Signaling on Humoral Immunity and Autoimmune Diseases. *Journal of Immunology Research.* 2015;2015:1–12. Malik A, Stringer E, Warner N, van Limbergen J, Vandersteen A, Muise A, et al. Multisystem Autoimmune Inflammatory Disease, Including Colitis, Due to Inborn Error of Immunity. *Pediatrics.* novembro de 2021;148(5):e2021050614.
31. Nameirakpam J, Rikhi R, Rawat SS, Sharma J, Suri D. Genetics on early onset inflammatory bowel disease: An update. *Genes Dis.* 15 de outubro de 2019;7(1):93–106.
32. Malik A, Stringer E, Warner N, van Limbergen J, Vandersteen A, Muise A, et al. Multisystem Autoimmune Inflammatory Disease, Including Colitis, Due to Inborn Error of Immunity. *Pediatrics.* novembro de 2021;148(5):e2021050614.
33. Cho J, Kim S, Yang DH, Lee J, Park KW, Go J, et al. Mucosal Immunity Related to FOXP3+ Regulatory T Cells, Th17 Cells and Cytokines in Pediatric Inflammatory Bowel Disease. *J Korean Med Sci.* 24 de dezembro de 2018;33(52):e336
34. Margot H, Boursier G, Duflos C, Sanchez E, Amiel J, Andrau JC, et al. Immunopathological manifestations in Kabuki syndrome: a registry study of 177 individuals. *Genetics in Medicine.* janeiro de 2020;22(1):181–8. Gatti S, Gelzoni G, Catassi GN, Catassi C. The Clinical Spectrum of Inflammatory Bowel Disease Associated With Specific Genetic Syndromes: Two Novel Pediatric Cases and a Systematic Review. *Front Pediatr.* 2021;9:742830.
35. Ho J, Fox D, Innes AM, McLeod R, Butzner D, Johnson N, et al. Kabuki Syndrome and Crohn Disease in a Child with Familial Hypocalciuric Hypercalcemia. *Journal of Pediatric Endocrinology and Metabolism [Internet].* janeiro de 2010 [citado 15 de agosto de 2024];23(9). Disponível em: <https://www.degruyter.com/document/doi/10.1515/jpem.2010.156/html>

36. Watson A, Forbes Satter L, Reiland Saucedo A, Kellermayer R, Karam LB. NOD2 Polymorphisms May Direct a Crohn Disease Phenotype in Patients With Very Early-Onset Inflammatory Bowel Disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 1º de dezembro de 2023;77(6):748–52.
37. Posovszky C, Pfalzer V, Lahr G, Niess JH, Klaus J, Mayer B, et al. Age-of-onset-dependent influence of NOD2 gene variants on disease behaviour and treatment in Crohn's disease. *BMC Gastroenterol.* dezembro de 2013;13(1):77.
38. Vears DF, Sénécal K, Borry P. Reporting practices for variants of uncertain significance from next generation sequencing technologies. *European Journal of Medical Genetics.* 1º de outubro de 2017;60(10):553–8.
39. Cananzi M, Wohler E, Marzollo A, Colavito D, You J, Jing H, et al. IFIH1 loss-of-function variants contribute to very early-onset inflammatory bowel disease. *Hum Genet.* setembro de 2021;140(9):1299–312.
40. Xu Z, Kombe Kombe AJ, Deng S, Zhang H, Wu S, Ruan J, et al. NLRP inflammasomes in health and disease. *Mol Biomed.* 22 de abril de 2024;5(1):14.
41. Zhen Y, Zhang H. NLRP3 Inflammasome and Inflammatory Bowel Disease. *Front Immunol.* 28 de fevereiro de 2019;10:276.
42. Suntharalingham JP, Ishida M, Del Valle I, Stalman SE, Solanky N, Wakeling E, et al. Emerging phenotypes linked to variants in SAMD9 and MIRAGE syndrome. *Front Endocrinol.* 18 de agosto de 2022;13:953707.
43. Perisa MP, Rose MJ, Varga E, Kamboj MK, Spencer JD, Bajwa RPS. A novel *SAMD9* variant identified in patient with MIRAGE syndrome: Further defining syndromic phenotype and review of previous cases. *Pediatric Blood & Cancer.* julho de 2019;66(7):e27726.
44. Go A, Lee BH, Choi JH, Jeong J, Jung E, Lee BS. Case report: a premature infant with severe intrauterine growth restriction, adrenal insufficiency, and inflammatory diarrhea: a genetically confirmed case of MIRAGE syndrome. *Front Endocrinol.* 6 de setembro de 2023;14:1242387.
45. Jezernik G, Mičetić-Turk D, Potočnik U. Molecular Genetic Architecture of Monogenic Pediatric IBD Differs from Complex Pediatric and Adult IBD. *Journal of Personalized Medicine* [Internet]. 2020;10(4). Disponível em: <https://www.mdpi.com/2075-4426/10/4/243>
46. Boland BS, Widjaja CE, Banno A, Zhang B, Kim SH, Stoven S, et al. Immunodeficiency and Autoimmune Enterocolopathy Linked to NFAT5 Haploinsufficiency. *J Immunol.* 15 de março de 2015; 194(6):2551–60.
47. Kotlarz D, Marquardt B, Barøy T, Lee WS, Konnikova L, Hollizeck S, et al. Human TGF-β1 deficiency causes severe inflammatory bowel disease and encephalopathy. *Nat Genet.* março de 2018;50(3):344–8.

ANEXOS

Artigo 2

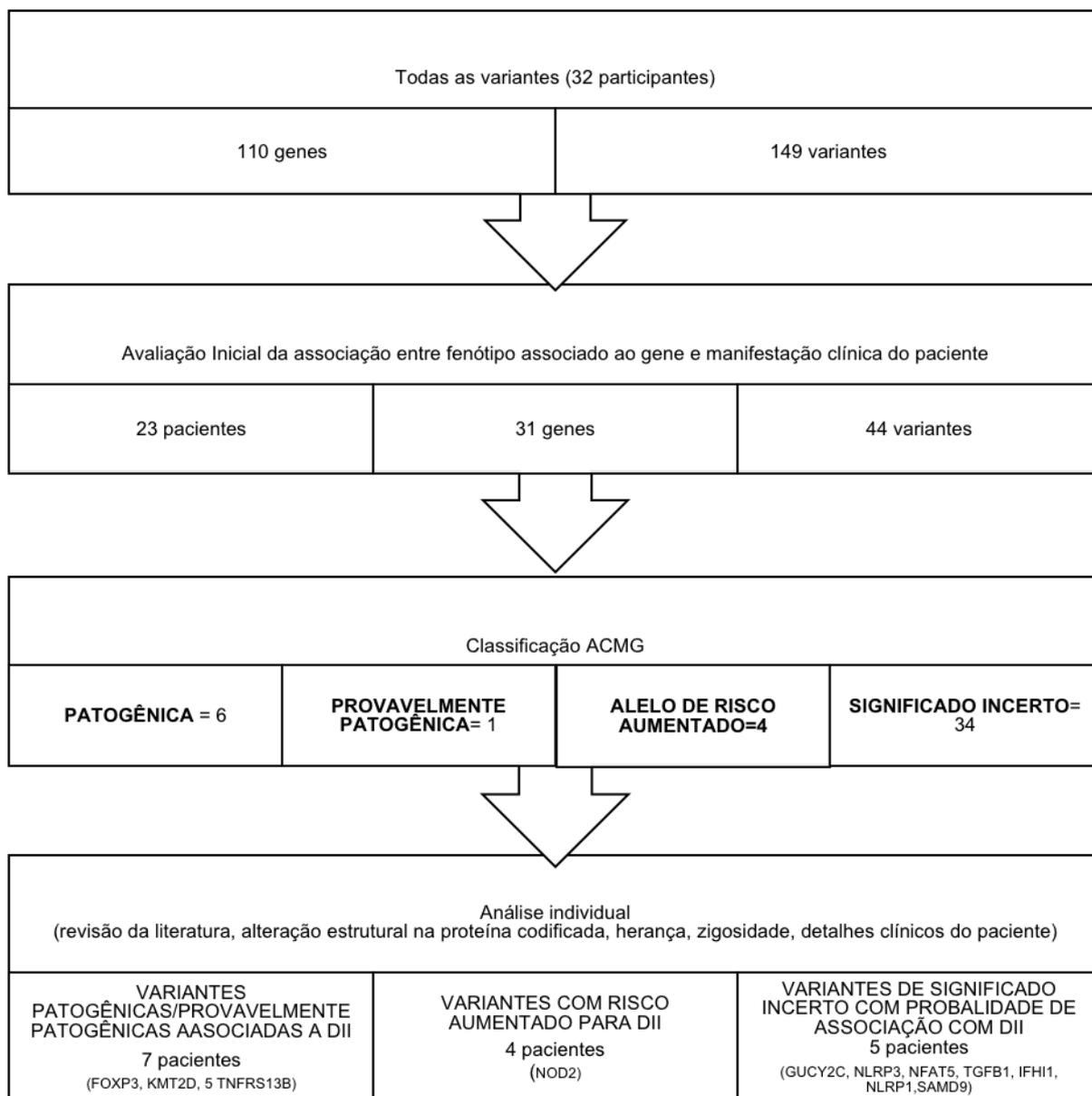


Figura 1: Triagem das variantes através da avaliação do fenótipo previamente descrito para o gene em questão (ClinVar, Medgen, OMIM) e as manifestações clínicas apresentadas pelos pacientes, considerando também herança, a zigosidade e alteração na proteína codificada

Tabela 1. Caracterização da amostra total (32 pacientes)

Idade de início dos sintomas (meses)	27.50 (16 - 60)
Idade ao diagnóstico (meses)	50.3±34.24
Tempo para confirmação diagnóstica (meses)	10.50 (6 - 17)
Sexo Feminino N (%)	21 (65.63%)
História familiar de DII N (%)	7 (21.88%)
Sintomas Clínicos N (%)	
Diarreia com sangue	17 (57,12%)
Dor Abdominal	15 (46,87%)
Déficit ponderal	14 (43,75%)
Diarreia sem sangue	4 (12.50%)
Doença perianal	3 (9.38%)
Manifestações extraintestinais N (%)	13 (40,62%)
Exames laboratoriais (média±DP)	
Hemoglobina	10.71±2.49
Hematócrito	33.45±6.67
Plaquetas	477058±197438
Velocidade de Hemossedimentação (VHS)	41.1±36.60
Proteína C reativa (PCR)	13.51±16.82
Calprotectina	1690 (600,5-5657)
Segmento(s) acometido(s) N (%)	
Pancolônico	26 (81,25%)
Envolvimento ileal	7 (21,87%)
Cólon Esquerdo	5 (15,63%)
Reto apenas	1 (3.13%)
Envolvimento Trato Gastrointestinal Alto	14 (43,75%)
Diagnóstico inicial N(%)	
Doença de Crohn	13 (40.63%)
Retocolite Ulcerativa	16 (50.00%)
Doença Inflamatória Intestinal não Classificada	3 (9.38%)
Doença moderada a grave (PUCAI/PCDAI)	27 (84,38%)
Achados endoscópicos compatíveis com VEOIB N(%)	
Inflamação crônica focal	18 (56,25%)
Sinais de cronicidade com distorção arquitetural	16 (50,0%)
Linfoplasmocitose basal	14 (43.75%)
Acúmulos linfóides	13 (40.63%)
Aumento de eosinófilos	9 (28.13%)
Aumento de neutrófilos	8 (25.00%)
Infiltrado não específico	4 (12,50%)
Granulomas	1 (3.13%)
Doença perianal	3 (9,38%)
Atrofia vilositária	3 (9.38%)
Atividade histológica moderada a acentuada N(%)	21 (77,77%)
Progressão para imunobiológicos	17 (53,12%)
Falha terapêutica N(%)	18 (56,25%)

Tabela 2: Triagem imunológica com dosagem de imunoglobulinas e tipagem linfocitária

Imunoglobulinas* (N=26) mg/dl	mediana (25-75)	<P3	P3-50	P50-97	>P97
IgA (N=26)	158.5 (105.2 - 210.0)	1 (3.8%)	5 (19.2%)	14 (53.8%)	6 (23.1%)
IgM (N=22)	127.0 (98.0 - 206.2)	1 (4.5%)	8 (36.4%)	3 (13.6%)	10 (38.5%)
IgG (N=24)	1176.5 (951.7 - 1278.0)	1 (4.2%)	2 (8.3%)	14 (58.3%)	7 (26.9%)
IgE (N=24)	31.8 (11.85 - 64.15)	-	-	-	-
Tipagem Linfocitária** (N=23) Linfócitos/mm³	mediana (25-75)	<P10	P10-50	P50-90	>P90
CD3 (N=23)	2736.0 (1683.6 - 3673.5)	4 (17.4%)	5 (21.7%)	7 (30.4%)	7 (30.4%)
CD4 (N=20)	1379.2 (992.2 - 1975.2)	4 (20.0%)	2 (10.0%)	4 (20.0%)	10 (50.0%)
CD8 (N=20)	867.5 (572.7 - 1627.2)	2 (10.0%)	3 (15.0%)	10 (50.0%)	5 (25.0%)
CD19 (N=17)	616.0 (353 - 1116.0)	9 (52.9%)	0 (0.0%)	2 (11.8%)	6 (35.3%)
CD56 (N=17)	225.0 (90.0 - 725.0)	7 (41.2%)	2 (11.8%)	2 (11.8%)	6 (35.3%)

*Seguindo valores de referência para população brasileira de acordo com a fonte: Fujimura M.D. - Níveis séricos das subclasses de IgG em crianças Normais e Nefróticas (Tese de Doutorado - FMUSP, 1991. Área de Pediatria)

** Seguindo valores de referência para população brasileira saudável Moraes-Pinto MI *et al*, 2005.

Tabelas 3: Caracterização genotípica e fenotípica dos pacientes com VEOIBD**Tabela 3A:** Pacientes com variantes patogênicas ou provavelmente patogênicas associadas a DII

paciente	Genes atenção	Variante	Efeito DNA	Alteração proteína	Zigosidade	Herança	Classificação ACMG	Fenótipo associado (ClinVar, Medgen, OMIM)
7	IRF8	c.418C>T (p.Arg140Cys)	sentido trocado	tende a ser tolerada	heterozigose	AD	significado incerto	Imunodeficiência 32A: infecção recorrente
	KMT2D	c.10185_10202 dup (p.Met3398_Ala3403dup)	inserção	tende a ser deletério	heterozigose	AD	significado incerto	Síndrome de Kabuki: facies peculiar, alterações esqueléticas, retardo mental, falência crescimento, eczema. Associação com DII
	TTC7A	Deleção (Exons 1-5)	sinal de interrupção	deletério (perda de função)	heterozigose	AR	patogênica	Imunodeficiências com múltiplas atresias: diarreia grave, colite
13	FOXP3*	c.1250G>A (p.Arg417Gln)	sentido trocado	tende a ser deletério	hemizigose	ligada ao X	significado incerto	IPEX: poliendocrinopatia, enteropatia, diarreia disabsortiva no 1º ano de vida, desregulação, DM, dermatite, eczema
17	SOCS1	c.143C>T: p.(Pro48Leu)	sentido trocado	tende a ser tolerada	heterozigose	AD	significado incerto	Síndrome autoinflamatória familiar com ou sem imunodeficiência: citopenia, anemia hemolítica, trombocitopenia e linfadenopatia. Pode estar associado a DC.
	TNFRSF13B	c.310T>C: p.(Cys104Arg)	sentido trocado	deletério (perda de função)	heterozigose	AD/AR	patogênica	Deficiência TACI: infecções recorrentes, manifestações autoimunes. Pode estar associada a DII, CVID
20	TNFRSF13B	c.118T>C: p.(Trp40Arg)	sentido trocado	deletério <i>in silico</i>	heterozigose	AD/AR	significado incerto	Deficiência TACI: infecções recorrentes, manifestações autoimunes. Pode estar associada a DII, CVID
21	TNFRSF13B	c.310T>C: p.(Cys104Arg)	sentido trocado	deletério (perda de função)	heterozigose	AD/AR	patogênica	Deficiência TACI: infecções recorrentes, manifestações autoimunes. Pode estar associada a DII, CVID
22	TNFRSF13B	c.310T>C: p.(Cys104Arg)	sentido trocado	deletério (perda de função)	heterozigose	AD/AR	Patogênica	Deficiência TACI: infecções recorrentes, manifestações autoimunes. Pode estar associada a DII, CVID
25	TNFRSF13B	c.310T>C: p.(Cys104Arg)	sentido trocado	Deletério (perda de função)	heterozigose	AD/AR	Patogênica	Deficiência TACI: infecções recorrentes, manifestações autoimunes. Pode estar associada a DII, CVID

NEE= Nutrição Enteral Exclusiva, CIVD = Imunodeficiência Comum Variável, AD = autossômica dominante, AR= autossômica recessiva, VEOIBD= DII de início muito precoce, DC= Doença de Crohn, RCU= Retocolite Ulcerativa, IBD-U= DII não classificada, m=meses

Continuação Tabela 3A

Sexo	Idade início(m)	HF	Doença	Sintoma(s)	Alterações TGI	Outros achados ao diagnóstico	Tratamento
M	24	Sim	DC	diarréia com sangue, doença perianal, déficit ponderal	Pancolite com úlceras grandes de bordas elevadas, infiltrado inflamatório intenso com tecido de granulação. Duodenite com atrofia vilositária	Alopecia, eczema, infecções de repetição, hipogama (IgM) e redução de linfócitos CD19,	NEE por 3 semanas, Infiximabe desde início (Top-down), mensal. Gastrostomia para recuperação nutricional
M	23	Não	RCU	dor abdominal, diarréia com sangue	Pancolite microerosiva, com inflamação intensa com criptite e microabscessos	Redução linfócitos CD19	Mesalazina
F	4	Sim	DC	diarréia com sangue, deficit ponderal, doença perianal	Pancolite, ulcerações de aspecto serpinginoso, irregularidade de mucosa, infiltrado inflamatório linfoplasmoeosinofílico, de aspecto fibroedematoso, com acúmulos linfóides	anemia, leucocitose as custas de linfócitos, eczema, infecções de repetição, doença perianal, recusa alimentar	NEE por 3 semanas com fórmula de aa, Infiximabe desde o início (Top Down), esquema mensal. Gastrostomia para recuperação nutricional
M	16	não	RCU	diarréia com sangue, dor abdominal	Pancolite, infiltrado inflamatório intenso com neutrófilos e eosinófilos de permeio	anemia, redução linfócitos T CD3, CD4 e CD8	Azatioprina
M	5	não	DC	diarréia com sangue, déficit ponderal	Pancolite ulcerativa, infiltrado inflamatório, neutrófilos e eosinófilos, distorção arquitetural. Gastrite e bulboduodenite erosiva	IgE elevado, linfocitose, redução linfócitos T CD4, manifestações autoimunes	Azatioprina, escalonado para anti-TNF (infiximabe), aguardando liberação
F	< 1	sim	IBD-U	diarréia com sangue	Pancolite erosiva com infiltrado inflamatório inespecífico	anemia, infecções de repetição, linfocitose, hipogama (IgM e IgG)	Imunoglobulina após confirmação diagnóstica de CIVD
F	24	Não	RCU	diarréia com sangue, déficit ponderal	Pancolite erosiva infiltradolinfo plasmocitário intenso, neutrófilos, distorção cripta mucina	Anemia grave, hipotireoidismo congênito, Redução linfócitos T CD3 e CD4	Azatioprina, escalonado para anti-TNF (infiximabe), aguardando liberação

Tabela 3B. Pacientes com variantes de risco de aumentado para DII

paciente	Genes atenção	Variante	Efeito DNA	Alteração proteína	Zigosidade	Herança	Classificação ACMG	Fenótipo associado (ClinVar, Medgen, OMIM)
4	NOD2	c.2104C>T (p.Arg702Trp)	sentido trocado	tende a ser tolerada	heterozigose	AD	risco aumentado	NOD2: expresso em células intestinais do ID, mediação de efeitos antibacterianos, liberação de citocinas com ativação de células T. Aumento risco para DC
	PEPD	c.692_694del (p.Tyr231del)	deleção	tende a ser deletéria	heterozigose	AR	provavelmente e patogênica	Deficiência de prolidase: autoanticorpos, ulcerações de pele, eczema, infecções
9	JAK1	c.1584G>C (p.Lys528Asn)	sentido trocado	tende a ser tolerada	heterozigose	AD	significado incerto	Autoinflamação, desregulação imune, eosinofilia, pode cursar com colite eosinofílica
	LRBA	c.3508G>A (p.Glu1170Lys)	sentido trocado	tende a ser tolerada	heterozigose	AR	significado incerto	Imunodeficiência Comum Variável 8: autominunidade, enteropatia autoimune, pode estar associada a VEOIBD
	NOD2	c.2104C>T (p.Arg702Trp)	sentido trocado	tende a ser tolerada	heterozigose	AD	risco aumentado	NOD2: expresso em células intestinais do ID, mediação de efeitos antibacterianos, liberação de citocinas com ativação de células T. Aumento risco para DC
11	NOD2	c.2722G>C (p.Gly908Arg)	sentido trocado	tende a ser tolerada	heterozigose	AD	risco aumentado	NOD2: expresso em células intestinais do ID, mediação de efeitos antibacterianos, liberação de citocinas com ativação de células T. Aumento risco para DC
	NOD2	c.697C>T (p.Gln233*)	sinal de interrupção	deletério (perda de função)	heterozigose	AD	significado incerto	Síndrome de Blau: uveíte, sinovite granulomatosa, rash, 30% desenvolvem DC
	ORAI1	c.776G>A (p.Arg259His)	sentido trocado	inconclusiva	heterozigose	AR	significado incerto	Imunodeficiência 9: infecções recorrentes, miopatia, displasia ectodérmica
	ZAP70	c.572C>T (p.Pro191Leu)	sentido trocado	tende a ser tolerada	heterozigose	AR	significado incerto	Doença autoimune, multissistêmica. Pode estar associada a VOIBD, CIVD
15	BACH2	c.979G>A (p.Ala327Thr)	sentido trocado	tende a ser tolerada	heterozigose	AD	significado incerto	Imunodeficiência 60: doença inflamatória intestinal e infecções sinopulmonares recorrentes
	NFAT5	c.3044C>T (p.Ser1015Phe)	sentido trocado	tende a ser tolerada	heterozigose	AD	significado incerto	Enteropatia autoimune com imunodeficiência, pode estar associada a CIVD
	NOD2	c.3019dup (p.Leu1007Profs*2)	sinal de interrupção	tende a ser deletéria	heterozigose	AD	risco aumentado	NOD2: expresso em células intestinais do ID, mediação de efeitos antibacterianos, liberação de citocinas com ativação de células T. Aumento risco para DC
	RELA	c.917A>G (p.Tyr306Cys)	sentido trocado	tende a ser tolerada	heterozigose	AD	significado incerto	Doença autoinflamatória Behcet like: ulceração mucocutânea, ileíte
	RTLE1	c.958+3A>G (Intronic)	sítio de emenda	tende a ser tolerada	heterozigose	AD	significado incerto	Disqueratose congênita: distrofia ungueal, pigmentação anormal da pele, leucoplasia de mucosas, colite, enteropatia.

AD = autossômica dominante, AR= autossômica recessiva, DII= Doença Inflamatória Intestinal, ID=Intestino delgado, VEOIBD= DII de início muito precoce, DC= Doença de Crohn, RCU= Retocolite Ulcerativa, TNF= Fator de Necrose Tumoral, CIVD = Imunodeficiência Comum Variável

Continuação tabela 3B

Sexo	Idade início(m)	HF	Doença	Sintoma(s)	Alterações TGI	Outros achados ao diagnóstico	Tratamento
F	10	Sim	RCU	diarréia com sangue	Pancolite com infiltrado inflamatório crônico moderado	leucocitose as custas de linfócitos, IgE elevada	Azatioprina
F	72	Não	RCU	dor abdominal, diarréia com sangue	Retossigmoidite com intenso infiltrado inflamatório linfoplasmocitário, com presença de neutrófilos degenerados em algumas criptas	dermatite atópica, asma, aumento IgE	Azatioprina, escalonada para anti-TNF (infiximabe)
M	48	Sim	DC	diarréia com sangue, déficit ponderal	Pancolite com erosões de aspecto salteado, com discreto infiltrado linfoplasmocitário, atrofia vilositária de ID, bulbite e gastrite erosivas	anemia, linfopenia, hipogama (IgM)	Azatioprina e escalonado para anti-TNF (adalimumabe)
F	72	Não	RCU	dor abdominal, déficit ponderal	Retossigmoidite, com infiltrado inflamatório moderado com plasmócitos e eosinófilos e neutrófilos de permeio, com envolvimento ileal	Úlceras orais de repetição, aumento IgE, redução células CD 19	Mesalazina

Tabela 3C: Pacientes com variantes de significado incerto com provável associação com a DII

paciente	Genes atenção	Variante	Efeito DNA	Alteração proteína	Zigosidade	Herança	Classificação ACMG	Fenótipo associado (ClinVar, Medgen, OMIM)
1	GUCY2C	c.1490G>A (p.Arg497Gln)	sentido trocado	tende a ser deletério	heterozigose	AD	significado incerto	Diarréia familiar congênita. Susceptibilidade a VEOIBD
	NLRP3	Ganho (Sequência de codificação inteira)	ganho de número de cópias	tende a ser tolerada	copy number	AD	significado incerto	Autoinflamação, disqueratose e artrite, autoimunidade. Susceptibilidade a DII
10	NFAT5	c.3383C>T (p.Pro1128Leu)	sentido trocado	tende a ser tolerada	heterozigose	AD	significado incerto	Enteropatia autoimune com imunodeficiência (CVID)
	TGFB1	Exon 1, c.85G>A (p.Gly29Arg)	sentido trocado	tende a ser tolerada	heterozigose	AD	significado incerto	Colite severa, associação com DII, infecções de repetição, encefalopatia
18	IFH11	c.1211T>C: p. (Val404Ala)	sentido trocado	deletério <i>in silico</i>	heterozigose	AD/AR	significado incerto	Deficiência de MDA5: caracterizada por aumento de susceptibilidade a infecções e VEOIB
29	NLRP1	c.1531A>G: p. (Lys511Glu)	sentido trocado	inconclusiva	heterozigose	AD/AR	significado incerto	Autoinflamação, disqueratose e artrite, autoimunidade. Susceptibilidade a DII
32	SAMD9	c.4007T>C: p. (L+C46+C1:C4 4+C+C2:C4)	sentido trocado	deletério <i>in silico</i>	heterozigose	AD	significado incerto	Síndrome MIRAGE: mielodisplasia, infecções, retardo crescimento, hipoplasia adrenal, alterações genitais, enteropatia

AD = autossômica dominante, AR= autossômica recessiva, DII= Doença Inflamatória Intestinal, ID=Intestino delgado, VEOIBD= DII de início muito precoce, DC= Doença de Crohn, RCU= Retocolite Ulcerativa, TNF= Fator de Necrose Tumoral, CVID = Imunodeficiência Comum Variável, NK=Natural Killer

Continuação Tabela 3C

Sexo	Idade início (m)	HF	Doença	Sintoma(s)	Alterações TGI	Outros achados ao diagnóstico	Tratamento
M	33	Não	RCU	diarréia com sangue	Pancolite com envolvimento de válvula ileocecal		Mesalazina
F	60	Não	DC	diarréia com sangue, déficit ponderal	Pancolite enantematosa, aspecto facetado com rigidez de válvula ileocecal, infiltrado inflamatório intenso	Aumento expressivo de IgE, redução linfócitos B CD19 e células NK, hepatite autoimune, dermatite atópica	Azatioprina escalonado para anti-TNF (infliximabe), esquema mensal
F	36	não	DC	diarréia com sangue, dor abdominal, déficit ponderal	Pancolite erosiva com atividade inflamatória moderada, subestenose ileal	subestenose ileal, IgA e IgG > P97, redução linfócitos T CD3, CD4 e CD8	Azatioprina, escalonado para anti-TNF (infliximabe)
M	72	Não	RCU	diarréia com sangue	Pancolite com infiltrado neutrofílico moderado, distorção de arquitetura e depleção de células caliciformes. Vilos levemente encurtados e alargados em ID		Azatioprina com remissão clínica
F	36	Não	RCU	diarréia com sangue	Colite extensa com denso infiltrado inflamatório rico em eosinófilos e neutrófilos, acúmulos linfóides, distorção de arquitetura. Duodenite e Gastrite crônica	IgE elevado, redução linfócitos B CD19 e NK	Azatioprina, escalonado para anti-TNF (infliximabe), sem remissão clínica ou laboratorial

Tabela S1. Todas as variantes encontradas na investigação genética dos 32 pacientes

PACIENTE	GENE	VARIANTE	EFEITO DNA	CONSEQUÊNCIA NA PROTEÍNA CODIFICADA	ZIGOZIDADE	HERANÇA	CLASSIFICAÇÃO
1	CTPS1	c.472C>T (p.Pro158Ser)	missense	tende a ser deletéria	heterozigose	AR	significado incerto
1	FANCA	c.3184G>A (p.Gly1062Arg)	splice site	tende a ser tolerada	heterozigose	AR	significado incerto
1	GUCY2C	c.1490G>A (p.Arg497Gln)	missense	tende a ser deletéria	heterozigose	AD	significado incerto
1	NLRP3	Gain (Entire coding sequence)	copy number gain	tende a ser tolerada	copy number = 3	AD	significado incerto
1	UNC93B1	c.1777G>A (p.Gly593Arg)	missense	tende a ser tolerada	heterozigose	AR	significado incerto
2	FASLG	c.153_158dup (p.Pro52_Pro53dup)	insertion	inconclusiva	heterozigose	AR	significado incerto
2	IL12B	c.72G>C (p.Trp24Cys)	missense	tende a ser deletéria	heterozigose	AR	significado incerto
2	IRF8	c.859G>A (p.Val287Met)	missense	tende a ser deletéria	heterozigose	AR/AD	significado incerto
2	PEPD	c.1094C>T (p.Pro365Leu)	missense	tende a ser deletéria	heterozigose	AR	significado incerto
2	RTEL1	c.3817C>T (p.Leu1273Phe)	missense	tende a ser deletéria	heterozigose	AD/AR	significado incerto
3	G6PD	c.[202G>A;376A>G	missense	deletério	heterozigose	ligado ao X	patogênica
3	G6PD	c.376A>G (p.Asn126Asp)	missense	tende a ser tolerada	heterozigose	ligado ao X	significado incerto
3	IL12RB1	c.1623_1624delinsTT (p.Gln542*)	stop signal	deletério	heterozigose	AR	patogênica
3	KMT2D	c.2498T>G (p.Leu833Arg)	missense	tende a ser tolerada	heterozigose	AD	significado incerto
3	LAMTOR2	c.239G>A (p.Arg80His)	missense	tende a ser tolerada	heterozigose	AR	significado incerto
3	NBN	c.596C>G (p.Pro199Arg)	missense	tende a ser tolerada	heterozigose	AR/AD	significado incerto
3	NCF4	c.781G>A (p.Ala261Thr)	missense	tende a ser tolerada	heterozigose	AR	significado incerto
3	POLD1	c.353C>T (p.Ser118Phe)	missense	tende a ser deletéria	heterozigose	AR	significado incerto
3	TNFRSF11A	c.1814C>T (p.Ser605Leu)	missense	tende a ser deletéria	heterozigose	AR	significado incerto
4	MYOSB	c.2404C>G (p.Leu802Val)	missense	tende a ser deletéria	heterozigose	AR	significado incerto
4	NOD2	c.2104C>T (p.Arg702Trp)	missense	tende a ser tolerada	heterozigose	AD	risco aumentado
4	PEPD	c.692_694del (p.Tyr231del)	deletion	tende a ser deletéria	heterozigose	AR	provavelmente patogênica
4	PEPD	c.1409G>A (p.Arg470His)	missense	tende a ser tolerada	heterozigose	AR	significado incerto
4	RNASEH24	c.475G>A (p.Gly159Arg)	missense	tende a ser deletéria	heterozigose	AR	significado incerto
4	RTEL1	c.2600C>T (p.Pro867Leu)	missense	tende a ser tolerada	heterozigose	AD/AR	significado incerto
4	TCF3	c.1057C>T (p.Pro353Ser)	missense	tende a ser tolerada	heterozigose	AD	significado incerto
5	CDCA7	c.760C>T (p.Arg254Trp)	missense	tende a ser deletéria	heterozigose	AR	significado incerto
5	CFH	c.773C>T (p.Pro258Leu)	missense	tende a ser deletéria	heterozigose	AD/AR	significado incerto
5	CHD7	c.8287_8295dup (p.Asn2763_Gln2765dup)	insertion 3aa	inconclusiva	heterozigose	AD	significado incerto
5	ERCC2	Deletion (Exons 16-23)	stop signal	tende a ser deletéria	heterozigose	AR	patogênica
5	ERCC2	c.1922G>A (p.Arg641Gln)	splice site	tende a ser tolerada	heterozigose	AR	significado incerto
5	G6PD	c.[202G>A;376A>G].	missense	tende a ser tolerada	hemizigose	ligada ao X	patogênica
5	G6PD	c.376A>G (p.Asn126Asp)	missense	tende a ser tolerada	hemizigose	ligada ao X	significado incerto
5	IFIH1	c.2061G>T (p.Leu687Phe)	missense	inconclusiva	heterozigose	AD/AR	significado incerto
5	KMT2A	c.278C>G (p.Ser93Cys)	missense	inconclusiva	heterozigose	AD	significado incerto
5	LIG4	c.2300T>C (p.Ile767Thr)	missense	tende a ser tolerada	heterozigose	AR	provavelmente benigna
5	POLE	c.4952+4A>G (Intronic)	splice site	tende a ser tolerada	heterozigose	AR	provavelmente benigna
5	POLR3A	c.1555G>A (p.Ala519Thr)	missense	tende a ser deletéria	heterozigose	AR	significado incerto
5	TCIRG1	c.148C>T (p.Arg50Cys)	missense	tende a ser deletéria	heterozigose	AR	significado incerto
5	VAV1	Gain (Exons 26-27)	copy number gain	inconclusiva	heterozigose	AD	significado incerto
6	CIITA	c.286G>A (p.Ala96Thr)	missense	tende a ser tolerada	heterozigose	AR	significado incerto
6	NBAS	c.521G>A (p.Ser174Asn)	missense	tende a ser tolerada	hetezígoto	AR	significado incerto

6	PAX1	c.1102T>C (p.Cys368Arg)	missense	tende a ser deletéria	heterozigose	AR	significado incerto
6	PAX1	c.890G>A (p.Gly297Asp)	missense	tende a ser tolerada	heterozigose	AR	significado incerto
6	POLE	c.101G>T (p.Arg34Leu)	missense	tende a ser tolerada	heterozigose	AD	significado incerto
6	PTPRC	c.2607G>A (p.Met869Ile)	missense	tende a ser deletéria	heterozigose	AR	significado incerto
6	SI	c.3586_3587del (p.Met1196Valfs*15)	stop signal	tende a ser deletéria	heterozigose	AR	patogênica
6	SPINK5	c.2468dup (p.Lys824Gluufs*4)	stop signal	tende a ser deletéria	heterozigose	AR	patogênica
6	TPP2	c.673A>G (p.Arg225Gly)	missense	tende a ser tolerada	heterozigose	AR	significado incerto
7	ACTB	Gain (Entire coding sequence)	copy number gain	inconclusiva	possivel mosaico	AD	significado incerto
7	C7	c.1135G>C (p.Gly379Arg)	missense	tende a ser deletéria	heterozigoto	AR	patogênica
7	CLPB	c.1501G>A (p.Glu501Lys)	missense	tende a ser tolerada	heterozigose	AR	significado incerto
7	IRF8	c.418C>T (p.Arg140Cys)	missense	tende a ser tolerada	heterozigose	AD	significado incerto
7	KMT2D	c.10185_10202dup (p.Met3398_Ala3403dup)	insertion 6aa	tende a ser deletéria	heterozigose	AD	significado incerto
7	NSMCE3	c.41_42delinsCC (p.Gln14Pro)	missense	não causa alteração	heterozigose	AR	significado incerto
7	PSMB4	c.654G>A (p.Met218Ile)	missense	tende a ser tolerada	heterozigose	AR	significado incerto
7	TRAF3IP2	c.1345C>T (p.Arg449Cys)	missense	tende a ser deletéria	heterozigose	AR	significado incerto
7	TTC7A	Deletion (Exons 1-5)	stop signal	tende a ser deletéria	heterozigose	AR	patogênica
8	IL17RA	c.1086C>T (Silent)	splice site	tende a ser tolerada	heterozigose	AR	significado incerto
8	IL17RA	c.1304A>G (p.Glu435Gly)	missense	tende a ser deletéria	heterozigose	AR	significado incerto
8	PMM2	Exon 5, c.422G>A (p.Arg141His)	missense	tende a ser deletéria	heterozigose	AR	patogênica
8	SLC35C1	c.854G>T (p.Gly285Val)	missense	tende a ser deletéria	heterozigose	AR	significado incerto
8	STAT2	c.1344G>A (Silent)	splice site	inconclusiva	heterozigose	AR	significado incerto
9	C5	c.400G>A (p.Val134Ile)	missense	tende a ser tolerada	heterozigose	AR	significado incerto
9	C6	c.821del (p.Gln274Argfs*46)	stop signal	tende a ser deletéria	heterozigose	AR	patogênica
9	JAK1	c.1584G>C (p.Lys528Asn)	missense	tende a ser tolerada	heterozigose	AD	significado incerto
9	LRBA	c.3508G>A (p.Glu1170Lys)	missense	tende a ser tolerada	heterozigose	AR	significado incerto
9	MTHFD1	c.646A>G (p.Thr216Ala)	missense	tende a ser tolerada	heterozigose	AR	significado incerto
9	NOD2	c.2104C>T (p.Arg702Trp)	missense	tende a ser tolerada	heterozigose	AD	risco aumentado
9	POLE2	c.738G>C (p.Glu246Asp)	missense	tende a ser deletéria	heterozigose	AR	significado incerto
9	SLC29A3	c.797C>T (p.Ala266Val)	missense	tende a ser tolerada	heterozigose	AR	significado incerto
9	SLC46A1	c.817G>T (p.Ala273Ser)	missense	inconclusiva	heterozigose	AR	significado incerto
9	STIM1	c.1558G>A (p.Asp520Asn)	missense	tende a ser tolerada	heterozigose	AR	significado incerto
10	CFH	c.1148T>C (p.Val383Ala)	missense	tende a ser tolerada	heterozigose	AD	significado incerto
10	CHD7	c.1677G>A (Silent)	splice site	inconclusiva	heterozigose	AD	significado incerto
10	ERCC2	c.1742T>C (p.Leu581Pro)	splice site	tende a ser deletéria	heterozigose	AR	significado incerto
10	GTF2H5	Exon 3, c.55T>C (p.Phe19Leu)	missense	tende a ser tolerada	heterozigose	AR	significado incerto
10	MAP3K14	Intron 12, c.2326+4C>T (Intronic)	splice site	tende a ser tolerada	heterozigose	AR	significado incerto
10	MOGS	c.2471G>A (p.Gly824Asp)	missense	tende a ser deletéria	heterozigose	AR	significado incerto
10	NFAT5	c.3383C>T (p.Pro1128Leu)	missense	tende a ser tolerada	heterozigose	AD	significado incerto
10	SLC37A4	Exon 8, c.944T>C (p.Met315Thr)	missense	inconclusiva	heterozigose	AR	significado incerto
10	TGFB1	Exon 1, c.85G>A (p.Gly29Arg)	missense	tende a ser tolerada	heterozigose	AD	significado incerto
11	CHD7	c.6772G>A (p.Glu2258Lys)	missense	tende a ser tolerada	heterozigose	AD	significado incerto
11	MYSM1	c.245C>T (p.Pro82Leu)	missense	tende a ser tolerada	heterozigose	AR	significado incerto
11	NOD2	c.2722G>C (p.Gly908Arg)	missense	tende a ser tolerada	heterozigose	AD	risco aumentado
11	NOD2	c.697C>T (p.Gln233*)	stop signal	deletério	heterozigose	AD	significado incerto
11	ORAI1	c.776G>A (p.Arg259His)	missense	inconclusiva	heterozigose	AR	significado incerto
11	POLE	c.4729G>C (p.Glu1577Gln)	missense	tende a ser tolerada	heterozigose	AR	significado incerto
11	VPS13B	c.6497G>C (p.Ser2166Thr)	missense	não causa alteração	heterozigose	AR	significado incerto
11	ZAP70	c.572C>T (p.Pro191Leu)	missense	tende a ser tolerada	heterozigose	AR	significado incerto

13	C9	c.931C>T (p.Arg311Cys)	missense	tende a ser deletéria	heterozigose	AR	significado incerto
13	DIAPH1	c.1842_1853dup (p.Pro617_Pro620dup)	insertion 4aa	inconclusiva	heterozigose	AD	significado incerto
13	FOXP3	c.1250G>A (p.Arg417Gln)	missense	tende a ser deletéria	homozigose	LIGADA AO X	significado incerto
13	IL10RA	c.452C>G (p.Ala151Gly)	missense	tende a ser tolerada	heterozigose	AR	significado incerto
13	IL23R	c.1391C>T (p.Pro464Leu)	missense	tende a ser tolerada	heterozigose	AR	significado incerto
13	PTPRC	c.2607G>A (p.Met869Ile)	missense	tende a ser deletéria	heterozigose	AR	significado incerto
13	TICAM1	c.1739A>G (p.Tyr580Cys)	missense	tende a ser tolerada	heterozigose	AD/AR	significado incerto
14	AP3D1	Exon 20, c.2329G>A (p.Val777Ile)	missense	tende a ser tolerada	heterozigose	AR	significado incerto
14	G6PD	c.376A>G (p.Asn126Asp)	missense	tende a ser tolerada	hemizigose	ligada ao X	significado incerto
14	HPS3	c.2182G>A (p.Glu728Lys)	missense	tende a ser tolerada	heterozigose	AR	significado incerto
14	HPS5	c.1511-5A>G (Intronic)	splice site	tende a ser deletéria	heterozigose	AR	significado incerto
14	HYOU1	Exon 26, c.2941C>T (p.Pro981Ser)	missense	tende a ser tolerada	heterozigose	AR	significado incerto
14	IL36RN	c.227C>T (p.Pro76Leu)	missense	tende a ser deletéria	heterozigose	AR	significado incerto
15	BACH2	c.979G>A (p.Ala327Thr)	missense	tende a ser tolerada	heterozigose	AD	significado incerto
15	C3	c.4851-1G>A (Splice acceptor)	splice site	tende a ser deletéria	heterozigose	AR	significado incerto
15	FOXN1	c.505G>A (p.Glu169Lys)	missense	tende a ser deletéria	heterozigose	AD/AR	significado incerto
15	KMT2A	c.2827A>G (p.Thr943Ala)	missense	tende a ser deletéria	heterozigose	AD	significado incerto
15	NFATS	c.3044C>T (p.Ser1015Phe)	missense	tende a ser deletéria	heterozigose	AD	significado incerto
15	NOD2	c.3019dup (p.Leu1007Profs*2)	stop signal	tende a ser deletéria	heterozigose	AD	risco aumentado
15	RELA	c.917A>G (p.Tyr306Cys)	missense	tende a ser tolerada	heterozigose	AD	significado incerto
15	RTLE1	c.958+3A>G (Intronic)	splice site	tende a ser tolerada	heterozigose	AD	significado incerto
15	TAPBP	c.928C>T (p.Pro310Ser)	missense	tende a ser tolerada	heterozigose	AR	significado incerto
16	ACD	c.280G>A (p.Val94Ile)	missense	tende a ser tolerada	heterozigose	AD	significado incerto
16	ATM	c.7816A>G (p.Ile2606Val)	missense	inconclusiva	heterozigose	AR/AD	significado incerto
16	ATM	Gain (Exons 62-63)	copy number gain	inconclusiva	copy number=3	AR/AD	significado incerto
17	CTC1	(Leu783Cysfs*38)	frameshift	deletério (perda de função)	heterozigose	AR	provavelmente patogênica
17	SOCS1	c.143C>T: p. (Pro48Leu)	missense	tende a ser tolerada	heterozigose	AD	significado incerto
17	TNFRSF13B	c.310T>C: p. (Cys104Arg)	missense	deletério (perda de função)	heterozigose	AD/AR	patogênica
18	FANCI	NM_001113378.2: c.976- 1G>T	missense	tende a ser deletéria	heterozigose	AR	provavelmente patogênica
18	IFIH1	c.1211T>C: p. (Val404Ala)	missense	deletério in silico	heterozigose	AR/AD	significado incerto
19	DOCK2	c.2515A>G: p. (Met839Val)	missense	tende a ser deletéria	heterozigose	AR	significado incerto
20	CHD7	c.2833G>A: p. (Val945Met)	missense	não causa alteração	heterozigose	AD	significado incerto
20	PNP	c.448C>T: p. (Pro150Ser)	missense	deletério	heterozigose	AR	significado incerto
20	TET2	c.833A>G: p. (Gln278Arg)	missense	deletério	heterozigose	AR	significado incerto
20	TNFRSF13B	c.118T>C: p. (Trp40Arg)	missense	deletério in silico	heterozigose	AD/AR	significado incerto
21	ITK	c.450G>C: p. (Lys150Asn)	missense	deletério	heterozigose	AR	significado incerto
21	PRKD	c.5517C>G: p. (Phe1839Leu)	missense	deletério	heterozigose	AR	significado incerto
21	TNFRSF13B	c.310T>C: p. (Cys104Arg)	missense	deletério (perda de função)	heterozigose	AD/AR	patogênica
22	TNFRSF13B		missense	deletério (perda de função)	heterozigose	AD/AR	patogênica
23	G6PD	c.292G>A: p. (Val98Met)	missense	deletério	heterozigose	ligado ao X	patogênica
23	KDM6A	c.211G>A: p. (Ala71Thr)	missense	deletério	heterozigose	ligado ao X dominante	significado incerto
23	SKIC3	c.4514T>C: p	missense	deletério	heterozigose	AR	significado incerto
24	CFH	c.1507C>G: p. (Pro503Ala)	missense	deletério	heterozigose	AR	significado incerto

24	POLE	c.1591G>A: p. (Gly531Arg)	missense	deletério	heterozigose	AR	significado incerto
25	CSF3R	c.2072C>T: p. (Pro691Leu)	missense	tende a ser tolerada	heterozigose	AR	significado incerto
25	LIG1	c.1939G>A: p. (Asp647Asn)	missense	tende a ser tolerada	heterozigose	AR	significado incerto
25	TNFRSF13B	c.310T>C: p. (Cys104Arg)	missense	deletério (perda de função)	heterozigose	AR/AD	patogênica
26	DNAse2	c.995C>A: p. (Ala332Asp)	missense	não causa alteração	heterozigose	AR	significado incerto
26	FAT4	c.10477A>G: p. (Ser3493Gly)	missense	deletério	heterozigose	AR	significado incerto
26	IL2RA	c.610G>A: p. (Glu204Lys)	missense	não causa alteração	heterozigose	AR	significado incerto
26	SLC29A3	c.862T>A: p. (Ser288Thr)	missense	não causa alteração	heterozigose	AR	significado incerto
27	EPG5	c.41_46dup: p. (Lys14_Ala15dup)	inframe insertion	deletério (perda de função)	heterozigose	AR	significado incerto
29	NLRP1	c.1531A>G: p. (Lys511Glu)	missense	inconclusiva	heterozigose	AD/AR	significado incerto
29	THBD	c.1304_1306dup: p. (Asp435dup)	missense	deletério (perda de função)	heterozigose	AD	significado incerto
30	POLR3F	c.227T>C: p. (Ile76Thr)	missense	tende a ser tolerada	heterozigose	AD	significado incerto
31	G6PD	c.292G>A: p. (Val98Met)	missense	tende a ser tolerada	heterozigose	LIGADA AO X	patogênica
32	CFI	c.559C>T: p. (Arg187*)	nonsense	deletério (perda de função)	heterozigose	AR	provavelmente patogênica
32	CFI	c.502A>G: p. (Arg168Gly)	missense	tende a ser tolerada	heterozigose	AR	significado incerto
32	SAMD9	c.4007T>C: p. (Leu1336Pro)	missense	tende a ser tolerada	heterozigose	AD	significado incerto

REFERÊNCIAS

ABDUL AZIZ, D. *et al.* Paediatric inflammatory bowel disease: Clinical presentation and disease location. **Pakistan Journal of Medical Sciences**, v. 33, n. 4, 4 ago. 2017.

ABUQUTEISH, D.; PUTRA, J. Upper gastrointestinal tract involvement of pediatric inflammatory bowel disease: A pathological review. **World Journal of Gastroenterology**, v. 25, n. 16, p. 1928–1935, 28 abr. 2019.

AFZALI, A.; KATZ, S. Inflammatory Bowel Disease in the Baby to Baby Boomer: Pediatric and Elderly Onset of IBD. **Current Treatment Options in Gastroenterology**, v. 16, n. 3, p. 289–305, set. 2018.

ARAI, K. Very Early-Onset Inflammatory Bowel Disease: A Challenging Field for Pediatric Gastroenterologists. **Pediatric Gastroenterology, Hepatology & Nutrition**, v. 23, n. 5, p. 411–422, set. 2020.

ASHTON, J. J. *et al.* Personalising medicine in inflammatory bowel disease—current and future perspectives. **Translational Pediatrics**, v. 8, n. 1, p. 56–69, jan. 2019.

ASHTON, J. J.; BEATTIE, R. M. Inflammatory bowel disease: recent developments. **Archives of Disease in Childhood**, v. 109, n. 5, p. 370–376, maio 2024.

ASSA, A. *et al.* Therapeutic Drug Monitoring-guided High-dose Infliximab for Infantile-onset Inflammatory Bowel Disease: A Case Series. **Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition**, v. 71, n. 4, p. 516–520, out. 2020.

BIANCO, A. M. Genetics of inflammatory bowel disease from multifactorial to monogenic forms. **World Journal of Gastroenterology**, v. 21, n. 43, p. 12296, 2015.

BOUHUYS, M.; LEXMOND, W. S.; VAN RHEENEN, P. F. Pediatric Inflammatory Bowel Disease. **Pediatrics**, v. 151, n. 1, p. e2022058037, 1 jan. 2023.

BOUSVAROS, A. *et al.* Differentiating Ulcerative Colitis from Crohn Disease in Children and Young Adults: Report of a Working Group of the North American Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition and the Crohn's and Colitis Foundation of America. **Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition**, v. 44, n. 5, p. 653–674, maio 2007.

BRAMUZZO, M. *et al.* Efficacy and safety of infliximab in very early onset inflammatory bowel disease: a national comparative retrospective study. **United European Gastroenterology Journal**, v. 7, n. 6, p. 759–766, jul. 2019.

CONRAD, M. A. *et al.* Distinct Histopathological Features at Diagnosis of Very Early Onset Inflammatory Bowel Disease. **Journal of Crohn's and Colitis**, v. 13, n. 5, p. 615–625, 26 abr. 2019.

CONRAD, M. A.; KELSEN, J. R. Genomic and Immunologic Drivers of Very Early-Onset Inflammatory Bowel Disease. **Pediatric and Developmental Pathology**, v. 22, n. 3, p. 183–193, maio 2019.

CROWLEY, E.; MUISE, A. Inflammatory Bowel Disease. **Gastroenterology Clinics of North America**, v. 47, n. 4, p. 755–772, dez. 2018.

DALZELL, A. M.; BA'ATH, M. E. Paediatric inflammatory bowel disease: review with a focus on practice in low- to middle-income countries. **Paediatrics and International Child Health**, v. 39, n. 1, p. 48–58, 2 jan. 2019.

DE MESQUITA, M. B.; SHOUVAL, D. S. Evaluation of very early-onset inflammatory bowel disease. **Current Opinion in Gastroenterology**, v. 36, n. 6, p. 464–469, nov. 2020.

FABISZEWSKA, S. et al. Safety and Effectiveness of Vedolizumab for the Treatment of Pediatric Patients with Very Early Onset Inflammatory Bowel Diseases. **Journal of Clinical Medicine**, v. 10, n. 13, p. 2997, 5 jul. 2021.

GLOCKER, E.-O. *et al.* Inflammatory Bowel Disease and Mutations Affecting the Interleukin-10 Receptor. **New England Journal of Medicine**, v. 361, n. 21, p. 2033–2045, 19 nov. 2009.

GONZÁLEZ, M. *et al.* Enfermedad Inflamatoria Intestinal en pediatría (EII): revisión. Grupo de trabajo de la Sociedad Latinoamericana de Gastroenterología, Hepatología y Nutrición Pediátrica (SLAGHNP). **Acta Gastroenterológica Latinoamericana**, v. 48, n. 3, p. 226–241, 2018.

GRAHAM, D. B.; XAVIER, R. J. Pathway paradigms revealed from the genetics of inflammatory bowel disease. **Nature**, v. 578, n. 7796, p. 527–539, 27 fev. 2020.

GREEN, Z.; BEATTIE, R. M.; ASHTON, J. J. Recent developments in the assessment and management of inflammatory bowel disease in childhood: a narrative review. **Translational Pediatrics**, v. 12, n. 10, p. 1853–1874, 30 out. 2023.

GUAN, Q. A Comprehensive Review and Update on the Pathogenesis of Inflammatory Bowel Disease. **Journal of Immunology Research**, v. 2019, p. 1–16, 1 dez. 2019.

JONGSMA, M. M. E. *et al.* First-line treatment with infliximab versus conventional treatment in children with newly diagnosed moderate-to-severe Crohn's disease: an open-label multicentre randomised controlled trial. **Gut**, v. 71, n. 1, p. 34–42, jan. 2022.

KELSEN, J. R. *et al.* North American Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition Position Paper on the Evaluation and Management for Patients With Very Early-onset Inflammatory Bowel Disease. **Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition**, v. 70, n. 3, p. 389–403, mar. 2020.

KELSEN, J. R.; RUSSO, P.; SULLIVAN, K. E. Early-Onset Inflammatory Bowel Disease. **Immunology and Allergy Clinics of North America**, v. 39, n. 1, p. 63–79, fev. 2019.

KELSEN, J. R.; SULLIVAN, K. E. Inflammatory Bowel Disease in Primary Immunodeficiencies. **Current Allergy and Asthma Reports**, v. 17, n. 8, p. 57, ago. 2017.

KIM, K. Y. et al. Higher Morbidity of Monogenic Inflammatory Bowel Disease Compared to the Adolescent Onset Inflammatory Bowel Disease. **Pediatric Gastroenterology, Hepatology & Nutrition**, v. 21, n. 1, p. 34, 2018.

KONINCKX, CR *et al.* The Use of Fecal Calprotectin Testing in Paediatric Disorders: A Position Paper of the European Society for Paediatric Gastroenterology and Nutrition Gastroenterology Committee. **Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition**, v. 72, n. 4, p. 617–640, abr. 2021

KOTZE, P. G. *et al.* Progression of Inflammatory Bowel Diseases Throughout Latin America and the Caribbean: A Systematic Review. **Clinical Gastroenterology and Hepatology**, v. 18, n. 2, p. 304–312, fev. 2020.

KUENZIG, M. E. *et al.* Twenty-first Century Trends in the Global Epidemiology of Pediatric-Onset Inflammatory Bowel Disease: Systematic Review. **Gastroenterology**, v. 162, n. 4, p. 1147- 1159.e4, abr. 2022.

LEVINE, A. *et al.* Pediatric modification of the Montreal classification for inflammatory bowel disease: The Paris classification. **Inflammatory Bowel Diseases**, v. 17, n. 6, p. 1314–1321, jun. 2011.

LEVINE, A. *et al.* ESPGHAN Revised Porto Criteria for the Diagnosis of Inflammatory Bowel Disease in Children and Adolescents. **Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition**, v. 58, n. 6, p. 795–806, jun. 2014.

LEVINE, A.E.; MARK, D.; SMITH, L.; ZHENG, H.B.; SUSKIND, D.L. Pharmacologic Management of Monogenic and Very Early Onset Inflammatory Bowel Diseases. **Pharmaceutics**, v. 15, 969 – 990, jan 2023

MAASER, C. *et al.* ECCO-ESGAR Guideline for Diagnostic Assessment in IBD Part 1: Initial diagnosis, monitoring of known IBD, detection of complications. **Journal of Crohn's and Colitis**, v. 13, n. 2, p. 144- 164K, 1 fev. 2019.

MCGOVERN, D. P. B.; KUGATHASAN, S.; CHO, J. H. Genetics of Inflammatory Bowel Diseases. **Gastroenterology**, v. 149, n. 5, p. 1163- 1176.e2, out. 2015.

NAMBU, R. *et al.* A Systematic Review of Monogenic Inflammatory Bowel Disease. **Clinical Gastroenterology and Hepatology**, v. 20, n. 4, p. e653–e663, abr. 2022.

NAMBU, R.; MUISE, A. M. Advanced Understanding of Monogenic Inflammatory Bowel Disease. **Frontiers in Pediatrics**, v. 8, p. 618918, 22 jan. 2021.

NAMEIRAKPAM, J. *et al.* Genetics on early onset inflammatory bowel disease: An update. **Genes & Diseases**, v. 7, n. 1, p. 93–106, mar. 2020.

NEMATI, S.; TEIMOURIAN, S. An Overview of Inflammatory Bowel Disease: General Consideration and Genetic Screening Approach in Diagnosis of Early Onset Subsets. **Middle East Journal of Digestive Diseases**, v. 9, n. 2, p. 69–80, 3 fev. 2017.

NIJMAN, I. J. *et al.* Targeted next-generation sequencing: A novel diagnostic tool for primary immunodeficiencies. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 133, n. 2, p. 529- 534.e1, fev. 2014.

OLIVA, S. *et al.* Endoscopy in Pediatric Inflammatory Bowel Disease: A Position Paper on Behalf of the Porto IBD Group of the European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition. **Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition**, v. 67, n. 3, p. 414–430, set. 2018.

OUAHED, J. *et al.* Very Early Onset Inflammatory Bowel Disease: A Clinical Approach With a Focus on the Role of Genetics and Underlying Immune Deficiencies. **Inflammatory Bowel Diseases**, v. 26, n. 6, p. 820–842, 12 maio 2020.

PARENTE, P. *et al.* Very Early Onset-IBD: evidence for the need of a multidisciplinary approach. **Pathologica**, v. 114, n. 1, p. 3–11, 2 dez. 2021.

PAZMANDI, J. *et al.* Early-onset inflammatory bowel disease as a model disease to identify key regulators of immune homeostasis mechanisms. **Immunological Reviews**, v. 287, n. 1, p. 162–185, jan. 2019.

RHEENEN *et al.* The Medical Management of Paediatric Crohn's Disease: an ECCO-ESPGHAN Guideline Update. **Journal of Crohn's and Colitis**, v. 15, n. 2, 171–194, fev 2021.

ROGLER, G. *et al.* Extraintestinal Manifestations of Inflammatory Bowel Disease: Current Concepts, Treatment, and Implications for Disease Management. **Gastroenterology**, v. 161, n. 4, p. 1118–1132, out. 2021.

SHIM, J. O. Recent Advance in Very Early Onset Inflammatory Bowel Disease. **Pediatric Gastroenterology, Hepatology & Nutrition**, v. 22, n. 1, p. 41, 2019.

THURGATE, L. E. *et al.* An Overview of Inflammatory Bowel Disease Unclassified in Children. **Inflammatory Intestinal Diseases**, v. 4, n. 3, p. 97–103, 2019.

TURNER, D. *et al.* Management of Pediatric Ulcerative Colitis: Joint ECCO and ESPGHAN Evidence-based Consensus Guidelines. **Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition**, v. 55, n. 3, p. 340–361, set. 2012.

UHLIG, H. H. *et al.* The Diagnostic Approach to Monogenic Very Early Onset Inflammatory Bowel Disease. **Gastroenterology**, v. 147, n. 5, p. 990- 1007.e3, nov. 2014.

UHLIG, H. H. *et al.* Clinical Genomics for the Diagnosis of Monogenic Forms of Inflammatory Bowel Disease: A Position Paper From the Paediatric IBD Porto Group of European Society of Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition. **Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition**, v. 72, n. 3, p. 456–473, mar. 2021.

UHLIG, H. H.; MUISE, A. M. Clinical Genomics in Inflammatory Bowel Disease. **Trends in Genetics**, v. 33, n. 9, p. 629–641, set. 2017.

UNIKEN VENEMA, W. T. *et al.* The genetic background of inflammatory bowel disease: from correlation to causality. **The Journal of Pathology**, v. 241, n. 2, p. 146–158, jan. 2017.

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS *et al.* BRAZILIAN CONSENSUS ON THE MANAGEMENT OF INFLAMMATORY BOWEL DISEASES IN PEDIATRIC PATIENTS: A CONSENSUS OF THE BRAZILIAN ORGANIZATION FOR CROHN'S DISEASE AND COLITIS (GEDIIB). **Arquivos de Gastroenterologia**, 24 mar. 2023.

VAN RHEENEN, P. F. et al. The Medical Management of Paediatric Crohn's Disease: an ECCO-ESPGHAN Guideline Update. **Journal of Crohn's and Colitis**, v. 15, n. 2, p. 171–194, 1 fev. 2021.

VERNON-ROBERTS, A.; DAY, A. S. Promoting early testing and appropriate referral to reduce diagnostic delay for children with suspected inflammatory bowel disease, a narrative review. **Translational Pediatrics**, v. 12, n. 7, p. 1416–1430, jul. 2023.

ZHENG, H. B.; DE LA MORENA, M. T.; SUSKIND, D. L. The Growing Need to Understand Very Early Onset Inflammatory Bowel Disease. **Frontiers in Immunology**, v. 12, p. 675186, 26 maio 2021.

APÊNDICE A: Ficha cadastral do paciente

Ficha Cadastral Paciente

Dados Clínicos pacientes com DII de Início Precoce (VEOIBD)
Pesquisa de Doutorado Aluna Tatyana Borges da Cunha Kock (Universidade Federal de Uberlândia)

* Indica uma pergunta obrigatória

1. E-mail *

2. Código do paciente (Este código será fornecido pelos membros da pesquisa, pois deverá ser o mesmo que identificará a amostra de saliva)

3. Iniciais da criança/numero prontuário *

4. Data de nascimento

Exemplo: 7 de janeiro de 2019

5. Sexo do paciente

Marcar apenas uma oval.

Feminino

Masculino

6. Idade início sintomas (deve ser menor que 6 anos)

7. Idade Diagnóstico

8. Tem história familiar de DII?

Marcar apenas uma oval.

- Sim
 Não

9. Tem história de consanguinidade? *

Marcar apenas uma oval.

- Sim
 Não

10. Quais os sintomas mais relevantes?

Marque todas que se aplicam.

- diarreia sanguinolenta
 diarreia sem sangue
 dor abdominal
 doença perianal
 déficit ponderoestatural
 Outros:

11. Manifestações extra-intestinais

Marque todas que se aplicam.

- Sim.
 Não
 Opção 3

12. Quais manifestações extra-intestinais/comorbidades:

Marque todas que se aplicam.

- artrite
- doenças de pele e fâneros (foliculite, eczema, alopecia)
- hepatite auto-imune
- infecções de repetição
- aftas de repetição
- hepatoesplenomegalia
- linfonodomegalia
- anemia
- outras manifestações auto-imunes (diabetes, distúrbio tireóide...)

13. Exames laboratoriais ao diagnóstico (Hemograma, PCR, VHS, calprotectina fecal, TGO, TGP, GGT, albumina)

14. Triagem imunológica

A triagem imunológica inicial inclui dosagem de imunoglobulinas (IgA, IgG, IgM, IgE), fenotipagem linfocitária (CD 3, CD4, CD8, CD56, CD19) e resposta anticórpica (IgG para tétano). Favor colocar os exames abaixo:

15. Resultado de colonoscopia no diagnóstico

16. Resultado anatomobiológico (biópsias intestinais)

17. Realizou endoscopia alta

Marque todas que se aplicam.

- Sim. Normal
 Sim, comprometimento duodeno
 Não
 Outro: _____

18. Paciente realizou exame de imagem?

Marque todas que se aplicam.

- Não
 Sim. Enterorressonância
 Sim. Enterotomografia
 Sim. Ultrassonografia
 Sim. Trânsito Intestinal
 Outro: _____

19. Achados exames de imagem

Marque todas que se aplicam.

- espessamento de parede intestinal
- edema mesentérico
- realce de parede
- fistula
- estenose
- Outro: _____

20. DIAGNÓSTICO FINAL

Marque todas que se aplicam.

- Doença de Crohn
- Retocolite Ulcerativa
- Colite Indeterminada

21. Para DOENÇA DE CROHN, Classificação por localização

Marque todas que se aplicam.

- L1: 1/3 distal do íleo, limitado ao ceco
- L2: colônica
- L3: ileocolônica
- L4a: comprometimento alto proximal ao ângulo de Treitz
- L4b: comprometimento alto distal ao ângulo de Treitz e proximal ao 1/3 distal do íleo
- Outro: _____

22. Para DOENÇA DE CROHN, Classificação por comportamento:

Marque todas que se aplicam.

- B1: não estenosante e não penetrante
- B2: estenosante
- B3: penetrante
- B2B3: ambos penetrante e estenosante

23. Para DOENÇA DE CROHN, Classificação por impacto crescimento

Marque todas que se aplicam.

- G0: sem evidências de déficit crescimento
 G1: com evidências de déficit de crescimento

24. ÍNDICE DE ATIVIDADE DA DOENÇA DE CROHN-PCDAI (ao diagnóstico):

25. Para RETOCOLITE ULCERATIVA, Classificação quanto a extensão

Marque todas que se aplicam.

- E1: proctite ulcerativa
 E2: colite ulcerativa lado esquerdo (distal a flexura esplênica)
 E3: extensa (distal a flexura hepática)
 E4: pancolite

26. Para RETOCOLITE ULCERATIVA, Classificação de acordo com gravidade

Marque todas que se aplicam.

- S0: não grave
 S1: grave (PUCAI>65)

27. ÍNDICE DE ATIVIDADE RETOCOLITE ULCERATIVA - PUCAI (ao diagnóstico)

28. TRATAMENTO - Qual estratégia inicial de tratamento - Indução da Remissão:

Marque todas que se aplicam.

- Convencional Step up com corticóides
 Step up acelerado (CE+IMS e depois anti-TNF+IMS)
 Step Down (anti-TNF+IMS)
 Nutrição Parenteral Exclusiva
 Outro: _____

29. TRATAMENTO - Foi realizado troca do esquema terapêutico inicial?

Marcar apenas uma oval.

Sim

Não

30. Qual foi o esquema terapêutico escolhido na troca?

31. Quanto tempo depois do início do tratamento foi feita a troca?

32. TRATAMENTO - Qual tratamento de manutenção?

Marque todas que se aplicam.

Monoterapia com aminosalicilatos

Monoterapia com imunossupressor (IMS) - Azatioprina

Monoterapia com anti-TNF

Comboterapia com IMS+anti-TNF

Outro: _____

33. TRATAMENTO - Foi submetido a procedimento cirúrgico?

Marque todas que se aplicam.

Sim

Não

34. Qual procedimento cirúrgico foi realizado?

APÊNDICE B: Termo de Consentimento para menores de 18 anos**TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO
PARA MAIORES DE 18 ANOS**

Você está sendo convidado(a) a participar da pesquisa intitulada “**Caracterização clínico-molecular da doença inflamatória intestinal em crianças e adolescentes**”, sob a responsabilidade dos pesquisadores Tatyana B. Cunha Kock (Faculdade de Medicina, UFU) e Gesmar Rodrigues S. Segundo (Faculdade de Medicina, UFU).

Este estudo tem como objetivo saber mais sobre a doença que causa inflamação no seu intestino e se ela pode estar associada a alguma alteração na sua carga genética que leva a mudanças no seu sistema de defesa e podem contribuir para manter a inflamação no intestino. Desta forma, se for encontrada alguma alteração nestes genes, isto pode ajudar a identificar alternativas de tratamento mais adequadas para sua doença.

O Termo de Consentimento Livre e Esclarecido está sendo obtido pelo médico colaborador, _____ durante a sua consulta de rotina com gastroenterologista, após você receber explicações sobre a pesquisa e aceitar participar. Você terá tempo suficiente para decidir se concorda ou não com a sua participação na pesquisa.

Na sua participação, você será submetido a coleta de saliva que você deve cuspir no tubo. Serão necessários de 2 a 4 ml de saliva. O teste genético inclui a pesquisa de cerca de 407 alterações nos genes responsáveis pelo funcionamento adequado do sistema de defesa. A amostra de saliva ficará armazenada por tempo mínimo, no Centro Coordenador desta pesquisa, que é a Universidade Federal de Uberlândia, sob responsabilidade dos pesquisadores responsáveis Tatyana Borges da Cunha Kock e Gesmar Rodrigues Segundo, até seu envio para o laboratório INVITAE, em São Francisco, Califórnia, nos Estados Unidos, localizado no endereço 16^a Avenida número 1400, cujo e-mail para contato é ir@inivitae.com e o telefone para contato no Brasil é (11) 3181-4924. Este laboratório tem cooperação com a Fundação de Apoio a esta pesquisa e será o único responsável por manipular as amostras de saliva que serão utilizadas exclusivamente para esta pesquisa. Além deste teste, serão feitos exames de sangue de rotina que já são realizados no acompanhamento da sua doença. As informações sobre a doença serão coletadas do prontuário e utilizadas apenas nesta **pesquisa e, somente, após a sua autorização para acesso a estas informações.**

Os riscos de participar deste estudo são mínimos, sendo os principais listados abaixo:

1) Riscos de Identificação do participante e perda de sigilo dos dados: ao entrar na pesquisa você receberá um código numérico para sua identificação, para evitar o uso de dados que possam identificá-lo como nome ou data de nascimento. Entretanto, para realização do teste genético torna-se necessário a identificação da amostra de saliva com nome, sobrenome e data de nascimento para garantia de não haver troca de material e para pronta localização dos resultados de exames. Ainda assim, garantiremos a confidencialidade dos dados e a preservação da sua identidade, uma vez que só os pesquisadores principais já citados acima, terão acesso a estes dados. E quando transferidos para a planilha de dados para análise será utilizado o código numérico e a planilha ficará sob responsabilidade da pesquisadora Tatyana Borges da Cunha Kock e o acesso a esta será limitado através de um link gerado que só quem tem autorização poderá acessar.

2) Risco na coleta de amostra: para amenizar os riscos foi optado por coleta de amostra de saliva por se tratar de um procedimento simples, sem necessidade de procedimentos invasivos, sem necessidade de usar agulhas,

sendo realizada por profissional devidamente orientado e utilizando todas as medidas de proteção contra a COVID-19, com adequada higienização com álcool 70%, uso de máscaras e luvas.

4) Risco de perda, extravio, comercialização de amostras biológicas: as amostras serão devidamente condicionadas e seguirão rígidos padrões de envio seguindo legislação brasileira. Foi assegurado junto ao laboratório o comprometimento de seguir as normas brasileira, estando ciente que é vedado a comercialização da amostra ou seu uso para qualquer outro fim. Ainda assim, caso haja perda ou transferência de amostra de saliva para outro local você será avisado. E poderá retirar o consentimento da guarda e utilização da amostra armazenada, a qualquer tempo e sem quaisquer ônus ou prejuízos.

Havendo algum dano decorrente da pesquisa, você terá direito a solicitar indenização através das vias judiciais (Código Civil, Lei 10.406/2002, Artigos 927 a 954 e Resolução CNS nº 510 de 2016, Artigo 19). A equipe de pesquisa se compromete a garantir a assistência integral e gratuita a você, devido a eventuais danos que possam acontecer decorrentes de sua participação, pelo tempo que for necessário. Caso haja alteração no resultado do teste genético realizado, o mesmo será compartilhado com o médico que o acompanha. A equipe de pesquisa é composta por especialistas que poderão assegurar, em conjunto com este médico, a assistência médica e acompanhamento adequados para a doença em questão, bem como assegurar os encaminhamentos necessários.

A participação neste estudo lhe trará benefícios diretos e indiretos:

1) Acesso a realização do teste genético; a participação no estudo infere na realização de um estudo genético, exame complexo e importante que poucas pessoas tem acesso.

2) Acesso ao resultado do teste genético: Os resultados dos testes genéticos poderão ser compartilhados com você e o seu médico, e permitirão avaliar o melhor tratamento para a sua doença.

3) Aprimoramento do conhecimento a cerca da doença: De forma indireta, o estudo trará conhecimentos sobre a doença permitindo compreender melhor sobre seu comportamento. O pesquisador se compromete a divulgar os resultados da pesquisa, de forma que você possa ter acesso e, se for da sua vontade, os resultados também poderão ser compartilhados com especialistas responsáveis por definir protocolos de tratamento e acompanhamento para pacientes com estas doenças.

Todos os gastos com o estudo, incluindo os kits para coleta de saliva bem como os recursos para envio da amostra para o exterior, bem como realização do teste genético ficará sob responsabilidade desta equipe de pesquisa, incluindo a retirada dos resultados do teste genético do banco de dados.

A qualquer momento, você poderá retirar o seu consentimento para participação da pesquisa. Garantimos que não haverá coação para que o consentimento seja mantido nem que haverá prejuízo algum. Até o momento da divulgação dos resultados, você também é livre para solicitar a retirada dos dados da pesquisa.

Este termo deverá ser assinado em duas vias, sendo que a via original ficará com você. Assim como todas as páginas deverão ser rubricadas por você e pelo pesquisador responsável.

Em caso de qualquer dúvida a respeito desta pesquisa, você poderá entrar em contato com a pesquisadora responsável: Tatyana Borges da Cunha Kock, Docente do Departamento de Pediatria, da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Uberlândia que fica no Endereço: Avenida Pará, Bloco 2H, sala 02, Campos Umuarama, através dos telefones: (34) 99196-6002 ou (34) 3225-8623.

Você poderá também entrar em contato com o CEP - Comitê de Ética na Pesquisa com Seres Humanos na Universidade Federal de Uberlândia, localizado na Av. João Naves de Ávila, nº 2121, bloco A, sala 224, *campus* Santa Mônica – Uberlândia/MG, 38408-100; telefone: 34-3239-4131. O CEP é um colegiado independente

criado para defender os interesses dos participantes das pesquisas em sua integridade e dignidade e para contribuir para o desenvolvimento da pesquisa dentro de padrões éticos conforme resoluções do Conselho Nacional de Saúde.

Uberlândia, de de 20.....

Assinatura do pesquisador responsável
(Médico responsável pelo paciente no respectivo serviço delegado pelo pesquisador)

Assinatura dos pesquisadores

Eu, responsável legal pelo(a) menor _____ consinto na sua
participação na pesquisa citada acima, após ter sido devidamente esclarecido.

Assinatura do responsável pelo(a) participante da pesquisa

APÊNDICE C: Termo de Assentimento para 7 a 12 anos

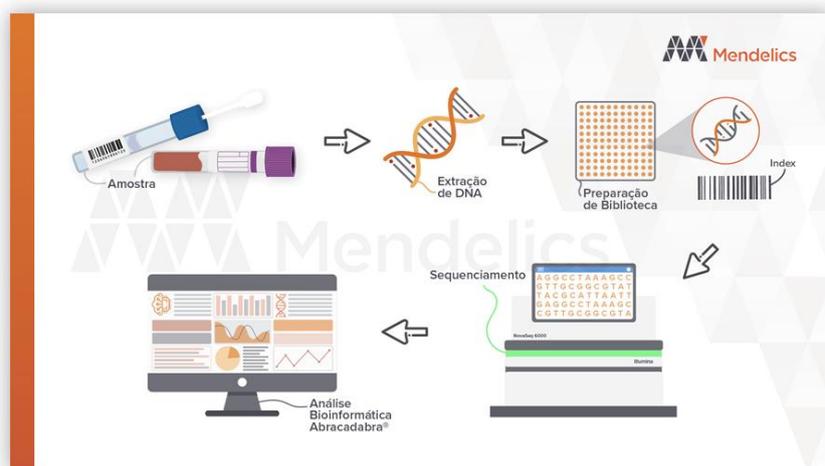
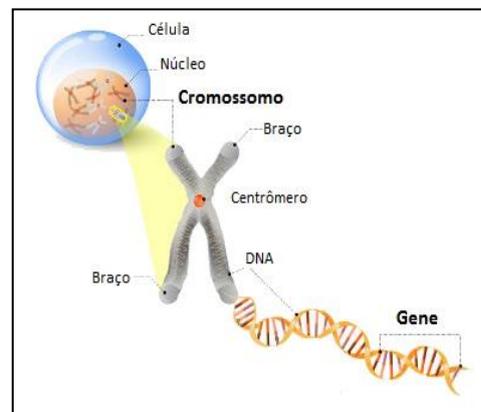
TERMO DE ASSENTIMENTO PARA MENOR DE 12 ANOS (7 A 12 ANOS)

Você está sendo convidado(a) a participar da pesquisa intitulada “Caracterização Clínico-molecular das doenças inflamatórias de início precoce em crianças e adolescentes”, sob a responsabilidade dos pesquisadores Tatyana B. Cunha Kock (Faculdade de Medicina, UFU) e Gesmar Rodrigues S. Segundo (Faculdade de Medicina, UFU).

Nesta pesquisa nós estamos buscando saber mais sobre o porquê do seu intestino estar inflamado e te trazer desconforto como dor na barriga, coco mole, falta de apetite. Esta inflamação pode ser causada por alteração nos genes que constituem as células do seu corpo e estão relacionados ao funcionamento do seu sistema de defesa. (figura ao lado). E se conseguirmos descobrir onde está estas alterações e o que elas causam no seu corpo podemos ajudar a melhorar a sua saúde.

Para poder conseguir este material genético precisamos coletar sua

saliva. Para coletar sua saliva basta cuspir no tubo que o médico vai te mostrar. Este tubo com saliva será enviado pelo pesquisador para um laboratório que faz análise de material genético. Esta empresa não fica no Brasil, fica nos Estados Unidos, mais precisamente na Califórnia e se chama INVITAE. Esta empresa pegará sua saliva para fazer um teste genético que vai tentar identificar se tem alteração na estrutura do seu gene que pode estar te causando algum mal. Veja na figura o caminho que sua amostra de saliva vai percorrer para ao



final termos o resultado do seu exames na forma destes códigos de várias letras Este resultado vai ser disponibilizado no computador para acesso pelos pesquisadores principais desta pesquisa que são Dr. Gesmar Rodrigues Segundo e Dra. Tatyana Borges da Cunha Kock.

O Termo de Assentimento será obtido pelo médico colaborador

_____, durante a sua consulta com ele, após ele te explicar tudo de forma clara e que você possa entender. Você terá tempo para fazer todas as perguntas que quiser e, só depois, de entender bem, decidir se quer ou não participar. O responsável por você, que seja sua mãe ou seu pai ou outra pessoa, também poderá te ajudar.

Os riscos para participar desta pesquisa são muito pequenos. Você pode ficar desconfortável quando for cuspir na frente do seu médico, mas o procedimento é rápido e sem dor. Você não será furado como na coleta de sangue. Não precisa ter receio quanto saberem quem você é ou que aquela informação é sobre você, porque seu nome não vai aparecer nestes dados, nem foto dos seus exames, nem foto sua.

O resultado do teste genético poderá ser compartilhado com seu médico e ajudar a escolher a melhor forma de controlar sua doença. Os resultados dos testes e as informações sobre sua doença também irão para revistas que podem ajudar médicos que tratam estas doenças a conhecer melhor sobre ela e ajudar outras crianças. Você também poderá ter acesso a esta revista.

Você é livre para deixar de participar da pesquisa a qualquer momento. Você não é obrigado a participar da pesquisa se não quiser. E não vai ser punido por isso e nem tão pouco seu responsável o será. Mesmo que seu responsável, mãe, pai ou cuidador, tiver permitido a sua participação na pesquisa, ainda assim você não é obrigado a participar.

Este termo deverá ser assinado em duas vias, uma fica com você e outra com o pesquisador, Se você não souber escrever seu nome podemos coletar suas digitais como forma de assinatura.

Em caso de qualquer dúvida ou reclamação a respeito da pesquisa, você poderá entrar em contato com a pesquisadora responsável: Tatyana Borges da Cunha Kock, Docente do Departamento de Pediatria, da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Uberlândia que fica no Endereço: Avenida Pará, Bloco 2H, sala 02, Campos Umuarama, através dos telefones: (34) 99196-6002 ou (34) 3225-8623.

Você poderá também entrar em contato com o CEP - Comitê de Ética na Pesquisa com Seres Humanos na Universidade Federal de Uberlândia, localizado na Av. João Naves de Ávila, nº 2121, bloco A, sala 224, *campus* Santa Mônica – Uberlândia/M, G, 38408-100; telefone: 34-3239-4131. O CEP é um colegiado independente criado para defender os interesses dos participantes das pesquisas em sua integridade e dignidade e para contribuir para o desenvolvimento da pesquisa dentro de padrões éticos conforme resoluções do Conselho Nacional de Saúde.

Uberlândia, de de 20.....

Assinatura do médico responsável pelo paciente

Assinatura do(s) pesquisador(es)

Eu aceito participar do projeto citado acima, voluntariamente, após ter sido devidamente esclarecido.

Assinatura do participante da pesquisa

APÊNDICE D: Termo de Assentimento para 12 a 18 anos**TERMO DE ASSENTIMENTO PARA O MENOR ENTRE 12 E 18 ANOS INCOMPLETOS**

Você está sendo convidado(a) a participar da pesquisa intitulada “Caracterização Clínico-molecular das doenças inflamatórias de início precoce em crianças e adolescentes”, sob a responsabilidade dos pesquisadores Tatyana B. Cunha Kock (Faculdade de Medicina, UFU) e Gesmar Rodrigues S. Segundo (Faculdade de Medicina, UFU).

Nesta pesquisa nós estamos buscando saber mais sobre o porquê do seu intestino estar inflamado. Esta inflamação pode ser causada por alteração nos genes relacionados ao funcionamento do seu sistema de defesa. E se conseguirmos descobrir onde está estas alterações e o que elas causam no seu corpo podemos escolher a melhor forma de tratar se controlar sua doença.

O Termo de Assentimento será obtido pelo médico colaborador _____, durante a sua consulta de rotina com gastroenterologista, após você receber explicações sobre a pesquisa e aceitar participar. Você terá tempo suficiente para decidir se concorda ou não em participar da pesquisa.

Na sua participação, você será submetido a coleta de saliva. Para tanto, basta cuspir no tubo que seu médico vai te mostrar. Este material será enviado para um laboratório que ficará responsável por extrair seu material genético e analisá-lo, com uso de tecnologias próprias para isso. Este laboratório não fica no Brasil, fica nos Estados Unidos, mais precisamente na Califórnia e se chama INVITAE. Esta empresa pegará sua saliva para fazer um teste genético que vai tentar identificar se tem alteração na estrutura do seu gene que pode estar te causando algum mal. Este resultado vai ser disponibilizado no computador para acesso pelos pesquisadores principais desta pesquisa que são Dr. Gesmar Rodrigues Segundo e Dra. Tatyana Borges da Cunha Kock.

Além deste teste, serão feitos exames de sangue para avaliação do seu sistema de defesa que já fazem parte da rotina de exames para sua doença. As informações sobre sua doença serão coletadas do seu prontuário e serão utilizadas para fins apenas da **pesquisa**.

Em nenhum momento você será identificado. Os resultados da pesquisa serão publicados e ainda assim a sua identidade será preservada. O pesquisador se compromete a divulgar os resultados da pesquisa, de forma que você possa ter acesso e, se for da sua vontade, também poderemos fornecer os resultados dos exames para o médico que te acompanha.

Você não terá nenhum gasto nem ganho financeiro por participar na pesquisa.

Havendo algum dano decorrente da pesquisa, você terá direito a solicitar indenização através das vias judiciais (Código Civil, Lei 10.406/2002, Artigos 927 a 954 e Resolução CNS nº 510 de 2016, Artigo 19).

Os riscos consistem na possibilidade de identificá-lo, o que será evitado utilizando um código numérico para sua identificação, não será utilizado seu nome, nem imagens. O risco na coleta da

saliva é mínimo por se tratar de um procedimento simples que não faz uso de agulhas e será realizado por um profissional capacitado, utilizando medidas de proteção contra a COVID-19, incluindo higienização das mãos com álcool a 70%, uso de máscaras e luvas. Os benefícios serão o retorno dos resultados dos exames, incluindo o teste genético, para você e para os médicos que te acompanham, o que poderá contribuir para escolha do melhor tratamento para sua doença.

Você é livre para deixar de participar da pesquisa a qualquer momento sem qualquer prejuízo ou coação. Até o momento da divulgação dos resultados, você também é livre para solicitar a retirada dos seus dados da pesquisa. Mesmo seu responsável legal tendo consentido, você não é obrigado a participar da pesquisa se não quiser.

Uma via original deste Termo de Assentimento ficará com você.

Em caso de qualquer dúvida ou reclamação a respeito da pesquisa, você poderá entrar em contato com a pesquisadora responsável: Tatyana Borges da Cunha Kock, Docente do Departamento de Pediatria, da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Uberlândia que fica no Endereço: Avenida Pará, Bloco 2H, sala 02, Campos Umuarama, através dos telefones: (34) 99196-6002 ou (34) 3225-8623.

Você poderá também entrar em contato com o CEP - Comitê de Ética na Pesquisa com Seres Humanos na Universidade Federal de Uberlândia, localizado na Av. João Naves de Ávila, nº 2121, bloco A, sala 224, *campus* Santa Mônica – Uberlândia/M, G, 38408-100; telefone: 34-3239-4131. O CEP é um colegiado independente criado para defender os interesses dos participantes das pesquisas em sua integridade e dignidade e para contribuir para o desenvolvimento da pesquisa dentro de padrões éticos conforme resoluções do Conselho Nacional de Saúde.

Uberlândia, de de 20.....

Assinatura do(s) pesquisador(es)

Eu aceito participar do projeto citado acima, voluntariamente, após ter sido devidamente esclarecido.

Assinatura do participante da pesquisa

ANEXO I – PAINEL GENÉTICO EII

Primary Panel (429 genes)

ACD, ACP5, ACTB, ADA, ADA2, ADAM17, ADAR, ADGRE2, AICDA, AIRE, AK2, ALG6, ALPK1, ANGPT1, ANKZF1, AP3B1, AP3D1, ARHGEF1, ARPC1B, ASAH1, ATM, ATP6AP1, B2M, BACH2, BCL10, BCL11B, BLM, BLNK, BLOC1S3, BLOC1S6, BTK, C17ORF62, C1QA, C1QB, C1QC, C1S, C2, C3, C5, C6, C7, C8A, C8B, C9, CARD11, CARD14, CARD8, CARD9, CARMIL2, CASP10, CASP8, CBL, CCBE1, CD19, CD247, CD27, CD3D, CD3E, CD3G, CD40, CD40LG, CD46, CD55, CD59, CD79A, CD79B, CD81, CD8A, CDC42, CDCA7, CEBPE, CFB, CFD, CFH, CFI, CFP, CHD7, CIB1, CIITA, CLCN7, CLPB, COL7A1, COPA, CORO1A, CR2, CSF2RA, CSF2RB, CSF3R, CTC1, CTLA4, CTPS1, CTSC, CXCR2, CXCR4, CYBA, CYBB, CYP27A1, DBR1, DCLRE1C, DDX58, DEF6, DGAT1, DIAPH1, DKC1, DNAJC21, DNASE1L3, DNASE2, DNMT3B, DOCK2, DOCK8, DSG1, DTNBP1, DUOX2, EFL1, EIF2AK3, ELANE, EPG5, ERBIN, ERCC2, ERCC3, ERCC6L2, EXTL3, FADD, FANCA, FANCB, FANCE, FANCF, FANCI, FANCL, FAS, FASLG, FAT4, FCHO1, FERMT1, FERMT3, FNIP1, FOXI3, FOXN1, FOXP3, FPR1, G6PC, G6PC3, G6PD, GATA1, GATA2, GFI1, GINS1, GTF2E2, GTF2H5, GUCY2C, HAX1, HELLS, HMOX1, HPS1, HPS3, HPS4, HPS5, HPS6, HTRA2, HYOU1, ICOS, ICOSLG, IFIH1, IFNAR1, IFNAR2, IFNGR1, IFNGR2, IGLL1, IKBKB, IKZF1, IL10, IL10RA, IL10RB, IL12B, IL12RB1, IL12RB2, IL17F, IL17RA, IL17RC, IL18BP, IL1RN, IL21, IL21R, IL23F, IL2RA, IL2RB, IL2RG, IL36RN, IL6R, IL6ST, IL7R, IRAK4, IRF2BP2, IRF4, IRF7, IRF8, IRF9, ISG15, ITCH, ITGAM, ITGB2, ITK, JAGN1, JAK1, JAK3, KAT6A, KDM6A, KMT2A, KMT2D, LAMTOR2, LAT, LCK, LCT, LIG1, LIG4, LIPA, LPIN2, LRBA, LRRC8A, LYN, LYST, MAD2L2, MAGT1, MALT1, MAP3K14, MCM4, MEFV, MKL1, MOGS, MPLKIP, MS4A1, MSN, MTHFD1, MVK, MYD88, MYO5B, MYSM1, NBAS, NBN, NCF2, NCF4, NCKAP1L, NCSTN, NEUROG3, NFAT5, NFE2L2, NFKB1, NFKB2, NFKBIA, NHEJ1, NHP2, NLR4, NLRP1, NLRP2, NLRP3, NOD2, NOP10, NSMCE3, OAS1, ORAI1, OSTM1, OTULIN, PARN, PAX1, PEPD, PGM3, PIK3CD, PIK3R1, PLCG2, PLVAP, PMM2, PNLIP, PNP, POLA1, POLD1, POLD2, POLE, POLE2, POLR3A, POLR3F, POMP, PRF1, PRKCD, PRKDC, PSENEN, PSMA3, PSMB4, PSMB8, PSMG2, PSTPIP1, PTPRC, RAB27A, RAC2, RAG1, RAG2, RANBP2, RASGRP1, RBCK1, REL, RELB, RFX5, RFXANK, RFXAP, RHOH, RIPK1, RMRP, RNASEH2A, RNASEH2B, RNASEH2C, RNF113A, RNF168, RNF31, RNU4ATAC, RORC, RPSA, RTE1, SAMD9, SAMD9L, SAMHD1, SAR1B, SCO2, SEC61A1, SEMA3E, SERPING1, SGPL1, SH2D1A, SH3BP2, SH3KBP1, SI, SIAE, SKIV2L, SLC10A2, SLC26A3, SLC29A3, SLC35C1, SLC37A4, SLC39A7, SLC46A1, SLC51B, SLC5A1, SLC7A7, SLC9A3, SLX4, SMARCAL1, SMARCD2, SNX10, SP110, SPINK5, SPINT2, SPPL2A, SRP54, SRP72, STAT1, STAT2, STAT3, STAT4, STAT5B, STIM1, STK4, STN1, STX11, STX3, STXB2, TAOK2, TAP1, TAP2, TAPBP, TAZ, TBX1, TCF3, TCIRG1, TCN2, TERC, TERT, TFRC, TGFB1, TGFB1, TGFB2, THBD, TICAM1, TIMM50, TINF2, TLR3, TLR7, TMC6, TMC8, TMEM173, TMPRSS15, TNFAIP3, TNFRSF11A, TNFRSF13B, TNFRSF13C, TNFRSF1A, TNFRSF4, TNFRSF6B, TNFRSF9, TNFSF11, TNFSF12, TONSL, TOP2B, TP63, TPP2, TRAF3, TRAF3IP2, TREX1, TRNT1, TTC37, TTC7A, TYK2, UNC13D, UNC45A, UNC93B1, UNG, USB1, VAV1, VPS13B, VPS45, WAS, WDR1, WIPF1, WNT2B, WRAP53, XIAP, ZAP70, ZBTB24, ZCCHC8, ZNF341

ANEXO II – DECLARAÇÃO COMPROMISSO INVITAE

Letter of Commitment of INVITAE Laboratory to Brazilian CONEP (National Research Ethics Commission)

The INVITAE laboratory will be responsible for receiving, extracting the DNA and sequencing the saliva samples from the participants of the research entitled "Clinical-molecular characterization of inflammatory bowel disease in children and adolescents", through a partnership signed with between the researchers and the Jeffrey Institution Modell Foundation (JMF), a non-profit funding agency for research on Primary Immunodeficiencies.

The samples collection is under the responsibility of the main researchers Gesmar Rodrigues Segundo and Tatyana Borges da Cunha Kock, who must collect the samples in kits already standardized provided by the laboratory (Oragene DNA OG575, 2 units per patient). Saliva samples must be properly identified with the patient's name and surname and date of birth and alphanumeric code to allow easy location of the genetic test result. Samples must be stored at room temperature until dispatch. Its transport will be carried out in partnership with DHL, following all the legislation regarding the transport of biological material. The INVITAE laboratory assumes to receive the saliva samples and process the DNA to carry out a genetic panel of primary immunodeficiencies that includes 406 genes using NEXT GENERATION SEQUENCING (NGS) technology and to use all material exclusively for this genetic test. If there is leftover material, disposal will be carried out, so that this biological material will not be used for other purposes or for other future research. The laboratory INVITAE accepts to respect Brazilian legislation, so that this biological material will not be patented or used for commercial purposes.

Finally, the results of these genetic tests will be stored on a specific platform and will be shared only with the responsible researchers accessing this platform. Their individuality and data confidentiality being protected through alphanumeric coding. If the patient wants to have access to these data, he must request the researcher at any time.

Sincerely



Licia Britto
Sales Lead Latin America, Invitae Corporation

ANEXO III – PARECER APROVAÇÃO CONEP

COMISSÃO NACIONAL DE
ÉTICA EM PESQUISA



PARECER CONSUBSTANCIADO DA CONEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: CARACTERIZAÇÃO CLÍNICO-MOLECULAR DAS DOENÇAS INFLAMATÓRIAS INTESTINAIS DE INÍCIO PRECOCE NA INFÂNCIA E ADOLESCÊNCIA

Pesquisador: Gesmar Rodrigues Silva Segundo

Área Temática: Genética Humana:

(Haverá envio para o exterior de material genético ou qualquer material biológico humano para obtenção de material genético, salvo nos casos em que houver cooperação com o Governo Brasileiro;);

Versão: 5

CAAE: 45623019.9.1001.5152

Instituição Proponente: Universidade Federal de Uberlândia/ UFU/ MG

Patrocinador Principal: Jeffrey Modell Foundation

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 5.317.394

Apresentação do Projeto:

As informações elencadas nos campos "Apresentação do Projeto", "Objetivo da Pesquisa" e "Avaliação dos Riscos e Benefícios" foram retiradas do arquivo Informações Básicas da Pesquisa (PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1429438.pdf, de 08/03/2022).

INTRODUÇÃO

A Doença Inflamatória Intestinal (DII) é uma doença complexa, de etiologia multifatorial, caracterizada por inflamação crônica do intestino. Representa um grupo heterogêneo com uma grande variedade de manifestações fenotípicas¹. A DII clássica inclui três grupos principais: Doença de Crohn (DC), Retocolite Ulcerativa (RCU) e Colite Indeterminada (CI). Entretanto, existe uma infinidade de apresentações clínicas entre estes. O pico de incidência está entre 20-30 anos na DC e 30-40 anos na RCU.² Na sua forma clássica, os sintomas incluem dor abdominal, diarreia, sangue nas fezes, febre, vômitos, anemia e perda de peso. Ainda não se pode falar em cura, mas o uso de corticosteróides ou imunossuppressores pode reduzir a inflamação, o manejo dietético pode reduzir os gatilhos relacionados ao ambiente e, em casos mais severos, a cirurgia pode ser necessária para remover partes mais comprometidas do intestino.^{2,3} Em cerca de 20 a 25% dos pacientes com DII tem seu diagnóstico inicial antes dos 18 anos de idade.^{4,5} Para este grupo, pela

Endereço: SRTVN 701, Via W 5 Norte, lote D - Edifício PO 700, 3º andar

Bairro: Asa Norte

CEP: 70.719-040

UF: DF

Município: BRASÍLIA

Telefone: (61)3315-5877

E-mail: conep@saude.gov.br

COMISSÃO NACIONAL DE ÉTICA EM PESQUISA



Continuação do Parecer: 5.317.394

Classificação de Montreal foi dada a denominação de DII Pediátrica. Posteriormente, a Classificação de Paris inclui um subgrupo representado pelos menores de 10 anos (DII de início precoce) que pode corresponder a cerca de 4 a 10% dos casos pediátricos. Entre os menores de 10 anos, incluem as formas neonatal (até 28 dias), infantil (< 2 anos) e a de início muito precoce (< 6 anos). A abreviação VEOIBD para a DII de início muito precoce vem do termo em inglês very early onset inflammatory bowel disease. Em menos de 1% foram diagnosticados com < 2 anos de vida (Forma infantil).⁵ Esta classificação faz sentido quando se observa que a DII presente em crianças menores se comporta de forma diferente dos adolescentes e adultos.⁵ A DII pediátrica apresenta pouco envolvimento íleal, com predomínio colônico, muitas vezes se manifestando como uma pancolite. Além disso, apresenta baixa resposta ao tratamento convencional, aumentando a chance de necessidade de terapias biológicas e intervenções cirúrgicas. No grupo de início muito precoce (VEOIBD) chama atenção a presença de DII na sua forma monogênica, sobretudo, nos menores de 2 anos de idade. Por outro lado, em crianças em torno dos 7 anos aumenta a frequência de pacientes com DII convencional, poligênica, frequentemente DC. Aproximadamente 1/5 das crianças com DII antes dos 6 anos e 1/3 dos menores de 3 anos são diagnosticados com CI refletindo a ausência de um fenótipo refinado para caracterizar estes pacientes com VEOIBD.⁵ Neste grupo de início precoce (EOIBD) e muito precoce (VEOIBD), o envolvimento monogênico tem sido relatado em cerca de 1% dos pacientes com menos de 6 anos de idade. Nos grandes centros, esta prevalência pode chegar a 31%. A doença monogênica parece ter comportamento diferente, com curso clínico mais severo, comprometimento mais extenso e pior resposta ao tratamento convencional. ^{2,5,6,7,8} Estes pacientes podem necessitar do uso combinado de imunossuppressores e agentes biológicos e mesmo cirurgia precocemente.^{6,8,9} Em 2 anos de evolução, 39% tem aumento da extensão da doença e progressão para doença estenosante pode ser vista em 24% das crianças em menos de 4 anos.^{2,8} Na RCU, o envolvimento de todo o cólon está presente em 82% dos casos. O déficit ponderoestatural é observado com frequência.⁸ A etiologia da DII está relacionada a fatores genéticos e ambientais, tanto quanto, ao microbioma intestinal.⁷ O sistema imune do intestino tem um papel fundamental na formação de uma resposta adequada para patógenos prejudiciais, assim como está diretamente relacionado a indução de tolerância a partículas alimentares e a flora comensal. Desta forma, podemos definir a DII como uma desordem complexa associada a uma resposta anormal do sistema imune a fatores ambientais em indivíduos geneticamente predispostos.¹⁰ Indivíduos com desordens monogênicas podem desenvolver problemas como imunodeficiência com impactos nas opções de tratamento e talvez com necessidade de menos tratamentos mais agressivos e mais linhas terapêuticas

Endereço: SRTVN 701, Via W 5 Norte, lote D - Edifício PO 700, 3º andar

Bairro: Asa Norte

CEP: 70.719-040

UF: DF

Município: BRASÍLIA

Telefone: (61)3315-5877

E-mail: conep@saude.gov.br

COMISSÃO NACIONAL DE ÉTICA EM PESQUISA



Continuação do Parecer: 5.317.394

direcionadas ao defeito subjacente¹¹. Além disso, sabemos que a DII de início muito precoce (VEOIBD) tem associação com imunodeficiências primárias, na sua forma monogênica.^{9,12} Atualmente, é difícil identificar crianças com erros inatos do metabolismo que se apresentam com DII daquelas crianças que têm uma herança mais típica poligênica com um início mais precoce da doença.¹⁰ As manifestações gastrointestinais nas Imunodeficiências Primárias incluem doença inflamatória, complicações infecciosas, diarreia crônica e doenças estruturais/oncológicas.¹² A prevalência do envolvimento do trato gastrointestinal em pacientes com imunodeficiências primárias pode chegar a > 50%, sendo a DII-like a principal apresentação.¹³ Esta pode estar presente desde o período neonatal até adolescentes e pode ser clinicamente indistinguível da DII-clássica. Já se sabe que pacientes com imunodeficiência primária como Imunodeficiência Variável Comum, Síndrome de Wiskott -Aldrich e Doença granulomatosa podem se apresentar com VEOIBD.¹¹ Neste grupo, os defeitos genéticos parecem alterar a homeostase do sistema imune intestinal por mecanismos diversos, representados por vários defeitos do sistema imune adaptativo e inato que inclui alteração da ativação das células T e B, defeitos das células fagocíticas, desordens hiper ou auto inflamatórias, defeitos na regulação imune ou na barreira epitelial.^{11,12,13} A desordem não está presente ao nascimento e o fenótipo total desenvolve ao longo do tempo¹². A fração de pacientes com característica monogênica pode variar dependendo da idade de início. Em centros terciários pode corresponder até 31% das crianças com forma infantil da DII.¹³ E embora as desordens mendelianas sejam mais frequentes nas crianças com início muito precoce, não é exclusivo desta faixa etária¹⁴. Diante disto, torna-se importante o uso de novas estratégias para reconhecimento da patologia molecular da DII. Na estratégia clássica, o diagnóstico da DII pediátrica começa com uma história clínica e familiar detalhada, um exame físico completo e exames complementar como exames de imagem e endoscópicos. Atualmente, diante da possibilidade de DII infantil ou VEOIBD deve-se adotar uma estratégia para investigação de desordens do sistema imune.¹⁵ Os critérios para investigação de erros inatos do metabolismo já estão bem estabelecidos e incluem DII de início precoce (menor que 6 anos) e menor que 2 anos (muito precoce), presença de história familiar de VEOIBD, consangüinidade, alterações de imunodeficiência na família ou sinais de alarme para IDP, doenças auto-imunes, anormalidades cutâneas (eczema congênito), manifestações graves iniciais (fistulas perianais) e alterações nas linhagens de linfócitos ou plaquetas e diminuição de imunoglobulinas e refratariedade à terapia padrão da DII.^{15,16} Neste grupo de pacientes se recomenda verificar se há normalidade no número de células no hemograma completo, fenotipagem dos linfócitos, imunoglobulinas A,G,M,E, função dos polimorfonucleares, e muito mais, dependendo de cada apresentação clínica. O

Endereço: SRTVN 701, Via W 5 Norte, lote D - Edifício PO 700, 3º andar

Bairro: Asa Norte

CEP: 70.719-040

UF: DF

Município: BRASÍLIA

Telefone: (61)3315-5877

E-mail: conep@saude.gov.br

COMISSÃO NACIONAL DE ÉTICA EM PESQUISA



Continuação do Parecer: 5.317.394

screening genético e realizado em alguns casos nos quais se suspeita do envolvimento de determinadas variantes genéticas.^{14,15,17} Mas esta estratégia não distingue as formas poligênicas convencionais das formas monogênicas.¹⁷ Uma alternativa utiliza a combinação de marcadores sorológicos, inflamatórios e genéticos e demonstrou a superioridade desta combinação no diagnóstico da DII e diferenciação entre “DII like”, DC e RCU.¹⁸ Novas estratégias incluem screening genético precoce para identificação de variantes gênicas com uma avaliação funcional posterior, sobretudo para os VEOIBD. Os avanços na investigação da doença inflamatória intestinal de início muito precoce (VEO-IBD) reforçam o sequenciamento genético como uma importante arma diagnóstica, sobretudo, em crianças com fenótipos severos da doença.¹⁹ Os estudos relacionados com sequenciamento genético (GWAS) já identificaram mais de 230 loci relacionados com a DII.^{19,20} Nestes estudos foi observado forte envolvimento da região HLA, reforçando a atuação das células T na fisiopatologia da DII. Posteriormente, variantes gênicas associadas a produção de citocinas e a autofagia foram identificadas.^{10,20} O forte componente genético, especialmente na DC, se reflete na grande incidência em grupos familiares, com uma concordância de 35% em gêmeos monozigóticos.²¹ Ainda assim, para a maioria destas regiões gênicas, os genes ou variantes gênicas associadas a doença ainda permanecem desconhecidas. Em meados de 2000, através de uma tecnologia, New Generation Sequencing (NGS), foi possível sequenciar o genoma humano de forma rápida e com baixo custo.^{21,23} Posteriormente, esta tecnologia possibilitou também o sequenciamento de regiões de interesse, permitindo a confecção de painéis genéticos para várias doenças auto-imunes, incluindo a DII.^{21,22,23} Posteriormente, o sequenciamento genético de regiões de proteínas codificadoras (exoma) do genoma humano se tornou o método mais utilizado, especialmente para doenças monogênicas.^{20,21,22} Atualmente, estas tecnologias tem se mostrado razoavelmente acessíveis comparado com o custo elevado das complicações e hospitalizações.^{10,17,20,21} Desta forma, o empenho para identificação de potenciais defeitos imunes, bem como envolvimento monogênico, representa uma parte importante do acompanhamento clínico destas crianças.^{23,24,25}

HIPÓTESE

Em crianças com doença inflamatória de início muito precoce, pode haver a presença de erros inatos do sistema imune que lhes confere uma apresentação atípica.

METODOLOGIA

Será avaliada amostra da população pediátrica, entre 0 a 18 anos, com diagnóstico de DII de início

Endereço: SRTVN 701, Via W 5 Norte, lote D - Edifício PO 700, 3º andar

Bairro: Asa Norte

CEP: 70.719-040

UF: DF

Município: BRASÍLIA

Telefone: (61)3315-5877

E-mail: conep@saude.gov.br

COMISSÃO NACIONAL DE ÉTICA EM PESQUISA



Continuação do Parecer: 5.317.394

precoce, por meios convencionais. O estudo terá a participação de Instituições Federais, Estaduais e Particulares que possuem Serviço de Gastroenterologia Pediátrica que atendam crianças com DII. O centro coordenador será a Universidade Federal de Uberlândia e as Instituições convidadas serão: Universidade de Campinas (UNICAMP), Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF), Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Faculdade de Medicina do ABC, Universidade de Brasília (UnB) e Universidade Federal do Paraná (UFPR). Todas seguirão o mesmo protocolo de pesquisa. A amostra será de conveniência, por se tratar de doença rara, sem estudos populacionais de prevalência e incidência, dispensando cálculo amostral. A escolha do número amostral baseou na somatória da estimativa do número de pacientes com critérios para inclusão no estudo, de cada centro. Os pacientes serão recrutados durante consulta de rotina com gastroenterologista pediátrico, no período de 10/07 a 16/09 de 2021. Durante a consulta o médico fará orientações sobre o estudo e sobre a participação da criança. Uma vez demonstrado o interesse, o termo de consentimento deverá ser assinado pelo responsável legal na presença do médico assistente. Para os pacientes entre 12 e 18 anos, também deverá ser obtido termo de assentimento pelo menor. A coleta dos dados clínicos será realizada por ficha cadastral confeccionada pelo pesquisador e serão coletados a partir do prontuário do paciente pelo médico responsável. Para avaliação da atividade da doença será utilizado o Índice Pediátrico de Atividade da Doença de Crohn e da Retocolite Ulcerativa.¹⁶ A caracterização clínica da DII será feita conforme a Classificação de Paris.¹⁶ Para seleção dos participantes serão recrutadas crianças em acompanhamento na Instituição preponente e instituições convidadas. Uma vez manifestado interesse em participar e após obtenção do termo, serão colhidas amostras de salivas por meio de swab oral, para realização dos testes genéticos, por membro da equipe executora de cada instituição. A coleta será feita com todos os cuidados para prevenção de contaminação pelo novo coronavírus incluindo higienização das mãos, uso de luvas e máscaras. Os swabs com as amostras de salivas serão acondicionados em tubos de plástico com dispositivo de fechamento seguro e a prova de vazamento. Estes tubos serão etiquetados como espécime humano isento de risco contendo o código do paciente em questão. Os tubos serão armazenados em temperatura ambiente e imediatamente enviados a Instituição Preponente por correio. O Centro Coordenador deverá receber as amostras, armazená-las até seu envio para o exterior, em até 5 dias, via sedex. A escolha pela amostra de saliva se deu pela sua estabilidade. O sequenciamento genético será realizado pela empresa que presta serviço para a agência de fomento financiadora da pesquisa. A empresa se chama INVITAE, tem sede em São Francisco-California, não havendo nenhuma relação direta com os pesquisadores. Para extração do DNA e realização do sequenciamento genético

Endereço: SRTVN 701, Via W 5 Norte, lote D - Edifício PO 700, 3º andar

Bairro: Asa Norte

CEP: 70.719-040

UF: DF

Município: BRASÍLIA

Telefone: (61)3315-5877

E-mail: conep@saude.gov.br

COMISSÃO NACIONAL DE
ÉTICA EM PESQUISA



Continuação do Parecer: 5.317.394

cera___2 utilizada plataforma de NGS tipo alvo, via plataforma ILUMINA. O material biológico será transportado seguindo normas da ANVISA e de acordo com padrão ONU/IATA, conforme Declaração de Manuseio do Material Biológico anexada.²⁹ Todo material será utilizado para realização do teste genético, especificamente para esta pesquisa, não havendo retenção de material. Nenhuma amostra será destinada para pesquisas futuras conforme declaração anexada. Exames de triagem imunológica, por fazerem parte da rotina de investigação DII de início precoce, incluindo dosagem sérica de imunoglobulinas (IgM, IgG, IgE e IGA), fenotipagem linfocitária (CD3, CD4, CD8) e viragem anticórpica (rubéola ou tétano vacinal), serão realizados na Instituição de origem e resultados serão compartilhados.

CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

Para inclusão no estudo, os participantes deverão ter de 0 a 18 anos de idade, de ambos os sexos, diagnóstico de DII pelos métodos convencionais e início dos sintomas antes dos 6 anos de idade. O diagnóstico de DII deverá ser feito por critérios clínicos, laboratoriais, endoscópicos e radiológicos. Serão admitidas crianças com diagnóstico de Doença de Crohn, Retocolite Ulcerativa e Colite Indeterminada.

CRITÉRIO DE EXCLUSÃO

Não serão incluídas crianças com diagnóstico de DII com início dos sintomas após os 6 anos de idade e cujo diagnóstico de DII não tenha sido estabelecido por meio de exames laboratoriais e endoscópicos.

Objetivo da Pesquisa:

OBJETIVO PRIMÁRIO

Realizar o estudo genético por Next Generation seqüencie (NGS) de pacientes com diagnóstico de doença inflamatória intestinal de início precoce e estudar a correlação das mesmas com erros inatos do sistema imune.

OBJETIVO SECUNDÁRIO

Realizar o estudo genético por Next Generation sequence (NGS) de pacientes com diagnóstico de doença inflamatória intestinal de início precoce e estudar a correlação das mesmas com erros inatos do sistema imune.

Endereço: SRTVN 701, Via W 5 Norte, lote D - Edifício PO 700, 3º andar

Bairro: Asa Norte

CEP: 70.719-040

UF: DF

Município: BRASILIA

Telefone: (61)3315-5877

E-mail: conep@saude.gov.br

COMISSÃO NACIONAL DE ÉTICA EM PESQUISA



Continuação do Parecer: 5.317.394

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

RISCOS

O risco de identificação do paciente será minimizado definindo códigos numéricos para cada paciente incluído no estudo. Este código será utilizado para identificação dos dados clínicos, amostra biológica e resultado de exames. O risco de acidente biológico na coleta da amostra é mínimo por ser saliva e não necessitar da utilização de meios de punctura e/ou materiais cortantes. De qualquer forma, a coleta deverá ser feita por profissional capacitado e utilizando os materiais de proteção individual e medidas de prevenção da COVID-19 como limpeza das mãos com álcool 70%, uso de máscaras e luvas. A amostra biológica será acondicionada em tubo plástico com dispositivo de fechamento seguro, para minimizar o risco com acidente com material biológico.

BENEFÍCIOS

As instituições participantes receberão o retorno das análises genéticas de seus pacientes, podendo decidir sobre o manejo mais adequado e acompanhamento dos pacientes. Desta forma, os pacientes poderão se beneficiar de uma escolha terapêutica mais adequada e efetiva.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Resumo: Estudo Transversal para avaliação da prevalência de erros inatos do sistema imune em crianças com diagnóstico por meios convencionais de doença inflamatória intestinal cujos sintomas iniciaram antes dos 6 anos de idade (início precoce). A identificação dos erros inatos do sistema imune será feita através da realização de estudo genético por Next Generation Sequence (NGS), que identifica os possíveis genes e variantes gênicas associadas. Em seguida, faremos um estudo descritivo de caracterização do comportamento e evolução clínica da doença nestas crianças. cerca de 2 avaliada amostra da população pediátrica, entre 0 a 18 anos, os pacientes serão recrutados durante consulta de rotina com gastroenterologista pediátrico, no período de 10/07 a 16/09 de 2021. Serão colhidas amostras de salivas por meio de swab oral, para realização dos testes genéticos, por membro da equipe executora de cada instituição o Centro Coordenador deverá receber as amostras, armazená-las até seu envio para o exterior. Caráter acadêmico, Projeto de pesquisa apresentado à Universidade Federal de Uberlândia, como pré requisito para o Título de Bacharel em Doutor em Ciências da Saúde, da Faculdade de Medicina (FAMED).

Patrocinador (es): Jeffrey Modell Foundation

Endereço: SRTVN 701, Via W 5 Norte, lote D - Edifício PO 700, 3º andar

Bairro: Asa Norte

CEP: 70.719-040

UF: DF

Município: BRASÍLIA

Telefone: (61)3315-5877

E-mail: conep@saude.gov.br

COMISSÃO NACIONAL DE
ÉTICA EM PESQUISA



Continuação do Parecer: 5.317.394

Número de participantes incluídos no estudo: 50 participantes.

Participarão os seguintes centros de pesquisa no Brasil:

Nome/Órgão/Unidade: Faculdade de Medicina da UFMG

Nome do Responsável: Maria do Carmo Barros de Melo

CPF do Responsável: 52477924672

Nome/Órgão/Unidade: DISTRITO FEDERAL SECRETARIA DE SAÚDE

CNPJ: 00.394.700/0005-31

Nome do Responsável: Elisa de Carvalho

CPF do Responsável: 24765503100

Nome/Órgão/Unidade: UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA UFJF

CNPJ: 21.195.755/0002-40

Nome do Responsável: Lucélia Paula Cabral Schmidt

CPF do Responsável: 02833812647

Nome/Órgão/Unidade: Hospital de Clínicas – UNICAMP

Nome do Responsável: ELIZETE APARECIDA LOMAZI

CPF do Responsável: 05435895871

Haverá armazenamento de amostras em banco de material biológico na cidade de São Francisco - EUA. O laboratório central, para onde as amostras serão enviadas

Previsão de início do estudo: 12/07/2021

Previsão de encerramento do estudo: 14/08/2023.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Vide campo "Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações".

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Análise das respostas ao Parecer Consubstanciado nº 5.188.541, emitido pela CONEP em 28/12/2021:

1. Quanto à folha de rosto referente ao arquivo "folharostoatualizada.pdf", postado na Plataforma Brasil em 16/06/2021: Os campos "PATROCINADOR PRINCIPAL" da folha de rosto não estão

Endereço: SRTVN 701, Via W 5 Norte, lote D - Edifício PO 700, 3º andar

Bairro: Asa Norte

CEP: 70.719-040

UF: DF

Município: BRASÍLIA

Telefone: (61)3315-5877

E-mail: conep@saude.gov.br

COMISSÃO NACIONAL DE ÉTICA EM PESQUISA



Continuação do Parecer: 5.317.394

preenchidos. Salienta-se que esse documento deve ter os campos preenchidos, datados e assinados, com identificação dos signatários. As informações prestadas devem ser compatíveis com as do protocolo. Quando o patrocinador for agência de fomento não precisa de assinatura. (Norma Operacional CNS nº 001 de 2013, item 3.3.a). Solicita-se o envio do documento devidamente preenchido.

RESPOSTA: Segundo as orientações contidas no Cartilha de orientação para submissão de projetos disponível no link Microsoft Word - Cartilha 2016_versao_4 (ufu.br), item 3, letra g) acerca do campo "Financiamento" refere-se como "Institucional Secundário", quando o apoio financeiro não configura um contrato de patrocínio. Além disso, coloca que agências de fomento à pesquisa não são tidas como patrocinadoras de pesquisa. A Instituição em questão a Jeffrey Modell Foundation é uma fundação de fomento à pesquisa, logo não há necessidade de assinatura como foi destacado acima, por esta razão não consta assinatura neste campo.

ANÁLISE: PENDÊNCIA ATENDIDA.

2. Quanto ao PROJETO DETALHADO - referente ao arquivo "PROJETOCEPNOVO.doc", gerado na Plataforma Brasil em 30/05/2021:

2.1. Solicita-se que a metodologia do protocolo seja apresentada de forma clara, detalhada e ordenada, em especial os métodos que afetam os participantes da pesquisa. Cumpre ressaltar que, conforme previsto na Resolução CNS nº 466 de 2012, item III.2.e, a pesquisa envolvendo seres humanos deverá utilizar métodos adequados para responder às questões estudadas, especificando-os, seja em pesquisas quantitativas, qualitativas ou quali-quantitativas.

RESPOSTA: O item 8.9 referente a Metodologia de Análise dos Dados no Projeto detalhado foi reescrito de forma a detalhar a análise dos dados e os respectivos instrumentos a serem utilizados. Também foi corrigido na plataforma.

ANÁLISE: PENDÊNCIA ATENDIDA.

2.2. Solicita-se apresentar critérios de inclusão e exclusão do estudo, bem como um plano de recrutamento dos participantes, conforme previsto pela Norma Operacional CNS nº 001 de 2013, itens 3.4.8 e 3.4.11.

RESPOSTA: Os critérios de inclusão e exclusão já estavam detalhados no Projeto Detalhado e na Plataforma, apenas foi reescrito em forma de itens numerados para ficar mais claro.

ANÁLISE: PENDÊNCIA ATENDIDA.

Endereço: SRTVN 701, Via W 5 Norte, lote D - Edifício PO 700, 3º andar

Bairro: Asa Norte

CEP: 70.719-040

UF: DF

Município: BRASÍLIA

Telefone: (61)3315-5877

E-mail: conep@saude.gov.br

COMISSÃO NACIONAL DE ÉTICA EM PESQUISA



Continuação do Parecer: 5.317.394

2.3. É necessário que constem no Projeto Detalhado os métodos que afetem diretamente ou indiretamente os participantes da pesquisa e que possam, de fato, ser significativos para a análise ética. Diante do exposto, solicitam-se esclarecimentos sobre como poderá ser realizada a cooperação técnico-científica com laboratórios de pesquisa internacionais, como por exemplo, que partes do estudo possivelmente poderão ser realizadas mediante cooperação internacional, quais as amostras estarão envolvidas nesse processo, se haverá previsão de envio de material para o exterior, e se haverá acordo financeiro (patrocínio/financiamento) por parte dos laboratórios de pesquisa internacionais, entre outros (Norma Operacional CNS nº 001 de 2013, item 3.4.1.8).

RESPOSTA: o item 8.4 foi reescrito para contemplar estas observações, sobretudo nos itens 8.4.4 e 8.4.5. Lá está devidamente explicado que a empresa que fará a análise genética é uma empresa parceira da Fundação de Fomento à pesquisa Jeffrey Modell Foundation a qual foi submetido este projeto de pesquisa e aceito, sendo contemplado com uma bolsa com valor específico para ser utilizado pelos pesquisadores para realização dos testes genéticos. A escolha pela empresa INVITAE foi direcionada pela Fundação JMF pela parceria estabelecida com esta, sem que exista ligação direta desta empresa com os pesquisadores. A cooperação aqui é entre a Fundação JMF e os pesquisadores para operacionalização da pesquisa em questão, através dos recursos financeiros destinados através da bolsa no valor estabelecido em carta anexada neste projeto. Os testes genéticos serão custeados por esta bolsa. Cabe a empresa INVITAE apenas receber as amostras de saliva, fazer as análises genéticas e disponibilizá-las na PLATAFORMA ILUMINA, plataforma utilizada para lançar os resultados das análises genéticas. O acesso a estes resultados será feito apenas pelos pesquisadores responsáveis que terão login e senha disponibilizados. ANÁLISE: PENDÊNCIA ATENDIDA.

2.4. Solicita-se adequação do protocolo de pesquisa conforme disposto na Resolução CNS nº 441 de 2011 e na Portaria MS nº 2201 de 2011 e Norma Operacional 01 de 2013.

RESPOSTA: Como as amostras de saliva coletadas serão enviadas assim que forem recebidas pelo Centro Coordenador, para realização dos testes genéticos, não haverá armazenamento de amostras em banco de amostras. Logo, entendemos que não serão formados biobancos e nem biorepositórios, por isso não foram encaminhados documentos pertinentes. Encaminhamos apenas a declaração de que as amostras serão destinadas exclusivamente para esta pesquisa cujo arquivo está identificado como DECLARACAODENAORETENÇAOAMOSTRAS conforme nos foi solicitado pelo CEP.

Endereço: SRTVN 701, Via W 5 Norte, lote D - Edifício PO 700, 3º andar

Bairro: Asa Norte

CEP: 70.719-040

UF: DF

Município: BRASÍLIA

Telefone: (61)3315-5877

E-mail: conep@saude.gov.br

COMISSÃO NACIONAL DE ÉTICA EM PESQUISA



Continuação do Parecer: 5.317.394

ANÁLISE: PENDÊNCIA NÃO ATENDIDA. Conforme a Resolução CNS nº 441 de 2011, Artigo 1º, item 1.II, a descrição de Biorrepositório é: "coleção de material biológico humano, coletado e armazenado ao longo da execução de um projeto de pesquisa específico, conforme regulamento ou normas técnicas, éticas e operacionais pré-definidas, sob responsabilidade institucional e sob gerenciamento do pesquisador, sem fins comerciais". Apesar do tempo de armazenamento ser o mínimo possível, o Sistema CEP/Conep considera que haverá formação de biorrepositório no exterior, mesmo que temporário. Portanto, solicita-se encaminhar os seguintes documentos ou informações: - Regulamento aprovado pela instituição depositária destinado à constituição e ao funcionamento do banco de material biológico humano. - Condições associadas ao armazenamento de material biológico humano. - Informações sobre o responsável pelo gerenciamento e armazenamento do material biológico no exterior. - Acordo firmado entre as instituições participantes, contemplando formas de operacionalização, compartilhamento e utilização do material biológico humano armazenado em Biobanco ou Biorrepositório, inclusive a possibilidade de dissolução futura da parceria e a consequente partilha e destinação dos dados e materiais armazenados. - Declaração da instituição destinatária no exterior com o compromisso de respeitar a legislação brasileira, em especial a vedação do patenteamento e da utilização comercial de material biológico humano.

RESPOSTA: Segue em anexo carta de compromisso do Laboratório Invitae que será responsável pelo processamento das amostras constando dos itens acima solicitados.

ANÁLISE: PENDÊNCIA ATENDIDA.

2.5. Solicita-se descrever no Projeto detalhado quais FAMÍLIAS de genes/segmentos de DNA e/ou RNA serão analisadas nas amostras biológicas coletadas para o estudo. O pesquisador poderá descrever os genes estudados de forma agrupada segundo a funcionalidade ou o efeito (exemplo: genes relacionados ao aparecimento do câncer, inflamação, morte celular, resposta ao tratamento etc.) não sendo necessário listá-los individualmente, respeitando-se a capacidade de compreensão do participante de pesquisa (Carta Circular nº 041/2015/CONEP/CNS/MS, itens 2.a e 2.b).

RESPOSTA: Consta no item 8.4.5 sobre as análises genéticas. Será avaliado um painel genético com 407 genes relacionados a erros inatos do sistema imune descritos na tabela 1.

ANÁLISE: PENDÊNCIA ATENDIDA.

2.6. Solicita-se apresentar os critérios de inclusão e exclusão do estudo de forma clara e detalhada, bem como um plano de recrutamento dos participantes, conforme previsto pela Norma

Endereço: SRTVN 701, Via W 5 Norte, lote D - Edifício PO 700, 3º andar

Bairro: Asa Norte

CEP: 70.719-040

UF: DF

Município: BRASÍLIA

Telefone: (61)3315-5877

E-mail: conep@saude.gov.br

COMISSÃO NACIONAL DE
ÉTICA EM PESQUISA



Continuação do Parecer: 5.317.394

Operacional CNS nº 001 de 2013, itens 3.4.8 e 3.4.11.

RESPOSTA: Os critérios de inclusão e exclusão já estavam detalhados na Projeto Detalhado e na Plataforma, apenas foi reescrito em forma de itens numerados para ficar mais claro. O plano de recrutamento está descrito na metodologia.

ANÁLISE: PENDÊNCIA ATENDIDA.

3. Quanto aos termos de consentimentos livre e esclarecidos – referente aos arquivos "TCLEmaiores18anos.docx" e "TCLEparamenor18anos.doc", postados na Plataforma Brasil em 16/06/2021:

3.1. Solicita-se que conste no TCLE que todas as páginas deverão ser rubricadas pelo pesquisador responsável/pessoa por ele delegada e pelo participante/responsável legal (Resolução CNS nº 466 de 2012, item IV.5.d).

RESPOSTA: Acrescentado ao TCLE de forma destacada em vermelho para melhor visualização pelo relator.

ANÁLISE: PENDÊNCIA ATENDIDA.

3.2. Solicita-se que conste neste documento informação de que o TCLE é elaborado em DUAS VIAS, que deverão ser assinadas ao final pelo convidado a participar da pesquisa, ou por seu representante legal, assim como pelo pesquisador responsável, ou pela (s) pessoa (s) por ele delegada (s). Salienta-se que os campos de assinatura de ambos deverão estar na mesma página (folha) (Resolução CNS nº 466 de 2012, item IV.5.d).

RESPOSTA: Acrescentado ao TCLE de forma destacada em vermelho para melhor visualização pelo relator.

ANÁLISE: PENDÊNCIA ATENDIDA.

3.3. Na página 02/02, lê-se no campo de assinaturas: "Assinatura do(s) pesquisador(es)". Solicita-se incluir ao final do TCLE o campo de assinatura DO PESQUISADOR RESPONSÁVEL/ pessoa por ele delegada (Resolução CNS nº 466 de 2012, item IV.5.d).

RESPOSTA: Foi incluído o campo para assinatura do pesquisador responsável que receberá assinatura do médico responsável pelo paciente delegado pelo pesquisador na respectiva Instituição.

ANÁLISE: PENDÊNCIA ATENDIDA.

Endereço: SRTVN 701, Via W 5 Norte, lote D - Edifício PO 700, 3º andar

Bairro: Asa Norte

CEP: 70.719-040

UF: DF

Município: BRASÍLIA

Telefone: (61)3315-5877

E-mail: conep@saude.gov.br

COMISSÃO NACIONAL DE
ÉTICA EM PESQUISA



Continuação do Parecer: 5.317.394

3.4. Solicita-se que sejam explicitados no TCLE, de forma clara e acessível ao participante de pesquisa, a justificativa e os objetivos do estudo, para que, ao decidir tomar parte da pesquisa, ele esteja ciente das possíveis consequências desta decisão e de sua relevância no estudo (Resolução CNS nº 466 de 2012, item IV.3.a).

RESPOSTA: Foi reescrito o segundo parágrafo ao TCLE de forma destacada em vermelho para melhor visualização pelo relator.

ANÁLISE: PENDÊNCIA ATENDIDA.

3.5. É necessário descrever no TCLE todos os procedimentos envolvidos na pesquisa, incluindo quais análises serão realizadas e suas respectivas finalidades, em linguagem clara e acessível à compreensão leiga. Sendo assim, solicita-se descrever quais biomarcadores serão pesquisados nas amostras biológicas coletadas dos participantes, bem como o objetivo de cada análise (Resolução CNS nº 466 de 2012, item IV.3.a).

RESPOSTA: Acrescentado ao TCLE de forma destacada em vermelho para melhor visualização pelo relator.

ANÁLISE: PENDÊNCIA ATENDIDA.

3.6. Solicita-se que seja informado no TCLE o volume total de sangue a ser retirado do participante de pesquisa. Para melhor informar o participante de pesquisa, além de informar a quantidade total de sangue que será coletado, solicita-se que o volume total seja acompanhado de outra unidade de medida que possa facilitar o entendimento, tais como "colher de chá", entre outras (Resolução CNS nº 466 de 2012, item II.23).

RESPOSTA: Não será coletado sangue do paciente, apenas saliva. Os exames de sangue ao que o estudo se refere representa exames que já são feitos de rotina e serão enviados apenas os resultados. Foi reescrito no TCLE esta parte para ficar claro que não será coletado amostra de sangue e enviada para esta equipe de pesquisa.

ANÁLISE: PENDÊNCIA ATENDIDA.

3.7. O campo "risco" na Plataforma Brasil é destinado a informar qualquer possibilidade de danos à dimensão física, psíquica, moral, intelectual, social, cultural ou espiritual do ser humano, em qualquer pesquisa e dela decorrente, isto é, qualquer dano direto/indireto, bem como tardio/imediato, AO PARTICIPANTE DE PESQUISA e não à execução do estudo. Diante do exposto,

Endereço: SRTVN 701, Via W 5 Norte, lote D - Edifício PO 700, 3º andar

Bairro: Asa Norte

CEP: 70.719-040

UF: DF

Município: BRASÍLIA

Telefone: (61)3315-5877

E-mail: conep@saude.gov.br

COMISSÃO NACIONAL DE
ÉTICA EM PESQUISA



Continuação do Parecer: 5.317.394

solicita-se adequar a informação referente ao risco ao participante do estudo, no campo "Risco", na Aba 4 - Detalhamento do Estudo, na Plataforma Brasil (Resolução CNS nº 466 de 2012, item II.22).

RESPOSTA: Foi reescrito na Plataforma Brasil e no TCLE de forma mais clara no parágrafo 6.

ANÁLISE: PENDÊNCIA ATENDIDA.

3.8. Solicita-se descrever no TCLE, em linguagem clara e acessível, os potenciais benefícios relacionados à participação no estudo (Resolução CNS nº 466 de 2012, itens III.1.b e IV.3.b).

RESPOSTA: Foi reescrito no TCLE de forma mais clara no parágrafo 7.

ANÁLISE: PENDÊNCIA ATENDIDA.

3.9. Solicita-se informar ao participante de pesquisa sobre as providências e cautelas que serão empregadas para evitar e/ou reduzir danos ou riscos, garantindo que danos previsíveis sejam evitados (Resolução CNS nº 466 de 2012, itens IV.3.b e IV.3.c).

RESPOSTA: será informado.

ANÁLISE: PENDÊNCIA NÃO ATENDIDA. Solicita-se informar quais as medidas a serem tomadas para prevenir os riscos relacionados a potencial perda da confidencialidade, uso indevido das amostras e potencial estigmatização dos participantes de pesquisa.

RESPOSTA: Os termos de consentimentos foram reescritos de forma a ficar mais evidente os possíveis riscos, destacando-os na forma de itens, sendo incluído as questões aqui solicitadas.

ANÁLISE: PENDÊNCIA ATENDIDA.

3.10. Solicita-se que seja inserida na Plataforma Brasil declaração em que o patrocinador do estudo se responsabilize em manter no estudo os participantes nos quais forem observadas pioras na condição de saúde. Solicita-se, ademais, a garantia de assistência imediata e gratuita, bem como o acompanhamento que for necessário para estes participantes de pesquisa. (Resolução CNS nº 466 de 2012, itens II.3.1 e II.3.2).

RESPOSTA: Primeiro não há patrocinador do estudo ligado a um serviço de saúde específico ou laboratório específico que esteja fazendo o recrutamento de pacientes (como reforçado anteriormente a Jeffrey Mondell Foundation é uma Fundação de Fomento à pesquisa, sem fins lucrativos, e não uma patrocinadora). Os pacientes estão sendo recrutados por médicos que já acompanham o paciente e que são convidados pelos pesquisadores, atuando como coparticipadores do estudo. E se trata de pacientes que já são devidamente acompanhados em

Endereço: SRTVN 701, Via W 5 Norte, lote D - Edifício PO 700, 3º andar

Bairro: Asa Norte

CEP: 70.719-040

UF: DF

Município: BRASÍLIA

Telefone: (61)3315-5877

E-mail: conep@saude.gov.br

COMISSÃO NACIONAL DE
ÉTICA EM PESQUISA



Continuação do Parecer: 5.317.394

seus serviços, não estando desprovidos de acompanhamento médico ou de tratamento para sua doença. É preciso reforçar que no projeto consta que os centros escolhidos para participação no estudo são centros que tem expertise em tratar estes pacientes.

ANÁLISE: PENDÊNCIA ATENDIDA.

3.11. Solicita-se que seja exposto de modo claro e afirmativo no TCLE que, caso necessário, será garantido o direito à assistência integral e gratuita ao participante, devido a danos decorrentes da participação na pesquisa e pelo tempo que for necessário (Resolução CNS nº 466 de 2012, itens II.3.1 e II.3.2).

RESPOSTA: Já incluído este item em vermelho após descritos os riscos. Observação: O modelo de TCLE utilizado foi exatamente o que consta no site do CEP da UFU, sendo feita todas as alterações sugeridas pelo CEP e, inclusive, sendo aprovado pelo próprio CEP. Sugiro que as instituições CEP e CONEP padronizem o mesmo modelo no qual seja contemplado todas as especificações para evitar o retrabalho.

ANÁLISE: PENDÊNCIA ATENDIDA.

3.12. Solicita-se garantir no TCLE que haverá acompanhamento e encaminhamento clínico para os participantes da pesquisa nos quais forem evidenciados quaisquer problemas de saúde não identificados previamente (Resolução CNS nº 466 de 2012, item IV.3.c).

RESPOSTA: Já incluído no TCLE.

ANÁLISE: PENDÊNCIA ATENDIDA.

3.13. Não consta a garantia de prestação de assistência imediata, sem ônus de qualquer espécie ao participante da pesquisa, em situações em que este dela necessite. Ressalta-se que é de responsabilidade do pesquisador, do patrocinador do estudo e das instituições participantes, a prestação de assistência imediata e acompanhamento do participante da pesquisa, conforme item II.3.1 da Resolução CNS nº 466 de 2012. Solicita-se adequação.

RESPOSTA: Já incluído conforme exposto acima na questão 3.12.

ANÁLISE: PENDÊNCIA ATENDIDA.

3.14. Segundo a Resolução CNS nº 466 de 2012, item III.2.i, a pesquisa deve prever procedimentos que assegurem a confidencialidade e a privacidade, a proteção da imagem e a não estigmatização dos participantes da pesquisa, garantindo a não utilização das informações em prejuízo das

Endereço: SRTVN 701, Via W 5 Norte, lote D - Edifício PO 700, 3º andar

Bairro: Asa Norte

CEP: 70.719-040

UF: DF

Município: BRASÍLIA

Telefone: (61)3315-5877

E-mail: conep@saude.gov.br

COMISSÃO NACIONAL DE
ÉTICA EM PESQUISA



Continuação do Parecer: 5.317.394

pessoas e/ou das comunidades, inclusive em termos de autoestima, de prestígio e/ou de aspectos econômico-financeiro. Solicita-se adequação.

RESPOSTA: Já foi esclarecido na descrição dos riscos conforme item 3.7.

ANÁLISE: PENDÊNCIA ATENDIDA.

3.15. O TCLE deve assegurar de forma clara e afirmativa o ressarcimento de todos os gastos que o participante e seu(s) acompanhante(s) terão em decorrência da pesquisa. Ressalta-se que a forma como o patrocinador realizará o repasse dos gastos para o pesquisador não é responsabilidade do participante. Desta forma, não é pertinente que o participante deva esperar para ter valores ressarcidos no estudo, uma vez que o ressarcimento deve ser oferecido sempre que necessário a ele. Sendo assim, solicita-se que o trecho acima citado seja retirado do TCLE (Resolução CNS nº 466 de 2012, item II.21).

RESPOSTA: Retirado.

ANÁLISE: PENDÊNCIA ATENDIDA.

3.16. Solicita-se inserir no TCLE a explicitação acerca do direito de buscar indenização diante de eventuais danos decorrentes da pesquisa (Resolução CNS nº 466 de 2012, item IV.3.h).

RESPOSTA: Já consta no TCLE no parágrafo 6.

ANÁLISE: PENDÊNCIA ATENDIDA.

3.17. Solicita-se que seja exposto de forma clara e objetiva no TCLE que o pesquisador e o patrocinador não irão onerar os planos de saúde, o SUS, ou o próprio participante da pesquisa, responsabilizando-se por todos os gastos relativos aos cuidados de rotina (exames e procedimentos) necessários após assinatura do consentimento livre esclarecido (Resolução nº 466 de 2012, item III.2.o).

RESPOSTA: Incluído no parágrafo 9 do TCLE.

ANÁLISE: PENDÊNCIA ATENDIDA.

3.18. Solicita-se que conste de maneira clara e afirmativa no TCLE que o pesquisador responsável dará acesso aos resultados de exames e de tratamento ao médico do participante ou ao próprio participante sempre que solicitado e/ou indicado (Resolução CNS nº 251 de 1997, item III.2.i).

RESPOSTA: Está escrito no parágrafo 5 do TCLE.

ANÁLISE: PENDÊNCIA ATENDIDA.

Endereço: SRTVN 701, Via W 5 Norte, lote D - Edifício PO 700, 3º andar

Bairro: Asa Norte

CEP: 70.719-040

UF: DF

Município: BRASÍLIA

Telefone: (61)3315-5877

E-mail: conep@saude.gov.br

COMISSÃO NACIONAL DE
ÉTICA EM PESQUISA

Continuação do Parecer: 5.317.394

3.19. É um direito do participante de pesquisa ter acesso gratuito às informações obtidas a partir do seu material biológico humano utilizado no estudo, devendo essa garantia constar, obrigatoriamente, no TCLE. Sendo assim, solicita-se que conste de maneira clara e afirmativa no TCLE que o pesquisador responsável dará acesso a TODOS os resultados de exames ao médico do participante ou ao próprio participante sempre que solicitado e/ou indicado (Resolução CNS nº 251 de 1997, item III.2.i; Portaria MS nº 2.201 de 2011, Capítulo III, Artigo 8º, Itens I e II).

RESPOSTA: Consta no TCLE conforme já afirmado no item 3.18.

ANÁLISE: PENDÊNCIA ATENDIDA.

3.20. Solicita-se apresentar o plano de divulgação dos resultados da pesquisa de forma a contemplar não apenas os meios científicos, mas, em especial, políticas públicas que possam ter impactos positivos na saúde dessas comunidades (Resolução CNS nº 466 de 2012, itens III.2.I, III.2.m e III.2.n)

RESPOSTA: Acrescentado ao final do parágrafo 5.

ANÁLISE: PENDÊNCIA ATENDIDA.

3.21. O item 3 da Carta Circular CNS nº 039 de 2011 ressalta que os dados do prontuário são de propriedade única e exclusiva do participante de pesquisa, que forneceu tais informações em uma relação de confidencialidade entre médico e paciente, para realização do seu tratamento e cuidado médicos. Assim, se houver intenção de consultar o prontuário, essa informação deverá estar claramente expressa no TCLE. Isto visa garantir que o indivíduo receba as informações necessárias para a tomada de decisão autônoma acerca de sua participação ou não na pesquisa. Diante do exposto, solicita-se descrever no TCLE que é necessária a anuência do participante da pesquisa para o acesso e uso dos seus dados registrados no prontuário.

RESPOSTA: Acrescentado ao final do parágrafo 4.

ANÁLISE: PENDÊNCIA ATENDIDA.

3.22. Uma vez que haverá coleta e envio de material biológico para o exterior, ESSA ETAPA do estudo prevê a formação de um biorrepositório, independente de sua destruição logo após a análise do material. Sendo assim, solicita-se incluir no TCLE o pedido de consentimento para a coleta, o depósito, o armazenamento e a utilização do material biológico humano no exterior (Resolução CNS nº 441 de 2011, itens 1.II e 2.II). Adicionalmente, solicita-se adequação à

Endereço: SRTVN 701, Via W 5 Norte, lote D - Edifício PO 700, 3º andar

Bairro: Asa Norte

CEP: 70.719-040

UF: DF

Município: BRASÍLIA

Telefone: (61)3315-5877

E-mail: conep@saude.gov.br

COMISSÃO NACIONAL DE
ÉTICA EM PESQUISA



Continuação do Parecer: 5.317.394

Resolução CNS nº 441 de 2011 e à Portaria MS nº 2201 de 2011 em todos os documentos que possuem informações sobre o armazenamento e uso de material biológico no projeto.

RESPOSTA: Conforme já questionado no item 2.4, há dúvidas se estamos falando do biorrepositório, uma vez que as amostras assim que recebidas já serão enviadas para análise no exterior, não permanecendo armazenadas. De qualquer forma, acrescentei no TCLE uma frase que deixa explicitado isto para o participante, no parágrafo 4.

ANÁLISE: PENDÊNCIA NÃO ATENDIDA. Conforme a Resolução CNS nº 441 de 2011, Artigo 1º, item 1.II, a descrição de Biorrepositório é: "coleção de material biológico humano, coletado e armazenado ao longo da execução de um projeto de pesquisa específico, conforme regulamento ou normas técnicas, éticas e operacionais pré-definidas, sob responsabilidade institucional e sob gerenciamento do pesquisador, sem fins comerciais". Apesar do tempo de armazenamento ser o mínimo possível, o Sistema CEP/Conep considera que haverá formação de biorrepositório no exterior, mesmo que temporário. Portanto, solicita-se incluir as seguintes informações: - Nome da instituição e responsável pelo armazenamento no exterior. - Caso ocorra a necessidade não prevista de transferência de material biológico, será informado ao participante de pesquisa ou responsável, caso possível. - Será informado sobre a perda de suas amostras biológicas ao participante de pesquisa. - A possibilidade do participante de pesquisa ou seu representante legal de retirar o consentimento de guarda e utilização do material biológico armazenado em Biorrepositório, a qualquer tempo e sem quaisquer ônus ou prejuízos, valendo a desistência a partir da data de formalização por escrito desta. - Vedação do patenteamento do material biológico no Brasil e exterior.

RESPOSTA: Os termos de consentimentos foram reescritos de forma a detalhar dados da instituição que fará o processamento das amostras biológicas no exterior incluindo seu endereço, telefone para contato no Brasil e e-mail para contato. Assim como também foi acrescentado sobre a transferência não prevista, extravio ou perda da amostra, retirada do consentimento da guarda e vedação do patenteamento no item 3 dos riscos listados.

ANÁLISE: PENDÊNCIA ATENDIDA.

3.23. Solicita-se que seja informado no TCLE que a retirada do consentimento de guarda dos dados genéticos humanos armazenados em bancos poderá dar-se a qualquer tempo (Resolução CNS nº 340 de 2004, III.7).

RESPOSTA: Os dados genéticos do participante não serão armazenados em nenhum banco de dados para pesquisas futuras como fica clara no TCLE e o acesso a estes dados fica restrito aos

Endereço: SRTVN 701, Via W 5 Norte, lote D - Edifício PO 700, 3º andar

Bairro: Asa Norte

CEP: 70.719-040

UF: DF

Município: BRASÍLIA

Telefone: (61)3315-5877

E-mail: conep@saude.gov.br

COMISSÃO NACIONAL DE
ÉTICA EM PESQUISA



Continuação do Parecer: 5.317.394

membros de pesquisa, o que detalhei melhor no parágrafo 4.

ANÁLISE: PENDÊNCIA NÃO ATENDIDA. Apesar do detalhamento do acesso aos dados, conforme a Resolução CNS nº 340 de 2004, é direito do participante de pesquisa de solicitar a retirada dos seus dados dos bancos de dados, mesmo que o acesso seja restrito somente aos pesquisadores, portanto solicita-se incluir a informação sobre o direito de o participante de pesquisa retirar seus dados (inclusive genéticos) dos bancos de dados.

RESPOSTA: Os termos de consentimentos foram reescritos e este item foi destacado em vermelho nos TCLES.

ANÁLISE: PENDÊNCIA ATENDIDA.

3.24. Solicita-se incluir no TCLE o nome e o país de TODOS os laboratórios em que as amostras biológicas coletadas no estudo serão processadas e armazenadas (Resolução CNS nº 441 de 2011, item 2.II).

RESPOSTA: Não haverá mais que um laboratório que processará as amostras e sim apenas um laboratório que tem parceria com a Fundação de fomento a pesquisa referida, com sede em São Francisco na Califórnia, acrescentado no parágrafo 4.

ANÁLISE: PENDÊNCIA NÃO ATENDIDA. Solicita-se informar no TCLE o nome da instituição, endereço e nome do responsável.

RESPOSTA: Conforme resposta do item 3.22, foram detalhados os dados do laboratório que será responsável pelo processamento da amostra incluindo endereço, e-mail de contato e telefone para contato no Brasil.

ANÁLISE: PENDÊNCIA ATENDIDA.

3.25. Solicitam-se esclarecimentos quanto ao destino das amostras biológicas ao final das análises (exames) realizadas no estudo, isto é, se as amostras serão ou não destruídas. Caso as amostras sejam armazenadas para análises futuras, solicita-se adequar a documentação inserida na Plataforma Brasil à Resolução CNS nº 441 de 2011 e à Portaria MS nº 2.201 de 2011.

RESPOSTA: Já consta no TCLE no parágrafo 4, mas de qualquer forma foi reescrito para ficar mais claro.

ANÁLISE: PENDÊNCIA ATENDIDA.

3.26. Solicita-se descrever no TCLE quais FAMÍLIAS de genes/segmentos de DNA e/ou RNA serão analisadas nas amostras biológicas coletadas para o estudo. O pesquisador poderá descrever os

Endereço: SRTVN 701, Via W 5 Norte, lote D - Edifício PO 700, 3º andar

Bairro: Asa Norte

CEP: 70.719-040

UF: DF

Município: BRASÍLIA

Telefone: (61)3315-5877

E-mail: conep@saude.gov.br

COMISSÃO NACIONAL DE
ÉTICA EM PESQUISA



Continuação do Parecer: 5.317.394

genes estudados de forma agrupada segundo a funcionalidade ou o efeito (exemplo: genes relacionados ao aparecimento do câncer, inflamação, morte celular, resposta ao tratamento etc.) não sendo necessário listá-los individualmente, respeitando-se a capacidade de compreensão do participante de pesquisa (Carta Circular nº 041/2015/CONEP/CNS/MS, itens 2.a e 2.b).

RESPOSTA: Descrito no parágrafo 4.

ANÁLISE: PENDÊNCIA ATENDIDA.

3.27. Solicita-se que conste no TCLE o tipo e grau de acesso aos resultados por parte do participante de pesquisa, com opção de tomar ou não conhecimento dessas informações (Resolução CNS nº 340 de 2004, item V.1.d).

RESPOSTA: Descrito no final do parágrafo 4.

ANÁLISE: PENDÊNCIA ATENDIDA.

3.28. Não é claro qual instituição/pesquisador será responsável pelo armazenamento dos DADOS genéticos obtidos no estudo e quem terá acesso a eles. Considerando a necessidade de serem observados a proteção dos direitos humanos, das liberdades fundamentais e do respeito à dignidade humana na coleta, processamento, uso e armazenamento de dados genéticos humanos, solicitam-se esclarecimentos acerca do local e do responsável pelo armazenamento dos dados genéticos obtidos no estudo (Resolução CNS nº 340 de 2004, Preâmbulo).

RESPOSTA: Já incluído no parágrafo 4.

ANÁLISE: PENDÊNCIA NÃO ATENDIDA. Solicita-se informar no TCLE o nome da instituição, endereço e nome do responsável.

RESPOSTA: Este item está incluído ao final do item 1 dos riscos listados (1. Riscos de Identificação do participante e perda de sigilo dos dados).

ANÁLISE: PENDÊNCIA ATENDIDA.

3.29. Ao participante de pesquisa cabe autorizar ou não o armazenamento de dados genéticos no âmbito da pesquisa. Sendo assim, é necessário REQUERER A AUTORIZAÇÃO do participante da pesquisa para armazenar os dados genéticos do estudo, informando o local (nome e país) em que os dados serão armazenados (Resolução CNS nº 340 de 2004, item III.6).

RESPOSTA: Não haverá armazenamento de dados genéticos para outras pesquisas e isto está escrito de forma clara no TCLE, ainda assim é necessário fazer um novo documento requerendo a autorização do participante?

Endereço: SRTVN 701, Via W 5 Norte, lote D - Edifício PO 700, 3º andar

Bairro: Asa Norte

CEP: 70.719-040

UF: DF

Município: BRASÍLIA

Telefone: (61)3315-5877

E-mail: conep@saude.gov.br

COMISSÃO NACIONAL DE
ÉTICA EM PESQUISA



Continuação do Parecer: 5.317.394

ANÁLISE: PENDÊNCIA ATENDIDA.

4. Quanto ao termo de assentimento livre e esclarecido – referente ao arquivo “TERMOASSENTIMENTOMENOR12A18ANOS.doc”, postado na Plataforma Brasil em 16/06/2021:

4.1. Foi apresentado um único Termo de Assentimento a ser aplicado para participantes à população do estudo. Considerando que a faixa etária da população do estudo é de 12 a 18 anos, a faixa etária dos participantes do estudo é ampla e engloba crianças e adolescentes com diferentes níveis de compreensão e maturidade neuropsíquica e emocional. Considerando que esse Termo deve ser elaborado pelo pesquisador em linguagem acessível à compreensão dos participantes da pesquisa, EM SUAS DIFERENTES FAIXAS ETÁRIAS, não é adequado apresentar somente um único modelo de Termo de Assentimento para todos os participantes menores de 18 anos. Sendo assim, solicita-se a apresentação de Termos de Assentimento elaborados em linguagem acessível à compreensão das diferentes faixas etárias dos indivíduos a serem recrutados para a pesquisa (Resolução CNS nº 466 de 2012, item II.2).

RESPOSTA: Sim, foi apresentado um único termo justamente porque a orientação que o CEP traz é precisa e diz que, além do termo de consentimento para ser lido e assinado pelo responsável pelo menor de 18 anos, é necessário apenas um termo de assentimento para aqueles que tem entre 12 e 18 anos e já podem falar por si por já terem a compreensão necessária, não estabelecendo termos de assentimento para cada faixa etária. Entendo que em pesquisa se utiliza modelos de documentos que permitam a padronização das informações, senão como seria viável escrever projetos e submetê-los sem que houvesse uma padronização. Muito confuso esta requisição. Acredito que o termo é para ser lido em conjunto com a criança e não simplesmente entregue a ela para que ela leia e faça suas interpretações. Neste sentido, o papel tem o objetivo apenas de formalizar. Logo, cabe ao pesquisador ou profissional que está explicando sobre o estudo usar dos artifícios que ele achar necessário para que o participante compreenda. Não vejo sentido em escrever termos de assentimento para cada faixa-etária, até porque qual seria o parâmetro para dividir as faixas etárias. O que achei mais viável é reescrever o termo para facilitar a compreensão.

ANÁLISE: PENDÊNCIA NÃO ATENDIDA. A Resolução CNS nº 466 de 2012, item II.24, estabelece a necessidade de termo de assentimento para os participantes de pesquisa com idade inferior a 18 anos, considerando que o nível de compreensão difere entre crianças com idade inferior a 12 anos de adolescentes com idade entre 12 a 18 anos, solicita-se a elaboração de um termo de assentimento para as crianças alfabetizadas até 12 anos em linguagem simples e se necessário

Endereço: SRTVN 701, Via W 5 Norte, lote D - Edifício PO 700, 3º andar

Bairro: Asa Norte

CEP: 70.719-040

UF: DF

Município: BRASÍLIA

Telefone: (61)3315-5877

E-mail: conep@saude.gov.br

COMISSÃO NACIONAL DE
ÉTICA EM PESQUISA



Continuação do Parecer: 5.317.394

com uso de recursos gráficos (por exemplo, ilustrações). O intuito dessa solicitação é permitir que a criança possa expressar sua anuência na participação no estudo, conferindo certa autonomia ao participante de pesquisa.

RESPOSTA: Foi elaborado termo de assentimento para idade entre 7 e 12 anos com linguagem clara e uso de figuras e outro termo para crianças entre 12 e 18 anos de idade (seguem em anexo).

ANÁLISE: PENDÊNCIA ATENDIDA.

4.2. Diferentemente de um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido para um adulto, o Termo de Assentimento não deve abordar demasiadamente procedimentos que possam gerar ansiedade, medo ou fantasias, interferindo negativamente na percepção da realidade. Neste sentido, o referido termo deve ser apresentado "em linguagem acessível para os menores ou para os legalmente incapazes, por meio do qual, após os participantes da pesquisa serem devidamente esclarecidos, explicitarão sua anuência em participar da pesquisa, sem prejuízo do consentimento de seus responsáveis legais" (Resolução CNS 466/2012, item II.24). Podem ser utilizados argumentos gráficos como desenhos, personagens, histórias ilustrativas, para que a criança compreenda, em linguagem apropriada, a importância, os procedimentos e os objetivos da pesquisa.

RESPOSTA: Conforme exposto na resposta do item 4.1 o modelo do termo de assentimento utilizado foi o disponibilizado na página do CEP que inclusive o aprovou, mas de qualquer forma foi reescrito para ficar mais claro, inclusive a parte que fala sobre o participante e nem seu responsável serão prejudicados caso decidam por não participar que está no parágrafo 7 do termo.

ANÁLISE: PENDÊNCIA ATENDIDA.

4.2.1. Solicita-se revisão integral do Termo de Assentimento, reescrevendo-o em LINGUAGEM CLARA E ACESSÍVEL para que os participantes menores de idade compreendam, em sua linguagem, a importância, os procedimentos e os objetivos da pesquisa (Resolução CNS nº 466 de 2012, itens II.2 e II.24).

RESPOSTA: Foi reescrito buscando usar linguagem mais acessível.

ANÁLISE: PENDÊNCIA ATENDIDA.

4.2.2. Solicita-se apresentação de um Termo de Assentimento em LINGUAGEM CLARA E ACESSÍVEL para os participantes com idade entre 7 a 10 anos. Deve-se levar em consideração seu nível de

Endereço: SRTVN 701, Via W 5 Norte, lote D - Edifício PO 700, 3º andar

Bairro: Asa Norte

CEP: 70.719-040

UF: DF

Município: BRASÍLIA

Telefone: (61)3315-5877

E-mail: conep@saude.gov.br

COMISSÃO NACIONAL DE
ÉTICA EM PESQUISA



Continuação do Parecer: 5.317.394

compreensão e a linguagem a que estão acostumados, a importância, o objetivo/finalidade e os procedimentos referente ao estudo (Resolução CNS nº 466 de 2012, itens II.2 e II.24).

RESPOSTA: Onde está determinado que é necessário termo de assentimento para cada faixa-etária dentro da faixa-etária de 12 a 18 anos? Em que embasamento o relator colocou um termo de assentimento para 7 a 10 anos e outro de 10 a 18 anos? Onde posso encontrar esta referência? Conforme já colocado na resposta do item 4.1, a orientação do CEP é elaborar termo de assentimento para faixa etária acima de 12 anos, além do termo de consentimento. Na cartilha de orientação para submissão de projetos do CEP da UFU no item 2.1 letra e) acerca do termo de consentimento coloca que “caso a pesquisa envolva participantes entre 12 e faltando 1 dia para 18 anos, é necessário que se anexe dois Termos: -um TCLE voltado ao Responsável Legal pelo menor –o segundo é o Termo de Assentimento que deve ser assinado pelo próprio menor e deve dar a liberdade para que ele escolha se quer ou não participar da pesquisa, mesmo o seu responsável legal tendo consentido.”

ANÁLISE: PENDÊNCIA NÃO ATENDIDA. A pendência teve um erro tipográfico no parecer e salientamos que a orientação do CEP está adequada, porém considerando a faixa etária ampla dos participantes e a necessidade de o termo de assentimento ser compreensível aos participantes, depreende-se a necessidade de um termo de assentimento próprio a ser lido em conjunto com o pesquisador responsável (ou pessoa delegada) para as crianças alfabetizadas até 12 anos.

REPOSTA: Conforme já respondido no item acima, foi redigido um termo de assentimento para crianças entre 7 e 12 anos com linguagem clara e uso de figuras.

ANÁLISE: PENDÊNCIA ATENDIDA.

4.3. Solicita-se que seja descrito no Termo de Assentimento, de forma clara, o que é o estudo, seus objetivos e seus métodos (quais os procedimentos a serem realizados com os participantes menores) na medida de sua compreensão e respeitados em suas singularidades (Resolução CNS nº 466 de 2012, item II.2).

RESPOSTA: Reescrito no parágrafo 5 do termo de assentimento.

ANÁLISE: PENDÊNCIA ATENDIDA.

4.4. Solicita-se que sejam descritas no Termo de Assentimento as informações sobre benefícios previstos, potenciais riscos e desconfortos que o estudo possa acarretar, na medida de sua compreensão e respeitados em suas singularidades (podendo ser em forma de argumentos gráficos como desenhos, personagens e histórias ilustrativas), para que a criança compreenda em

Endereço: SRTVN 701, Via W 5 Norte, lote D - Edifício PO 700, 3º andar

Bairro: Asa Norte

CEP: 70.719-040

UF: DF

Município: BRASÍLIA

Telefone: (61)3315-5877

E-mail: conep@saude.gov.br

COMISSÃO NACIONAL DE
ÉTICA EM PESQUISA



Continuação do Parecer: 5.317.394

sua linguagem os riscos e benefícios correspondentes aos procedimentos do estudo. Ressalta-se que, para o Sistema CEP/Conep, não existe pesquisa livre de risco. É necessário observar que risco é qualquer possibilidade de danos à dimensão física, psíquica, moral, intelectual, social, cultural ou espiritual do ser humano, em qualquer pesquisa e dela decorrente (Resolução CNS nº 466 de 2012, itens II.2 e II.22).

RESPOSTA: Reescrito no parágrafo 6 do termo de assentimento.

ANÁLISE: PENDÊNCIA ATENDIDA.

5. O cronograma do estudo não está adequado, pois informa que ele já teria iniciado. Sendo assim, solicitase esclarecimento e, caso necessário, adequação do cronograma com relação à data de início do estudo, dado que este ainda se encontra em análise no Sistema CEP/Conep até a presente data. Ressalta-se ainda a necessidade de adequação do cronograma de forma a descrever a duração das diferentes etapas da pesquisa, com compromisso explícito do pesquisador de que o estudo será iniciado somente a partir da aprovação pelo Sistema CEP/Conep (Norma Operacional CNS nº 001 de 2013, item 3.3.f).

RESPOSTA: O cronograma foi escrito partindo do princípio que o tempo para análise e aprovação dos projetos de pesquisa são de 3 meses. Esta equipe de pesquisa tem ciência de que o início do estudo acontecerá apenas e somente após aprovação pelo CEP/ CONEP. Cronograma já readequado na plataforma e no Projeto detalhado

ANÁLISE: PENDÊNCIA ATENDIDA.

6. Solicita-se esclarecimento quanto ao responsável pelo patrocínio do estudo, se ele será patrocinado pelo pesquisador responsável ou não. Caso o patrocínio tenha outra fonte que não o pesquisador, será necessário adequar os documentos para constar o nome e os dados da pessoa jurídica/física responsável pelo patrocínio, além de se apresentar nova Folha de Rosto. Salienta-se ainda a necessidade de discriminar no orçamento os materiais permanentes e de custeio, além daqueles previstos na Norma Operacional CNS nº 001 de 2013, item 3.3.e.

RESPOSTA: Como já respondido no item 1 deste Parecer, acerca do campo "Financiamento" trata-se de financiamento por Instituição Secundária uma vez que o apoio financeiro se deu através de uma Fundação Internacional de fomento à pesquisa, a Jeffrey Modell Foundation. Como se trata de agência de fomento que não são tidas como patrocinadoras de pesquisa, não há necessidade de sua assinatura, por esta razão não consta assinatura neste campo.

ANÁLISE: PENDÊNCIA ATENDIDA.

Endereço: SRTVN 701, Via W 5 Norte, lote D - Edifício PO 700, 3º andar

Bairro: Asa Norte

CEP: 70.719-040

UF: DF

Município: BRASÍLIA

Telefone: (61)3315-5877

E-mail: conep@saude.gov.br

COMISSÃO NACIONAL DE
ÉTICA EM PESQUISA



Continuação do Parecer: 5.317.394

7. Todos os protocolos de pesquisa devem conter demonstrativo da existência de INFRAESTRUTURA NECESSÁRIA E APTA AO DESENVOLVIMENTO DA PESQUISA, bem como para atender eventuais problemas dela resultantes, com documento que expresse a concordância da instituição e/ou organização por meio de seu responsável maior com competência. Diante do exposto, solicita-se apresentar demonstrativo detalhado da existência de infraestrutura necessária e apta ao desenvolvimento da pesquisa, assinada pelo responsável maior do local onde se dará a pesquisa (Norma Operacional CNS nº 001 de 2013, item 3.3.h).

RESPOSTA: A Declaração de Infraestrutura necessária para pesquisa já foi anexada (arquivo nomeado como Declaração de Infraestrutura) e está erroneamente com o Título de Instituição Coparticipante, mas na verdade se trata do documento assinado pela Instituição Preponente no caso o Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia, devidamente assinada pela Gerente de Ensino e Pesquisa, responsável local por esta Instituição.

ANÁLISE: PENDÊNCIA ATENDIDA.

Considerações Finais a critério da CONEP:

Diante do exposto, a Comissão Nacional de Ética em Pesquisa - Conep, de acordo com as atribuições definidas na Resolução CNS nº 466 de 2012 e na Norma Operacional nº 001 de 2013 do CNS, manifesta-se pela aprovação do projeto de pesquisa proposto.

Situação: Protocolo aprovado.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1429438.pdf	08/03/2022 16:18:51		Aceito
Declaração de Manuseio Material Biológico / Biorepositório / Biobanco	CARTACOMPROMISSOLABORATORIOINVITAETRADUZIDA.docx	08/03/2022 16:17:29	TATYANA BORGES DA CUNHA KOCK	Aceito
Declaração de Manuseio Material Biológico / Biorepositório /	CARTACOMPROMISSOLABORATORIOINVITAEVERSAOINGLES.pdf	08/03/2022 16:17:03	TATYANA BORGES DA CUNHA KOCK	Aceito

Endereço: SRTVN 701, Via W 5 Norte, lote D - Edifício PO 700, 3º andar

Bairro: Asa Norte

CEP: 70.719-040

UF: DF

Município: BRASILIA

Telefone: (61)3315-5877

E-mail: conep@saude.gov.br

COMISSÃO NACIONAL DE
ÉTICA EM PESQUISA



Continuação do Parecer: 5.317.394

Biobanco	CARTACOMPROMISSOLABORATORI OINVITAEVERSAOINGLES.pdf	08/03/2022 16:17:03	TATYANA BORGES DA CUNHA KOCK	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TERMOASSENTIMENTOMENOR12A18ANOS.doc	08/03/2022 16:13:57	TATYANA BORGES DA CUNHA KOCK	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLEmenor18anosversaolimpa.doc	08/03/2022 16:11:38	TATYANA BORGES DA CUNHA KOCK	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLEmenor18anosversaocomalteracao destacada.doc	08/03/2022 16:11:28	TATYANA BORGES DA CUNHA KOCK	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLMaiiores18anosversaolimpa.doc	08/03/2022 16:11:15	TATYANA BORGES DA CUNHA KOCK	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLMaiiores18anosversaocomalteraca o destacada.doc	08/03/2022 16:11:00	TATYANA BORGES DA CUNHA KOCK	Aceito
Outros	CARTARESPPOSTAULTIMOPARECERC EP28122021.docx	24/02/2022 19:11:20	TATYANA BORGES DA CUNHA KOCK	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TERMOASSENTIMENTOMENOR7a12a nos.doc	24/02/2022 19:04:21	TATYANA BORGES DA CUNHA KOCK	Aceito
Solicitação Assinada pelo Pesquisador Responsável	solitacaoprrogacaoprazo.pdf	25/01/2022 08:08:38	TATYANA BORGES DA CUNHA KOCK	Aceito
Outros	RESPOSTAPARECERCONEPN503048 4.docx	08/11/2021 16:22:36	TATYANA BORGES DA CUNHA KOCK	Aceito
Declaração de Manuseio Material Biológico / Biorepositório / Biobanco	DECLARACAODENAORETENCAOA MOSTRAS.pdf	29/10/2021 15:55:48	TATYANA BORGES DA CUNHA KOCK	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROJETODETALHADO.doc	29/10/2021 15:53:43	TATYANA BORGES DA CUNHA KOCK	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	DECLARACAOFRAESTRUTURA.pdf	29/10/2021 15:51:17	TATYANA BORGES DA CUNHA KOCK	Aceito
Declaração do Patrocinador	DECLARACAOFRAESTRUTURA RATRADUZIDA.pdf	18/06/2021 11:01:27	TATYANA BORGES DA CUNHA KOCK	Aceito

Endereço: SRTVN 701, Via W 5 Norte, lote D - Edifício PO 700, 3º andar

Bairro: Asa Norte

CEP: 70.719-040

UF: DF

Município: BRASILIA

Telefone: (61)3315-5877

E-mail: conep@saude.gov.br

COMISSÃO NACIONAL DE
ÉTICA EM PESQUISA



Continuação do Parecer: 5.317.394

Declaração do Patrocinador	DECLARACAONINSTITUICAOFINACIADORA.pdf	18/06/2021 11:01:13	TATYANA BORGES DA CUNHA KOCK	Aceito
Recurso Anexado pelo Pesquisador	RESPOSTAPARECERCEP4690622.docx	16/06/2021 13:12:22	TATYANA BORGES DA CUNHA KOCK	Aceito
Folha de Rosto	folharostoatualizada.pdf	16/06/2021 13:08:22	TATYANA BORGES DA CUNHA KOCK	Aceito
Declaração de Manuseio Material Biológico / Biorepositório / Biobanco	declaracaomanuseiobiologicoassinada.pdf	30/05/2021 12:28:41	TATYANA BORGES DA CUNHA KOCK	Aceito
Outros	termodecompromissoutilizaacaodadosassinada.pdf	30/05/2021 12:13:34	TATYANA BORGES DA CUNHA KOCK	Aceito
Declaração de Pesquisadores	termocompromissoequioeexecutora.pdf	26/10/2020 17:32:18	TATYANA BORGES DA CUNHA KOCK	Aceito
Outros	ANEXO3FICHACADASTRAL.pdf	02/04/2020 10:32:39	TATYANA BORGES DA CUNHA KOCK	Aceito
Outros	CURRICULOLATTESPARTICIPANTES.docx	27/09/2019 11:28:44	TATYANA BORGES DA CUNHA KOCK	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

BRASILIA, 29 de Março de 2022

Assinado por:
Jorge Alves de Almeida Venancio
(Coordenador(a))

Endereço: SRTVN 701, Via W 5 Norte, lote D - Edifício PO 700, 3º andar

Bairro: Asa Norte

CEP: 70.719-040

UF: DF

Município: BRASILIA

Telefone: (61)3315-5877

E-mail: conep@saude.gov.br