

Implicações do diagnóstico genético pré-implantação na análise dos erros inatos do metabolismo na prática clínica

Gabriela de Paiva Gonçalves¹, José Mateus dos Santos Neto¹, Iargram Leite Pereira¹, Marília Loiola Cardozo¹, Matheus Dias Marinho¹, Matheus Rodrigues de Araújo Estrela¹, Jalsi Tacon Arruda².

1. Discente do curso de medicina do Centro Universitário de Anápolis - UniEVANGÉLICA.
2. Docente do curso de medicina do Centro Universitário de Anápolis - UniEVANGÉLICA.

RESUMO: Os erros inatos do metabolismo (EIMs) são doenças hereditárias caracterizadas por alterações metabólicas que impedem a homeostase do organismo saudável, sobretudo em recém-nascidos e crianças. O desenvolvimento de tecnologias de genética associadas a reprodução assistida garante que hoje seja possível o diagnóstico de características genéticas de um embrião com intuito de verificar o risco de transferência de mutações que causam os EIMs. O objetivo desta revisão é avaliar o valor do diagnóstico genético pré-implantacional (PGD - Preimplantation Genetic Diagnosis) e seu uso para identificar mutações de EIMs em embriões, além de sua efetividade para a aplicação na prática clínica. As análises dos estudos permitiram compreender que o PGD é um teste genético para diagnóstico eficaz dos EIMs e outras doenças genéticas. Entretanto, ainda são necessários outros estudos com maior enfoque nos EIMs para se possa confirmar o PGD como técnica totalmente eficaz na prática clínica.

Palavras-chave:

Criança,
Disfunções
Metabólicas,
Pré-Natal,
Pesquisas com
Embriões,
Recém-
Nascidos,
Reprodução
Assistida.

INTRODUÇÃO

Os erros inatos do metabolismo (EIMs) são doenças genéticas, de herança autossômica geralmente recessiva, que se expressam na ausência de enzimas envolvidas na síntese, transporte ou degradação de moléculas envolvidas em alguma via metabólica. A falha em uma dessas vias influencia diretamente na homeostase do organismo. Hoje se conhece mais de 500 desordens (10% de todas as doenças genéticas) com incidência de 1 afetado a cada 800–2500 nascidos vivos e, dentre as quais, 6% dessas desordens conseguem ser diagnosticadas, o que representa uma causa significativa de morbidade e mortalidade infantil global (GHOSH et. al, 2017; ROMÃO et. al, 2017; WALTERS et. al, 2018).

A classificação dos erros inatos do metabolismo é feita com base na sua fisiopatologia: (1) distúrbios intermediários que culminam em intoxicação aguda ou crônica devido ao acúmulo de moléculas (defeitos no metabolismo de carboidratos e aminoácidos, acidemias orgânicas, e outros); (2) distúrbios do metabolismo energético, com deficiência na produção ou utilização de energia (defeitos mitocondriais e citoplasmáticos) e (3) desordens que envolvem moléculas complexas, causadas por danos em organelas celulares e doenças que perturbam as vias metabólicas de moléculas complexas (distúrbios do armazenamento lisossomal, distúrbios peroxissomais, deficiência de alfa-1-antitripsina e distúrbios congênitos da glicosilação) (SAUDUBRAY; GARCIA-CAZORLA, 2016).

Existem métodos de investigação dos EIMs realizados por meio de testes de triagem neonatal, análise de fenótipos detectores de marcadores bioquímicos, análise de deficiências específicas e sequenciamento genético de nova geração (NGS - Next Generation Screen Printing and Embroidery). Esses testes determinam melhor precisão de diagnóstico, prognóstico, pré-natal e no diagnóstico genético pré-implantação (GHOSH et. al, 2017).

O diagnóstico genético pré-implantação (PGD – Preimplantation Genetic Diagnosis) visa a identificação de alterações genéticas prévias a implantação de embriões produzidos por fertilização in vitro (FIV). Estabelecido mundialmente, pode ser aplicado para rastreio de qualquer tipo de distúrbio genético e no aconselhamento genético, inclusive de EIMs, pela variante do diagnóstico focado no rastreio de vários locos cromossômicos (PGS – Preimplantation Genetic Screening). Todavia, apesar da importância dessa abordagem para a tecnologia de reprodução assistida torna-se eticamente questionável em razão de seu uso duvidoso (seleção de sexo e de características com finalidade eugênica) por parte de alguns profissionais de saúde (MARAMBIO et. al, 2018).

Esse estudo objetiva demonstrar a relação entre o diagnóstico genético pré-implantação e seu uso para verificar os erros inatos do metabolismo, considerando a sua efetividade quanto a detecção de distúrbios metabólicos genéticos em embriões, e assim assegurar bons resultados clínicos para as tecnologias de reprodução assistida.

METODOLOGIA

Para essa revisão da literatura foram consultadas as bases de dados PubMed, SciELO (Scientific Eletronic Library OnLine) e Biblioteca Virtual em Saúde (BVS Brasil), abrangendo o período 2010-2018 (totalizando: 2010 [2], 2011 [1], 2014 [1], 2015 [2], 2017 [3], 2018 [2]). Os Descritores em Ciências da Saúde (DeCS) utilizados na busca foram: “erros inatos do metabolismo”, “diagnóstico genético pré-implantação”, “pré-natal”, “embriões” e “testes genéticos”. Foram feitas 6 buscas com combinações distintas dos descritores para uma melhor seleção, gerando 10 artigos escolhidos, os quais aliados a um capítulo de um livro-texto compuseram esta revisão. A organização dos artigos foi elaborada de acordo com os principais aspectos discutidos abordando os que mais se adequaram com o tema revisado.

Os critérios de inclusão dos artigos encontrados foram o acesso aos artigos completos com a associação entre os erros inatos do metabolismo e o diagnóstico genético préimplantação, além de artigos nos idiomas inglês e português, considerando o QUALIS dos periódicos (A2[4], B1[4], B4/B5[1]), baseados na área de avaliação (CIÊNCIAS BIOLÓGICAS I > GENÉTICA > GENÉTICA HUMANA E MÉDICA). Os demais artigos que não se enquadraram nos critérios de inclusão foram excluídos das análises, assim como aqueles que não fizeram referência aos erros inatos do metabolismo (e distúrbios relacionados) ou menos de dois dos descritores apontados.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O PGD e PGS são estudos realizados com uma célula do blastocisto, também chamado de biópsia do trofotoderma, que são as células que darão origem ao embrião. Esse tipo de biópsia é menos invasivo quando comparado a análise de células de outros estágios embrionários, garante melhores resultados além de proporcionar uma taxa de gravidez maior (MINASI, 2017).

Com base nas bibliografias analisadas observou-se que os diferentes testes para detectar EIMs cumprem o seu propósito de assegurar que muitas doenças genéticas não sejam transferidas aos descendentes, evitando abortos indesejáveis e o diagnóstico tardio de doenças que poderiam ser previamente identificadas e tratadas. Alguns testes realizados levaram em consideração sinais e sintomas, exames laboratoriais, idade, sexo e histórico familiar dos pacientes em estudo.

Em um estudo realizado em Florianópolis, no Brasil, dos 144 pacientes analisados 8,3% tiveram diagnóstico de EIMs confirmados e foram subdivididos em 4 grupos, de acordo com o distúrbio metabólico apresentado, sendo estes: aminoacidopatias, distúrbios do ciclo da ureia, acidemias orgânicas e doenças de depósito lisossômico (ROMÃO et. al, 2017). Um outro estudo realizado em Manchester, na Inglaterra, de coorte pela abordagem NGS, com 102 indivíduos reconheceu efetivamente 51 deles como afetados pelos EIMs total ou parcialmente (GHOSH et. al, 2017). Com isso, comprova-se que esses diagnósticos tardios poderiam ser evitados se a abordagem em PGD fosse utilizada.

No entanto, apesar de possuírem diagnósticos precisos, esses testes, como foi evidenciado, em muitos casos são rejeitados por grande parte das pessoas já que questões culturais e pessoais são colocadas à tona. Desse modo, esse atraso no diagnóstico e na terapia aumenta o risco de lesões neurológicas nos pacientes, bem como pode ocorrer um aumento do risco de óbito, em consequência dos EIMs. Sabe-se que em crianças, por exemplo, o diagnóstico precoce dos EIMs melhora significativamente o prognóstico das doenças e, por muitas vezes, evita graves consequências das mutações causadoras desses erros (MINASI et. al, 2017).

Assim, evidencia-se que a segurança desses métodos precisa ser melhor demonstrada, e as questões éticas precisam ser resolvidas antes que esses métodos sejam, veementemente, implantados na prática clínica. Em casos de doenças envolvendo a sequência de DNA mitocondrial, por exemplo, que ocorre em 1 a cada 10.000 pacientes, é possível prevenir com o diagnóstico precoce, em 20%, a transmissão de mutações (SMEETS et. al, 2015). Além disso, o PGD para detectar a doença de depósito de glicogênio tipo IV, foi possível obter otimização, precisão e confiabilidade no método que acarretou no nascimento de gêmeos livres de qualquer mutação relacionada a doença e totalmente saudáveis (DESTOUNI et. al, 2010).

A biópsia em blastômeros no estágio de clivagem de 3 dias pode causar mais danos ou perdas celulares ao embrião (SIMPSON, RECHITSKY, 2017), quando essa técnica é comparada a biópsia do trofotoderma. Um estudo multicêntrico realizado em Amsterdam e Groningen, nos Países Baixos, verificou a evolução do desenvolvimento de embriões biopsiados no estágio de blastômeros, e geraram crianças de 9 anos não afetadas após análises de PGD, buscando relações entre essa abordagem e alterações no desenvolvimento neurológico, cognitivo e comportamental, na pressão arterial e antropometria. Foram observadas 144 crianças divididas em dois grupos comparativos: 43 submetidas ao PGS e 56 geradas sem análises por PGS. Os autores chegaram à conclusão de que não houve qualquer evidência de alteração significativa relacionada aos diagnósticos genéticos, sendo um fator tranquilizador para casais que consideram optar pelo PGD depois de aconselhados por geneticistas (KUIPER et. al, 2018).

Em outro estudo realizado em Jerusalém, Israel, para assegurar o efeito preventivo do PGD sobre o nascimento de crianças com doenças endócrinas hereditárias, como o EIMs, foram propostos protocolos distintos para verificar mutações em decorrência da heterogeneidade dos EIMs, que pode causar desordens como hipoglicemia hiperinsulinêmica persistente do lactente (HHPI) e hiperplasia adrenal congênita (HAC). Foram analisados 6 casais com ao menos um filho já afetado: 3 portadores de mutações para HHPI, 1 portador da alteração para HAC e outros dois distúrbios. Os três casais com HHPI depois do PGD conseguiram ter filhos não afetados geneticamente, mesmo os pais sendo portadores, com taxa de diagnóstico (TD) igual a 94%. Nesse caso, uma menina (do casal 1), um menino e depois gêmeos (do casal 2) e uma outra menina (do casal 3) não foram afetados. Um casal portador de HAC

com histórico de uma filha falecida pela doença, em seu primeiro ciclo de PGD conseguiram ter uma menina saudável. Apesar da pequena abrangência, esse estudo conseguiu demonstrar a eficácia de prevenção das desordens metabólicas genéticas, sem a necessidade de diagnósticos pré-natais invasivos e interrupção da gravidez de fetos afetados, sobretudo, sobre doenças autossômicas recessivas (caso da maioria dos erros inatos do metabolismo) (ALTARESCU et. al, 2011).

Além disso, o PGD associado as novas abordagens tecnológicas como o karyomapping, conseguiu ampliar sua atuação e prevenir distúrbios, permitindo o nascimento de um menino não afetado pela síndrome de Smith-Lemli-Opitz, um tipo de EIMs autossômico recessivo que leva a múltiplas anormalidades congênitas e retardo mental (NATESAN et. al, 2014). Com isso, o potencial do PGD em detectar qualquer desordem monogênica e anormalidades citogenéticas moleculares pode ser maior em um só teste.

CONCLUSÃO

O diagnóstico genético pré-implantacional pode ser sugerido para os casais com histórico familiar de alterações genéticas e risco de transmitir essas anomalias para seus descendentes. A transferência seletiva e implantação de embriões não afetados e selecionados na fertilização in vitro evitam interrupções gestacionais indesejáveis e abortos espontâneos. Embora esbarre em barreiras éticas, morais e culturais, o uso do PGD, ainda sim é indicado, haja vista que é um dos principais meios para o rastreamento de doenças genéticas potencialmente danosas como os erros inatos do metabolismo (fibrose cística, doença de depósito de glicogênio tipo IV, doenças do DNA mitocondrial, por exemplo). Dessa forma, é importante conscientizar e atualizar a comunidade médica para a utilidade desse método na prática clínica é extremamente importante.

REFERÊNCIAS

ALTARESCU, G.; et al. Preimplantation genetic diagnosis (PGD) – prevention of the birth of children affected with endocrine diseases. *Journal of Pediatric Endocrinology and Metabolism*, v. 24, n. 7-8, p. 543-8, 2011.

DESTOUNI, A.; et al. PGD for glycogen storage disease type IV: birth of healthy twins following successful clinical application of a mutation-specific protocol. *Prenatal Diagnosis*, v. 30, n. 2, p. 180-182, 2010.

GHOSH, A. Diagnosing childhood-onset inborn errors of metabolism by next-generation sequencing. *Archives of Disease in Childhood*, v. 102, p. 1019-1029, 2017.

KUPIER, D.; et al. Developmental outcome of 9-year-old children born after PGS: follow-up of a randomized trial. *Human Reproduction*, v. 33, n. 1, p. 147–155, 2018.

MARAMBIO, J.T.A.; ALCANTARA, M.J.S. Ethical Problems with the Preimplantation Genetic Diagnosis of Human Embryos. *Acta Bioethica*. v. 24, n. 1, p. 75-83, 2018.

MINASI, M.G.; et al. Genetic diseases and aneuploidies can be detected with a single blastocyst biopsy: a successful clinical approach. *Human Reproduction*, v. 32, n. 8, p. 1770–1777, 2017.

NATESAN, S.A.; et al. Live birth after PGD with confirmation by a comprehensive approach (karyomapping) for simultaneous detection of monogenic and chromosomal disorders. *Reproductive Biomedicine Online*, v. 29, n. 5, p. 600–605, 2014.

RECHITSKY, S.; et al. First systematic experience of preimplantation genetic diagnosis for single-gene disorders, and/or preimplantation human leukocyte antigen typing, combined with 24-chromosome aneuploidy testing. *Fertility and Sterility*, v, 103, n. 2, p.503-512, 2015.

ROMÃO, A.; et al. Apresentação clínica inicial dos casos de erros inatos do metabolismo de um hospital pediátrico de referência: ainda um desafio diagnóstico. *Revista Paulista de Pediatria*, v. 35, n. 3, p. 258-264, 2017.

SAUDUBRAY, J.M.; GARCIA-CAZORLA, A. Clinical Approach to Inborn Errors of Metabolism in Pediatrics. *Inborn Metabolic Diseases*, 6th. p. 3–70, Springer, 2016.

SIMPSON, J.; RECHITSKY, S. Preimplantation Diagnosis and Other Modern Methods for Prenatal Diagnosis. *Genetic Steroid Disorders*, v. 165, n. (Pt. A), p. 124-130, 2017.

SMEETS, H. J.; et al. Preventing the transmission of mitochondrial DNA disorders using prenatal or preimplantation genetic diagnosis. *Annals of the New York Academy of Sciences*, v.1350, n. 1, p.29-36, 2015.

WATERS, D.; et al. Global birth prevalence and mortality from inborn errors of metabolism: a systematic analysis of the evidence. *Journal of Global Health*, v. 8, n. 2, nov. 2018.