

Nome: Berenice Bilharinho de Mendonça

Instituição: Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

Título do projeto:

Divulgação e desenvolvimento de material educacional para aprimoramento do diagnóstico e tratamento dos distúrbios do desenvolvimento sexual no Brasil

Período:

1 de Março de 2017 a 1 de Março de 2018

Resumo: Os distúrbios do desenvolvimento sexual (DDS) são uma condição congênita na qual o desenvolvimento cromossômico, gonadal ou genital é atípico. Sua incidência é estimada em 1 de 2.500 nascimentos. Os DDS devem ser tratadas como uma emergência médica uma vez que várias etiologias de DDS estão associadas a risco de vida tais como as hiperplasias adrenais congênitas com perda de sal (deficiências da 3β -HSD2 e 21-hidroxilase). O grande dilema é a atribuição do sexo social uma vez que a genitália externa pode ser muito pouco virilizada em pacientes 46,XY, dificultando a atribuição do sexo social masculino.

O diagnóstico requer uma equipe multidisciplinar experiente, geralmente disponível em centros terciários e envolve várias etapas e muitos testes. O diagnóstico laboratorial envolve vários exames bioquímicos, citogenéticos e moleculares. Quando o bebê nasce com DDS, a equipe médica/obstétrica dos hospitais não especializada, mesmo em centros como a cidade de São Paulo tem dificuldades em atender uma criança com genitália atípica e erros de atribuição do sexo ocorrem em até 55% das meninas com genitália externa virilizada por hiperplasia adrenal congênita, que é a causa mais comum de DDS.

Ao longo destes anos de atendimento de crianças com genitália atípica na Unidade de Endocrinologia do Desenvolvimento do Hospital das Clínicas da Universidade de São Paulo

APROVADO
CONSELHO DO DEPARTAMENTO
Clínica Médica

Em 07/10/16



Profa. Dra. Rosa Maria Rodrigues Pereira
Chefe do Departamento de Clínica Médica

(temos 1480 pacientes cadastrados) constatamos uma carência no conhecimento dos distúrbios do desenvolvimento sexual por grande parte dos profissionais da saúde.

Nossa proposta é desenvolver e divulgar material esclarecedor do diagnóstico clínico, laboratorial e molecular dos DDS para os profissionais da saúde e para os pais, familiares e professores de crianças com genitália atípica.

Projeto

Introdução: O processo de desenvolvimento sexual nos mamíferos inicia-se com o estabelecimento do sexo cromossômico do zigoto no momento da fertilização. Este processo é constituído por uma sequência de eventos tecido e tempo específicos do qual participam inúmeros genes, fatores transcricionais, hormônios e receptores hormonais, cuja interação determinará a transformação do tecido gonadal embrionário indiferenciado no tecido gonadal adulto, feminino ou masculino, além de todos os eventos subsequentes secundários à secreção hormonal gonadal (desenvolvimento da genitália interna e externa). No processo de desenvolvimento sexual a expressão de inúmeros genes é controlada por um sistema em forma de cascata, que funciona como um complexo sistema de reforços e de redundância funcional, que constitui um mecanismo para minimizar a ocorrência de distúrbios do desenvolvimento sexual (1-3).

Os distúrbios do desenvolvimento sexual (DDS) são uma condição congênita na qual o desenvolvimento cromossômico, gonadal ou genital é atípico (4). Sua incidência é estimada em 1 de 2.500 nascimentos. No Brasil nascem 2 944 928 recém nascidos vivos/ano, dando uma estimativa anual de 73.623 pacientes com genitália atípica (5). Os DDS devem ser tratados como uma emergência médica uma vez que várias etiologias de DDS estão associadas a risco de vida tais como as hiperplasias adrenais congênitas com perda de sal (deficiências da 3β -HSD2 e 21-hidroxilase). O grande dilema é a atribuição do sexo social uma vez que a genitália externa pode ser muito pouco virilizada em pacientes 46,X, dificultando a atribuição do sexo social masculino sem exames subsidiários específicos.

O diagnóstico requer uma equipe experiente, geralmente disponível em centros terciários e envolve várias etapas e muitos testes. Sou atualmente coordenadora da Unidade de

Endocrinologia do Desenvolvimento da Disciplina de Endocrinologia da FMUSP e tenho mais de 40 anos de experiência no diagnóstico e tratamento de crianças com genitália atípica (6-23). Nossa equipe multidisciplinar do HCFMUSP, um centro terciário, é constituída por endocrinologistas, endocrinologistas pediatras, urologistas, ginecologistas geneticistas, psicólogos, enfermeiros e assistentes sociais. O diagnóstico laboratorial envolve vários exames bioquímicos, citogenéticos e moleculares que são realizados na Divisão do Laboratório Central do ICHC. O estabelecimento do Laboratório Multiusuário SELA na FMUSP em 2013, coordenado por mim, com apoio da FAPESP tornou possível a realização de sequenciamento em larga escala de pacientes com DDS e seguramente implicará na identificação de novos de genes envolvidos no importante processo do desenvolvimento sexual.

Quando o bebê nasce com DDS, a equipe médica/obstétrica do hospital local, por não ser especializada, não pode definir o diagnóstico etiológico, mas certamente deveria ter condições de fazer a suspeita clínica e solicitar os exames iniciais para o diagnóstico e encaminhar a criança a um centro especializado. Infelizmente não é o que acontece em nossa realidade, mesmo em centros como a cidade de São Paulo. Ao longo destes anos de atendimento de pacientes com genitália atípica na Unidade de Endocrinologia do Desenvolvimento do Hospital das Clínicas da Universidade de São Paulo (temos 1380 pacientes cadastrados) constatamos uma deficiência no conhecimento dos distúrbios do desenvolvimento sexual por grande parte dos profissionais da saúde. Dos pacientes atendidos em nossa unidade 55% procuraram atendimento por conta própria quando adultos para tratamento de uma doença congênita que não foi reconhecida ou não foi adequadamente tratada na infância.

A causa mais comum de genitália atípica é a hiperplasia adrenal congênita virilizante que resulta na produção de hormônio masculino em meninas, virilizando seus genitais externos. Em nossa casuística, 55% das meninas com genitália externa virilizada por hiperplasia adrenal congênita foram registradas no sexo social masculino, sem a solicitação dos exames complementares necessários para atribuição correta do sexo social em recém nascidos com genitália atípica, por desconhecimento da equipe médica.

Por ação ativa dos profissionais envolvidos no tratamento desta doença com alto risco de morte, incluindo o nosso grupo, o Ministério da Saúde autorizou a ampliação do Teste do Pezinho (FASE IV) incluindo a Hiperplasia Adrenal Congênita por deficiência da 21 hidroxilase (**Portaria nº 2.829, de 14 de dezembro de 2012**). Em 2011 haviam sido estudadas 67.640 amostras de sangue coletados no Teste do Pezinho piloto para diagnóstico da deficiência da 21 hidroxilase em São Paulo indicando uma prevalência de 1/11000 recém nascidos.

As dosagens hormonais do *screening* neonatal são realizadas pela APAE e o nosso laboratório é responsável pelas dosagens nos testes confirmatórios nas crianças com níveis séricos de 17OHP suspeitos do diagnóstico de HAC. Observamos que apesar da realização do teste neonatal, 65% das crianças afetadas já apresentavam perda de sal no momento dos teste confirmatório, indicando uma morosidade no processo de detecção e encaminhamento das crianças afetadas.

Os mecanismos genéticos envolvidos no desenvolvimento gonadal normal são complexos e com múltiplas interações. O estabelecimento do Laboratório Multiusuário SELA na FMUSP com suporte da FAPESP torna possível a realização de sequenciamento em larga escala de pacientes com DDS e seguramente expandirá o número de genes envolvidos nestes importantes processos de desenvolvimento sexual.

A Hiperplasia Adrenal Congênita HAC é a causa mais frequente de genitália atípica. Trata-se de doença genética, congênita, que necessita de tratamento durante toda a vida e a principal causa é por mutação no *CYP21A2* que resulta na deficiência total ou parcial da enzima 21-hidroxilase em 90 a 95% dos casos. A deficiência dessa enzima determina a insuficiência hormonal dos glicocorticóides e dos mineralocorticóides, o que causa a deficiência na síntese da aldosterona e o excesso dos andrógenos. O conjunto de manifestações clínicas de correntes dessas falhas hormonais, podem se manifestar e sob três formas clínicas: forma clássica perdedora de sal (60% dos casos), forma clássica não perdedora de sal e a forma não clássica. A forma perdedora de sal é a mais grave e causa nas meninas a virilização da genitália externa (malformação genital). Os bebês de maior risco de morte são os meninos, nos quais a virilização da genitália não ocorre na vida prenatal. O início dos primeiros sinais da doença

acorrem na primeira semana de vida desses bebês. As alterações mais frequentes são: desidratação grave, hipotensão, hiponatremia, hiperpotassemia e morte.

Após o Teste do Pezinho é necessário confirmar o diagnóstico, com uma dosagem sérica da 17-hidroxiprogesterona, marcador bioquímico da forma clássica da HAC. Uma vez que a crise de perda de sal em geral ocorre nos primeiros 15 dias de vida é de fundamental importância que o sistema de coleta, encaminhamento, dosagem hormonal e convocação das crianças com exames alterados aconteça na primeira semana de vida.

Objetivos

O objetivo de nosso projeto é desenvolver e divulgar protocolos de atendimento para os profissionais da saúde e material didático esclarecedor do diagnóstico clínico, laboratorial e molecular dos DDS para os pais, familiares e professores de crianças com genitália atípica, para aprimorar o diagnóstico e tratamento de pacientes com genitália atípica em todo o território nacional. A atual proposta está ancorada em uma equipe multidisciplinar com experiência clínica estabelecida e produtividade científica de repercussão nacional e internacional comprovada nos distúrbios do desenvolvimento sexual e genética molecular para estabelecimento de plano educacional proposto neste projeto.

Justificativa (escopo acadêmico e científico):

O desenvolvimento de material didático, livros, cursos online, cartões de urgência facilitará o aprendizado no tratamento dos DDS e seguramente propiciará o desenvolvimento de pesquisas científicas para elucidar as causas genéticas dos DDS que permanecem desconhecidas em 65% dos pacientes com distúrbios da determinação sexual.

Impactos científicos e sociais:

Acreditamos que o estabelecimento de um registro nacional do nascimento de crianças com genitália atípica com troca de informações e experiência dos centros terciários para os centros primários e secundários, nos quais o paciente é avaliado primeiramente, será de grande

importância para aprimoramento do tratamento médico e também para o desenvolvimento de pesquisas destas doenças raras.

Áreas do conhecimento: Ciências da saúde – Medicina-Endocrinologia

Plano de trabalho a ser executado pelo pesquisador

1- Desenvolvimento de um registro nacional de pacientes com genitália atípica assegurando sigilo completo da identidade do paciente, após consentimento informado de pais e/ou pacientes

2- Desenvolvimento de material didático impresso, via online, e aulas presenciais em centros universitários dos estados brasileiros para divulgação de protocolos clínicos para atendimento de crianças com genitália atípica dirigidos aos profissionais da saúde (enfermeiros, assistentes sociais, médicos e biólogos) e aos pais e familiares dos pacientes afetados

3- Consultoria via online (via skipe quando for necessário avaliar o fenótipo da criança) a médicos que atendem crianças com genitália atípica em todo território nacional através da homepage da Disciplina de Endocrinologia, FMUSP e outros meios de comunicação com o You tube.

4- Disponibilização de estudos moleculares para definir a etiologia molecular do DDS no Multiusuário SELA da FMUSP nos casos em que o estudo molecular seja importante para a atribuição do sexo social.

5-Publicação de livro para educação sexual de crianças e adolescentes com genitália atípica (em colaboração com a Profa Cida Lopes).

6-Divulgação do uso de cartão de emergência medica para alertar para crises de perda de sal em pacientes com HAC no território nacional.

7-Atuação ativa na Secretaria da saúde para ativar a produção de hidrocortisona e fludrocortisona necessárias para tratamento da hiperplasia adrenal congênita perdedora de sal no período da infância e não disponíveis no Brasil (portaria ja foi aprovada mas a medicação ainda não está sendo produzida).

6-Atuação conjunta na APAE e Secretaria da saúde para reduzir o tempo de convocação das crianças rastreadas para HAC pelo teste do pezinho para reduzir o numero de desidratações e internações das crianças afetadas (no momento 65% das crianças apresentam desidratação no momento do exames confirmatórios realizado no HCFMUSP, indicando que o rastreamento neonatal ainda não evita o quadro de desidratação.

Cronograma

Março a abril 2017: Criação do registro nacional de DDS

Abril a agosto de 2017: elaboração do material didático para pais e crianças, atuação na APAE e Secretaria da Saúde para reduzir o tempo de convocação e propiciar medicação adequada ao tratamento.

Setembro a dezembro de 2017: Elaboração de livro para educação sexual de crianças e adolescentes com genitália atípica com DDS

Janeiro a março de 2018: Termina da elaboração do material didático e visita a instituições de ensino de todo o Brasil para divulgar material didático.

Elaboração de trabalhos científicos (papers, livros e outros)

1-Publicação de livro de orientação para familiares e crianças com genitália atípica em forma de perguntas e respostas

2-Publicação de livro para educação sexual de crianças e adolescentes com genitália atípica (em colaboração com a Profa Cida Lopes)

3-Divulgação do uso de cartão de emergência medica para alertar para crises de perda de sal em pacientes com HAC no território nacional

4- Elaboração de trabalho científico relatando os resultados das ações realizadas durante o ano sabático.

Referências bibliográficas

1. Jost, A., *A new look at the mechanisms controlling sex differentiation in mammals*. Johns Hopkins Med J, 1972. **130**(1): p. 38-53.
2. Eggers, S. and A. Sinclair, *Mammalian sex determination-insights from humans and mice*. Chromosome Res, 2012. **20**(1): p. 215-38.
3. Swain, A. and R. Lovell-Badge, *Mammalian sex determination: a molecular drama*. Genes Dev, 1999. **13**(7): p. 755-67.
4. Hughes, I.A., et al., *Consensus statement on management of intersex disorders*. Arch Dis Child, 2006. **91**(7): p. 554-63.
5. Fontes: IBGE, Diretoria de Pesquisas, Coordenação de População e Indicadores Sociais, Projeto UNFPA/BRASIL (BRA/02/P02) - População e Desenvolvimento, Projeções Preliminares; e Ministério da Saúde, Sistema de Informações sobre Nascidos Vivos 2000-2006.
6. Mendonca BB, Batista RL, Domenice S, Costa EM, Arnhold IJ, Russell DW, Wilson JD. Steroid 5 α -reductase 2 deficiency. J Steroid Biochem Mol Biol. 2016 Oct;163:206-11. doi: 10.1016/j.jsbmb.2016.05.020. Epub 2016 May 22. Review.
7. de Carvalho DF, Miranda MC, Gomes LG, Madureira G, Marcondes JA, Billerbeck AE, Rodrigues AS, Presti PF, Kuperman H, Damiani D, Mendonca BB, Bachega TA. Molecular CYP21A2 diagnosis in 480 Brazilian patients with congenital adrenal hyperplasia before newborn screening introduction. Eur J Endocrinol. 2016 Aug;175(2):107-16.
8. Mendonca BB, Gomes NL, Costa EM, Inacio M, Martin RM, Nishi MY, Carvalho FM, Tibor FD, Domenice S. 46,XY disorder of sex development (DSD) due to 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 3 deficiency. J Steroid Biochem Mol Biol. 2016 May 6. pii: S0960-0760(16)30132-7. Review.
9. Carvalho LC, Brito VN, Martin RM, Zamboni AM, Gomes LG, Inácio M, Mermejo LM, Coeli-Lacchini F, Teixeira VR, Gonçalves FT, Carrilho AJ, Del Toro Camargo KY, Finkielstain GP, Taboada GF, Frade Costa EM, Domenice S, Mendonca BB. Clinical, hormonal, ovarian, and genetic aspects of 46,XX patients with congenital adrenal hyperplasia due to CYP17A1 defects. Fertil Steril. 2016 Jun;105(6):1612-9.

10. Bianchi PH, Gouveia GR, Costa EM, Domenice S, Martin RM, de Carvalho LC, Pelaes T, Inacio M, Codarin RR, Sator de Faria MB, Francisco RP, Baracat EC, Serafini PC, Mendonca BB. Successful Live Birth in a Woman With 17 α -Hydroxylase Deficiency Through IVF Frozen-Thawed Embryo Transfer. *BB. J Clin Endocrinol Metab.* 2016 Feb;101(2):345-8.
11. Achermann JC, Domenice S, Bachega TA, Nishi MY, Mendonca BB. Disorders of sex development: effect of molecular diagnostics. *Nat Rev Endocrinol.* 2015 Aug;11(8):478-88. doi: 10.1038/nrendo.2015.69. Epub 2015 May 5. Review.
12. Mendonca BB, Arnhold IJP, Domenice S, Costa EMF. 46,XY Disorders of Sexual Development. In: De Groot LJ, Beck-Peccoz P, Chrousos G, Dungan K, Grossman A, Hershman JM, Koch C, McLachlan R, New M, Rebar R, Singer F, Vinik A, Weickert MO, editors. *Endotext* [Internet]. South Dartmouth (MA): MDTText.com, Inc.; 2000-2013 Jan 1. PMID: 25905393 Free Books & Documents
13. Hayashida SA, Soares-Jr JM, Costa EM, da Fonseca AM, Maciel GA, Mendonça BB, Baracat EC. The clinical, structural, and biological features of neovaginas: a comparison of the Frank and the McIndoe techniques. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2015 Mar;186:12-6.
14. Khattab A, Yuen T, Yau M, Domenice S, Frade Costa EM, Diya K, Muhuri D, Pina CE, Nishi MY, Yang AC, de Mendonça BB, New MI. Pitfalls in hormonal diagnosis of 17-beta hydroxysteroid dehydrogenase III deficiency. *J Pediatr Endocrinol Metab.* 2015 May;28(5-6):623-8.
15. Mendonca BB. Gender assignment in patients with disorder of sex development. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes.* 2014 Dec;21(6):511-4.
16. Cassia Amaral R, Inacio M, Brito VN, Bachega TA, Oliveira AA Jr, Domenice S, Denes FT, Sircili MH, Arnhold IJ, Madureira G, Gomes L, Costa EM, Mendonca BB. Quality of life in a large cohort of adult Brazilian patients with 46,XX and 46,XY disorders of sex development from a single tertiary centre. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2015 Feb;82(2):274-9
17. Santos MG, Machado AZ, Martins CN, Domenice S, Costa EM, Nishi MY, Ferraz-de-Souza B, Jorge SA, Pereira CA, Soardi FC, de Mello MP, Maciel-Guerra AT, Guerra-Junior G, Mendonca BB. Homozygous inactivating mutation in NANOS3 in two sisters with primary ovarian insufficiency. *Biomed Res Int.* 2014;2014:787465.
18. Amaral RC, Inacio M, Brito VN, Bachega TA, Domenice S, Arnhold IJ, Madureira G, Gomes L, Costa EM, Mendonca BB. Quality of life of patients with 46,XX and 46,XY disorders of sex development. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2015 Feb;82(2):159-64. doi: 10.1111/cen.12561. Epub 2014 Aug 14. Review.

19. Sircili MH, Denes FT, Costa EM, Machado MG, Inacio M, Silva RB, Srougi M, Mendonca BB, Domenice S. Long-term followup of a large cohort of patients with ovotesticular disorder of sex development. *J Urol*. 2014 May;191(5 Suppl):1532-6.
20. Costa EM, Domenice S, Sircili MH, Inacio M, Mendonca BB DSD due to 5 α -reductase 2 deficiency - from diagnosis to long term outcome. *Semin Reprod Med*. 2012 Oct;30(5):427-31. Review.
21. Wilson JD, Rivarola MA, Mendonca BB, Warne GL, Josso N, Drop SL, Grumbach MM. Advice on the management of ambiguous genitalia to a young endocrinologist from experienced clinicians. *Semin Reprod Med*. 2012 Oct;30(5):339-50.
22. Sircili MH, e Silva FA, Costa EM, Brito VN, Arnhold IJ, Dénes FT, Inacio M, de Mendonca BB. Long-term surgical outcome of masculinizing genitoplasty in large cohort of patients with disorders of sex development. *J Urol*. 2010 Sep;184(3):1122-7.
23. Mendonca BB, Costa EM, Belgorosky A, Rivarola MA, Domenice S. 46,XY DSD due to impaired androgen production. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*. 2010 Apr;24(2):243-62. Review.