

DEFICIÊNCIA DA GLICOSE-6-FOSFATO DESIDROGENASE EM PACIENTE COM TRANSTORNO DO ESPECTRO AUTISTA

GLUCOSE-6-PHOSPHATE DEHYDROGENASE DEFICIENCY IN PATIENT WITH AUTISTIC SPECTRUM DISORDER

Jéssica Braz **DUARTE**¹, Naiara Bozza **PEGORARO**¹, Rie Tiba **MAGLIONI**¹, Isabelle Caroline Fasolo Normandia **MOREIRA**¹, Gabriela Esmanhoto **RODRIGUES**¹, Ana Clara **KUNZ**¹, Caroline Brandão **PIAI**¹, Aline Sauzem **MILANO**¹, Susana Puga **RIBEIRO**¹, Antonio Lacerda **SANTOS FILHO**¹, Aristides Schier **DA CRUZ**¹, Salmo **RASKIN**², Lilian Pereira **FERRARI**¹, Liya Regina **MIKAMI**¹

REV. MÉD. PARANÁ 1658

INTRODUÇÃO

O transtorno do espectro autista (TEA) engloba um grupo heterogêneo de pacientes, com apresentações já na primeira infância de déficits na socialização e comunicação, além de alterações comportamentais repetitivas e interesses específicos. O espectro inclui um grupo complexo e heterogêneo de condições e alterações do comportamento^{7,10}. Sua clínica pode ser ampla, e os principais sintomas são comportamentos estereotipados e comprometimento característico na comunicação, sociabilidade e cognição. Outras características associadas ao autismo são retardo no desenvolvimento da fala, atraso no desenvolvimento neuropsicomotor e epilepsia, além de regressão dos marcos de desenvolvimento já atingidos¹⁰.

O autismo pode ser associado a até 10% de doenças genéticas já bem descritas, como a esclerose tuberosa, síndrome do x frágil, síndrome Rett ou síndrome de Down. Com o avanço de tecnologias, principalmente na área genômica, foi analisado o aspecto hereditário, associado aos fatores ambientais, na etiologia de transtornos de sociabilidade ou de comportamentos. Os dados estudados trazem distinção entre o TEA não síndrômico ou idiopático e a síndrômico. Hoje, pode-se afirmar que diversos genes podem ser responsáveis por atividades neuronais a nível molecular, e podem estar associados com mudanças neurobiológicas que afetam as habilidades sociais, percepção sensorial e execução de tarefas^{7,10}.

Poucas mutações já foram identificadas como causa do TEA, mas a relação entre determinados rearranjos cromossômicos e a suscetibilidade do autismo já foi confirmada. Revisão de 15 estudos internacionais mostrou que 7,4 % dos pacientes autistas tinham anormalidades cromossômicas, e esses rearranjos sugerem outras regiões cromossômicas candidatas a serem estudadas. Além disso, outros pacientes autistas com rearranjos cromossômicos em regiões proximais ou distais já foram identificados recentemente².

Fatores que modulam a expressão dos genes, ou modificadores genéticos, provavelmente estão presentes no DNA dos pacientes que têm espectros opostos da doença. Assim, a herança genética do TEA pode ser poligênica e ter diversos modificadores genéticos, sendo 10% deles em forma de variação do número

de cópias (CNVs), além de mutações double-hit, influência epigenética, efeitos relacionados ao sexo, entre outros¹⁴.

O array-CGH (array comparative genomic hybridization) é usado para identificar CNVs. Com o avanço tecnológico dos estudos de cromossomos com base em microarray, foi possível identificar a prevalência das variações do número de cópias (CNVs). Assim, a análise por microarray cromossomal é importante e uma ferramenta essencial na investigação clínica de pacientes com autismo. Apesar disso, a interpretação clínica dessas alterações pode ser desafiadora em função do amplo espectro fenotípico dos pacientes. Uma justificativa para essas inconsistências pode estar relacionada a interações complexas de CNVs potencialmente patogênicas. Outros fatores dúbios no estudo dos casos podem ser efeitos específicos de gêneros ou fatores ambientais¹⁸.

O objetivo desse artigo foi discutir o diagnóstico do transtorno do espectro autista e a relevância da análise molecular por array-CGH (array-Comparative Genomic Hybridization), avaliando a variação genética encontrada no paciente e sua associação com o TEA.

RELATO DO CASO

Este estudo foi aprovado pelo CEP da Sociedade Evangélica Beneficente de Curitiba (no. 241.525). Foi realizada avaliação retrospectiva do prontuário do paciente com diagnóstico molecular confirmado de TEA utilizando-se a técnica de a-CGH na rotina de investigação clínico/laboratorial de laboratório de genética. Os dados foram coletados do prontuário e fornecidos pela família através da anamnese. As variáveis estudadas foram a história pregressa, as principais características do desenvolvimento, o material utilizado para diagnóstico, e os resultados obtidos através de a-CGH.

Paciente masculino, nasceu pesando 3.375 g, com estatura de 46 cm, e perímetro cefálico de 36 cm, que estava dentro dos padrões. Durante a gestação, a mãe apresentou descolamento de placenta, e utilizou antibióticos para o tratamento de infecção urinária. Na ecografia morfológica no segundo trimestre da gestação, foi detectado que o feto apresentava artéria umbilical única, sendo o ideal ele tivesse duas artérias umbilicais e uma veia,

Trabalho realizado na ¹Faculdade Evangélica Mackenzie do Paraná Curitiba, PR, Brasil; ²Genética – Centro de Aconselhamento e Laboratório de Genética, Curitiba, PR, Brasil

ORCID

Jéssica Braz Duarte 0000-0002-3907-0204
Naiara Bozza Pegoraro 0000-0003-0941-2194
Rie Tiba Maglioni 0000-0002-6518-3974
Isabelle Caroline Fasolo Normandia Moreira 0000-0002-2842-2489
Gabriela Esmanhoto Rodrigues 0000-0002-9158-5870
Ana Clara Kunz 0000-0002-5194-1340
Caroline Brandão Piai 0000-0002-9210-8654
Aline Sauzem Milano 0000-0002-9705-1036

Salmo Raskin 0000-0002-7191-0592
Lilian Pereira Ferrari 0000-0001-8680-8200
Liya Regina Mikami 0000-0003-1234-7549

DESCRIPTORES: Transtorno do espectro do autismo. Genética. Deficiência de glicose-fosfato desidrogenase.

HEADINGS: Autism spectrum disorder. Genetics. Glucosephosphate dehydrogenase deficiency.

Endereço para correspondência: Liya Regina Mikami
Endereço eletrônico: liyamikami@gmail.com

para adequada vascularização entre a mãe e o feto; porém, este achado isolado foi considerado sem conotação patológica. O parto foi cesariana realizado com 37 semanas devido à intercorrências com a mãe, que desenvolveu a doença hipertensiva específica da gestação e fez uso de metildopa para o controle da doença. O apgar no primeiro minuto foi de 3; em 5 m de 7 e em 10 m de 8. O recém-nascido apresentou parada cardiorrespiratória que necessitou de 2 ciclos de ventilação com pressão positiva para reanimação; evoluiu com gemência e esforço respiratório, sendo transferido para UTI neonatal. Devido ao baixo débito cardíaco e ao esforço respiratório, ele iniciou o uso de soro fisiológico para a expansão pulmonar, dopamina e dobutamina, mas após apresentou taquicardia e a medicação foi suspensa.

Durante a permanência na UTI teve quadro de infecção apresentando a contagem de plaquetas com valor de 190.000 mm^3 , e o volume globular de 37,5 fl. Fez tratamento com ampicilina e gentamicina durante 5 dias. Além disso, apresentou hipertensão pulmonar, sendo medicado com citrato de sildenafil, para melhorar a vasodilatação pulmonar. Com 3 dias estava icterico, com bilirrubina total de 11,7 mg/dL, sendo tratado com fototerapia. Apresentou oligúria, hipotensão e crise convulsiva, sendo tratado com soro fisiológico com furosemida, fenobarbital e dobutamina, respectivamente. Realizou-se ecocardiograma que demonstrou disfunção do ventrículo direito, em que foi utilizado óxido nítrico, prostaglandina E2 e dopamina, a fim de aumentar a vasodilatação dos pulmões. Com 5 dias, a gasometria mostrou-se alterada e ele apresentou hipoalbuminemia, realizando a correção com bomba de infusão contínua, albumina endovenosa e plasma. Devido à uma hemorragia pulmonar, recebeu também adrenalina, e infusão de plasma e plaquetas. Com 6 dias, não teve melhora do quadro de hemorragia pulmonar, quando foi então utilizado adrenalina em cânula endotraqueal, e, por conta da dosagem de bilirrubina total de 18,27 mg/dL, retornou à fototerapia. Com 7 dias iniciou cefepima durante 8 dias e sulfato de amicacina por 5 dias para controle da infecção. Com 8 dias apresentou febre, e novamente teve aumento na dosagem de bilirrubina total com valor de 19,4 mg/dL, retornando para fototerapia. Realizou ecografia abdominal, que demonstrou lama biliar, aumentando os riscos de litíase biliar. Com 10 dias houve melhoras no quadro de infecção, a contagem de plaquetas estava 267.000 mm^3 . Com 11 dias, necessitou de aumento da pressão de distensão contínua de vias aéreas para melhora da oxigenação. Recebeu alta com 18 dias com peso de 3.355 g, 50 cm e perímetro cefálico de 35 cm. Foi encaminhado para acompanhamento ambulatorial geral e especializado, com eletroencefalograma e vitamina D para uso contínuo.

No primeiro ano realizou fisioterapia para melhora da função motora pois apresentou dificuldades para andar, foi acompanhado por oftalmologista para tratamento do estrabismo e com o fonoterapeuta, pois apresentou dificuldades na fala.

Com 1 ano e 9 meses, ao exame físico ele apresentava dificuldades na fala, necessidade de ajuda para andar e estrabismo. Após realizar o exame laboratorial, foi identificada a deficiência de G6PD. O exame citogenético convencional apresentou cariótipo com resultado normal, porém a análise pelo método de α -CGH identificou perda intersticial no número de cópias na região 7q22.1. De acordo com o exame molecular, esta perda tem tamanho aproximado de 104 kb e envolve 2 genes CYTH3 e FAM220A.

Com 4 anos ele apresentava transtorno opositor desafiador. Retornando a consulta com 6 anos permanecendo sem falar, e obteve o diagnóstico de transtorno obsessivo compulsivo. Faz uso de melatonina para dormir, toma cloridrato de metilfenidato para estimulação do SNC, risperidona para tratamento do TEA e ácido fólico para o tratamento da deficiência de G6PD.

DISCUSSÃO

Tendo sido aplicada a técnica de hibridização genômica comparativa – a-CGH para análise molecular do paciente em estudo, foi possível detectar a presença de duas perdas intersticiais no número de cópias na região 7p22.1. Essa perda tem tamanho aproximado de 104 kb e envolve dois genes, CYTH3 e FAM220A.

O gene CYTH3, também conhecido como GRP1, ARNO3 e PSCD3, codifica um membro da família PSCD (homologia da pleckstrina, Sec7 e domínios da bobina enrolada), que parecem mediar a regulação da triagem de proteínas e do transporte de membranas através do complexo de Golgi⁹. Um estudo evidenciou que o fator de crescimento do nervo e o fator de crescimento epidérmico são dependentes deste gene. O fator de crescimento do nervo é um polipeptídeo envolvido na regulação do crescimento e diferenciação de neurônios simpáticos e sensoriais¹⁹. O fato do paciente ter a deleção do gene CYTH3, pode estar relacionado com quadro conhecido como “falha nos neurônios-espelhos”, que é comumente encontrado em pacientes com TEA¹¹. Os neurônios-espelhos são responsáveis pelo desenvolvimento da linguagem e aprendizado¹³, que estão prejudicados no paciente. O fator de crescimento epidérmico é um polipeptídeo biologicamente ativo, que ao ser administrado em fetos de animais, demonstrou evidências de hiperplasia epitelial das vias aéreas condutoras, principalmente traqueia e brônquios, e aumento da maturação pulmonar. Com estes achados o fator de crescimento epidérmico demonstrou ser um hormônio do crescimento humano¹⁶. A ausência do fator de crescimento epitelial, pode estar relacionada com a imaturidade pulmonar do paciente, que nasceu com esforço respiratório, gemência e necessitou de ventilação mecânica e medicação para a expansão pulmonar.

O gene FAM220A, codifica uma proteína que tem como função a ligação às proteínas da família STAT⁹, que são fatores de transcrição que participam do desenvolvimento e sobrevivência do embrião e de muitos processos celulares. Estas proteínas, ao serem fosforiladas com tirosina, ativam genes alvo sobre estimulação de citocinas e fatores de crescimento¹². Um estudo revelou alta taxa de expressão deste gene em diversas regiões cerebrais durante o período pré-natal, entre 15 a 21 semanas de gestação¹. A ausência do gene pode ter influência no atraso de desenvolvimento fetal, condizente com o quadro do paciente que apresentou baixo apgar, dificuldades respiratórias e baixo débito cardíaco, necessitando de UTI neonatal.

Estudo realizado com 8555 amostras de 570 doadores de 51 tecidos, mostra a expressão dos genes CYTH3 e FAM220A em uma variedade de tecidos do corpo humano, dentre eles, o cérebro⁶. Para o gene CYTH3 no total 531 amostras foram expressas no córtex, hipocampo e hipotálamo, que equivalem a 6,2% da expressão total deste gene nos tecidos⁴. Para o gene FAM220A a quantidade total foi de 1671 amostras expressas em áreas encefálicas e medulares, que representam 19,5% da expressão total deste gene⁵. Estes achados mostram a relação destes genes com o desenvolvimento neural e, portanto, são sugestivos de que os CYTH3 e FAM220A poderiam estar modulando os sinais clínicos do paciente, tendo em vista que foi observado atraso no desenvolvimento neuropsicomotor, necessitando de sessões de fisioterapias durante 1 ano, e atraso na linguagem.

Sabe-se que os eventos de fosforilação oxidativa são importantes para o bom desenvolvimento e funcionamento cerebral. Quando há mutações genéticas que resultam em alterações metabólicas, haverá estresse oxidativo que pode contribuir na patogênese do TEA. A deficiência de glicose-6-fosfato-desidrogenase (G6PD) é considerada um dos fatores que contribuem para o desequilíbrio

das reações metabólicas, aumentando o estresse oxidativo, além de causar danos no DNA e neurodegeneração, contribuindo para a patogênese do TEA. Isso ocorre porque um dos papéis dessa enzima é produzir o fosfato de dinucleótido de nicotinamida e adenina (NADPH), que é doador de elétrons e age na defesa contra agentes oxidantes. Baixos níveis de NADPH já foram associados com o autismo, o que sugere que a deficiência da G6PD pode contribuir para o desbalanço do estresse oxidativo na patogênese do TEA¹⁵. Além disso, a deficiência de G6PD ativaria microglias e astrócitos por uma cascata de sinalização que envolve citocinas e aumento de espécies reativas de oxigênio, que podem gerar neuroinflamação, que, em última instância, causa disfunção sináptica, hipomielinização e morte de neurônios⁸. A neuroinflamação já foi relacionada como uma das principais contribuintes de muitas doenças neurodegenerativas e condições neuropsiquiátricas³. Nesse sentido, já foram observados em tecido cerebral post-mortem de 11 indivíduos autistas processos neuroinflamatórios ativos no córtex cerebral, na substância branca e no cerebelo¹⁷. Entretanto,

o mecanismo completo da neuroinflamação na TEA ainda não foi totalmente elucidado⁸.

A G6PD também atua no metabolismo do ácido fólico, que usa na biossíntese a NADPH, sendo que sua deficiência gera diminuição do metabolismo desta vitamina, prejudicando o desenvolvimento do sistema nervoso e a formação de sinapses, o que gera diminuição das funções cognitivas, contribuindo para o surgimento de doenças neurológicas⁸. Ademais, a deficiência dele resulta no aumento do estresse oxidativo do eritrócito, diminuindo sua sobrevivência e provocando hemólise e anemia hemolítica. Com o aumento dos componentes presentes nessa célula no plasma, há o aumento da bilirrubina, provocando também anemia hemolítica e icterícia, como visto no paciente deste estudo²⁰.

Por fim, o presente caso clínico permitiu explorar a importância dos exames genéticos, como o array-CGH, no diagnóstico do TEA na infância. Também foi possível verificar a necessidade de investigação de alterações comportamentais em pacientes com deficiência de G6PD, uma vez que podem ser consequência do TEA.

REFERÊNCIAS

1. BRAINSPAN. Atlas of The Developing Human Brain. Disponível em: ><http://www.brainspan.org/lcm/gene/58984>< Acessado em: 06/12/2021
2. Cukier H, Skaar D, Rayner-Evans M, Konidari I, Whitehead P, Jaworski J et al. Identification of chromosome 7 inversion breakpoints in an autistic family narrows candidate region for autism susceptibility. *Autism Research*. 2009;2(5):258-266.
3. Eissa N, Sadeq A, Sasse A, Sadek B. Role of Neuroinflammation in Autism Spectrum Disorder and the Emergence of Brain Histaminergic System. *Lessons Also for BPSD? Frontiers in Pharmacology*. 2020;11.
4. GTEx Portal. Gence Tissue Expression. Disponível em: >http://genome.ucsc.edu/cgi-bin/hgc?hgsid=636974833_rqSXinon2JsuX2P9a1hZLjEjFq4S&c=chr7&l=6172213&r=6276140&o=6161775&t=6272644&g=gtxGene&i=CYTH3< Acessado em: 06/12/2021.
5. GTEx Portal. Gence Tissue Expression. Disponível em: >http://genome.ucsc.edu/cgi-bin/hgc?hgsid=641418313_jQLWDhDt9hWEpFhhvgAggL9TTnNt&c=chr7&l=6331214&r=6348758758&o=6348981&g=gtxGene&i=FAM220A< Acessado em: 06/12/2021.
6. GTEx Portal. Gence Tissue Expression. Disponível em: >http://genome.ucsc.edu/cgi-bin/hgTracks?db=hg38&lastVirtModeType=default&lastVirtModeExtraState=&virtModeType=default&virtMode=0&nonVirtPosition=&position=chr7%3A6307310-6411236&hgsid=636974833_rqSXinon2JsuX2P9a1hZLjEjFq4S< Acessado em: 06/12/2021.
7. Leyser M, Dias B, Coelho A, Vasconcelos M, Nascimento O. 12p deletion spectrum syndrome: a new case report reinforces the evidence regarding the potential relationship to autism spectrum disorder and related developmental impairments. *Molecular Cytogenetics*. 2016;9(1).
8. Mondal A, Mukherjee S, Dar W, Singh S, Pati S. Role of glucose 6-phosphate dehydrogenase (G6PD) deficiency and its association to Autism Spectrum Disorders. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease*. 2021;1867(10):166185.
9. NCBI. National Center for Biotechnology Information. Disponível em: ><https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/84792><. Acessado em: 06/12/2021.
10. Pardo C, Eberhart C. The Neurobiology of Autism. *Brain Pathology*. 2007;17(4):434-447.
11. Ramachandran, V.; Oberman L.. Broken Mirror: A Theory of Autism. *Scientific American*. 2006, 55, 53-59.
12. Ren, Fangli; Geng, Yongtao; Minami, Takayuki; Qiu, Ying; Feng, Yarui; Liu, Chunxiao et al. Nuclear termination of STAT3 signaling through SIPAR (STAT3-Interacting Protein As a Repressor)-dependent recruitment of T cell tyrosine phosphatase TC-PTP. *FEBS Letters*. 2015, 589(15): 1890-1896.
13. Rizzolatti, Giacomo; Craighero, Laila. The Mirror-Neuron System. *Annu. Rev. Neurosci*. 2004, 27:169-92.
14. Rylaarsdam L, Guemez-Gamboa A. Genetic Causes and Modifiers of Autism Spectrum Disorder. *Front Cell Neurosci*. 2019;13:385.
15. Shimojima, Keiko; Narai, Satoshi; Togawa, Masami; Doumoto, Tomotsune; Sangu, Noriko; Vanakker, Olivier et al. 7p.22.1 microdeletions involving ACTB associated with developmental delay, short stature, and microcephaly. *European Journal of Medical Genetics*. 2016, 59:502-506
16. Sundell, Hakan; Gray, Mary; Serenius, Fredrik; Escobedo, Marilyn; Stahman, Mildred. Effects of Epidermal Growth Factor on Lung Maturation in Fetal Lambs. *Am J Pathol*. 1980, 100 (3): 707-725.
17. -Vargas D, Nascimbene C, Krishnan C, Zimmerman A, Pardo C. Neuroglial activation and neuroinflammation in the brain of patients with autism. *Annals of Neurology*. 2004;57(1):67-81.
18. Velinov M. Genomic Copy Number Variations in the Autism Clinic—Work in Progress. *Frontiers in Cellular Neuroscience*. 2019;13.
19. Venkateswarlu, K.; Gunn-Moore, F.; Oatey, P. B.; Tavaré, J. M.; Cullen, P. J. Nerve growth factor- and epidermal growth factor-stimulated translocation of the ADP-ribosylation factor-exchange factor GRP1 to the plasma membrane of PC12 cells requires activation of phosphatidylinositol 3-kinase and the GRP1 pleckstrin homology domain. *Biochem. J*. 1998, 335: 139-146.
20. Watchko J. Refractory Causes of Kernicterus in Developed Countries: Can We Eradicate G6PD Deficiency Triggered and Low-Bilirubin Kernicterus?. *Current Pediatric Reviews*. 2017;13.