

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO – GRADUAÇÃO EM BIOMEDICINA

Teste do Pezinho: Mecanismos genéticos e aplicações

Fernando Rodrigues Ferreira¹

Bruno Silva Milagres²

RESUMO

Esse presente estudo trata-se de uma revisão bibliográfica sendo de suma importância para agregar informações aos mecanismos genéticos do Programa Nacional do Teste do Pezinho (PNTP), a criação desse programa iniciou-se no Brasil em 1976, em São Paulo, quando a Associação de Pais e Amigos dos Excepcionais de São Paulo (APAE-SP), tornaram a iniciativa pioneira na América Latina. Sendo assim, tem como objetivo detalhar a importância da realização do teste do pezinho em recém-nascidos e trazer informações genéticas do estudo das 3 principais doenças, a fenilcetonúria, o hipotireoidismo congênito e doença falciforme e a descrição das principais doenças realizadas pelo Sistema Único de Saúde (SUS), busca evidenciar o sequenciamento genético do teste pezinho.

Palavras-chave: teste do pezinho; genética; saúde da criança; erros inatos do metabolismo.

ABSTRACT

National Program for the Newborn Screening, this milestone in Brazil's history began in 1976 in São Paulo when the Association of Parents and Friends of Exceptional Children of São Paulo (APAE-SP) pioneered the initiative in Latin America. Therefore, it aims to detail the importance of carrying out the heel prick test in newborns and bring genetic information from the study of the 3 main diseases, phenylketonuria, congenital hypothyroidism and sickle cell disease and the description of the main diseases carried out by the Unified System of Health (SUS), seeks to highlight the genetic sequencing of the heel prick test.

Keywords: newborn screening; genetics; child health; inborn errors of metabolism.

¹ Acadêmico do Curso de Bacharelado em Biomedicina do Centro Universitário de Brasília – CEUB

² Professor do Curso de Biomedicina do Centro Universitário de Brasília - CEUB

1 INTRODUÇÃO

O Programa Nacional do Teste do Pezinho, tem o seu marco na história do Brasil iniciado em 1976, em São Paulo, quando a Associação de Pais e Amigos dos Excepcionais de São Paulo (APAE-SP) tornaram a iniciativa pioneira na América Latina. Logo após, na década de 80, outros estados do Brasil começaram a implementar legislações para realização desse programa, contudo em 13 de julho de 1990, com a Lei Federal nº 8.069 criou o Estatuto da Criança e do Adolescente formou-se a obrigatoriedade de hospitais e outros locais de fornecimento de saúde para a população a realização de exames preventivos tendo em vista o diagnóstico e tratamento precoce que poderiam ser atribuídos para recém-nascidos com doença metabólica. Este programa tem como meta a identificação de doenças e distúrbios, que irá promover o tratamento, a intervenção adequada, que por sua vez, se possível, evitar sequelas e mortes (BRASIL, 2022).

Considerada a maior iniciativa do Sistema Único de Saúde (SUS) na área da genética, o Programa Nacional do Teste do Pezinho possui a finalidade de uma ação preventiva, contribuindo para a diminuição da mortalidade infantil, proporcionando rápido diagnóstico de sete doenças, quais sejam: Fenilcetonúria, Hipotireoidismo congênito, Doença Falciforme e outras hemoglobinopatias, Fibrose Cística, Hiperplasia Adrenal Congênita, Deficiência de Biotinidase e Toxoplasmose Congênita (BRASIL, 2022).

Recentemente, em março de 2021, foi aprovado o projeto de lei nº 5.043/2020, uma emenda substitutiva, que cria um cronograma de ampliação para o teste do pezinho. Com o exame ampliado, é possível identificar também, galactosemias, aminoacidopatias, distúrbios do ciclo da ureia, distúrbios da beta oxidação dos ácidos graxos, doenças lisossômicas, imunodeficiências primárias e atrofia muscular espinhal (BRASIL, 2022).

É estimado que cerca de 1/3 das crianças nascidas no mundo possuem acesso ao teste do pezinho, porém, há uma discrepância nessa homogeneidade, onde há maior cobertura está voltada aos países desenvolvidos. Na América Latina, foi estabelecida em 1980, uma política pública para realização do teste do pezinho. No entanto, os Estado Unidos é um dos países pioneiros na implantação do teste, sendo ofertado há mais de 50 anos, apesar de não existir um programa que padronize esse procedimento. Entre os países da América Latina, pode-se destacar a Costa Rica, por possuírem mais de 30 alterações rastreadas e uma cobertura de mais de 95% dos nascimentos em contrapartida o Peru e Bolívia apresentam apenas 20% dos recém-nascidos atendidos (LOEBER *et al.*, 2021).

A África possui resultados preocupantes, pois possui baixa cobertura e baixo rastreamento, com cerca de 75% dos nascimentos com doença falciforme, sendo que 50% a 90% das crianças por não ter diagnóstico acabam morrendo antes do quinto ano de vida. A Índia, país com maior número de nascidos vivos, apresenta dados bastante preocupantes com uma cobertura abaixo de 1%. A China, segundo maior país em nascidos, possui cerca de 85% de cobertura (THERRELL *et al.*, 2015).

Com relação a Europa, observa-se uma diversificação em relação à abrangência de exames no teste do pezinho, apesar de não possuir nenhum programa de testagem ainda instaurado. Na França, a testagem engloba seis anormalidades. Já a Itália, é um dos países que vêm se destacando pois vem rastreando trinta e uma anormalidade (LOEBER *et al.*, 2021).

Tendo como meta a detecção de doenças neonatais, o Programa Nacional de Triagem Neonatal (PNTN) se torna bastante útil nas primeiras horas de vida de um recém-nascido (0 a

30 dias de vida), sendo de extrema importância para descoberta de enfermidades e doenças relacionadas à imunodeficiência primária (BRASIL, 2002).

O rastreamento realizado corretamente pelo PNTN, por sua vez, não se confunde com outra enfermidade, possuindo alta especificidade, evitando que haja cronificação da patologia já existente. Todavia, complementa os exames pré-natais, que busca alterações, na saúde materna e fetal, que poderiam ser prejudiciais à gestação ou à vida da mãe e do bebê. A realização do teste e o apoio governamental e familiar são necessários, pois não surgirá efeito realizando teste de uma doença se o sistema de saúde não possuir capacidade para confirmação do diagnóstico. Dessa forma faz-se necessário que haja aconselhamento, um tratamento adequado e um acompanhamento rotineiro da criança (ISNS, 2021).

A saúde da criança no Brasil nas últimas duas décadas, apresentam resultados positivos, visto a decadência no número de mortalidade <5 anos. Observam – se 62 óbitos, em 1990 passando para 14 óbitos em 2012, para cada 1.000 nascidos vivos. Em 2021, o programa de triagem testou 2.2 milhões de bebês, em cerca de 29 mil pontos de coleta em todo país (BRASIL, 2022).

O objetivo deste trabalho foi descrever sobre a forma de realização do teste do pezinho e os mecanismos genéticos das 3 principais doenças, por ele detectadas, a saber: fenilcetonúria, hipotireoidismo congênito e doença falciforme.

2 MÉTODO

Visando agregar mais conhecimento para a realização do teste do pezinho, este trabalho teve como objetivo uma pesquisa bibliográfica, utilizando trabalhos existentes e informações publicadas pelo Ministério da Saúde. Esta pesquisa teve como campo de estudo as bases de dados: *Scientific Electronic Library Online (SciELO)* e *Business Source Complete (EBSCO)*, tendo finalidade de mostrar a importância do tema proposto, fazendo o uso dos seguintes descritores: triagem neonatal, recém-nascido, teste do pezinho, genética e criança.

O mecanismo de busca foi a inclusão de trabalhos que mencionassem a importância do teste do pezinho e doenças genéticas associadas. Para a realização deste estudo foi necessário o uso de artigos científicos que fizessem a abordagem da temática proposta.

Para a linha de estudo, fez-se necessário a utilização de artigos publicados no período de 2002 ao ano de 2022, nos idiomas, português e inglês.

3 DESENVOLVIMENTO

3.1 Teste do pezinho e doenças rastreadas

O PNTN se torna importante para o diagnóstico das doenças, realizando precocemente para possivelmente modificar a história natural da doença em estágio avançado através da introdução de um tratamento pré-clínico, a Triagem Neonatal (TN) consiste em identificar possíveis patologias, com a finalidade de realização de exames preventivos tendo em vista o diagnóstico e tratamento precoce que poderiam ser atribuídos para recém-nascidos com doença metabólica. A TN é realizada por testes laboratoriais, sendo conhecida como Teste do Pezinho, na qual são feitas coletas de amostras de sangue do Recém-Nascido (RN) nos

primeiros dias de vida. Este programa tem como objetivo identificar doenças e distúrbios, que poderão auxiliar no tratamento, na intervenção adequada, que por sua vez, se possível, evitar sequelas irreversíveis nessas crianças. De acordo com Kopacek e colaboradores (2015), ressalta que o teste do pezinho deve ser realizado entre o 3º e 5º dia de vida do RN, jamais ultrapassando o sétimo. Com isso, a mãe ou responsável, deverá comparar com a criança em uma Unidade Básica de Saúde (UBS) ou Centro de Referência do Município mais próximo da sua residência para realização do teste (BRASIL, 2022; JENUÁRIO, 2015).

Visto a inacessibilidade para a população ribeirinha de acesso à atenção primária, é necessário fazer um olhar diferenciado, voltado para a elaboração de Políticas Públicas, como foi ocorrido na reformulação da Política Nacional da Atenção Básica (PNAB), com a implantação das equipes ribeirinhas fluviais, assim como da UBS Fluvial para o contexto da Amazônia e da região pantaneira (ALMEIDA, 2022).

Para a realização da coleta, o profissional deve obedecer ao local de punção, sendo na região medial ou lateral, não sendo realizada na região central do pé. É necessário que o profissional evite sangramento em abundância, pois poderá resultar em uma camada excessiva de sangue no papel, sendo assim necessário que estanque o sangramento com algodão seco e aguardando um fluxo do sangue mais lento e contínuo (BRASIL, 2016). A meta do teste é buscar cobertura de 100% dos nascidos vivos e a definição de uma abordagem mais ampla, determinando que o processo de Triagem Neonatal envolva várias etapas. Dentre elas: a realização do exame laboratorial, a busca ativa dos casos suspeitos, a confirmação diagnóstica, o tratamento e o acompanhamento multidisciplinar especializado dos pacientes, que se dá por profissionais da saúde de diversas áreas, com qualificações e experiências complementares, que trabalham em comunhão a fim de garantir um tratamento completo e sistêmico. Todavia, o PNTN cria o mecanismo de ação para que seja alcançada a meta principal, que é a prevenção e redução da morbimortalidade provocada pelas patologias triadas (BRASIL, 2002).

O teste do pezinho é fornecido de forma gratuita no SUS, porém em algumas unidades laboratoriais em Brasília-DF, é cobrado cerca de R\$ 75,00 para o teste simples, em que são identificadas sete tipos de doenças: Fenilcetonúria, Hipotireoidismo congênito, Doença Falciforme e outras hemoglobinopatias, Fibrose Cística, Hiperplasia Adrenal Congênita, Deficiência de Biotinidase e Toxoplasmose Congênita, e o teste ampliado entre os valores a partir de R\$ 140,00 a R\$ 170,00, porém, convênios de saúde ofertam cobertura para realização do teste, mas é necessário fazer a procura com a própria administradora para certificar se o mesmo cobre para a realização. Apesar disso, esse teste se faz possível para a investigação de mais de 50 enfermidades, dividindo-se em 5 etapas e estão demonstradas no (QUADRO 1).

Na primeira etapa da triagem é possível investigar a toxoplasmose congênita, além das já identificadas no teste básico do SUS. Na segunda etapa, é possível identificar problemas com carboidratos, aminoácidos, além do ciclo da ureia e lipídios e ácidos graxos. Na terceira etapa, são diagnosticadas doenças que atingem o metabolismo, lisossômicas, que são assintomáticas e evoluem progressivamente, afetando os ossos e o sistema nervoso central. Na quarta etapa, o foco é no sistema imunológico, que passa a englobar imunodeficiência primária, com finalidade de identificar as disfunções no sistema imune, sendo doenças autoimunes e malignidades. A quinta e a última etapa, fazem a investigação da atrofia muscular espinhal (AME), considerado uma doença degenerativa que compromete os neurônios motores, responsáveis por ações vitais (BRASIL, 2022).

Quadro 1 – Doenças diagnosticadas no teste simples feito pelo SUS, etapa 1 e subsequente nas próximas etapas, 2 ao 5, o teste ampliado realizado em laboratório privado

ETAPA 1	ETAPA 2	ETAPA 3	ETAPA 4	ETAPA 5
Fenilcetonúria	Galactosemias	Doenças lisossômicas	Imunodeficiências Primárias	Atrofia muscular espinhal
Hipotireoidismo Congênito	Aminoacidopatias	-	-	-
Hiperplasia Adrenal Congênita	Distúrbio do ciclo da ureia	-	-	-
Deficiência de biotinidase	Distúrbio da B-oxidação dos ácidos graxos	-	-	-
Doença Falciforme	-	-	-	-
Toxoplasmose congênita	-	-	-	-
Fibrose Cística	-	-	-	-

Fonte: Adaptado de Brasil (2016).

3.1.1 Fenilcetonúria

A Fenilcetonúria (PKU) é classificada como uma herança autossômica recessiva, com indivíduos heterozigóticos apresentando mutações diferentes (LEVY, 1989; NIH, 2001), sem o diagnóstico precoce e tratamento antes dos 3 meses de vida. O paciente poderá apresentar quadro clínico clássico, caracterizando-se por atraso global do desenvolvimento neuropsicomotor (DNPM), deficiência mental, comportamento agitado ou padrão autista, convulsões, alterações eletroencefalográficas e odor característicos na urina. (BRASIL, 2016). O gene da fenilalanina hidroxilase está localizado entre as bandas 2 e 4 da região 2 no braço longo do cromossomo 12 (12q22-q24.1) (HENDRIKSZ; WALTER, 2004).

Algumas mutações ocorrem devido a destruição completa da função da fenilalanina hidroxilase, já outras estão associadas com atividade residual da enzima, podendo ser, deleção da parte de um gene, inserção de bases adicionais, mutação “missense”, na qual irá alterar um aminoácido na proteína, por defeitos no processo de “splicing”, a remoção dos íntrons não é feita corretamente, levando à alteração na leitura de tripletos, e mutações “nonsense”, dando surgimento a um códon de terminação prematuro, levando a proteína ficar mais curta, perdendo sua atividade catalítica (Matalon, 2001).

3.1.2 Hipotireoidismo Congênito

O Hipertireoidismo Congênito (HC) é causado devido à incapacidade da glândula tireóide do recém-nascido em produzir a quantidade adequada de hormônios tireoidianos, resultando em uma diminuição generalizada dos processos metabólicos (BRASIL, 2017).

O hipotireoidismo primário (HP) tem sua classificação como permanente ou transitório, comumente chamada de disgenesia tireoidiana (DT). Sendo assim, ela irá apresentar de forma esporádica, pesquisadores sugerem que existam mutações nos fatores de transcrição (TTF2, TTF 1 e PAX-8). Quando sua origem vem da hipoplasia, literaturas preconizam uma associação nas mutações no gene do PAX8 e/ou gene do receptor TSH. Elucidando estudos designam que os fatores de transcrição FOXE1 (*forkhead box E1* - também conhecido como FKHL15, TTF-2 e TTF2), o NKX2.1 (TTF-1 e TTF 1) e PAX-8 são indispensáveis para evolução glandular, seja do ponto de vista migratório, como proliferativo (PERONE *et al.* 2003).

3.1.3 Doença Falciforme

Como muitas pessoas pensam, essa doença não é exclusivamente de indivíduos africanos. Ela ocorre devido a uma mutação no cromossomo 11, que resulta na substituição de um ácido glutâmico por uma valina na posição $\beta 6$ da extremidade N-terminal na cadeia β da globina, que poderá levar à produção da hemoglobina S (HbS), que está presente em todos os eritrócitos (FONSECA, 2004; ZAGO; PINTO, 2013).

É considerada uma das enfermidades genéticas e hereditárias mais comuns no Brasil. Ocorre devido a uma modificação, comumente chamado de mutação, no gene da globina (DNA), que ao invés da produção de HbA (hemoglobina A) será resultante de uma mutante, HbS (hemoglobina S), sua combinação com outro gene para hemoglobina S, C ou D, resultará em um genótipo em heterozigose, sendo identificada como “portador de traço falciforme” (BRASIL, 2014)

O traço falciforme é decorrido por uma herança genética, nos casos em que existe apenas um gene para HbS e outro para HbA, sendo resultante de um genótipo AS (heterozigose), não é classificada como uma doença, pois não constitui uma modalidade atenuada da DF, sendo muito menos uma forma incubada ou subclínica, na qual pode se transformar em doença em determinadas circunstâncias (BRASIL, 2014).

3.1.4 Fibrose Cística

A Fibrose Cística (FC) é uma doença hereditária considerada grave, sendo padrão de herança autossômico recessivo, afetando pulmões e pâncreas, em decorrência de um processo obstrutivo na qual é causado pelo aumento da viscosidade do muco (BRASIL, 2022).

O gene causador responsável pela FC foi localizado no braço longo do cromossomo 7 (*locus* 7q31). Estudos mostram variações da função pulmonar de pacientes que são portadores de FC com o mesmo genótipo, fazendo inclusão de homozigotos DF508. Heterozigotos compostos pela associação de DF508 e qualquer uma das mutações graves do gene FC (tais delas G551D, G542X, R553X, W1282X, N1303K, 1717-1G-A E 621+1G-T) não demonstraram alguma diferença fenotípica significativa dos homozigotos DF508. Alguns pacientes portadores que são homozigotos ou heterozigotos para duas mutações sem sentido

possuem doença pulmonar leve, porém severo envolvimento pancreático. Para explicação desse caso, uma hipótese é que o fenótipo, no pulmão, possui a ausência da proteína CFTR que deve ser menos prejudicial do que a proteína defeituosa (CABELLO, 2014).

3.1.5 Hiperplasia Adrenal Congênita

A Hiperplasia Adrenal Congênita (HAC) é transmitida de forma autossômica recessiva, causada pela ausência da 21-hidroxilase, caracterizada por deficiências enzimáticas na síntese de esteroides adrenais. A ausência de uma das cinco enzimas, pode promover a hiperprodução de andrógenos pela glândula adrenal, em mulheres (46, XX) podem apresentar pseudo-hermafroditismo feminino gerando o engrossamento da voz pelo processo de virilização (masculinização) e em homens terão a puberdade precoce (NEVES *et al.*, 2021).

O gene CYP21A2, fazendo parte do maior complexo de histocompatibilidade (MHC), (anteriormente chamada de P450c21B, CYP21b ou CYP21) codifica 21-hidroxilase, uma enzima do citocromo P450 tipo II de 495 aminoácidos. O gene CYP21A2 e seu pseudogene duplicado (CYP21A1P), sendo um subproduto não funcional do gene que foi formado a partir da pressão seletiva durante a evolução, ficam localizados em 30 kb de distância na região de classe III do antígeno leucocitário humano (HLA) no locus de histocompatibilidade principal (MHC) no braço curto do cromossomo 5 (6p21.3). O gene CYP21A1P está inativo devido à presença de aproximadamente 11 mutações deletérias em sua região de codificação (SHMOUNI *et al.* 2019).

3.7 Deficiência de Biotinidase

A Deficiência de Biotinidase (DBT) é uma doença metabólica hereditária na qual o indivíduo afetado terá um defeito no metabolismo da biotina, herdada de forma autossômica recessiva, sendo de expressão fenotípica variada. Possui a depleção da biotina endógena devido à incapacidade do organismo em fazer sua reciclagem ou usar a biotina ligada à proteína adquirida através da dieta, sendo assim, originando deficiência múltipla de carboxilases (DMC) sendo na forma juvenil ou tardia (BRASIL, 2016).

A biotina é uma vitamina do complexo B, hidrossolúvel, sendo essencial para a nutrição do ser humano, importante para a gliconeogênese, síntese de ácidos graxos e catabolismo de vários aminoácidos de cadeia ramificada. A biotinidase (biotin-amidohidrolase) é enzima fundamental no ciclo da biotina (LARA *et al.*, 2014).

O gene da biotinidase está determinado e o gene humano da biotinidase (BTD:609019) consiste em quatro éxons. Sendo assim, está mapeado no braço curto do cromossomo 3 (3p25). Seu DNA complementar que decifra a biotinidase sérica humana normal já foi clonado e codificado. São reconhecidas cerca de 140 mutações patogênicas associadas à DPB. Sendo a sua maioria em indivíduos com DPaB tem a mutação c.1330G>C (p.D444H) em um dos alelos, em combinação com a segunda mutação para DPB no outro alelo. Sua mutação sozinha causa cerca de 48 a 52% da perda da atividade da enzima aberrante daquele alelo (LARA *et al.*, 2014).

3.2 PRINCIPAIS DOENÇAS RASTREADAS PELO TESTE DO PEZINHO

A investigação genética pré-natal tem como finalidade a detecção, ainda no útero, de doenças que, de outra forma somente seriam diagnosticadas após o nascimento, servindo como contribuição para esclarecimento etiológico de malformações fetais detectadas. As anomalias cromossômicas são muito frequentes nos seres humanos, com responsabilidade de 50% dos abortamentos espontâneos, em torno de 6% dos casos de anomalias congênitas, sendo assim. no quadro 2, serão feitas as descrições das doenças e logo em seguida como será sua deficiência biológica e será feita as características mais comuns de cada doença. (BATISTA, 2012).

Quadro 2 – Doença genéticas associadas ao teste do pezinho e suas principais sintomatologias e descrição genética.

Doença	Deficiência genética	Caracterização
Fenilcetonúria	Autossômica recessivas heterozigotos	Atraso global do desenvolvimento neuropsicomotor, odor característico na urina
Hipotireoidismo Congênito	Autossômica recessiva dominante	Hipotonia muscular, cianose, icterícia prolongada, bradicardia
Fibrose Cística	Autossômica recessivas heterozigotos ou homozigotos	Pulmão e pâncreas, aumento da viscosidade do muco
Anemia Falciforme	Herança hereditária	Irritabilidade, febre, dactilite, infecções e esplenomegalia
Deficiência de Biotinidase	Autossômica recessiva	Distúrbios neurológicos, crises epiléticas, hipotonia e microcefalia
Hiperplasia Adrenal Congênita	Autossômica recessiva	Pseudo-hermafroditismo feminino e pubarca precoce masculino
Toxoplasmose Congênita	Autossômica recessiva	Crises epiléticas, deficiência auditiva, distúrbios visuais.

Fonte: Adaptado de Brasil (2016).

3.2.1 Fenilcetonúria e seus mecanismo genéticos

A fenilcetonúria, tem o nome derivado do metabólito excretado na urina dos pacientes, o fenilpiruvato, que confere um odor característico (cheiro de urina de rato). Nos primeiros três meses de vida pode ser percebido um odor corporal de mofo, devido ao aumento do ácido fenilacético. (TOURYAN; SIDBURY, 1978; WILLIAMS; MAMOTTE; BURNETT, 2008). Seu início é através da hiperfenilalaninemia (HFA) que é a concentração aumentada de

fenilalanina (FAL) no sangue na qual irá se caracterizar um processo patológico mais frequente no grupo de erros inatos do metabolismo, constitui-se de uma desordem primária do sistema de hidroxilação elevados dos níveis de fenilalanina (Phe) no sangue. A HFA é em decorrência de uma deficiência parcial ou total da enzima fenilalanina-hidroxilase (FAH) que promove, no fígado, a hidroxilação da FAL que será convertida em tirosina (TIR). Com essa deficiência, na sua característica mais grave, recebe o nome de fenilcetonúria clássica (FNC) (VILARINHO *et al.*, 2006) (SCRIVER; KAUFMAN, 2001).

O gene codificante da enzima fenilalanina-hidroxilase localizado no cromossoma 12q22-q24.1 foi identificado por Woo, nos anos 80 (WOO *et al.*, 1983). Em 1985, Kwok e colaboradores isolaram e clonaram o DNAc da FAH humana (KWOK *et al.*, 1985) e, na década de 90, Konecki obteve a sequência genômica completa do gene codificante da enzima fenilalanina-hidroxilase. Com isso, fazendo o isolamento da FAH, ampliou o conhecimento e a compreensão da função desta enzima quanto à relação mutação/atividade. Devido à clonagem foi possível fazer a identificação das primeiras mutações. Entretanto, este número tem se multiplicado desde então, sendo conhecidas, atualmente, cerca de 528 mutações, através disso, devido à variabilidade gênica das mutações no gene da FAL, são obtidos vários graus de severidade das HFA que, para o seu desenvolvimento, vem sendo necessária a utilização de novas terapias gênicas, que estão em estudos ainda (KONECKI *et al.*, 1992; SCRIVER; KAUFMAN, 2001; BICKEL, 1987; SCHMIDT *et al.*, 1987; GÜTTLER; GULDBERG, 1994; VILARINHO *et al.*, 2006; PHOMMARINH; SCRIVER, 2007).

A FAL contém uma sequência nucleotídica conhecida de 90Kb. Contém 13 éxons que codificam um RNAm de 2,4Kb e uma complexa região de elementos regulatórios. Sendo assim, é considerado um gene rico em marcadores intragênicos polimórficos, com inclusão de fragmentos de restrição bialélicas ao longo da sequência e em alelos de nucleotídeos isolados. Estas mutações podem ocorrer por deleções de parte do gene, inserções de bases adicionais, mutações missense na qual irá alterar a função de um aminoácido na proteína, defeitos no processo de splicing nos quais a remoção dos íntrons (LIDKSY *et al.*, 1984; ERLANDSEN; RAYMOND; STEVENS, 1999; ERLANDSEN *et al.*, 2003; PHOMMARINH; SCRIVER, 2007).

A reação de hidroxilação da FAL à TIR (tirosina) se encontra deficiente ou ausente nos pacientes fenilcetonúricos e conseqüentemente, a concentração plasmática de FAL aumenta e os níveis de TIR diminuem. Todavia, para catabolizar as elevadas concentrações de FAL sérica, vias metabólicas alternativas são ativadas e os produtos desta degradação (ácido fenilpirúvico e fenilacético) irão passar a ter concentrações significantes na urina. Sendo produtos desta degradação: ácido fenilpirúvico e fenilacético. Com isso, vem sendo estimado que com a ausência de tratamento, um paciente irá perder cerca de 50 pontos no coeficiente de inteligência durante o seu primeiro ano de vida. Toda via, a deficiência de pigmentação de pele e cabelos causadas pela deficiência de tirosina e inibição da hidroxilação pela tirosinase. Pela deficiência da tirosina e do triptofano, ocorre a depleção de neurotransmissores: catecolaminas e serotonina. Isso leva à redução da síntese de proteínas que promovem a deterioração da mielina (HOEKSMA *et al.*, 2009).

A terapia gênica para a FNC, na qual está ainda em fase experimental, oferece grande expectativa para um tratamento futuro, sendo de uma técnica que atua modificando a expressão de genes individuais ou corrigindo anormais, com a sua administração de ácido desoxirribonucleico (DNA). Para essa terapia existem 3 diferentes métodos: substituição, correção e aumento de genes. Na substituição o gene mutado é removido e substituído por um gene normal. Na correção, apenas a zona afetada do gene mutado é corrigida. E aumento

de genes, ocorre a introdução de material genético estranho à célula possuindo como função a recuperação do gene mutado (DING; HARDING; THÖNY, 2003; BLAU *et al.*, 2005).

3.2.2 Hipotireoidismo Congênito e seus mecanismo genéticos

O HC se dá por um padrão de herança autossômica recessiva, na qual o RN precisa herdar as duas cópias do gene alterado dos pais, uma da mãe e a outra do pai, possui casos de herança autossômica dominante, na qual apenas uma cópia do gene alterado é suficiente para causar a doença. É classificado em primário, secundário e terciário. Na etapa primária é quando apresenta uma falha na glândula tireoide, a secundária irá ocorrer a deficiência do hormônio estimulador da tireoide (TSH) hipofisário e a terciária quando apresenta deficiência do hormônio liberador da tireotrofina (TRH) hipotalâmico, caso o RN não seja tratado corretamente, poderá apresentar vários quadros clínicos, dentre eles, hipotonia muscular, dificuldades respiratórias, cianose, icterícia prolongada, constipação, bradicardia, anemia, entre outros (BRASIL, 2016).

A tireoide sendo conhecida por ser a primeira glândula endócrina evidenciando o seu surgimento durante o desenvolvimento embrionário. Com isso, sua organogênese vai ser considerada como início a partir do espessamento endodérmico (divertículo tireóideo) mediano no assoalho da faringe primitiva. O mesmo divertículo possui uma característica de movimentação caudalmente que após isso se posicionará em situação cervical final por volta da sétima semana de gestação. As células foliculares, que são denominada como responsáveis pela biossíntese hormonal, derivam quase exclusivamente do primórdio tireóideo. Irá apresentar sua diferenciação logo após quando começar a sua migração de órgão se der por completa. (KNOBEL, *et al.*, 2001).

Contudo, fazem com a discussão que os fatores de transcrição FOXE1 (*forkhead box E1*), o NKX2 que pode ser conhecido como (TTF-1 e TTF1) e PAX-8, são indispensáveis para evolução glandular, seja do ponto de vista migratório, como proliferativo. Estudos demonstram que nas mutações nos dois alelos têm sido encontradas em casos raros denominados de síndrome de Bamforth, cujo fenótipo é caracterizado por agenesia tireoidiana e defeitos na formação da linha média que incluem palato fendido. O gene TTF1 além das demais características apresentada é também expresso no pulmão, no cérebro e na hipófise anterior. O gene TTF2 está envolvido no controle transcricional dos genes da tireoglobulina (TG) e da tireoperoxidase (TPO) (BRUST, 2022).

O hipotireoidismo central vem sendo considerado, por sua vez, associado às mutações nos fatores transcricionais hipofisários (POU1F1, PROP1, LHX3, HESX1), possuindo de característica a síndrome de resistência periférica ao hormônio tireoidiano, que seu diagnóstico é considerado como uma doença rara que juntamente com hipotireoidismo afetar alguns tecidos e, frequentemente, está possuindo associações as mutações autossômicas dominantes no receptor beta (TR β) (PERONE, *et al.*, 2004).

Na glândula adulta, o TTF1 vai ser caracterizado por um fator transcricional para o gene da TG, da TPO e do receptor de TSH (rTSH). O seu gene, PAX-8, localizado no locus 2q12q14 possui expressão no divertículo tireóideo, no cérebro e no rim. Entretanto na tireoide, esse fator transcricional estará exercendo sua função no desenvolvimento glandular e na expressão dos genes da TGP e da TPO. (PERONE, *et al.*, 2004)

Fazendo associação com a agenesia tireoidiana descritas com alterações nos genes dos fatores de transcrição NKX2-1, FOXE1, PAX8 E HHEX e no gene do receptor de TSH possuem a característica pela doença, todavia, acometeram nos defeitos hereditários da síntese hormonal podem ser devidos a mutações nos genes NIS (natrium-iodide symporter), pendrina, tireoglobulina (TG), peroxidase (TPO). Recentemente estudos comprovam que mutações no gene THOX-2 têm sido descritas para defeitos na organificação (BRUST, 2022).

Com isso, as mutações vão descrever uma variabilidade nos achados bioquímicos, na síntese do TSH (hormônio tireoestimulante), na síntese de T4 livre (tiroxina), na síntese de T3 total (triiodotironina) e nas características fenotípicas entre os pacientes. Mutações em um único alelo do gene do PAX-8 são suficientes para gerar o hipotireoidismo congênito (HC) em humanos, mutações heterozigóticas nesse gene vêm sendo descrita como hipoplasia da glândula tireoide. O rTSH encontra-se localizado no cromossomo 14q31. O receptor é responsável pela intermediação das ações do TSH no crescimento, no metabolismo e nas funções celulares, sua característica no objetivo final é a síntese e secreção hormonais. A responsividade ao TSH biologicamente ativo pode estar prejudicada devido a alterações moleculares no seu receptor, denominadas de resistência ao TSH. A total insensibilidade ao TSH resultará em uma glândula tireoide hipoplásica, na síntese e na secreção reduzidas dos hormônios tireoidianos. Contudo, considerando na resistência parcial, a concentração de TSH está elevada, porém os níveis hormonais periféricos estão normais, uma condição chamada de hipertireotropinemia eutireoidiana. O HC causado por mutações na subunidade β do TSH é uma desordem genética rara com herança autossômica recessiva. (PERONE, *et al.*, 2004).

3.2.3 Doença Falciforme e seus mecanismos genéticos

A doença falciforme (DF) se trata de uma questão de herança paterna, ou seja, é necessário triar os pais para identificar se ambos possuem ou não (BRASIL, 2014). Quando não tratada, pode submeter a várias sintomatologias, irritabilidade, febre moderada, anemia hemolítica, dactilite, infecções e esplenomegalia. Possuindo o pico de morbimortalidade de 2 a 3 anos de vida, a maioria dos casos de morte são septicemia e choque, em decorrência de *Streptococcus pneumoniae* ou *Haemophilus influenzae*, também anemia profunda por sequestro esplênico (BRASIL, 2016).

A DF deriva diretamente da anormalidade da hemoglobina S (HbS). As hemoglobinas A (HbA) e fetal (HbF), mesmo em concentrações elevadas, não formam estruturas organizadas dentro das hemácias, quer quando oxigenadas ou desoxigenadas. As moléculas de HbS, por outro lado, quando desoxigenadas, organizam-se ao longo de polímeros de filamentos duplos, que, por sua vez se associam em feixes com um duplo filamento central rodeado de seis filamentos duplos de polímeros. É possível fazer o diagnóstico de traço falciforme, em que é necessário fazer o teste de falcização (ZAGO *et al.*, 2007).

O teste de falcização tem condicionantes que o facilitam ou dificultam, a sua identificação. Para que as moléculas de HbS se agreguem é necessário que, além de desoxigenadas, estejam em elevada concentração, o que facilita sua associação. O CD36 é um receptor glicoprotéico que se liga a várias proteínas da matriz extracelular, como a trombospondina, que intermedia a ligação da célula com o endotélio. Todavia, com o antígeno ativado (VLA-4) é um integrina que promove a interação entre célula-endotélio via ligação direta com a VCAM-1, expressa no endotélio ou via fibronectina da matriz extracelular. O

marcador CD49d corresponde à cadeia $\alpha 4$ dessa integrina. O CD47 é um glicoprotéico de transmembrana que, em eritrócitos, parece estar associada ao complexo Rh, servindo como receptor da trombospondina (TSP), que faz a ligação entre eritrócito e endotélio, via receptor de vitronectina ($\alpha v \beta 3$), e facilita a quimiotaxia de leucócitos. BCAM/LU (*basal cell adhesion molecule*) é uma proteína produzida pelo gene do grupo sanguíneo Lutheran que promove a interação entre célula-célula e célula-matriz extracelular (ZAGO *et al.*, 2007).

A fosfatidilserina (PS) se liga ao receptor da vitronectina do endotélio via TSP. Os neutrófilos ativados expressam CD64, integrinas ($\alpha L \beta 2$ e $\alpha M \beta 2$), receptor da trombospondina (CD36), moléculas de adesão leucócito-endotélio (L-selectinas) e leucócitos-plaquetas [ligante da P-selectina (PSGL-1)], que favorecem a adesão ao endotélio, recrutam plaquetas e outros neutrófilos para o sítio de inflamação, além de secretam H₂O₂ que lesionam o endotélio vascular. As plaquetas ativadas dos pacientes com doença falciforme expressam maior quantidade de P-selectina (CD62p), que favorece a ligação com o endotélio e com neutrófilos via PSGL-1 de $\alpha v \beta 3$ (CD61), receptor de vitronectina.

A ativação plaquetária também aumenta a afinidade da GP1b-IX-V pelo fator von Willebrand e da GPIIb-IIIa pelo fibrinogênio. As células endoteliais ativadas expressam moléculas como VCAM-1 (*vascular-cell adhesion molecule 1*) e ICAM-1 (*intercellular adhesion molecule 1*), que facilitam a adesão de células sanguíneas ao endotélio (ZAGO *et al.*, 2007).

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

De acordo com condições maternas e neonatais que podem interferir no teste do pezinho e, sendo assim sua investigação, precoce é imprescindível, para direcionar ações que promovam a saúde materno-infantil e consolidação da triagem neonatal nessa população, fazendo com que o estudo genético torne uma ferramenta para diagnóstico dessas doenças.

O estudo genético está em um processo de evolução para detecção das doenças identificadas no teste do pezinho, para isso é necessário o incentivo da terapia gênica em busca de definir uma melhor qualidade de vida para a criança com o diagnóstico da doença.

Além da participação do profissional biomédico para a realização dos exames laboratoriais, a sua presença para o estudo genético se faz importante para o diagnóstico precoce de doenças e auxiliam no melhor rastreamento.

A fenilcetonúria realizada pelo sequenciamento gênico da enzima fenilalanina-hidroxilase, foi possível fazer a identificação da relação da sua mutação/atividade sendo capaz de fornecer um tratamento para portadores dessa doença. O hipotireoidismo congênito, com a identificação dos genes de transcrição NKX2-1, FOXE1, PAX8 e HHEX também no gene receptor de TSH, foi possível concluir que são responsáveis pelo ocasionamento da doença, toda via é possível ocorrer mutações nos genes NIS, pendrina, TG e TPO, com esse rastreamento gênico é possível iniciar um tratamento para que não ocorra problemas futuros. A doença falciforme, sendo ocasionada pelo CD36 que é um receptor glicoprotéico ligando várias proteínas a matriz extracelular, que acometerá essa doença.

Sabendo da importância do teste do pezinho para o recém-nascido, a falta de conhecimento das mães é uma barreira, pois possuindo conhecimento prévio durante a realização do pré-natal sobre o teste, as mães poderão propiciar para seus filhos uma chance

de minimizar as sequelas destas doenças que deixam danos irreversíveis ao bebê sendo possível fazer uma prevenção para que esses danos não acometam.

É possível avaliar que o atendimento de pré-natal vem melhorando ao decorrer do passar do tempo, porém ainda falta muito para conseguirmos alcançar um pré-natal adequado conforme o PNTN. Diversas maternidades já fazem a realização do teste do pezinho pós-parto, feito antes da alta hospitalar, se não for realizado após isso é necessário a procura de um Posto de Saúde do município, em no máximo em 30 dias, tem que fazer o teste pois é obrigatório em território nacional, em algumas regiões não é permitido fazer o registro do RN no cartório sem a comprovação da realização do TP.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, V., *et al.*, **Caminhos da população ribeirinha no acesso à urgência e à emergência: desafios e potencialidades**. Interface – Comunicação, Saúde, Educação, 26, e210769, 2022. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/icse/a/FTF6TW94rZMyvbySkh3mp6L/?lang=pt>. Acesso em: 14 mar. 2023

BATISTA, M. *et al.* Importância do estudo genético pré-natal. FEMINA, Janeiro/Fevereiro 2012. Revisão, v.40 n.1. Disponível em: <https://www.rmmg.org/artigo/detalhes/1660#>. Acesso em: 22 mar. 2023.

BRASIL. **Agenda brasileiro primeira infância: triagem neonatal/ teste do pezinho no Brasil e no mundo**. Brasil, Ministério da Saúde, 2022. Disponível em: https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/triagem_neonatal_biologica_manual_tecnico.pdf. Acesso em: 7 out. 2022.

BRASIL. Ministério da Saúde. Gabinete do Ministro. **Triagem Neonatal Biológica, Manual do Técnico**. Brasília, 2016. Disponível em: https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/triagem_neonatal_biologica_manual_tecnico.pdf. Acesso em: 7 out. 2022.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Hipotireoidismo Congênito (HC)**. Brasília, 2017. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/composicao/saes/sangue/pntn/hipotireoidismo-congenito-hc>. Acesso em: 7 out. 2022.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Assistência à Saúde Coordenação-Geral de Atenção Especializada.; **Manual de Normas Técnicas e Rotinas Operacionais do Programa Nacional de Triagem Neonatal**. Brasília, 2002. Disponível em https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/triagem_neonatal.pdf. Acesso em: 14 mar. 2023.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde Departamento de atenção Hospitalar e de Urgência. **Doença Falciforme: O que se deve saber sobre herança genética**. Brasília, 2014. Disponível em: https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/doenca_falciforme_deve_saber_sobre_heranca.pdf. Acesso em: 14 mar. 2023.

BRUST, E. **Identificação de alterações genéticas no exoma completo de paciente com hipotireoidismo congênito por disgenesia tireoidiana**. 2022. Tese (Doutorado em Biotecnologia) – Universidade Federal de São Paulo, São Paulo, 2022. Disponível em:

<https://repositorio.unifesp.br/bitstream/handle/11600/63905/Tese.BrustEster.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acesso em: 17 mar. 2023

CABELLO, G. Avanços da Genética na Fibrose Cística. **Revista Hospital Universitário Pedro Ernesto (Avanços da Genética na Fibrose Cística)**, [S.l.], v. 10, n. 4, dez. 2014. Disponível em: <https://www.e-publicacoes.uerj.br/index.php/revistahupe/article/view/8877/6759>. Acesso em: 07 out. 2022.

CONDINO-NETO, A. Lei que regulamenta o Teste do Pezinho Ampliado no SUS completa 1 ano. **Medicina S/A**, 2022. Disponível em: <https://medicinas.com.br/teste-pezinho-sus>. Acesso em: 16 set. 2022.

DING, Z.; HARDING, C. O.; THÖNY, B. **State-of-the-art 2003 on PKU gene therapy. Mol Genet Metab**, v.81, n.1, p.3-8, 2003. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2706831/>. Acesso em: 10 mar. 2023.

ERLANDSEN, H.; RAYMOND, C.; STEVENS, R. C. The structural basis of phenylketonuria. **Mol Genet Metab**, v.68, n.2, p.103-125, 1999. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1096719299929220>. Acesso em: 4 fev. 2023.

FARIA, A. **A história da triagem neonatal no Brasil**. 2021 Disponível em: <https://testedabochechinha.com.br/a-historia-da-triagem-neonatal-no-brasil/>. Acesso em: 29 out. 2022.

GONÇALVES, J. **IMPORTÂNCIA DO ENFERMEIRO NAS ORIENTAÇÕES DAS MÃES SOBRE O TESTE DO PEZINHO**. 2014. Monografia (Graduação em Enfermagem, da Faculdade de Educação e Meio Ambiente, Ariquemes-RO). Acesso em: 16 set. 2022. Disponível em: <https://repositorio.faema.edu.br/bitstream/123456789/923/3/GON%20c%27ALVES%20J.%20c%20R.%20-%20IMPORT%20c%27NCIA%20DO%20ENFERMEIRO%20NAS%20ORIENTA%20c%27ES%20DAS%20M%20c%27ES%20SOBRE%20O%20TESTE%20DO%20PEZINHO.pdf>.

GÜTTLER, F.; AZEN, C.; GULDBERG, P.; ROMSTAD, A.; HANLEY, W. B.; LEVY, H. L.; MATALON, R.; ROUSE, B. M.; TREFZ, F.; DE LA CRUZ, F.; KOCH, R. Impact of the phenylalanine hydroxylase gene on maternal phenylketonuria outcome. **Pediatrics**, v.112, 6 Pt 2, p.1530-1533, 2003. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14654659/>. Acesso em: 2 fev. 2023.

HOEKSMAN, M.; REIJNGOUD, D. J.; PRUIJM, J.; DE VALK, H. W.; PAANS, A. M.; VAN SPRONSEN, F. J. Phenylketonuria: High plasma phenylalanine decreases cerebral protein synthesis. **Mol Genet Metab**, v.96, n.4, p.177-182, 2009. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1096719208004782>. Acesso em: 15 fev. 2023.

International Society for Neonatal Screening (ISNS). **ISNS General Guidelines for Neonatal Screening**. Disponível em: <https://www.isns-neoscreening.org/isns-general-guidelines-for-neonatal-screening/>. Acesso em: 23 mar. 2023.

KNOBEL M, NOGUEIRA C.R, MEDEIROS-NETO, G. Genética Molecular do Hipotireoidismo Congênito. **Arq Bras Endocrinol Metabol**. 2001, 24-31. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/abem/a/33LTkSHq9k9m8XrCGYLfMQq/>. Acesso em: 20 jan. 2023.

KONECKI, D. S.; WANG, Y.; TREFZ, F. K.; LICHTER-KONECKI, U.; WOO, S. L. Structural characterization of de 5' regions of the human phenylalanine hydroxylase gene. **Biochemistry**, v.31, n.35, p.8363-8368, 1992. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1326329/>. Acesso em: 11 mar. 2023.

KOPACEK, C., *et al.*, **Evolução e funcionamento de Triagem Neonatal no Rio Grande do Sul de 2001 a 2015**. Boletim Científico de Pediatria. Disponível em: [BCP_04_03.indd](https://www.sprs.com.br/BCP_04_03.indd) (sprs.com.br). Acesso em: 14 mar. 2023.

LARA, M. T. *et al.* Biotinidase deficiency: clinical and diagnosis aspects and neonatal screening. **Revista Médica de Minas Gerais**, v. 24, n. 3, 2014. Disponível em: <https://www.rmmg.org/artigo/detalhes/1660>. Acesso em: 6 out. 2022.

LOEBER, J.G.; *et al.* Neonatal Screening in Europe Revisited: An ISNS Perspective on the Current State and Developments Since 2010. **Int. J. Neonatal Screen**. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8006225/>. Acesso em: 6 out. 2022.

MACHADO, J. **FENILCETONÚRIA E SUAS VARIANTES: REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**. 2008. Monografia (Licenciatura em Análises Clínicas e Saúde) Universidade Fernando Pessoa, Porto. p. 64. Disponível em: <https://bdigital.ufp.pt/bitstream/10284/927/2/12-22.pdf>. Acesso em: 16 set. 2022

MYSZCZUK, A.; MEIRELLES, J. L. de. Pesquisa genética com seres humanos e repartição de benefícios econômicos decorrentes de biopatentes: perspectivas biojurídicas para políticas de saúde pública no Brasil. **Saúde e Sociedade**, v. 27, n. 4, p. 1044–1057, 2018. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/sausoc/a/wNbrkPP5w4MsN5gC5Gjbgw/abstract/?lang=pt>. Acesso em: 29 out 2022.

NEVES, P.; TORALLES, M.; SCARPEL, R. A. Perfil vocal de indivíduos 46,XX com hiperplasia adrenal congênita. **CoDAS**. 2021. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/codas/a/5MqtjbsPjsVRDKmHVyXXyKB/?lang=pt>. Acesso em: 6 out 2022.

PEREIRA, M.; SANTOS, H. **Fenilcetonúria: diagnóstico e tratamento**. Mp S, De Revisão A, Gov.br , 2012. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Nutrição) – Universidade Paulista – UNIP, Brasília-DF, 2013. Disponível em: https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/artigos/fenilcetonuria_diagnostico_tratamento.pdf. Acesso em: 7 mar. 2023.

PERONE, D. *et al.* Aspectos genéticos do hipotireoidismo congênito. **Arquivos brasileiros de endocrinologia e metabologia**, v. 48, n. 1, p. 62–69, 2004. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/abem/a/WcwFQS4pBYBfS5xTr8pgW8C/?lang=pt>. Acesso em: 7 out. 2022.

PHOMMARINH, M.; SCRIVER, C. Phenylalanine hidroxylase (PHA) mutation map. **OMIN**. Revised January 8, 2007. Disponível em: <https://www.omim.org/entry/612349>. Acesso em: 22 maio. 2023.

SARAIVA P, M. L.; FITARELLI K, M.; SANSEVERINO, M. T. V. A Genética na Fibrose Cística. **Clinical and Biomedical Research**, [S. l.], v. 31, n. 2, 2011. Disponível em: <https://seer.ufrgs.br/index.php/hcpa/article/view/20905>. Acesso em: 6 out. 2022.

SCRIVER, C. R.; KAUFMAN, S. Hyperphenylalaninemia: Phenylalanine hydroxylase deficiency. In: SCRIVER, C. R.; BEAUDET, A. R.; SLY, W.; VALLE, D. (Eds.). **The Metabolic e Molecular Bases of Inherited Disease**. 8.ed. New York: McGraw-Hill, 2001. p.1667-1708. Disponível em:

<https://ommbid.mhmedical.com/content.aspx?bookId=2709§ionId=225081923>. Acesso em: 10 jan. 2023.

SHMOUNI, F. *et al* . Genetics of Congenital Adrenal Hyperplasia. **Endocrinology and Metabolism Clinics of North America**, v. 23, n. 2, p. 181-192, abr. 2009. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5576025/>. Acesso em: 7 out. 2022.

THERRELL, B.L.; et al. Current status of newborn screening worldwide: 2015. **Semin Perinatol**, p.171-87. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25979780/>. Acesso em: 8 out. 2022.

TOKUNAGA, R. **determinação da fenilalanina em recém-nascidos e crianças na triagem da fenilcetonúria pelos métodos de fluorometria e de espectrometria de massas no estado do paraná**. 2011. Monografia (Pós-Graduação em Farmácia) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2011. Disponível em: <https://acervodigital.ufpr.br/bitstream/handle/1884/28268/R%20-%20D%20-%20REGINA%20MARIA%20TOKUNAGA.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acesso em: 27 mar. 2023.

VILARINHO, L.; QUEIRÓS, A.; LEANDRO, P.; ALMEIDA, I. T.; RIVERA, I. Fenilcetonúria revisitada. **Arq Med**, v.20, n.5-6, p.161-172, 2006. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/262667578_Fenilcetonuria_revisitada. Acesso em: 10 abr. 2023.

WILLIAMS, R. A.; MAMOTTE, C. D.; BURNETT, J. R. Pnenylketonuria: an inborn error of phenylalanine metabolism. **Clin Biochem Rev**, v.29, n.1, p.31-41, 2008. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2423317/>. Acesso em 20 mar. 2023.

ZAGO M.; PINTO A.; **Fisiopatologia das doenças falciformes: da mutação genética à insuficiência de múltiplos órgãos**. Revista Brasileira de Hematologia, v.29, p. 207-214. 2007. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbhh/a/XvpfFhtGWtvD6frqB8FSDkm/abstract/?lang=pt> . Acesso em: 20 mar. 2023.