

Doenças autossômicas recessivas

Doença de Wilson (MIM 277900)

Apresentação de um caso

R.D.I. (III-9 da Figura 15.1), sexo feminino, 29 anos de idade. Aos 25 anos, instalaram-se tremores que se generalizaram bilateralmente, atingindo membros superiores, cabeça, lábios e língua, com disartria ocasional.

O exame físico revelou tremor labial e hipomímia com desaparecimento quase total dos sulcos nasogenianos e frontais. O fígado era palpável e doloroso. Havia hipertonia dos músculos extensores do membro superior esquerdo e dos flexores do membro superior direito e dos membros inferiores, de tipo plástico; tremor alternante, com características parkinsonianas; e hiper-reflexia muscular nos quatro membros.

A presença do anel de Kayser-Fleischer era questionável e não pôde ser confirmada por exame com lâmpada de fenda.

Exames laboratoriais: cobre sérico total, $60 \mu\text{g}/100 \text{m}\ell$ (normal: $115 \pm 35 \mu\text{g}/100 \text{m}\ell$); ceruloplasmina sérica $15 \text{mg}/100 \text{m}\ell$ (normal: $34 \pm 11 \text{mg}/100 \text{m}\ell$); albuminúria maciça.

A paciente faleceu de broncopneumonia bilateral. O exame anatomopatológico revelou: no fígado, cirrose e grande acúmulo de pigmento cúprico; uma dosagem nesse órgão revelou $190 \mu\text{g}$ de cobre/g de tecido úmido, concentração essa cerca de 20 vezes superior à normal; no cérebro, assimetria dos hemisférios e dilatação dos prolongamentos frontais dos ventrículos laterais, por atrofia do núcleo caudado. O exame microscópico dos núcleos da base do cérebro revelou hiperplasia difusa da glia astrocitária com formação de astrócitos gigantes (glia de Alzheimer).

Na irmandade da paciente, ocorreram mais três casos da doença (Figura 15.2). Os pais da paciente não são consanguíneos, mas provêm ambos de famílias judias originárias de regiões próximas da costa mediterrânea.

Firmou-se o diagnóstico de doença de Wilson.

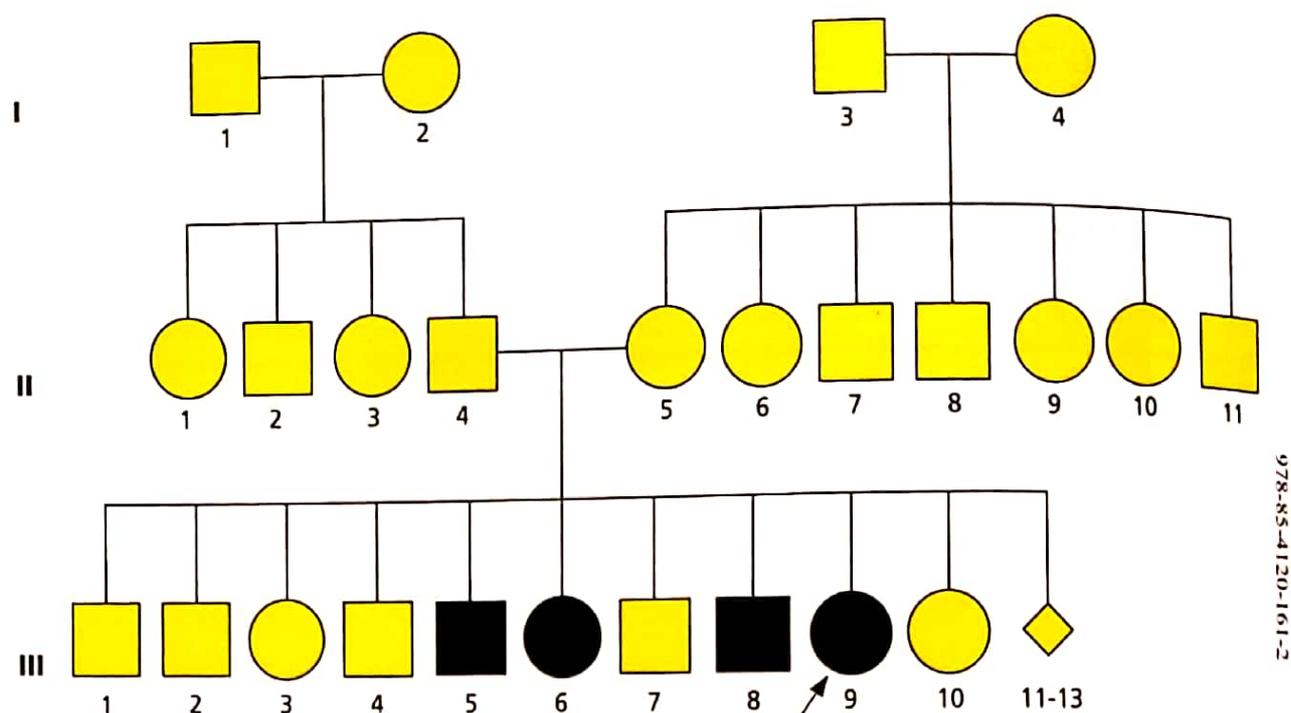


Figura 15.1 – Heredograma de uma família com quatro casos de doença de Wilson (Bozoti et al., 1970).

Aspectos clínicos

A doença de Wilson é uma afecção rara, ocorrendo na população geral em frequências que variam de 1/30.000 a 1/50.000 ou menos, caracterizada por cirrose hepática associada a sinais clínicos extrapiramidais graves devidos à degeneração dos núcleos da base do cérebro e a anel corneano de Kayser-Fleischer. Resulta de um distúrbio do metabolismo do cobre que provoca sua retenção no organismo.

Existem uma forma juvenil e outra adulta. Na juvenil, a evolução é rápida, com distonia e comprometimento hepático grave. Na forma adulta ou pseudoesclerótica, por outro lado, a evolução é lenta (várias décadas, mesmo em pacientes não tratados), predominam as manifestações neurológicas principalmente extrapiramidais (tremores, disartria e deterioração mental progressiva) e, geralmente, a cirrose hepática só pode ser demonstrada por exames de imagem e provas de laboratório.

A doença de Wilson é incluída entre os erros inatos de metabolismo, pois resulta de um distúrbio que diminui de modo drástico a eficiência do sistema apoceruloplasmina-proteína (apoceruloplasmina-ceruloplasmina), que atua no transporte do cobre. A ceruloplasmina é uma alfa-2-globulina sérica que resulta da união, no fígado, do cobre com a apoceruloplasmina.

Após sua absorção no trato gastrointestinal, o cobre alimentar associa-se frouxamente à albumina, enquanto não se liga à apoceruloplasmina, transformando-a em ceruloplasmina. Na doença de Wilson, devido a mutações recessivas diversas no gene de uma proteína do tipo ATPase transportadora de íons cúpricos que a inativam, a ATP7B (detalhes adiante, em Aspectos Genéticos), o cobre é transferido em proporções muito baixas para moléculas recém-sintetizadas de apoceruloplasmina, o que determina

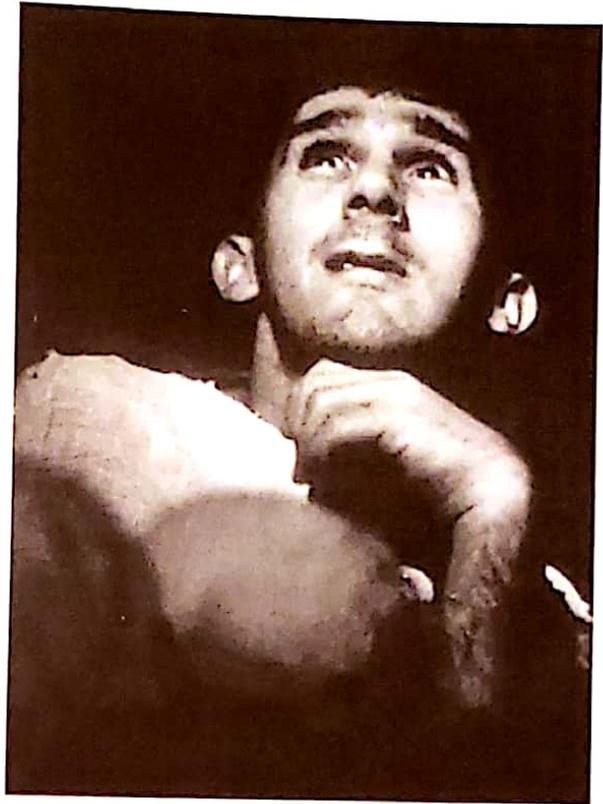


Figura 15.2 – Paciente com doença de Wilson (indivíduo III-8 da Figura 15.1).

hipoceruloplasminemia. Conseqüentemente, permanece o cobre em grande parte ligado à albumina (“cobre livre”), como mostrado na Figura 15.3.

Na doença de Wilson, existe déficit na excreção biliar do cobre (pois é a ceruloplasmina que normalmente o transporta para ser excretado através da bile, como mostra a Figura 15.3), os íons do metal se acumulam no fígado e no soro, depositando-se com

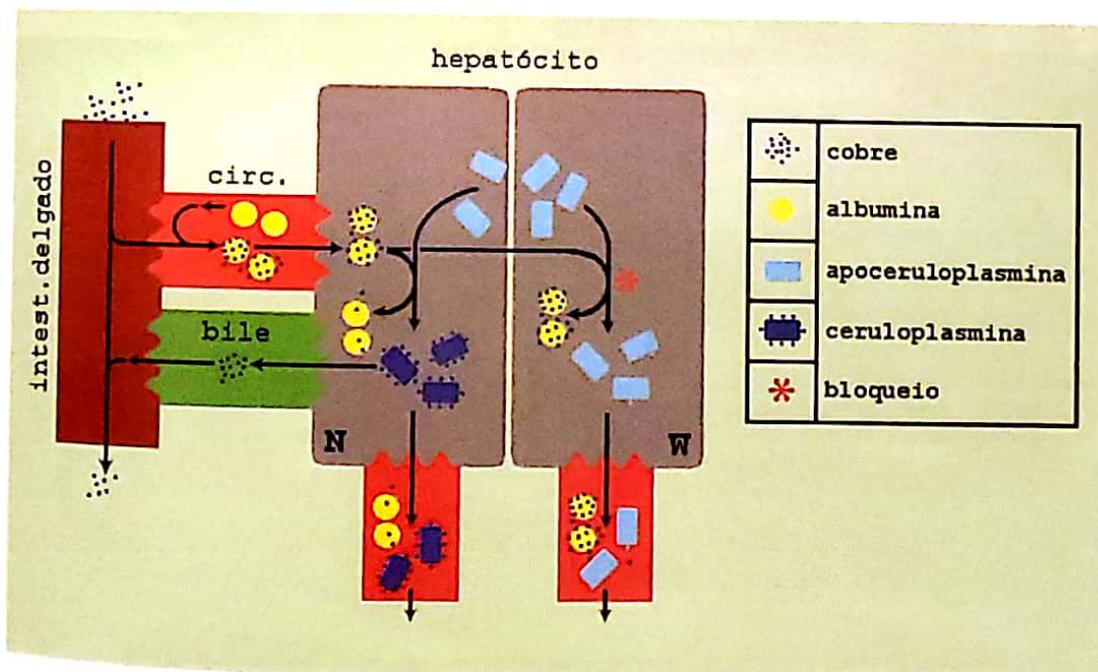


Figura 15.3 – Transporte do cobre em indivíduos normais (N) e em pacientes com doença de Wilson (W). O asterisco indica o local provável do bloqueio metabólico.

intensidade variável em praticamente todos os tecidos do organismo. A ceruloplasmina em condições normais também é responsável pelo transporte específico e transferência do cobre para enzimas com função oxidativa que normalmente o contêm, como a citocromo-oxidase, de modo que, na doença de Wilson, os níveis de enzimas com atividade oxidativa encontram-se reduzidos, além da hipoceruloplasminemia.

Por meio de um mecanismo ainda desconhecido em seus detalhes, a consequência mais importante desse defeito é a deposição do cobre no organismo em quantidades elevadas, pois o cobre livre é captado pelas proteínas dos tecidos. Daí ser característica da doença uma hipocupremia total com aumento relativo da fração cúprica livre. Os sinais patológicos da doença de Wilson resultam do acúmulo de cobre nos diversos órgãos.

O anel de Kayser-Fleischer, de coloração castanho-esverdeada, localiza-se na membrana de Descemet da córnea, e se origina da associação do cobre com proteínas aí existentes; apesar de estar presente em somente 2/3 dos pacientes, é praticamente patognomônico da doença, entretanto podendo surgir em outras hepatopatias colestáticas (Figura 15.4). Visível e de certa maneira inconfundível nos indivíduos com coloração clara das íris (azul ou cinza), o anel é detectado com segurança, quando presente em indivíduos com íris escuras, pelo exame oftalmológico com lâmpada de fenda.

É questionável o papel direto do cobre na gênese da cirrose hepática (Figura 15.5), pois a presença do metal só pode ser demonstrada por métodos histoquímicos em lóbulos danificados do órgão. A lesão hepática da doença de Wilson parece resultar, como sugerem estudos de microscopia eletrônica, da liberação, no interior dos hepatócitos, de hidrolases ácidas dos lisossomos que sofrem ruptura, devido a grande acúmulo de cobre em seu interior (Figura 15.6).

Os sinais neurológicos da doença de Wilson mostram semelhanças com os efeitos da intoxicação experimental por metais pesados; os astrócitos cerebrais proliferam (glia astrocitária gigante de Alzheimer), englobando o cobre (Figura 15.7).



Figura 15.4 – Paciente com doença de Wilson: a faixa acinzentada (seta) que acompanha a borda da íris é o anel de Kayser-Fleischer.



Figura 15.5 – Corte histológico do fígado de paciente com doença de Wilson, mostrando cirrose.

Nos pacientes, surgem sinais laboratoriais relativos ao aparelho urinário, resultantes de intoxicação e bloqueio enzimático nos túbulos renais, produzidos pelo cobre. A hipercuprúria, que é sempre observada na doença, resulta provavelmente da excreção do metal associado a oligopeptídeos e proteínas em grande quantidade juntamente com

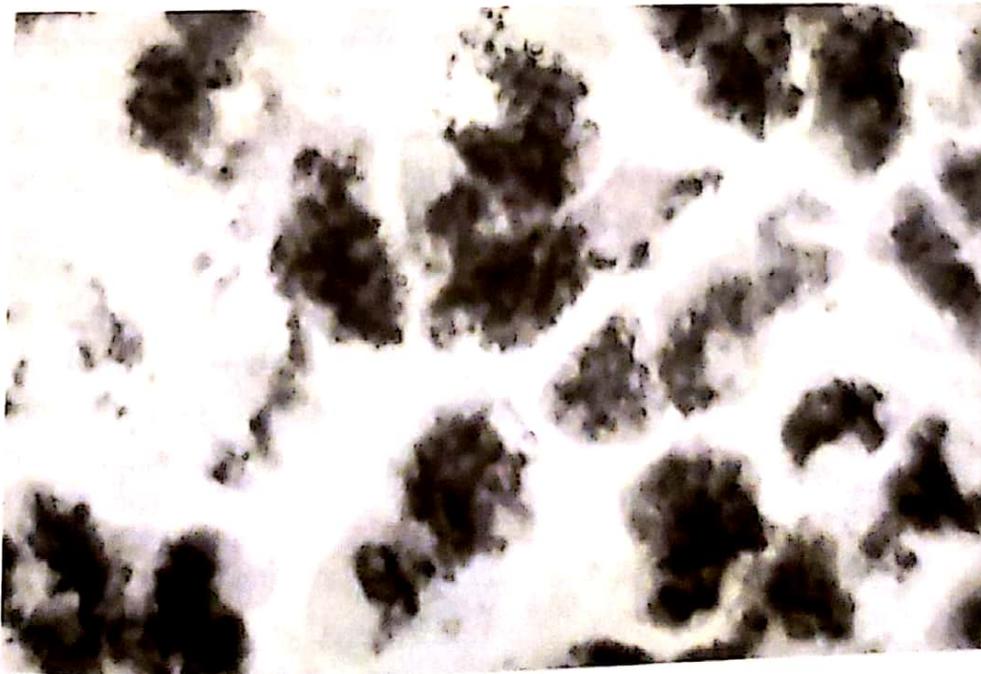


Figura 15.6 – Demonstração histoquímica, em corte histológico de fígado de paciente com doença de Wilson, da presença de cobre (grânulos escuros), revelada pela coloração com hematoxilina de Mallory (preparação do Dr. C. A. Basilio de Oliveira, Departamento de Anatomia Patológica, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro).

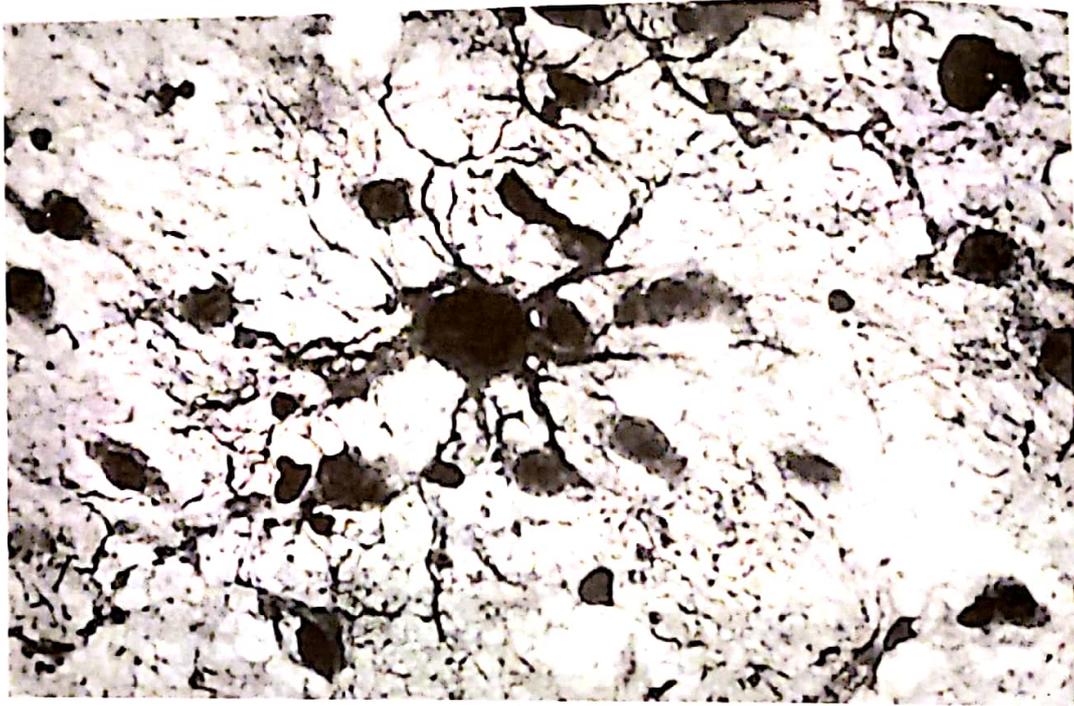


Figura 15.7 – Corte histológico de um gânglio da base do cérebro de paciente com doença de Wilson, mostrando um astrócito gigante de Alzheimer (preparação do Dr. C. A. Basilio de Oliveira, Departamento de Anatomia Patológica, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro).

aminoácidos, fosfato, cálcio, urato e bicarbonato, devido a uma insuficiência generalizada na reabsorção tubular.

A doença de Wilson pode ser diagnosticada em estágios pré-clínicos (em irmandades nas quais apareceram casos da doença, por exemplo), mediante dosagens de cobre e de ceruplasmina no plasma e biópsia hepática com determinação do conteúdo cúprico. Por sua simplicidade, esses testes são ainda hoje os mais usados, apesar da existência de testes mais decisivos, como os moleculares (genotipagem), discutidos rapidamente no tópico seguinte (Aspectos Genéticos), e os que usam isótopos radioativos. Estes últimos consistem na medição de radioatividade nas frações de proteínas séricas obtidas por eletroforese ou por precipitação seletiva com soluções saturadas de sulfato de amônio, em amostras de sangue colhidas durante as primeiras 24 h após administração de um isótopo radioativo do cobre. Os pacientes apresentam deficiência em transferir o cobre da fração albumina para a fração alfa-2-globulina, a qual começa a se revelar 2 h depois da administração do isótopo, é nítida 5 h depois e totalmente evidenciada no final das 24 h.

O tratamento, que costuma ter efeitos impressionantes mesmo em casos relativamente avançados e graves da doença, é feito na base de dieta com exclusão de constituintes com alto conteúdo de cobre (castanhas, nozes, cogumelos, crustáceos, feijão, chocolate), administração de sais de zinco (que impedem ou diminuem drasticamente a absorção do cobre) e de agentes quelantes, como a penicilamina, que tratam de remover o metal ionizado de seus depósitos teciduais, forçando a sua excreção pela urina.

Aspectos genéticos

A doença de Wilson é determinada por mutações autossômicas recessivas, em homozigose ou heterozigose composta, no gene *ATP7B*, como mostra a recorrência em irmandades produzidas por casais normais. A consanguinidade parental está nitidamente aumentada na doença: quase sempre os progenitores de afetados são consanguíneos.

Os afetados são, com certa frequência, judeus de origem polonesa ou russa, ou provêm da área mediterrânea, principalmente da Itália meridional.

Não existem evidências de heterogeneidade genética (devida a locos diferentes) na doença de Wilson, pois todas as ocorrências aparentemente resultam de mutações em um único gene, o *ATP7B*, localizado no cromossomo 13. As formas juvenil (predominantemente hepática) e adulta (predominantemente neurológica) podem ser produzidas pela homozigose de um mesmo alelo, ou seja, de mesma mutação, ou pela mesma combinação, em heterozigose, de duas mutações distintas (heterozigose composta), segregando em uma irmandade.

Pelo teste do cobre radioativo, detectam-se os heterozigotos em alta porcentagem dos pacientes, pois eles transferem o cobre da albumina para a ceruloplasmina com intensidade intermediária entre a dos indivíduos normais e a dos afetados. A detecção de heterozigotos pela dosagem da ceruloplasmina plasmática é precária, pois somente cerca de 20% deles apresentam níveis baixos da proteína. A identificação molecular das mutações é relativamente trabalhosa, por ser enorme o número de mutações diferentes já descritas nesse gene (mais de 300), que é relativamente extenso (com 21 éxons). No entanto, é absolutamente decisiva na identificação de heterozigotos. Sob o ponto de vista prático, contudo, o importante é o diagnóstico pré-clínico de homozigotos que, como já visto, não apresenta dificuldades.

O gene da doença de Wilson, *ATP7B*, está localizado no cromossomo 13 (13q14.3-q21.1), em íntima ligação com os locos da esterase D e do retinoblastoma (Rb1). Trata-se do gene do polipeptídeo beta da ATPase transportador de íons cúpricos Cu^{++} . No Brasil, a mutação mais encontrada é a c.3402delC (p.A1135fs). Outra mutação frequente no país é a p.L708P, e ambas correspondem a cerca de 50% das mutações observadas em amostra brasileira (Deguti *et al.*, 2004). Outras mutações são mais comuns em outros agregados populacionais: por exemplo, uma mutação comum entre pacientes de origem inglesa é a p.H1069Q; entre pacientes de origem chinesa, uma mutação bastante encontrada é a p.R778L. Devido ao número muito grande de mutações diferentes já observadas, uma parte considerável dos afetados são heterozigotos compostos (possuindo duas mutações patogênicas diferentes, em vez de uma só em estado homozigótico). Ainda pelo número excessivo de mutações e de suas combinações possíveis em homozigose ou heterozigose composta, ainda não foi possível estabelecer a existência de correlações entre o genótipo e o quadro clínico dos afetados. A genotipagem atualmente é executada de rotina por poucos laboratórios especializados (um dos quais situado no Brasil, no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo).

Diagnóstico diferencial

As formas clínicas da doença de Wilson não plenamente desenvolvidas podem ser confundidas com enfermidades hepáticas ou neurológicas que exibem manifestações

semelhantes. No primeiro grupo, podem ser citadas a cirrose hepática e a atrofia amarela do fígado. No segundo grupo, a doença de Parkinson, o parkinsonismo encefalítico, a esclerose múltipla, a síndrome de Little, enfermidades coreicas, encefalites em geral, doença de Hallervorden-Spatze, doença de Pelizaeus-Merzbacher, síndrome lenticular por anoxia, síndrome de Unverricht e síndrome de Ziehen-Oppenheim.

Aconselhamento genético

O risco de recorrência da doença para um irmão de afetado é de 25%. Como ela é detectável em estágios pré-clínicos, em todos os irmãos jovens de pacientes com doença de Wilson devem ser realizadas dosagens do cobre e da ceruloplasmina no soro, complementadas, eventualmente, por biópsia hepática, visando à determinação do conteúdo cúprico tecidual, para a instituição imediata, nos afetados revelados pelos exames, de uma terapêutica precoce, capaz de impedir ou deter o desenvolvimento da doença de maneira geralmente espetacular.

Fibrose cística (MIM 219700)

Fibrose cística, também conhecida pelo nome de mucoviscidose, é uma doença sistêmica resultante de um defeito genético na excreção de água e eletrólitos (sódio e cloro) das glândulas exócrinas. Direta ou indiretamente, isso resulta em um espessamento patológico das secreções, ocorrendo bloqueio mecânico da função exócrina do pâncreas com fibrose cística do órgão e comprometimento progressivo de todas as suas funções, incluindo a endócrina (o diabetes constitui uma complicação frequente e grave). Além de insuficiência pancreática grave, responsável relevante pela deficiência em ganho pondero-estatural dos afetados, os pacientes manifestam infecções broncopulmonares rebeldes à antibioticoterapia e que costumam evoluir para um quadro de enfisema pulmonar. As glândulas intestinais também são afetadas, sendo o íleo meconial um achado frequente em crianças pequenas (adolescentes e adultos costumam apresentar obstrução intestinal distal). Surgem ainda problemas na excreção biliar (espessamento da bile e estenose do conduto excretor), com consequente instalação de cirrose biliar. As glândulas sudoríparas também são afetadas, com perda de água e eletrólitos (o achado de suor salgado, rico em cloreto de sódio, faz parte de descrições clínicas antigas de fibrose cística). Comumente, os afetados de ambos os sexos são inférteis. As mulheres, porque apresentam tamponamento cervical por muco espesso. Os homens, porque apresentam defeitos congênitos (agenesia bilateral dos ductos deferentes; a produção de espermatozoides, no entanto, é normal).

A doença é determinada por mecanismo autossômico recessivo, sendo causada pela homozigose ou heterozigose composta de mutações patogênicas, ocorrendo no gene *CFTR* (gene da fibrose cística, regulador da condutância transmembrânica) em 7q31.2. A proteína codificada por esse gene funciona como canal de cloro e regula outras vias importantes de transporte da célula. Já foram descritas mais de mil variedades distintas de mutações nesse loco, mas, na maioria das vezes, os afetados (2/3 de todos os casos mundiais e mais de 90% dos afetados nos Estados Unidos) exibem a mutação $\Delta F508$

ou p.F508del, deleção de três nucleotídeos que determina a perda de um resíduo do aminoácido fenilalanina na molécula da proteína CFTR.

Casos clínicos mais benignos descritos em pacientes mais velhos parecem resultar de certas combinações de mutações menos deletérias em heterozigose composta, mas o quadro clínico costuma ser, via de regra, muito grave. Cerca de 80% manifestam sinais conspícuos de insuficiência pancreática e mais de 90% são portadores de doença hepática.

Embora o defeito tenha frequência relativamente baixa (da ordem de 1/20.000 ou menos) em populações de origem africana, ameríndia e asiática, curiosamente a incidência da fibrose cística em crianças recém-nascidas de origem europeia (entre europeus do norte, em especial ingleses e irlandeses e seus descendentes nos Estados Unidos e Austrália) é muito alta, ocorrendo em taxas que foram estimadas entre 1/3.000 e 1/4.000. Esse fenômeno é explicado pela elevada frequência de heterozigotos, nessas populações, principalmente com a mutação p.F508del. As frequências alélicas são da ordem de 2%, o que indica frequência de heterozigotos (portadores normais do gene) da ordem de 4% em algumas localidades. Isso levantou a hipótese de que a mutação p.F508del pudesse conferir aos heterozigotos alguma vantagem seletiva em relação à infecção por *Salmonella typhi*, de modo análogo ao que ocorre com heterozigotos com a mutação que causa a anemia falciforme e a malária. O gene *CFTR* codifica um canal de cloro, que parece ser necessário para que a *Salmonella* consiga infectar uma célula.

Embora essa frequência já pudesse justificar a aplicação de testes moleculares em nível populacional, os esforços têm se concentrado no desenvolvimento de projetos de detecção do defeito em berçário. Nos Estados Unidos e no Reino Unido, há regiões que já praticam a triagem universal dos recém-nascidos. Os métodos utilizados baseiam-se na medida de tripsina imunoreativa (IRT). Outros testes de triagem ainda são utilizados, como medidas da concentração de cloro presente no suor, obtido por meio de iontoforese com pilocarpina. Concentrações de cloro acima de 60 mM/l são altamente indicativas da condição. A detecção do defeito em recém-nascidos por testes de mutações no DNA ainda é inviável, por causa da enorme dificuldade de rastreamento de todos os tipos de mutações diferentes em homozigose ou heterozigose composta que podem levar à doença.

Apesar da gravidade da doença, as medidas terapêuticas têm obtido sucesso significativo: por exemplo, nos Estados Unidos, a longevidade média dos afetados por fibrose cística elevou-se de menos de um ano, no final da década de 1950 até um pouco mais de 30 anos, no final da última década.

O tratamento dos afetados abrange, desde medidas mais ou menos tradicionais, como o uso extensivo de antibióticos e mucolíticos e transplante de órgãos (inclusive de pulmões, em pacientes com doença pulmonar terminal), até técnicas modernas de biologia molecular, como a utilização de desoxinucleases para diminuir a consistência do escarro e a transferência (via nebulização), por meio de adenovírus, do gene normal para o epitélio das vias aéreas. A maioria dessas técnicas já é empregada, apesar de se encontrar ainda em fase claramente experimental, sem comprovação de eficácia em todos os casos, o que se justifica pelo pouco valor terapêutico das medidas usadas tradicionalmente.

Anemia falciforme (MIM 603903)

Trata-se de uma anemia hemolítica grave, causada pela homozigose de uma mutação patogênica específica, mutação de ponto no gene da cadeia beta da hemoglobina, de herança autossômica recessiva, cujo loco (gene da betaglobina ou *HBB*) está situado em 11p15. O defeito resulta de única substituição de base na molécula do DNA, o que faz com que um resíduo do aminoácido ácido glutâmico (hidrofílico) seja substituído, na posição 6 (contada a partir da extremidade com o grupamento amínico livre) da cadeia beta (β), por um de valina (hidrofóbico). Devido a essa substituição, a hemoglobina resultante (hemoglobina S ou HbS), sem um aminoácido polar na estratégica posição 6, sofre um processo de polimerização não covalente sob baixas tensões de oxigênio, precipitando-se ou cristalizando-se de maneira anormalmente regular e formando fibras rígidas muito longas, responsáveis não só pelo fenômeno da falcização (deformação das hemácias, que adquirem aspecto irregular de “foice”, criação poética dos hematologistas que observaram o fenômeno pela primeira vez) como também pela perda progressiva da elasticidade e pelo rompimento de sua membrana (hemólise). Enquanto hemácias normais possuem uma sobrevida média da ordem de 100 dias, as hemácias de afetados pela anemia falciforme costumam ter vida média inferior a 20 dias.

As hemácias dos afetados, deformadas e sem a elasticidade normal de sua membrana, não conseguem atravessar os capilares mais finos e, com isso, desencadeia-se, nessas áreas, um processo em cascata com hemólise e fenômenos tromboembólicos graves com áreas de isquemia (e mais falcização) e infarto, necrose, ulceração e infecção (no caso de capilares muito próximos à derme) e suas consequências. Por isso, a anemia falciforme é uma doença sistêmica caracterizada por crises hemolíticas graves e proliferação vicariante de focos extramedulares de hematopoiese, doença esplênica com esplenomegalia e crises de sequestramento, e fenômenos vaso-oclusivos com isquemia, infartos, priapismo em afetados masculinos, quadros abdominais e torácicos dolorosos agudos, feridas, ulcerações e infecções.

O tratamento, que tem aumentado a sobrevida dos afetados e melhorado o prognóstico da doença, inclui transfusões de sangue, administração de ácido fólico e de antibióticos, aplicação de medidas sintomáticas emergenciais, em geral em crises oclusivas, hemolíticas e dolorosas, e transplante de medula óssea.

Os portadores heterozigotos do gene são clinicamente normais e apenas em condições excepcionais podem mostrar sinais de crises hemolíticas, quase sempre leves: episódios de desidratação grave, práticas de montanhismo em regiões muito altas e fenômenos de despressurização súbita (como os que podem suceder em aviões durante voos transoceânicos a grandes altitudes) são algumas dessas situações.

Dá-se o nome de hemoglobina A (HbA) àquela com duas cadeias alfa e duas beta normais, codificadas por alelos selvagens em dois locos, e o nome de hemoglobina S (HbS) àquela com cadeias alfa normais e cadeias beta codificadas pelo alelo mutado, responsável em homozigose pela anemia falciforme. Os heterozigotos quanto ao gene, que têm em suas hemácias uma mistura dos dois tipos de hemoglobina (A e S), são favorecidos em ambiente com malária. Uma das hipóteses para explicar esse favorecimento seria a de que o plasmódio não consegue completar o seu ciclo em hemácias

com hemoglobina S. Sob o estresse proporcionado pelo parasitismo, as hemácias falcizam ou hemolisam, tendo, portanto, vida média muito mais curta que as hemácias sem hemoglobina S. O alelo da HbS teve sua frequência aumentada em áreas historicamente endêmicas para a malária, em especial as da África equatorial (o que explica a alta prevalência do traço entre negros africanos) e, em menor escala, na orla do Mediterrâneo e na Índia.

Em certas regiões da África ocidental, a frequência de afetados homozigotos é, ainda hoje, da ordem de 2 a 4%, o que equivale grosseiramente à frequência do alelo da anemia falciforme da ordem de 7 a 20% e à frequência de heterozigotos de 13 a 30%. Nos Estados Unidos e no Brasil, a frequência do alelo que causa a anemia falciforme, apesar de significativamente maior que em grupos populacionais originários da Europa e Ásia, é muito menor que a observada na África equatorial (região subsahariana). Nas Américas, apesar de existir malária até recentemente, não ocorreu o efeito protetor dos heterozigotos, e o alelo da HbS é eliminado, como em um modelo de seleção contra homozigotos recessivos apenas. Além disso, os afrodescendentes tanto norte-americanos como brasileiros constituem, na realidade, aglomerados populacionais com aporte significativo de genes de origem europeia (30 a 50% de contribuição genética de origem europeia), e a frequência do alelo da anemia falciforme nesse grupo (em especial no de origem norte-europeia), é baixa. Apesar de os efeitos simultâneos de seleção e de diluição do alelo mutado em afro-descendentes americanos, a incidência de homozigotos quanto à mutação da anemia falciforme foi estimada, entre recém-nascidos de ascendência africana, em cerca de 1/500, o que equivale à frequência populacional de heterozigotos da ordem de 1/12. Frequências semelhantes de heterozigotos já foram observadas em comunidades parcialmente isoladas de populações afro-brasileiras.

Essa frequência alta de heterozigotos quanto ao alelo que causa o defeito justifica plenamente a detecção do traço por meio de testes de rotina simples, como a prova de falcização com metabissulfito e a eletroforese de proteínas. Nos Estados Unidos, além desses testes de detecção de heterozigotos em afro-descendentes (também opcionalmente indicados a descendentes de mediterrâneos e de indianos, entre outros), testes de triagem de homozigotos em berçário já são executados de rotina pelos hospitais da maioria dos estados. No Brasil, observa-se que, em diversas regiões do país, o estudo da hemoglobina S está incluído nos programas rotineiros de triagem neonatal, chamados popularmente de "teste do pezinho".

Como todos os casos de anemia falciforme se devem a um único tipo de mutação em homozigose, portanto, de herança recessiva, o risco de recorrência em irmandades de afetados é de 25%.

Talassemia alfa (MIM 604131)

A talassemia alfa resulta de alterações nos genes *HBA1* e *HBA2* (locos 1 e 2 da alfa-globina) em 16p13.3 ou nos elementos reguladores de sua expressão. Já foram identificadas nesses dois locos sintênicos (com localização vizinha no cromossomo) cerca de 300 alterações patogênicas distintas (mais de 200 no loco *HBA1*). As mutações

que causam talassemia alfa são, principalmente, as deleções de genes inteiros, seguidas de diversas mutações de ponto (substituições que acarretam mutações de sentido errado e códons de parada prematuros) e também podem ser alterações nas imediações do aglomerado gênico das alfa-globinas no cromossomo 16 que afetam a região regulatória e determinam diminuição ou abolição de sua atividade funcional.

A talassemia alfa é muito heterogênea e distinguem-se pelo menos quatro variedades que correspondem à inativação funcional de apenas um dos alelos até a de todos os quatro alelos nos dois locos das alfa-globinas.

A forma mais grave (talassemia alfa *major*, alfa-zero-talassemia ou doença da hemoglobina Bart), representada como --/--, resulta da homozigose de deleções ou outras mutações patogênicas (cerca de 20 diferentes identificadas até o momento) responsáveis pela abolição total da atividade funcional de ambos os genes *HBA1* e *HBA2*. Não havendo formação de nenhuma cadeia alfa, isso torna impossível a formação das hemoglobinas A₁ (duas cadeias alfa + duas cadeias beta), A₂ (2 alfa + 2 delta) e F ou fetal (2 alfa + 2 gama), formando-se apenas um tetrâmero de quatro cadeias gama (hemoglobina Bart). Os conceptos afetados desenvolvem um quadro hemolítico grave que culmina com um estado de hidropsia fetal (*hydrops foetalis*) incompatível com a vida.

Na forma conhecida como doença da hemoglobina H, três dos alelos encontram-se inativados (α /--). Por causa da depleção significativa da produção de cadeias alfa, existe excesso de formação de cadeias beta e de hemoglobina H, um tetrâmero contendo apenas esse tipo de cadeias. Os afetados apresentam quadro variável de anemia hemolítica crônica, persistente (moderada a grave), diminuição não muito acentuada da eritropoiese, esplenomegalia e alterações ósseas.

Nas formas com inativação de dois dos quatro alelos, tanto em configuração *cis* (atração) como em *trans* (repulsão) dos haplótipos correspondentes (α /-- ou α /- α -), os portadores são clinicamente assintomáticos, apesar de apresentarem sinais laboratoriais de anemia leve. Na forma com inativação funcional de apenas um dos quatro alelos (α /--), os portadores são assintomáticos clínica e laboratorialmente, não apresentando nenhuma manifestação da talassemia alfa. Os portadores de um ou de dois alelos não funcionais são rotulados como portadores de talassemia alfa *minor*.

Curiosa e semelhantemente ao que acontece com a talassemia beta (anemia de Cooley) e a anemia falciforme, a talassemia alfa tem distribuição geográfica também coincidente com áreas de ocorrência histórica de malária (orla do mar Mediterrâneo, África subsahariana e algumas regiões da Ásia), mas as formas realmente graves surgem com frequência muito elevada apenas na Ásia. A frequência de portadores heterozigotos do haplótipo duplamente deficiente, responsável em homozigose por uma fração considerável das ocorrências de alfa-zero-talassemia, foi estimada em taxas que variam de 7%, no norte da Tailândia, a 14%, no sul da China. Apesar do registro dessa forma também em mediterrâneos (sul da Itália), ela é praticamente inexistente entre caucasoides e africanos. Estes últimos costumam ser (em taxas de até 30%) portadores heterozigotos da variante assintomática com apenas um dos quatro alelos inativado. Não existe, então, priorização para a detecção populacional desses heterozigotos, apesar do maior risco de formas homozigotas (geralmente assintomáticas)

em sua prole. O mesmo não pode ser dito da variante grave oriental, que tem aumentado de frequência na população dos Estados Unidos, em razão da recente migração maciça de indivíduos provenientes daquelas regiões de alta prevalência.

Talassemia beta (MIM 613985)

A talassemia beta é caracterizada pela produção reduzida da hemoglobina, em consequência da produção reduzida das cadeias de globina beta em relação à produção das cadeias alfa. Esse fenômeno de desequilíbrio entre as cadeias da globina acarreta eritropoiese anormal. Em resumo, o quadro clínico de talassemia beta resulta de mutações diversas em homozigose ou heterozigose composta no loco da beta-globina (HBB) em 11p15.4, que provocam redução da produção das cadeias beta. Essas mutações podem ser, em grande fração dos casos, substituições de um único nucleotídeo na região de código do gene, mas também podem ser deleções ou mutações que afetam a região regulatória da transcrição ou do *splicing* do RNAm, que culminam com a redução da quantidade de RNAm da beta-globina disponível para a tradução. Algumas centenas de mutações patogênicas diferentes já foram descritas em combinações diferentes no loco da beta-globina, muitas delas correspondendo ao fenótipo da talassemia beta. Isso explica a grande variabilidade de expressão fenotípica da doença.

Já durante o primeiro ano de vida, os afetados manifestam anemia crônica grave, com níveis muito baixos de hemoglobina, decorrente de hemólise e deficiência na eritropoiese. O quadro clássico inclui atraso no desenvolvimento e ganho pênodo-estatural, palidez progressiva, problemas alimentares, diarreia, irritabilidade e aumento exagerado do volume abdominal, à custa de esplenomegalia. Sob um esquema terapêutico adequado, à base de transfusões, os afetados conseguem restabelecer um padrão normal de crescimento e desenvolvimento até por volta dos 10 anos de idade, mas a partir daí existe risco elevado de desenvolvimento de sinais e sintomas decorrentes de sobrecarga de ferro transfusional, difíceis de controlar mesmo com a utilização de agentes quelantes. Mesmo com transfusões frequentes, a expectativa de vida é reduzida. Em casos mais graves de falência da hematopoiese, emprega-se também o transplante de medula óssea. Bem mais recentemente, foi aplicada terapêutica de natureza molecular e de células-tronco de cordão umbilical de parentes são em primeiro grau, porém ainda em fase experimental, sem comprovação ampla. A forma descrita anteriormente corresponde à variante grave, dependente de transfusões, conhecida pelo nome de talassemia *major*.

Há outra variante patológica da mesma doença (talassemia intermédia), descrita a seguir, também determinada por mecanismo autossômico recessivo e resultante de mutações nesse mesmo loco. Na variante considerada de gravidade média, o fenótipo inclui palidez, icterícia, colelitíase, hepatoesplenomegalia, alterações esqueléticas com osteopenia e osteoporose, úlceras de membros inferiores e complicações trombóticas. Os indivíduos heterozigotos quanto a mutações patogênicas que levam à talassemia beta são, em geral, completamente assintomáticos, conhecidos na literatura como portadores de talassemia *minor* ou portadores do traço talassêmico. Eles apresentam,

no entanto, sinais laboratoriais indicativos de anemia leve, subclínica, como microcitose, diminuição da concentração da hemoglobina normal do adulto (A_1) e elevação relativa da concentração de hemoglobina A_2 .

A talassemia beta possui uma distribuição geográfica confinada à orla do Mediterrâneo e ao Oriente Próximo, Oriente Médio (Índia e Ilhas Maldivas) e Extremo Oriente (China), com frequência moderada, porém elevada na África. Essas regiões têm uma história antiga de prevalência elevada de malária, de modo que se supõe que os heterozigotos portadores do traço talassêmico possuam maior resistência ao plasmódio e que os alelos patogênicos foram mantidos em frequência relativamente alta nessas populações por causa disso. De fato, a frequência de heterozigotos portadores do traço talassêmico foi estimada em taxas de pelo menos 2% em chineses, indianos, italianos do sul, tailandeses e turcos. Em três grupos populacionais, essa frequência é da ordem de grandeza de 10% ou mais (gregos, cipriotas e habitantes das Ilhas Maldivas). Em negros africanos e seus descendentes nas Américas, a frequência de heterozigotos, apesar de elevada, em geral é menor que 2%. A detecção de heterozigotos já é realizada ao nível populacional em algumas dessas regiões. O diagnóstico laboratorial é feito pela presença de microcitose, hemoglobina baixa e alta concentração de HbA_2 .

O risco de repetição das formas homozigotas graves em irmandades com afetados é estimado em 25%, típico de doenças recessivas.

Ataxia-telangiectasia, AT ou síndrome de Louis-Bar (MIM 208900)

Os afetados apresentam ataxia cerebelar progressiva, telangiectasia oculocutânea (telangiectasias são dilatações vasculares, claramente visíveis no nível da superfície da pele ou das mucosas), imunodeficiência grave com infecções sinopulmonares de repetição, predisposição para o desenvolvimento de neoplasias e leucemia, e alterações cromossômicas. A ataxia desenvolve-se precocemente, entre os 3 e os 6 anos de idade, e a telangiectasia da conjuntiva quase sempre é precedida por apraxia oculomotora (dificuldade em iniciar os movimentos oculares). Posteriormente, surgem outras manifestações de degeneração progressiva do sistema nervoso central, como coreoatetose e distonia, mas, curiosamente, o retardo mental não tem frequência significativamente maior entre os afetados. Apenas os pacientes mais idosos podem apresentar comprometimento da memória de curta duração. Os pacientes costumam morrer de insuficiência pulmonar ou câncer (especialmente linfomas), nas duas ou três primeiras décadas da vida, e mostram maior sensibilidade aos raios X. A associação entre ataxia de instalação precoce e a telangiectasia oculocutânea é tão típica que a presença destes dois sinais é suficiente para o diagnóstico de certeza da condição.

O defeito, de herança autossômica recessiva, deve-se à homozigose ou heterozigose composta de mutações patogênicas, ocorrendo no gene *ATM* localizado em 11q22.3. As formas homozigotas predominam nos afetados oriundos de casamentos consanguíneos, como esperado, enquanto as formas heterozigotas compostas geralmente estão presentes em pacientes filhos de pessoas não aparentadas entre si.

O produto do gene *ATM* é uma proteína que, juntamente a diversos outros complexos moleculares, promove respostas de reparo do DNA. Ela atua como uma espécie de “sensor” de danos na molécula de DNA, fosforilando outras proteínas relacionadas ao reparo de lesões no DNA e à regulação do ciclo celular (como a proteína p53, importante supressor de tumor). Por isso, explica-se a maior suscetibilidade dos pacientes ao câncer. Desse modo, AT é uma doença molecularmente relacionada a outras doenças associadas ao reparo do DNA, por exemplo, a síndrome de Bloom e a anemia de Fanconi (descritas na unidade que trata de defeitos produzidos por aberrações cromossômicas) e também a outras doenças que acarretam elevada suscetibilidade familiar ao câncer. De fato, já se verificou que mulheres heterozigotas em relação a alguns tipos de mutações no gene *ATM* têm risco aumentado de desenvolver câncer de mama em comparação com outras mulheres da população.

Nas células, observa-se, como em outras doenças e síndromes atribuíveis a defeitos no mecanismo de reparo de DNA, maior tendência para quebras e rearranjos cromossômicos diversos, mas não existe aumento na frequência de trocas entre cromátides-irmãs (TCI).

Erros inatos do metabolismo

Muitas doenças recessivas decorrem de bloqueio metabólico produzido pela deficiência de alguma enzima. De fato, os genes estruturais determinam a estrutura primária das cadeias polipeptídicas, ordenando os aminoácidos que as compõem. Outras sequências do DNA têm como função regular o funcionamento dos genes estruturais. As mutações gênicas, que são alterações da sequência dos nucleotídeos do DNA, exteriorizam-se, portanto, por alterações qualitativas ou quantitativas na produção das proteínas. Mutações que acarretam perda de função podem resultar em um polipeptídeo incapaz de executar sua função normal ou, até mesmo, resultar na ausência completa desse polipeptídeo. Por exemplo, inserções e deleções de número de nucleotídeos não múltiplos de três e mutações sem sentido (*nonsense*) podem ter esse efeito. Pode surgir o mesmo resultado se a mutação acontecer em um sítio promotor ou regulador da transcrição. Se a mutação redundar, por exemplo, na adição ou redução de um número de nucleotídeos múltiplo de três, sem comprometimento grave, portanto, do quadro de leitura do gene, o produto poderá, apesar de alterado, manter um grau razoável de funcionamento normal. Quanto às enzimas, uma mutação gênica do tipo perda de função origina redução ou abolição da atividade enzimática, acompanhada de bloqueio metabólico.

A Figura 15.8 representa uma cadeia metabólica qualquer e um bloqueio enzimático, que determina os sinais clínicos das doenças causadas por erros inatos do metabolismo. Uma mutação do gene *c* pode causar defeito na síntese da enzima *c*, responsável pela transformação da substância *C* (substrato) na substância *D* (produto).

O efeito dessa mutação poderá ser apenas a ausência da substância *D*, caso esta seja obtida exclusivamente através dessa via metabólica, como é o que acontece exatamente no albinismo tirosinase-negativo tipo I ou OCA-I, caracterizado pela ausência do pigmento melânico em pele e pêlos, e coroide e retina do globo ocular. Todos as manifestações clínicas do albinismo, vistas em detalhe em item separado,

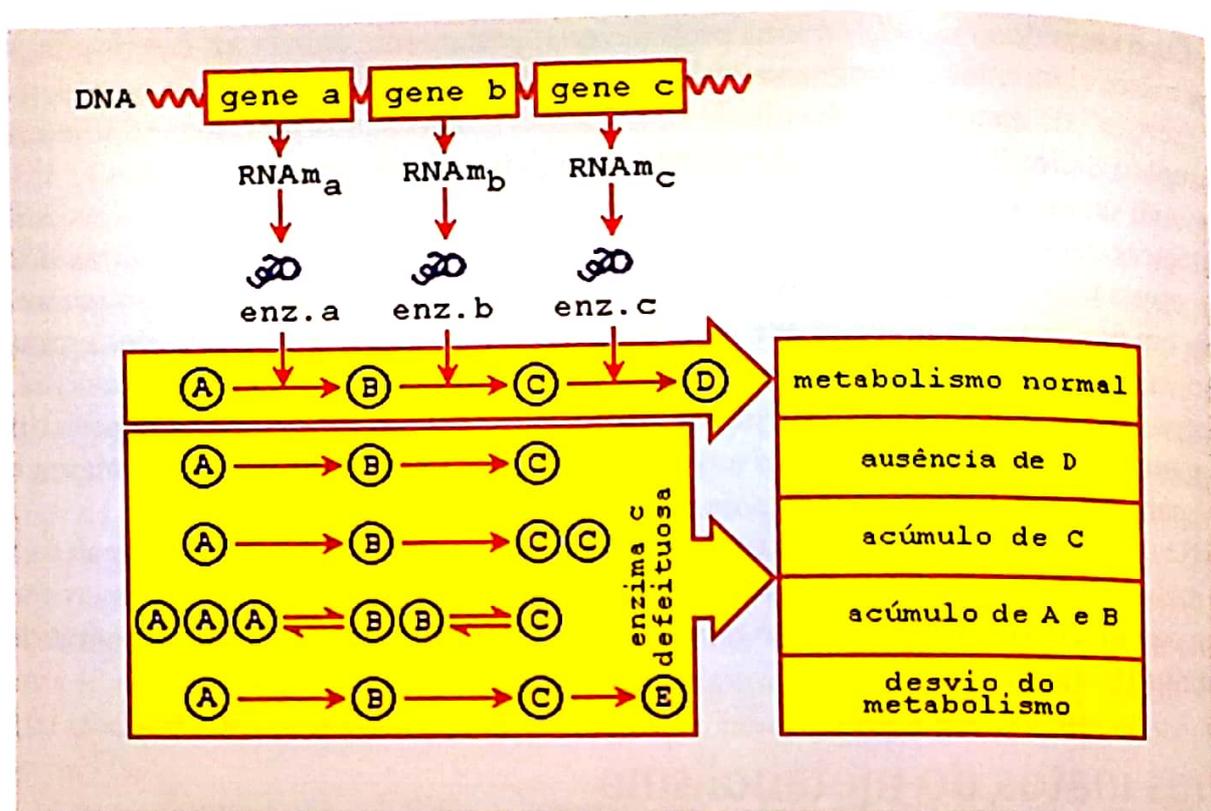


Figura 15.8 – Consequências de um bloqueio enzimático em uma cadeia metabólica qualquer A-B-C-D quando a enzima c é defeituosa.

resultam dessa ausência de melanina (curiosamente, a pigmentação da maioria das estruturas encefálicas, promovida pela neuromelanina, cuja síntese depende de outra enzima, é normal).

Supondo-se, agora, que a substância D possa ser obtida por outras vias, não existe sua falta, mas a substância C, só podendo ser metabolizada pela enzima *c* bloqueada, acumula-se no organismo, como o que acontece na alcaptonúria. Devido a uma deficiência da enzima oxidase do ácido homogentísico no metabolismo da tirosina, a substância C que se acumula é o ácido homogentísico. Todos os sinais da doença resultam de depósito de um pigmento que se forma naturalmente a partir da polimerização do ácido homogentísico em córnea, cartilagens, tecidos fibrosos, tendões e ligamentos.

O excesso de C também pode acentuar uma via metabólica apenas acessória em condições normais, na tentativa de eliminar o excesso de substância C. No esquema da Figura 15.8, esse desvio está representado pela formação da substância E. O exemplo clássico dessa situação é a fenilcetonúria, decorrente de defeito da enzima hidroxilase de fenilalanina, que normalmente converte a fenilalanina proveniente da dieta ou do catabolismo proteico em tirosina. Como praticamente toda a fenilalanina (à exceção daquela quantidade que é usada diretamente na síntese de cadeias polipeptídicas) que penetra no organismo é transformada primeiro em tirosina, para, a partir desse aminoácido, ser aproveitada em um sem número de passos metabólicos distintos (que incluem a síntese das catecolaminas na suprarrenal, do hormônio tireoidiano e do pigmento melânico), graças ao bloqueio da hidroxilase da fenilalanina se acumulam no organismo não só esse aminoácido como também os metabólitos tóxicos obtidos por meio da via

de transaminação (transferência de grupamentos amina de aminoácidos para átomos de carbono de cetoácidos), os ácidos fenilpirúvico, fenilacético e fenil-lático (substância E).

Quando a via metabólica A-B-C-D compreende reações reversíveis, o bloqueio da enzima c pode causar acúmulo não do substrato C, mas das substâncias A ou B, como se observa na doença de von Gierke (glicogenose hepatorenal). De fato, nessa condição ocorre uma deficiência da enzima glicose-6-fosfatase, responsável pela mobilização da glicose fosfatada intracelular para o espaço extracelular. Como consequência, a glicose continuamente passada para o interior das células pela hexoquinase fica encarcerada (especialmente nas células do fígado e do rim) sob sua forma polimerizada de armazenamento, o glicogênio. Todas as manifestações da doença decorrem desse encarceramento.

O Quadro 15.2, ao fim deste item, apresenta, de maneira simplificada, as principais características clínicas e bioquímicas de alguns dos numerosos erros inatos de metabolismo, a grande maioria deles determinados por mecanismo hereditário recessivo (existem variantes de hipotireoidismo congênito determinadas por mutações dominantes em genes homeóticos), e pelo menos um erro inato de metabolismo (doença de Fabry) ligado ao cromossomo X.

Quadro 15.1 – Exemplos de algumas doenças hereditárias nas quais é possível a detecção de heterozigotos

- Medição de atividade enzimática:
 - Galactosemia
 - Acatasia
 - Oroticacidúria
 - Hipofosfatase
 - Homocistinúria
 - Doença de von Gierke
 - Deficiência de glicose-6-fosfato-desidrogenase (G6PD)
 - Doença de Fabry
 - Distrofia muscular progressiva tipo Duchenne
- Medição de outras proteínas:
 - Hemofilias A e B
 - Doença de Wilson
- Provas de sobrecarga:
 - Doença de Wilson
 - Fenilcetonúria
 - Hiperlisinemia
- Cultura celular com medição direta da atividade enzimática:
 - Galactosemia
 - Doença de Pompe
 - Acatasia
 - Oroticacidúria
- Cultura celular com pesquisa de metacromasia:
 - Fibrose cística do pâncreas
 - Doença de Gaucher
 - Síndrome de Chediak-Higashi
 - Nestas doenças surgem células com inclusões metacromáticas tanto nos homozigotos afetados como nos heterozigotos são
- Cultura celular com clonagem:
 - Deficiência de G6PD
 - Síndrome de Lesch-Nyhan
 - Síndrome de Hunter
- Análise do DNA:
 - Praticamente todas as doenças cujo gene tenha sido mapeado ou identificado

Modificado de Hsia, 1966 e de outras fontes.

Quadro 15.2 – Sinopse das características clínicas e bioquímicas de importantes erros inatos do metabolismo. São listados a doença ou defeito, o seu número MIM (acrônimo do banco de dados de doenças genéticas Mendelian Inheritance in Man, da Faculdade de Medicina John's Hopkins, EUA), o seu mecanismo de herança, o gene correspondente, a enzima deficiente e as características clínicas e bioquímicas principais (AD = autossômico dominante; AR = autossômico recessivo; LX = ligado ao X)

Acatasia (acatalasemia)

- MIM 614097
- AR
- Gene *CAT* em 11p13
- Catalase
- Os afetados exibem ausência total ou parcial de atividade da enzima catalase nas hemácias. O quadro clínico, geralmente benigno, inclui gengivite e ulcerações da cavidade bucal, que nos casos graves evoluem para lesões gangrenosas (doença de Takahara), com necrose do maxilar e queda dos dentes. Sem tratamento específico.

Albinismo oculocutâneo

- MIM 203100, 203200, 203290, 606952
- AR
- Genes *TYR* (loco OCA1 em 11q14.3), gene *P* ou *OCA2* (loco OCA2 em 15q11.2-q12), gene *TYRP1* (loco OCA3 em 9p23), gene *MATP* (loco OCA4 em 5p13.3)
- Tirosinase (monofenol-mono-oxigenase) e outras enzimas relacionadas à síntese de melanina
- Os afetados apresentam hipopigmentação total ou pronunciada da pele e fâneros (pele branco-leitosa, que responde à irradiação solar com eritema, queratose pré-cancerosa e carcinoma; cabelos e olhos claros), ausência de pigmentação retiniana e coroidal, fotofobia, nistagmo, deficiência visual grave. Tratamento sintomático à base de filtros solares e óculos escuros e de grau.

Alcaptonúria

- MIM 203500
- AR
- Gene *HGD* em 3q13.33
- Oxidase do ácido homogentísico (homogentisato 1,2 dioxigenase)
- O quadro clínico inclui acidúria homogentísica (urina escura e alcalina), ocronose (pigmentação, por um polímero do ácido homogentísico, de córnea, cartilagens, tecidos fibrosos, tendões e ligamentos), artrite, cardiopatia (tardia), calcificações valvulares e arteriais, urolitíase. Tratamento cirúrgico corretivo dos problemas cardíacos e vasculares, doses altas de ácido ascórbico (em pacientes jovens).

Doença da urina do xarope de bordo (*MSUD, maple syrup urine disease*)

- MIM 238331, 248600, 248611, 608348
- AR
- Genes *DLD* em 7q31.1 (MSUD tipo III), *DBT* em 1p21.2 (MSUD tipo II), *BCKDHB* em 6q14 (MSUD tipo Ib) e *BCKHA* em 19q13.2 (MSUD tipo Ia)
- Complexo de oxo-desidrogenase ácida de cadeia ramificada
- Os genes envolvidos codificam os componentes catalíticos responsáveis pelo catabolismo dos aminoácidos de cadeia ramificada. Existem pelo menos cinco formas clínicas distintas. De modo geral, o fenótipo inclui atraso no desenvolvimento mental e somático e aumento plasmático e urinário de leucina, isoleucina, valina e oxo-ácidos correspondentes. Urina tem cheiro típico de xarope de bordo. Casos graves não tratados evoluem para degeneração cerebral, acidose, cetose, cetoacidose e coma. O tratamento abrange dieta pobre em leucina, isoleucina e valina e diálise peritoneal nas crises.

Quadro 15.2 – Sinopse das características clínicas e bioquímicas de importantes erros inatos do metabolismo. São listados a doença ou defeito, o seu número MIM (acrônimo do banco de dados de doenças genéticas Mendelian Inheritance in Man, da Faculdade de Medicina John's Hopkins, EUA), o seu mecanismo de herança, o gene correspondente, a enzima deficiente e as características clínicas e bioquímicas principais (AD = autossômico dominante; AR = autossômico recessivo; LX = ligado ao X) (continuação)

Doença de Fabry (angioqueromatose difusa)

- MIM 301500
- LXR (com manifestações geralmente mais leves em mulheres heterozigotas)
- Gene *GLA* em Xq22.1
- Alfa-galactosidase A
- As manifestações são acúmulo plasmático e nos lisossomos celulares de praticamente todos os tecidos de ceramido-tri-hexosídeo, insuficiência renal progressiva, doença cardíaca com dilatação do coração e anormalidades eletrocardiográficas, doença vascular cerebral, neuropatia, opacificação da córnea, dores articulares, pápulas purpúreas, telangiectasias e angioqueratomas de abdome. O tratamento consiste em transplante renal, terapia de reposição enzimática e terapia gênica por meio de transferência do gene *GLA* através de vetor retroviral.

Doença de Gaucher

- MIM 231000
- AR
- Gene *GBA* em 1q22
- Beta gluco(cerebro)sidase
- Existem pelo menos cinco subtipos clínicos distintos: tipo I (forma juvenil sem comprometimento neurológico), tipo II (formas neuropática aguda e variante letal perinatal) e tipo III (formas neuropática subaguda e variante com calcificações cardiovasculares). Apesar do nível elevado de heterogeneidade clínica (desde óbito perinatal até adultos assintomáticos), todos os tipos resultam de mutações em homozigose ou heterozigose composta no gene *GBA*. O tipo I é a variedade mais comum. A sintomatologia compreende hepatoesplenomegalia, erosão dos ossos longos, deterioração mental grave (nas formas infantil e juvenil), pigmentação castanha das áreas expostas da pele (na forma adulta) e células de Gaucher (células com acúmulo de glicocerebrosídeo) em baço, fígado e medula óssea. Como tratamento (geralmente do tipo I), transplante de fígado e terapia de reposição enzimática, já disponível no Brasil e pago pelo SUS. Também há tentativas de correção do defeito enzimático por meio de transferência retroviral do gene *GBA*.

Doença de Niemann-Pick

- MIM 257220, 607616, 607625
- AR
- Gene *NPC1* em 18q11-q12 (tipo C1), gene *SMPD1* em 11p15,4-p15.1 (tipos A e B), gene *NPC2* em 14q24.3 (tipo C2)
- Esfingomielina fosfodiesterase (esfingomielinase) nos tipos A e B
- As manifestações englobam hepatoesplenomegalia, lesões ósseas, retardo mental grave e células na medula óssea com acúmulo de esfingomielina. As formas C clássicas (incluindo uma variante D ou Nova Escócia) iniciam-se entre os 2 e 4 anos de idade, com predomínio de manifestações neurológicas (ataxia, convulsões, perda da fala previamente aprendida, espasticidade, distonia e demência). No tipo B, as manifestações são viscerais, sem comprometimento do sistema nervoso central. O tipo A representa a forma clássica infantil, com manifestações viscerais e neurológicas e morte precoce (por volta dos 3 anos de idade). Tratamento ainda em fase experimental.

(continua)

Quadro 15.2 – Sinopse das características clínicas e bioquímicas de importantes erros inatos do metabolismo. São listados a doença ou defeito, o seu número MIM (acrônimo do banco de dados de doenças genéticas Mendelian Inheritance in Man, da Faculdade de Medicina John's Hopkins, EUA), o seu mecanismo de herança, o gene correspondente, a enzima deficiente e as características clínicas e bioquímicas principais (AD = autossômico dominante; AR = autossômico recessivo; LX = ligado ao X) (*continuação*)

Leucodistrofia metacromática

- MIM 250100
- AR
- Gene *ARSA* em 22q13.33
- Aril-sulfatase A
- Existem várias formas clínicas de leucodistrofia metacromática. Na forma mais grave (infantil), os sinais motores, a rigidez e o comprometimento neurológico central (deterioração mental eventualmente acompanhada de quadro convulsivo) surgem por volta do segundo ano de vida e conduzem ao óbito geralmente antes dos 5 anos. A forma juvenil tem aparecimento mais tardio e progressão mais lenta. A forma adulta (após os 16 anos) caracteriza-se por comprometimento inicial de natureza psiquiátrica (psicoses às vezes diagnosticadas como "esquizofrenia") e aparecimento mais tardio de debilidade e incoordenação musculares progressivas. Em todas as formas, há acúmulo tecidual de sulfatídeo e a morte é sempre prematura (no máximo 10 anos após o aparecimento das manifestações neurológicas). Existe ainda uma variante alélica benigna, em que os homocigotos apresentam deficiência enzimática sem comprometimento neurológico ("deficiência em pseudo-aril-sulfatase A"). Ocorrem ainda, pelo menos, duas outras variantes não alélicas, uma das quais apresentando sinais de leucodistrofia e de mucopolissacaridose (deficiência múltipla de sulfatase). As tentativas terapêuticas incluem o transplante de medula óssea e o transplante de sangue heterólogo de cordão umbilical (terapia com células-tronco).

Síndrome adrenogenital, hiperplasia congênita da suprarrenal ou CAH

- MIM 201810, 201910, 202010
- AR
- Gene *CYP21A2* em 6p21.3, gene *HSD3B2* em 1p12, gene *CYP11B1* em 8q24.3
- 21-hidroxilase, 3-beta-hidroxi-esteroide-desidrogenase e 11-hidroxilase
- Mutações patogênicas em homocigose ou em heterocigose composta no gene *CYP21A2* responsável pela síntese da enzima 21-hidroxilase são responsáveis por cerca de 90% de todas as ocorrências de hiperplasia congênita da suprarrenal. São reconhecidos quatro subtipos clínicos: com perda de sal, virilizante simples, forma de início tardio e variante críptica. O quadro clínico (dependendo da variedade) compreende hiperplasia suprarrenal, virilização, perda de sal, vômitos, desidratação, hiponatremia e hiperpotassemia, episódios de hipoglicemia, excreção urinária do 11-ceto-pregnenetriol, morte precoce. Na variante devida a defeito na enzima 11-hidroxilase, presente em menos de 10% de todos os casos de hiperplasia congênita da suprarrenal, há virilização e puberdade precoce, hipertensão, aumento dos estrogênios e 17-KS urinários. Na variante produzida por defeito na síntese de 3-beta-hidroxi-esteroide-desidrogenase, a virilização costuma ser de natureza modesta nas mulheres (hipertrofia do clitóris); nos homens afetados, são comuns anomalias genitais (hipospádia, criptorquidismo); o quadro clínico abrange perda de sal, hiperplasia suprarrenal, aumento da excreção urinária da 21-OH-pregnenolona e da desidroepiandrosterona, morte precoce aos 3 meses de idade de pacientes não tratados.
- O tratamento, dependendo do tipo e da constelação de sinais e sintomas, consiste na administração de cortisol, no controle hidroeletrólítico e na correção cirúrgica da genitália ambígua.

Quadro 15.2 – Sinopse das características clínicas e bioquímicas de importantes erros inatos do metabolismo. São listados a doença ou defeito, o seu número MIM (acrônimo do banco de dados de doenças genéticas Mendelian Inheritance in Man, da Faculdade de Medicina John's Hopkins, EUA), o seu mecanismo de herança, o gene correspondente, a enzima deficiente e as características clínicas e bioquímicas principais (AD = autossômico dominante; AR = autossômico recessivo; LX = ligado ao X) (continuação)

Síndrome de Crigler-Najjar

- MIM 218800, 606785
- AR
- Gene *UGT1A1* em 2q37.1
- UDP-glicuronil-transferase
- Mutações patogênicas em homozigose ou em heterozigose composta no gene *UGT1A1* são responsáveis pelas variantes I e II da síndrome de Crigler-Najjar e pela síndrome de Gilbert. Esses três quadros decorrem primariamente de icterícia não hemolítica persistente com hiperbilirrubinemia indireta. As síndromes de Crigler-Najjar tipo II e de Gilbert são variantes benignas com níveis relativamente baixos de bilirrubina, em geral controláveis com fenobarbital e sem comprometimento do sistema nervoso central. Na forma grave e clássica da síndrome de Crigler-Najjar (tipo I), os níveis séricos de bilirrubina são altos (por vezes superiores a 40mg/l) e ocorrem transtornos graves do sistema nervoso central (*kernikterus* ou icterícia dos núcleos da base do cérebro) com morte precoce (quase sempre nos primeiros 15 meses de vida) de pacientes não tratados. A razão dessa diferença é que a atividade da enzima glucoronil-transferase, abolida totalmente na variedade I, está parcialmente preservada na forma II e na síndrome de Gilbert. A icterícia, de caráter persistente, instala-se nos primeiros dias de vida e alguns pacientes morrem nas primeiras semanas ou meses com quadro grave de icterícia nuclear, enquanto outros podem manifestar pouco ou nenhum comprometimento neurológico. O quadro da variante I é grave. Os afetados costumam responder razoavelmente bem à fototerapia (mantida, inclusive, durante o período de sono) nos primeiros anos de vida. Como os afetados pelo tipo I não costumam responder favoravelmente à terapêutica com fenobarbital, está indicado o transplante de fígado antes da instalação dos sinais neurológicos. Tratamentos mais modernos à base de terapias moleculares ainda estão em fase experimental.

Tirosinemia

- MIM 276600, 276700
- AR
- Gene *FAH* em 15q25.1 (tirosinemia I), gene *TAT* em 16q22.2 (tirosinemia II)
- Fumaril-aceto-acetato hidrolase (tipo I), tirosina aminotransferase (tipo II)
- O quadro clínico da tirosinemia tipo I (hepatorrenal), determinado por mutações patogênicas em homozigose ou heterozigose composta do gene *FAH*, inclui hipertirosinemia, icterícia, cirrose hepática e carcinoma hepatocelular, hipoprotrombinemia, disfunção grave dos túbulos renais com aminoacidúria generalizada (ácidos para-hidroxi-fenil-pirúvico, para-hidroxi-fenil-lático e para-hidroxi-fenil-acético), perda de água, hipopotassemia, acidose, hiperfosfatúria e glicosúria. Existem formas agudas com sinais de insuficiência hepática grave semanas após o nascimento e morte muito precoce. Medidas terapêuticas abrangem transplante hepático e renal e uso de NTBC, um inibidor de enzimas secundariamente responsáveis pelo quadro. A tirosinemia tipo II é uma síndrome oculocutânea caracterizada por ceratite e distrofia da córnea, hiperqueratose palmoplantar, retardo mental e níveis plasmáticos elevados de tirosina. Existe uma condição denominada tirosinose, muito confundida, na literatura, com tirosinemia, com mecanismo fisiopatogênico desconhecido, apenas descrita em único paciente que era portador de *miastenia gravis*.

No Brasil, já existem vários serviços especializados na triagem e na orientação terapêutica de inúmeros erros inatos de metabolismo, como os da APAE de São Paulo e do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Detecção de heterozigotos

Quando, em uma família com afetado por doença recessiva é possível descobrir quais são, entre os indivíduos normais, os heterozigotos, o aconselhamento genético torna-se mais preciso. Considere, por exemplo, a irmã de um afetado por fenilcetonúria. Uma simples prova de sobrecarga poderá mostrar se ela é portadora do gene, caso em que é indicado que seu cônjuge também faça a prova.

Os principais métodos usados para detecção de heterozigotos estão no Quadro 15.1. Em defeitos recessivos ligados ao cromossomo X, as heterozigotas têm células de dois tipos (fenômeno de Lyon), um com o alelo patogênico no cromossomo X ativo e outro no inativo. Em cultura de células, pode-se distinguir os dois clones e, portanto, determinar se a mulher é heterozigota. Como esse teste é pouco prático, foi substituído por testes moleculares diretos que detectam essas heterozigotas sem nenhuma margem de erro. De fato, com o desenvolvimento das técnicas bioquímicas e de biologia molecular, já existem métodos de detecção de heterozigotos não só para inúmeros erros inatos de metabolismo, como também para várias doenças que não resultam de defeitos enzimáticos e, sim, de mutações em genes que codificam outros tipos de proteínas, como é o caso das hemoglobinopatias. Alguns desses testes, em especial os de DNA, apesar de serem ainda dispendiosos e realizados apenas por alguns laboratórios, já são oferecidos por serviços e hospitais públicos e particulares que se concentram nas regiões sudeste e sul do Brasil.

Como as doenças recessivas graves são muito raras, não é factível tentar a detecção de heterozigotos na população geral, estando mais indicado aplicar os testes em grupos de alto risco. Por exemplo, só é adequado pesquisar heterozigotos quanto ao gene da doença de Tay-Sachs entre judeus asquenazim, cujas populações apresentam frequência elevada de heterozigotos (15 a 30%), uma vez que a doença nesse grupo é, pelo menos, 10 vezes mais frequente que em quaisquer outros agregados populacionais. Raciocínio semelhante é feito em relação aos testes de detecção de portadores do traço siclêmico (heterozigotos quanto ao gene da hemoglobina S da anemia falciforme), que devem ser aplicados preferencialmente em afro-descendentes, por ser rara a mutação em outros grupos étnicos (esse exame, como mencionado anteriormente, já está no “teste do pezinho” em várias regiões do Brasil, incluindo o estado de São Paulo).

Também estão indicados os testes a parentes de afetados, especialmente se pretenderem contrair casamentos consanguíneos. Para doenças ligadas ao cromossomo X, a detecção de heterozigotas deve ser tentada em mães de afetados isolados, para discriminar entre heterozigotas e não portadoras do gene, pois, no primeiro caso, o risco de recorrência é 25%, enquanto no segundo é desprezível.

Albinismo (MIM 203100, 203200, 203290 e outros)

Apresentação de um caso

Menino de 4 anos (Figura 15.9), nascido de parto cesáreo, portador de retardamento mental atribuível a episódio de anoxia perinatal. Seus pais são primos em primeiro grau (Figura 15.10).

O exame físico revelou falta de pigmentação cutânea e dos cabelos, nistagmo horizontal e déficit visual. Firmou-se o diagnóstico de albinismo oculocutâneo.



Figura 15.9 – Albinismo. Paciente do Centro de Habilitação da APAE, São Paulo (gentileza do Dr. Claudio Ortega).

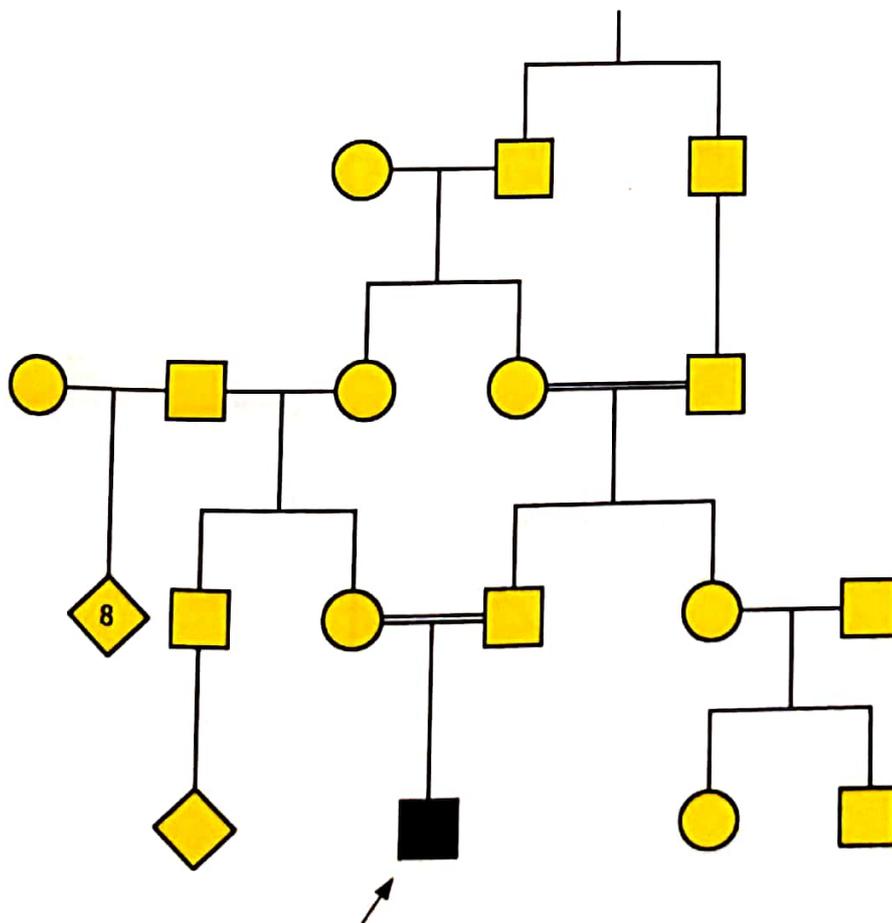


Figura 15.10 – Heredograma do paciente da Figura 15.9.

Aspectos clínicos

O albinismo universal ou oculocutâneo caracteriza-se por acentuada hipopigmentação de pele, cabelos e olhos. A pele é branco-leitosa e desenvolve eritemas quando exposta ao sol. O cabelo é branco, amarelado ou pardo-amarelado. Os olhos não têm pigmento na coróide nem na retina, e a íris é diáfana, em geral de cor azul-acinzentada clara. Invariavelmente, há nistagmo (uma forma patológica de movimentos involuntários do globo ocular), fotofobia, astigmatismo e intensa redução da acuidade visual (em média, 10% ou menos da visão normal) e quase todos os afetados apresentam um defeito de condução e de distribuição (decussação) das fibras do nervo óptico, que redonda em estrabismo e em diminuição da percepção estereoscópica. As pupilas são, às vezes, vermelhas em crianças, mas nos adultos são sempre negras. O nistagmo em albinos deve-se tanto ao defeito de decussação das fibras do nervo óptico quanto aos defeitos de acomodação secundários à fotofobia.

Os albinos são suscetíveis ao câncer de pele (carcinoma basocelular, escamoso ou basoescamoso). Não havendo tratamento profilático, sua longevidade em média diminui, por isso e por acidentes decorrentes da baixa acuidade visual. Os cuidados médicos consistem em proteção da pele contra a irradiação solar e uso de óculos escuros e de grau. O prognóstico atual da doença é excelente nos países do primeiro mundo e nos centros mais avançados dos países em desenvolvimento, graças à utilização de filtros solares eficientes e de óculos escuros ou fotocromáticos e de lentes apropriadas, bifocais se possível.

O defeito na variedade atualmente conhecida como albinismo OCA1 (*oculo-cutaneous albinism*) decorre de um bloqueio incurável da síntese de melanina, por ausência da enzima tirosinase (mono-fenol-mono-oxigenase) nos melanócitos (Figura 15.11), os quais estão, entretanto, presentes em número geralmente normal. A enzima tirosinase, em indivíduos normais, catalisa pelo menos duas etapas no metabolismo de transformação da tirosina em melanina.

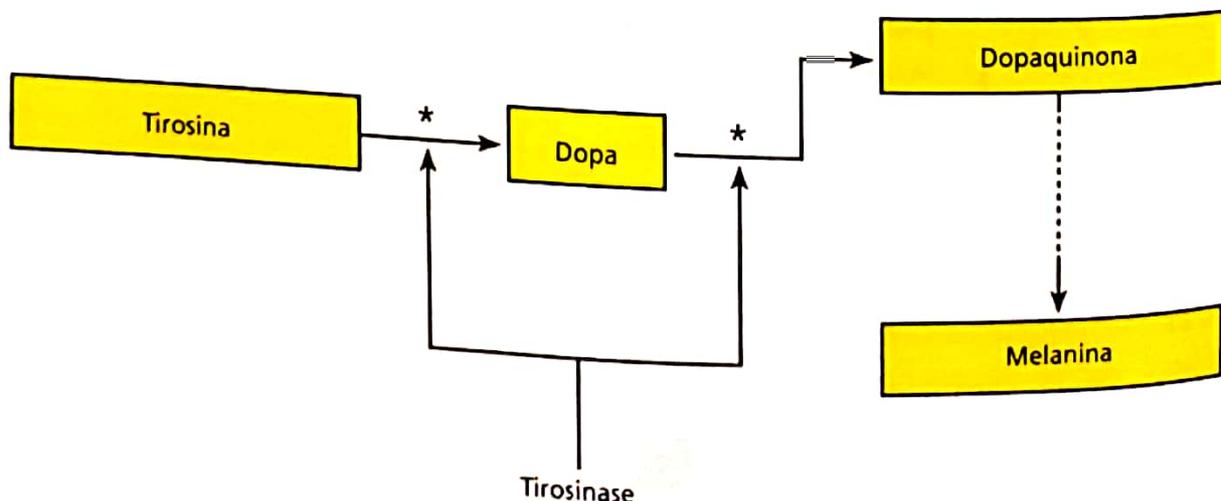


Figura 15.11 – Bloqueios metabólicos em albinismo universal tipo OCA1. Os asteriscos indicam as reações bloqueadas.

Aspectos genéticos

O albinismo oculocutâneo é um dos erros inatos do metabolismo determinados por mecanismo de herança autossômico recessivo. Encontra-se consanguinidade entre os pais dos afetados em 20 a 30% dos relatos da literatura.

Não se conhece, até hoje, nenhuma manifestação clínica ou laboratorial (com exceção da análise molecular das mutações) capaz de caracterizar os heterozigotos quanto ao gene do albinismo.

Diagnóstico diferencial

O albinismo oculocutâneo é geneticamente heterogêneo. Antigamente, reconheciam-se apenas duas formas autossômicas recessivas: albinismo oculocutâneo tirosinase-negativo e albinismo oculocutâneo tirosinase-positivo. Apesar de antiga e desatualizada, essa classificação ainda é útil sob o ponto de vista prático e clínico. Distinguiam-se essas formas entre si por um teste de atividade de tirosinase *in vitro*: ao contrário do que ocorre na forma tirosinase-negativa, melanócitos de bulbos dos cabelos de pacientes com a variante tirosinase-positiva são capazes de sintetizar melanina, quando incubados em uma solução contendo L-tirosina ou L-dopa. Contudo, no tipo I classicamente considerado do tipo tirosinase negativo, há formas com atividade reduzida de tirosinase (tipo 1B), que não podem ser chamadas de tirosinase-negativas e que antigamente eram classificadas como tirosinase-positivas.

A heterogeneidade genética do albinismo oculocutâneo foi primeiramente demonstrada por meio de casamentos entre dois albinos, que resultaram em filhos normalmente pigmentados, o que evidenciou a existência de, pelo menos, dois locos autossômicos, um capaz de albergar os alelos A (normal) e a (albinismo por causa de mutação no loco A) e o outro, os alelos B (normal) e b (albinismo por causa de mutação no loco B). O não alelismo entre a e b dá conta dos resultados, como mostra a Figura 15.12.

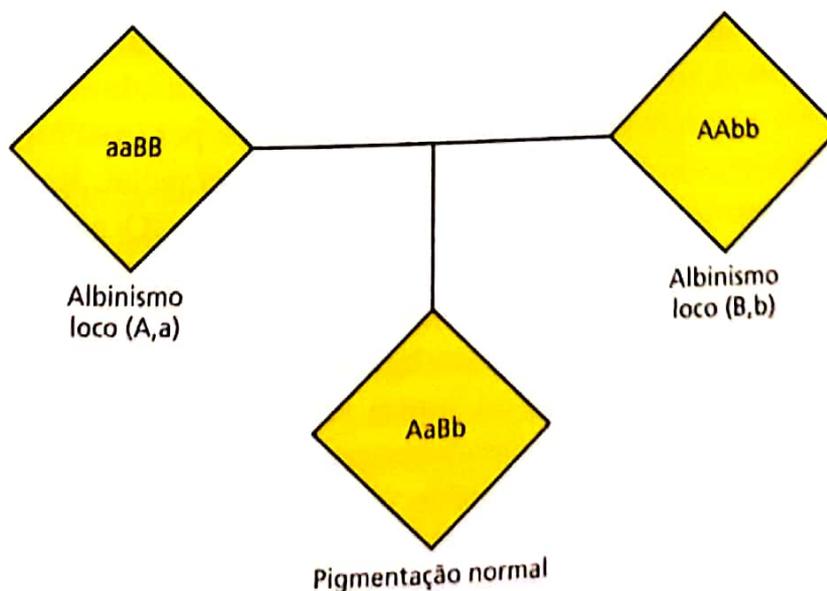


Figura 15.12 – Demonstração genealógica do não alelismo entre dois genes relacionados ao albinismo (a e b).

O indivíduo 1 é aaBB (albino e homocigoto normal quanto ao loco do albinismo do tipo B) e o indivíduo 2 é AA bb (albino e homocigoto normal quanto ao loco do albinismo do tipo A), e todos os filhos são, portanto, normais (duplos heterocigotos AaBb).

Atualmente, reconhecem-se quatro tipos principais de albinismo oculocutâneo, porque são quatro os locos gênicos mapeados que contêm mutações que levam a essa condição. As variantes antes referidas como variantes tirosinase-negativa e tirosinase-positiva são atualmente denominadas OCA1 (*oculocutaneous albinism*) e OCA2 (também conhecida como *brown oca* em pacientes de origem africana), apesar de se conhecer pelo menos uma variante do albinismo OCA1 que se comporta como tirosinase-positiva (porque a função da enzima tirosinase não está totalmente abolida). Os outros dois tipos são os albinismos OCA3 e OCA4. De certa maneira, como se verá adiante, essas duas formas se comportam como os tipos negativo e positivo, respectivamente, com os quais também eram confundidos.

Combinando-se as frequências de todas as formas, o albinismo oculocutâneo ocorre com uma frequência de 1 afetado em cada 20.000 nascimentos de caucasóides e de 1 afetado em cada 10.000 nascimentos de negros americanos.

O loco do albinismo tirosinase-negativo OCA1 foi mapeado no cromossomo 11 (11q14.3), e contém o gene *TYR*, responsável pela síntese da enzima tirosinase. A prevalência do albinismo OCA1 é de aproximadamente 1/40.000 na maioria das populações, com exceção das de origem africana, nas quais é extremamente raro. Já foram identificadas mais de cinquenta mutações diferentes em pacientes com essa variante. Por isso, muitos afetados são heterocigotos compostos (portadores de duas mutações distintas do gene *TYR*). Os homocigotos e os heterocigotos compostos quanto a essas mutações não possuem tirosinase, originando-se disso o bloqueio metabólico descrito no início e o quadro clínico clássico da doença. Existe, no entanto, pelo menos um subtipo, o OCA1B, no qual a atividade da enzima tirosinase está apenas reduzida.

O loco do albinismo tirosinase-positivo OCA2 foi mapeado no cromossomo 15 (em 15q11.2-q12). É a variante mais comum em indivíduos de origem africana. Em algumas regiões do sul da África, a prevalência dessa variante foi estimada em cerca de 1/4.000. Entre negros norte-americanos, a frequência de afetados por essa forma é de apenas 1/10.000, por efeito provavelmente de deriva e de mistura racial. Na população americana geral, essa prevalência cai para cerca de 1/40.000. O gene do loco OCA2 (chamado de gene *OCA2* ou gene *p*) é responsável pela síntese de uma proteína importante para a biogênese normal dos melanossomos e, talvez, também para processamento e transporte de proteínas melanossômicas como a *TYR*. Mais de setenta mutações patogênicas diferentes já foram identificadas no gene *OCA2*. Nessa variante de albinismo, os recém-nascidos sempre apresentam um certo grau de pigmentação dos cabelos, nevos e efélides (sardas) são relativamente comuns e raramente as íris são despigmentadas como no tipo OCA1. Apesar de bastante comprometida, a acuidade visual costuma ser melhor que no albinismo OCA1.

O albinismo OCA3 resulta em cabelos e pele castanho-avermelhados (xantismo) em indivíduos de extração africana (prevalência da ordem de 1/9.000); apenas

excepcionalmente essa variante foi encontrada em agregados populacionais europeus ou asiáticos. Nem sempre os afetados portam anomalias visuais, provavelmente porque a hipopigmentação não é tão grave como nos tipos OCA1 e OCA2. O defeito é causado por mutações no gene *TYRP1* em 9p23, o qual codifica a enzima TYRP1. Esta enzima participa do metabolismo de biossíntese da melanina, polimerizando monômeros do ácido diidroxindol-2-carboxílico (DHICA). O tipo OCA4 é determinado por mutações patogênicas no gene *MATP*, cujo produto normal é uma proteína de transporte associada à membrana plasmática e que se expressa em linhagens celulares melanossômicas, mas cuja função, ainda que parcialmente desconhecida, deve estar ligada ao transporte transmembrânico dos melanócitos. Essa variante, já descrita em vários grupos geográficos, é muito mais rara que os tipos 1, 2 e 3 de OCA (da ordem de 1/90.000 em japoneses; mais rara ainda entre europeus). Suas manifestações clínicas são indistinguíveis das determinadas pelo tipo OCA2 (albinismo tirosinase-positivo clássico).

O diagnóstico diferencial do albinismo oculocutâneo deve ser realizado entre algumas doenças hereditárias, duas das quais são:

- Albinismo parcial: de herança autossômica dominante, caracteriza-se pela ausência de pigmentação em zonas bem delimitadas da pele ou do cabelo, sem comprometimento do globo ocular.
- Albinismo ocular: condicionado por gene recessivo localizado no cromossomo X e no qual a pigmentação da pele e do cabelo é normal, porém a melanina do epitélio pigmentar da retina está ausente.

Além disso, o albinismo (total ou parcial) pode fazer parte de várias síndromes, como as de Hermansky-Pudlak (HPS), Chediak-Higashi (CHS), Griscelli (GS) e Waardenburg tipo 2 (WS2). Com exceção da última, que é determinada por herança autossômica dominante, todas as demais possuem padrão de transmissão autossômico recessivo, idêntico ao das quatro formas possíveis de albinismo oculocutâneo.

Aconselhamento genético

O risco de recorrência da doença em irmãos de afetados é 25%, pois os genitores, embora normais, são heterozigotos. Casamentos entre famílias de afetados e casamentos consanguíneos nessas famílias são potencialmente de alto risco.

Quando um afetado (aa) se casa com um indivíduo normal que não é consanguíneo de albino, o risco para a prole é pequeno, pois a probabilidade de tal indivíduo ser heterozigoto (Aa) quanto ao alelo que causa albinismo é cerca de 3%, e o risco de ser albino que corre uma criança desse tipo de casal é de 1,5%, se admitirmos uma frequência média de afetados da ordem de 1/10.000 na população geral. Para formas mais raras de OCA, esse risco é ainda menor.

No caso da Figura 15.9, o fato de uma das avós do afetado ter se casado com o primo não altera o risco de recorrência do defeito na irmandade do afetado, pois a existência deste já evidencia que seus pais são heterozigotos.

Fenilcetonúria (MIM 261600)

Esta doença (Figura 15.13), considerada um erro inato de metabolismo, é também autossômica recessiva. Tem incidência variável ao nascimento, sendo maior (1/10.000) em populações europeias e nos Estados Unidos (1/15.000). Tem maior frequência na Turquia (incluindo-se todos os casos de hiperfenilalaninemia) e na Irlanda do Norte (1/5.000) e menor na Finlândia (1/100.000). Tem incidência desta última ordem de grandeza também na China, no Japão e na Tailândia. Levantamentos realizados na América Latina mostram taxas da ordem de 1/25.000 a 1/50.000, com incidência maior na parte sul do continente (populações com aporte europeu mais significativo).

Cerca de 1% dos pacientes institucionalizados por retardo mental são fenilcetonúricos (essa frequência é menor em países desenvolvidos e nas regiões mais desenvolvidas dos países em desenvolvimento). Comumente apresentam irritabilidade, convulsões e vômitos já nas primeiras semanas de vida; a pele é seca com lesões inflamatórias e eruptivas ou eczema generalizado; a pigmentação de pele, cabelos e olhos é mais clara que nos membros normais da irmandade. Outros achados comuns são microcefalia, postura peculiar das mãos com tremores e reflexos aumentados, anormalidades de eletroencefalograma e convulsões epiléticas. Não havendo tratamento adequado, já se nota o retardo mental aos 6 meses de vida que conduz a um QI quase sempre inferior a 50.

A doença decorre de um erro inato do metabolismo que determina deficiência de uma enzima hepática, a hidroxilase da fenilalanina (fração I, lábil), que, em condições normais, é responsável pela conversão da fenilalanina, de origem alimentar ou proveniente do catabolismo proteico, em tirosina (Figura 15.14). A deficiência da hidroxilase de fenilalanina produz, no sangue e no líquido cefalorraquidiano, acúmulo

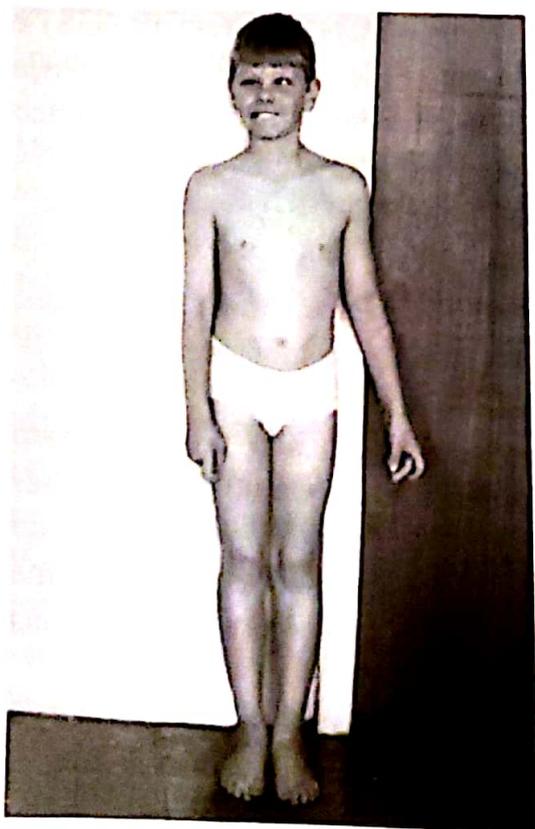


Figura 15.13 – Fenilcetonúria. Paciente do Centro de Habilitação da APAE, São Paulo (gentileza do Dr. Claudio Ortega).

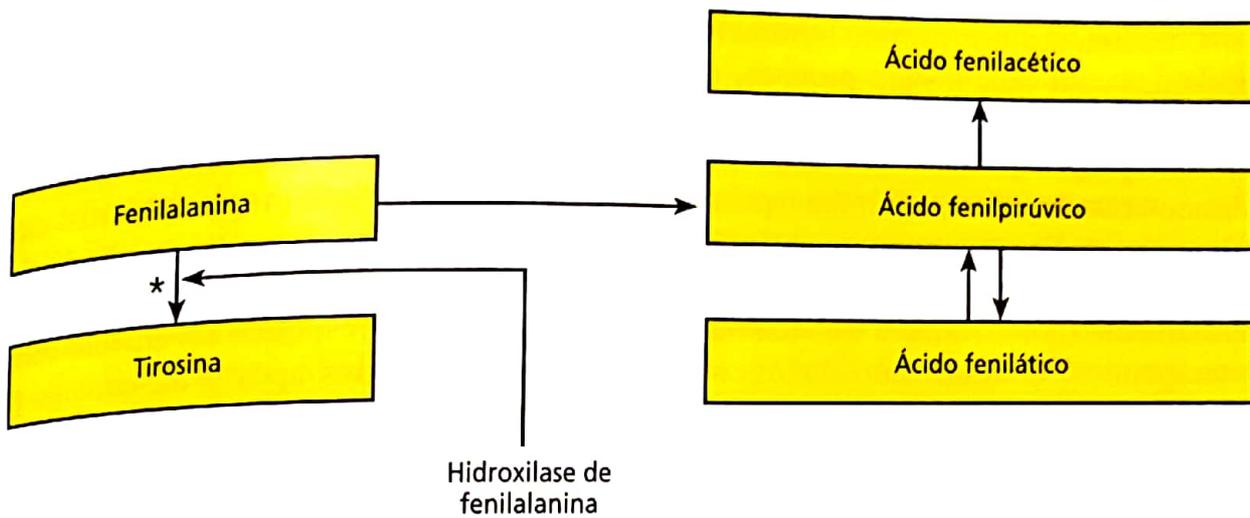


Figura 15.14 – Bloqueio metabólico (asterisco) em fenilcetonúria.

de fenilalanina, a qual é então convertida, por transaminação, em ácido fenilpirúvico; este e seus metabólitos (ácidos fenilático e fenilacético) são excretados em grande quantidade pela urina. Ocorre também, na doença, redução da melanina e dos níveis plasmáticos de adrenalina; apesar de não se tratar de assunto totalmente esclarecido na literatura, é provável que a fenilalanina em excesso iniba algumas etapas da formação dessas substâncias a partir da tirosina. Os níveis elevados de fenilalanina seriam responsáveis ainda pela diminuição dos níveis de serotonina (um neurotransmissor sintetizado nos núcleos da base do cérebro a partir de outro aminoácido, o triptofano) e pela formação deficiente de mielina, o que estaria relacionado à deficiência mental dos afetados e às lesões do sistema nervoso central que eles apresentam.

O diagnóstico é possível, em fase pré-clínica, por meio da triagem de rotina de erros inatos de metabolismo em berçários, já na primeira semana de vida, geralmente entre o segundo e o sétimo dia de vida. A coleta do material a ser examinado não é feita imediatamente após o nascimento, porque, nessa ocasião, os níveis do aminoácido metabolizado adequadamente pela mãe por via transplacentária, encontram-se perfeitamente na taxa de variação normal.

Antigamente, o diagnóstico era feito com testes simples de detecção de ácido fenilpirúvico na urina e com o teste de Guthrie (níveis elevados de fenilalanina produzem inibição de crescimento em culturas plaqueadas de bactérias *Bacillus subtilis*). Posteriormente, esses exames foram usados apenas para triagem. Os casos supostamente positivos eram confirmados ou não mediante a determinação dos níveis séricos de fenilalanina. Atualmente, esses níveis são determinados diretamente de amostras (gotas) de sangue total colhidas em papel de filtro pela técnica de espectrometria de massa, sem o auxílio dos exames de triagem mencionados.

Na maioria dos hospitais de São Paulo e do Rio Grande do Sul (e por um número relativamente grande de hospitais em outras localidades), já são realizados de rotina testes de detecção de, pelo menos, dois erros inatos de metabolismo (fenilcetonúria e hipotireoidismo congênito), apesar dos problemas logísticos de tratamento e acompanhamento que isso acarreta em um país em desenvolvimento como o nosso.

O tratamento, constituído basicamente de dieta pobre em fenilalanina, impede, em pacientes com diagnóstico precoce, o retardo mental e demais sinais da doença. A fenilalanina é componente importante do leite, ovos e outros tipos comuns de alimentos. Existem preparações comerciais, como Lofenalac, usadas como substituto do leite na alimentação de infantes durante o primeiro ano de vida, mas essas preparações não são fabricadas no Brasil e precisam ser importadas. É relativamente comum ainda, principalmente nos países subdesenvolvidos e em desenvolvimento, a doença ser descoberta tardiamente (aos 15 meses de vida ou mais), quando já não responde favoravelmente à terapêutica. O tratamento dietético é instituído 1 a 3 meses após o nascimento e mantido por cerca de 8 anos (época em que o sistema nervoso central já está completamente amadurecido e, portanto, possivelmente refratário aos efeitos danosos dos níveis séricos elevados de fenilalanina e seus metabólitos), mas hoje se aconselha que os afetados sigam a dieta pelo resto de suas vidas. Isso porque se descobriu que o desempenho escolar de crianças fenilcetonúricas tratadas e cuja dieta havia sido interrompida era ligeiramente inferior ao de crianças normais. Também se sabe, atualmente, que pacientes que não foram submetidos com rigor à dieta têm maior risco de desenvolver hiperatividade e distúrbio de déficit de atenção.

O loco do gene da fenilcetonúria (gene *PAH*) está no cromossomo 12, mapeado na região 12q22-q24.1. O gene é constituído de 13 éxons. Análises moleculares demonstraram a existência de um número enorme de mutações diferentes nesse loco. O banco de dados desse gene (*PAHdb, phenylalanine hydroxylase locus Knowledgebase*, <http://www.pahdb.mcgill.ca/>) registrava, até 2007, 548 mutações distintas, cerca da metade delas do tipo de sentido errado (*missense*), enquanto mais ou menos 10% afetam sítios de *splicing* (recomposição) do RNA mensageiro. Os níveis de fenilalanina circulante e as manifestações clínicas dependem dos graus variáveis de redução da enzima produzidos por esses alelos em homozigose ou heterozigose composta. Cerca de 5% das mutações encontradas nesse gene não alteram a atividade da enzima hidroxilase de fenilalanina e os homozigotos ou heterozigotos compostos quanto a esses alelos mutados não apresentam hiperfenilalaninemia ou qualquer manifestação clínica e não precisam ser submetidos a tratamento dietético. Algumas combinações levam a um quadro benigno de hiperfenilalaninemia, sem comprometimento do sistema nervoso central (hiperfenilalaninemia benigna), pois a deficiência da enzima hidroxilase da fenilalanina é apenas parcial. Dado o elevadíssimo número de mutações diferentes nesse gene, a maior parte dos afetados mostram heterozigose composta, ou seja, combinações de duas mutações distintas.

Cerca de 80% dos portadores heterozigotos de mutações no gene da fenilcetonúria podem ser identificados, com segurança, por um teste de sobrecarga de fenilalanina, que se faz administrando quantidades altas de L-fenilalanina por via oral e medindo, a intervalos regulares, os níveis sanguíneos de fenilalanina, que, no heterozigoto, permanecem altos por muitas horas. Atualmente, esses heterozigotos podem ser detectados com segurança total por meio de testes de DNA. A detecção de heterozigotos em famílias não é fundamental ao aconselhamento genético, pois a probabilidade de um heterozigoto vir a se casar com outro heterozigoto não aparentado é muito baixa. No entanto, para casais consanguíneos em cujas famílias já existiram casos da doença, o rastreamento molecular de mutações tem importância no cálculo de risco de prole afetada.

A hidroxilase de fenilalanina necessita, para funcionar normalmente, do cofator BH_4 (tetraidrobiopterina). Descobriu-se que, em quase 2% de todas as ocorrências de fenilcetonúria, a doença resulta de mutações patogênicas nos genes responsáveis pela biossíntese desse cofator. Existem, inclusive, algumas variantes patológicas, como a doença de Segawa e a deficiência de redutase da sepiapterina, que evoluem sem hiperfenilalaninemia.

O fato de que centenas de mutações no mesmo gene podem levar à fenilcetonúria e de que mutações em locos distintos também podem acarretar o mesmo quadro tornam essa condição exemplo notável de heterogeneidade de alelos e de locos.

Tem-se descrito, ainda, uma forma congênita grave de fenilcetonúria em crianças heterozigotas nascidas de mães homozigotas ou heterozigotas compostas que já haviam suspendido suas dietas e cujos níveis de fenilalanina estavam elevados. Além de microcefalia e defeitos graves do sistema nervoso central, os afetados manifestam atraso grave do desenvolvimento neuropsicomotor e somático e defeitos cardíacos. Preconiza-se que essas mulheres retornem à dieta pobre em fenilalanina algum tempo antes de uma gravidez planejada e a mantenham até o final da gestação.

Outras doenças autossômicas recessivas

Doença de Tay-Sachs (MIM 272800)

A doença de Tay-Sachs, conhecida antigamente pelo nome de idiotia amaurótica familiar infantil, é um erro inato de metabolismo de herança autossômica recessiva, determinado pela deficiência da atividade da enzima hexosaminidase A (beta-N-acetil-hexosaminidase), codificada pelo gene *HEXA* em 15q23. Esse defeito enzimático, causado por mutações patogênicas em homozigose ou heterozigose composta, leva a acúmulo progressivo no organismo, no sistema nervoso central em particular, de um gangliosídeo GM2.

A maioria dos afetados manifesta os primeiros sinais da doença entre 4 e 12 meses de idade e vai a óbito antes de completar 5 anos. Inicialmente, as crianças apresentam apatia, hipotonia e atraso no desenvolvimento neuromotor. Como acontece em vários outros tipos de gangliosidose GM1 e GM2, um sinal importante exibido pelas crianças é uma resposta exagerada a ruídos, que tipicamente as assusta muito. O quadro neurológico evolui rapidamente para irritabilidade e, posteriormente, convulsões. Caracteristicamente, os acometidos com idade superior a um ano apresentam macrocefalia secundária a uma proliferação glial intensa e amaurose, com manchas cor de cereja nas áreas maculares: a presença desse sinal é importante para o diagnóstico da doença, mas em fases avançadas da afecção elas tendem a desaparecer. Como acontece com todas as formas de gangliosidose GM1 e GM2 (com exceção de uma forma adulta recentemente descrita em japoneses – gangliosidose GM1 tipo III do adulto), a doença é letal, pois os afetados não se reproduzem.

Algumas mutações no mesmo gene *HEXA* da doença de Tay-Sachs produzem uma forma juvenil (com deficiência apenas parcial da enzima hexosaminidase A), com quadros mais ou menos similares em alguns isolados populacionais. Já outras mutações estão associadas a formas clinicamente distintas de gangliosidose GM2. Há menção também a uma forma de início das manifestações na idade adulta, que se caracteriza por distonia progressiva, degeneração espinocerebelar, doença do neurônio motor e sintomas psiquiátricos.

A doença de Tay-Sachs incide principalmente entre judeus. De fato, a frequência de heterozigotos quanto ao alelo da doença foi estimada em cerca de 1/30 em judeus asquenazim, entre os quais a frequência alélica é aproximadamente 1/60 e a incidência da doença entre crianças pequenas é da ordem de 1/3.600. Em judeus de origem sefaradim ou mediterrânea, a incidência do defeito é pelo menos 10 vezes menor, e em grupos populacionais caucasoides não judeus a frequência é cerca de 100 vezes inferior à registrada entre os judeus asquenazim (frequência alélica da ordem de 1/600). Estudos moleculares revelaram que entre os asquenazim dois tipos de mutações principais explicam a maior parte das ocorrências. Uma inserção de 4 pares de bases no éxon 11 (1278insTATC) e uma substituição de G para C no primeiro nucleotídeo do íntron 12 (IVS12, G-C, +1), que resulta em defeito do *splicing* do RNA mensageiro. A inserção de 4 pares de bases está presente em 80% dos heterozigotos das populações judaicas asquenazim.

A doença foi descrita em um isolado franco-canadense, com frequências semelhantes às observadas entre os judeus asquenazim. A princípio, aventou-se a hipótese de que o gene introduzido no isolado franco-canadense tivesse origem asquenazim, mas estudos moleculares realizados em 1987 mostraram que a porção 5' do gene da subunidade alfa da hexosaminidase A apresentava uma enorme deleção de 7,6 quilobases, que incluía a região promotora, todo o primeiro éxon e parte do primeiro íntron, entre os afetados de origem franco-canadense. Essa deleção não existia no grupo asquenazim, que mostrava outros tipos de mutações. Enquanto no isolado franco-canadense existe a possibilidade clara de o alelo haver atingido frequência alta por simples flutuação amostral (deriva genética), o mesmo não pode ser dito em relação ao grupo de judeus de origem asquenazim, pois o grupo se originou há muito mais tempo e muitos parâmetros importantes para a caracterização precisa da evolução do grupo, como tamanho populacional, número e ocorrência de gargalos, taxas de mistura com outras populações e possíveis agentes seletivos são relativamente desconhecidos. De qualquer maneira, argumentos de genética de populações já mostraram que o alelo dificilmente poderia ter se implantado na faixa de frequência ora exibida entre os judeus asquenazim apenas por efeito de deriva ou, mais especificamente, por efeito de fundador, levando em conta taxas usuais de mutação e de migração. A vantagem seletiva de heterozigotos quanto ao alelo mutado foi igualmente aventada, mas não pôde ser testada devido a dificuldades metodológicas.

A detecção era (e ainda pode ser) feita pela dosagem da enzima hexoaminidase A no soro sanguíneo tanto de homozigotos, que apresentam deficiência total, quanto de heterozigotos, com níveis intermediários de atividade enzimática. No entanto, esse teste tem limitações, pois alguns indivíduos oferecem uma resposta de "pseudodeficiência", ou seja, uma resposta bioquímica anômala ao substrato artificial usado no teste, que não decorre de deficiência real de atividade da enzima hexoaminidase A. Atualmente, o exame foi substituído por diversos métodos de rastreamento de mutações no DNA capazes de detectar os alelos mutados tanto em homozigose quanto em heterozigose, com aplicações em diagnóstico pré-natal em gravidezes de casais em risco e em projetos populacionais de detecção de heterozigotos, já em funcionamento em muitos países, em grupos populacionais de maior risco, como os judeus asquenazim e os habitantes do isolado franco-canadense mencionado.

Mucopolissacaridoses (MIM 607014 e outros)

As mucopolissacaridoses (Figura 15.15) são doenças metabólicas decorrentes do acúmulo, no organismo, de glicosaminoglicanos, polissacárides de cadeia longa não ramificada. Até recentemente, essas substâncias recebiam o nome de mucopolissacárides, daí o nome mucopolissacaridoses (MPS) dado (e ainda mantido, provavelmente porque

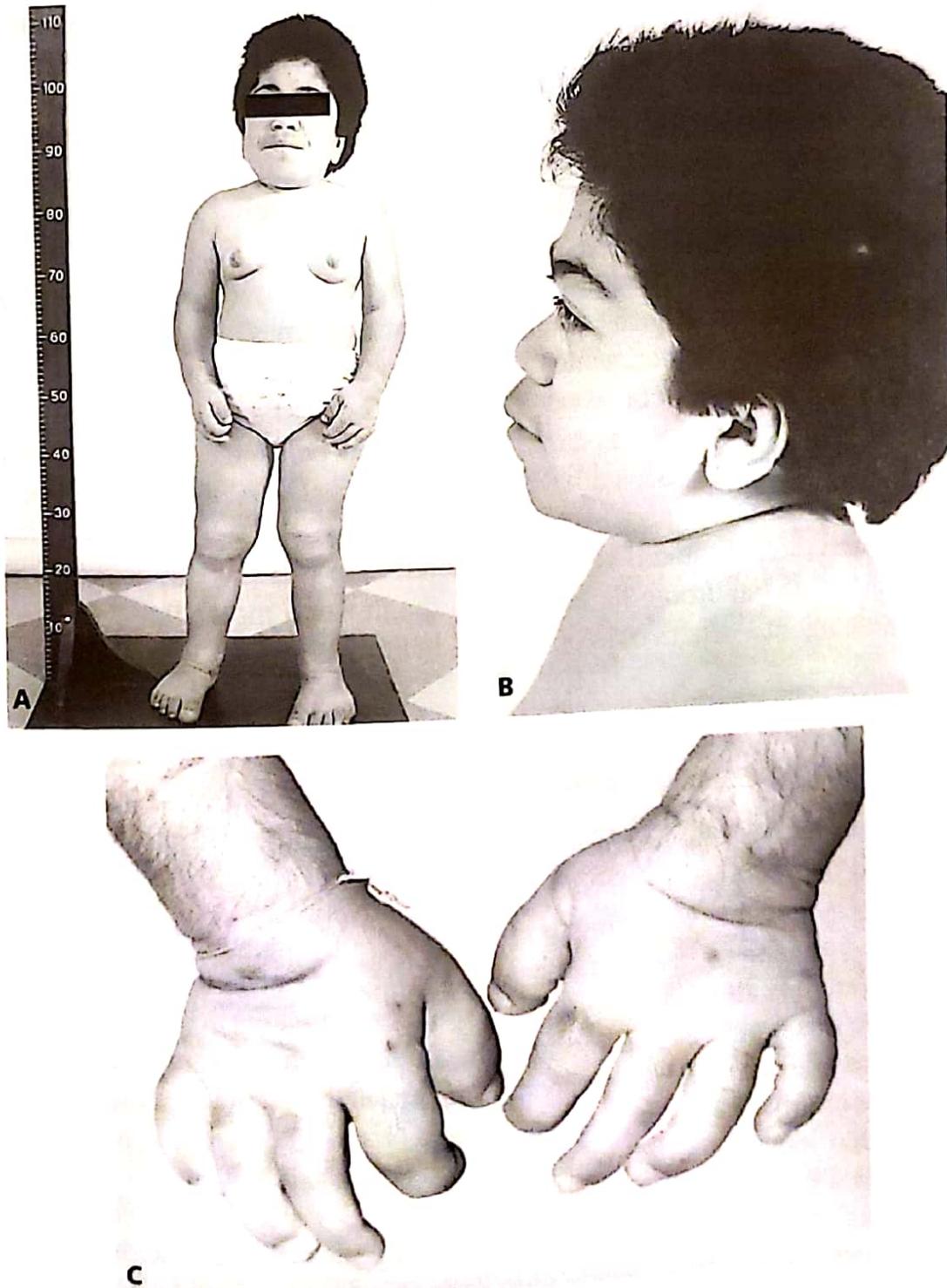


Figura 15.15 – Mucopolissacaridose. Paciente do Departamento de Genética do Instituto da Criança, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo (gentileza das Dras. Claudette H. Gonzalez e Chong Ae Kim).

o nome glicosaminoglicanoses soa ainda pior que mucopolissacaridoses) a esse grupo de doenças. O acúmulo é secundário ao funcionamento defeituoso ou ausente de enzimas lisossômicas que, normalmente, são encarregadas de metabolizar esses açúcares de cadeia muito longa. Existe um outro importante grupo de doenças metabólicas lisossômicas conhecidas pelo nome de mucopolissacaridoses, cujo quadro clínico, muitas vezes, é confundido com o das mucopolissacaridoses, por apresentarem manifestações semelhantes. Nesse grupo de doenças, porém, além do acúmulo de açúcares de cadeia longa, ocorre também acúmulo intra e extracelular de lipídeos.

Apresentamos, a seguir, uma classificação simplificada, porém relativamente atualizada dos principais tipos reconhecidos como mucopolissacaridoses. Com exceção da MPS II (síndrome de Hunter), que possui herança recessiva ligada ao cromossomo X, todas têm herança autossômica recessiva. Apesar da incidência baixa de cada uma delas em particular, em conjunto, elas contribuem com cerca de 1/10.000 afetados entre todos os recém-nascidos.

Uma prática importante do diagnóstico dessas doenças é que já existem tentativas de reposição da atividade enzimática em algumas de suas formas, as quais já são aplicadas com certo êxito. Esse tipo de tratamento é muito dispendioso, mesmo para os países mais desenvolvidos, que possuem economias equilibradas e sistemas de saúde que funcionam relativamente bem. Mesmo assim, ele já foi aprovado pelas agências regulatórias e é reembolsado nos Estados Unidos e na Europa. No Brasil, a ANVISA já aprovou esse tipo de reposição enzimática para MPS I, II e IV.

O diagnóstico diferencial das várias MPS é feito por meio da atividade enzimática. Somente na MPS II (síndrome de Hunter), o diagnóstico molecular é recomendado para o aconselhamento genético de potenciais heterozigotas.

Mucopolissacaridose I, MPS I ou originalmente síndrome de Hurler, síndrome de Scheie e síndrome de Hurler-Scheie (MIM 607014/15/16)

Os fenótipos Hurler e Scheie representam os extremos de evolução rápida e lenta do fenótipo da MPS I, enquanto a forma Hurler-Scheie apresenta-se como uma forma intermediária. Os afetados são homozigotos quanto a alelos autossômicos recessivos defeituosos de um gene (*IDUA*) localizado em 4p16.3. O gene normal é responsável pela síntese da enzima alfa-L-iduronidase. Como consequência do defeito enzimático, ocorre acúmulo dos seguintes carboidratos de cadeia longa não ramificada: sulfato de heparam e sulfato de dermatam. A síndrome é rara e sua incidência, estimada em vários trabalhos da literatura, é da ordem de 1 afetado em cada 100.000 recém-nascidos vivos. O quadro clínico inclui retardo mental extremamente variável, sendo prevalente na variante Hunter a não presente na forma Scheie, fácies grosseira, macroglossia, opacidade corneana, displasia óssea, articulações com pouca mobilidade, baixa estatura, hérnias, miocardiopatia e hepatoesplenomegalia. Na forma de evolução rápida, raramente os pacientes não tratados sobrevivem além dos 10 anos de idade. Os portadores da forma Scheie exibem um quadro às vezes tão brando, geralmente sem retardo mental, que em alguns o diagnóstico da condição foi realizado por volta dos 20 anos de idade.

Mucopolissacaridose II, MPS II ou síndrome de Hunter (MIM 309900)

A síndrome de Hunter é determinada por mutações patogênicas recessivas no gene *IDS* localizado no braço longo do cromossomo X, em Xq28. O gene normal é responsável pela síntese da enzima iduronato-2-sulfatase. Como resultado do defeito, os afetados (de sexo masculino, uma vez que se trata de gene mutado recessivo situado no cromossomo X) apresentam, como na síndrome de Hurler, acúmulo de sulfato de heparam e sulfato de dermatam. Os sinais e sintomas são semelhantes aos da síndrome de Hurler, porém mais brandos, e não existe opacidade corneana nos afetados. Clinicamente, também há uma gradação de fenótipos: forma grave, com retardo mental mais pronunciado e sobrevivida em geral inferior a 15 anos de idade; na forma menos grave, o desempenho cognitivo costuma estar pouco comprometido e os afetados costumam sobreviver até a fase adulta. Existem relatos de pacientes que sobreviveram até a quinta década. Observam-se articulações com pouca mobilidade e deformidades esqueléticas. A incidência (ao nascer, entre recém-nascidos vivos) é também baixa (da ordem de 1/50.000 recém-nascidos de sexo masculino ou de 1/100.000 recém-nascidos de ambos os sexos).

Mucopolissacaridose III, MPS III ou síndrome de Sanfilippo, formas A, B, C, D (MIM 252900, 252920, 252930 e 252940)

A síndrome é geneticamente heterogênea, pois o que se achava ser uma única entidade, na verdade é determinado por mutações patogênicas autossômicas recessivas diferentes: no cromossomo 17 (forma A, gene *SGSH* em 17q25.3; forma B, gene *NAGLU* em 17q21.2), no cromossomo 8 (forma C, gene *HGSNAT* em 8p11.21) e no cromossomo 12 (forma D, gene *GNS* em 12q14.3). Nas formas A a D, as enzimas cujas funções estão comprometidas são, respectivamente: sulfamidase, alfa-N-acetilglucosaminidase, acetil-CoA (alfa-glucosaminidase-N-acetil-transferase) e glucosaminidase-6-sulfatase. Os afetados por qualquer uma dessas formas excretam sulfato de heparam na urina. Seu fenótipo abrange retardo mental grave associado a manifestações somáticas relativamente brandas. Os acometidos apresentam visceromegalia moderada, opacidade corneana leve ou ausente, atraso pronunciado no desenvolvimento neuropsicomotor, hiperatividade muito pronunciada, espasticidade, disfunção motora e morte, geralmente na segunda década de vida. A incidência da MPSIII (conjunto das quatro formas) também é baixa na população geral (igualmente, como nas formas I e II, da ordem de 1/100.000).

Mucopolissacaridose IV, MPS IV A e B ou síndrome de Morquio, formas A e B (MIM 253000 e 233010)

A síndrome é heterogênea, com as formas A e B determinadas por mecanismo autossômico recessivo. A forma A é produzida pela homozigose de mutações patogênicas no gene *GALNS* em 16q24.3. O produto normal do gene é a enzima galactose-6-sulfatase. Os afetados mostram depósitos de sulfato de queratam, sulfato de condroitina e GalNAc6S, açúcares também excretados em grande quantidade pela urina. A forma B é determinada por mutações no gene *GLBA* da beta-galactosidase. Surgem depósitos teciduais e excreção

urinária elevada de sulfato de queratam apenas. Os quadros clínicos das duas formas são variáveis, se sobrepõem e compreendem os seguintes sinais: displasia óssea grave, com deformidades esqueléticas típicas, hiperextensividade articular, baixa estatura, anomalias dentárias e opacidades corneanas, além de disfunção motora. A inteligência não é afetada nem existe comprometimento primário do sistema nervoso (a disfunção motora é sempre secundária a lesões ósseas, principalmente de coluna vertebral). A sobrevida dos pacientes está inversamente correlacionada à gravidade do quadro clínico e os afetados podem sobreviver até a segunda ou a terceira década de vida. A incidência global de MPS IV foi estimada em cerca de 1/80.000 nascimentos de crianças vivas.

Mucopolissacaridose V

Antigamente os casos de síndrome de Scheie (atualmente variante da MPS I) eram classificados nesta categoria, que não existe mais.

Mucopolissacaridose VI, MPS VI ou síndrome de Maroteaux-Lamy (MIM 253200)

Esta rara forma de mucopolissacaridose é determinada pela homozigose de mutações no gene *ARSB* em 5q14.1, responsável pela codificação da enzima aril-sulfatase-B. Ocorre maior excreção urinária de sulfato de dermatam e sulfato de queratam. O quadro clínico, também amplamente variável, compreende displasia esquelética, baixa estatura, cifose, disfunção motora secundária, principalmente devida à falta de mobilidade das articulações, lesões osteoarticulares e defeitos cardíacos, sem comprometimento direto do sistema nervoso central ou da inteligência. A MPS VI tem incidência muito baixa, da ordem de 1/200.000 ao nascimento.

Modernamente, foram incluídas no grupo das mucopolissacaridoses mais duas síndromes recessivas raras, a síndrome de Sly (MPS VII, decorrente de deficiência da enzima beta-glucuronidase) e a síndrome de Natowitz (MPS IX, causada pela deficiência da enzima hialuronidase).