

## Insuficiência adrenal primária causada por deleção no gene DAX1

### *Primary adrenal insufficiency caused by DAX1 gene deletion*

Ana Luíza Velten Mendes<sup>1</sup>, Wallace Sales Gaspar<sup>1</sup>, Isabel Rey Madeira<sup>2</sup>, Ana Paula Neves Bordallo<sup>3</sup>, Daniel Schueftan Gilban<sup>3</sup>, Clarice Borschiver<sup>3</sup>, Paulo Ferrez Collet-Solberg<sup>4</sup>

#### Palavras-chave:

insuficiência adrenal,  
receptor nuclear  
órfão DAX-1,  
córtex suprarrenal,  
corticosteroides.

#### Resumo

Insuficiência adrenal primária (IAP) é uma doença potencialmente grave que requer diagnóstico e tratamento precoce para redução em sua morbimortalidade. O presente artigo contém o relato de um recém-nascido (RN) que com dois dias de vida passou a manifestar sinais e sintomas sugestivos de insuficiência adrenal primária congênita. O tratamento adequado, porém, só foi iniciado aos três meses de vida, após avaliação pela endocrinologia pediátrica. Análise genética posterior evidenciou mutação no gene DAX1. O quadro clínico inicial da IAP pode ser inespecífico e confundido com várias afecções comuns do período neonatal, retardando a instituição de terapia adequada. A análise genética tem se mostrado cada vez mais importante no manejo destes casos, não apenas para aconselhamento familiar, mas também pela possibilidade de antecipar o diagnóstico e, desta forma, prevenir as manifestações clínicas graves da doença com instituição de terapia adequada.

#### Keywords:

adrenal insufficiency,  
DAX-1 orphan  
nuclear receptor,  
adrenal cortex,  
corticosteroids.

#### Abstract

Primary adrenal insufficiency (PAI) is a potentially serious disease. Early diagnosis and treatment are required to reduce its morbidity and mortality. This article reports the case of a newborn who started showing signs and symptoms suggestive of congenital PAI at 2 days of age. However, adequate treatment was started only at 3 months of age, after an evaluation by pediatric endocrinologists. Later, a genetic analysis showed a mutation in the DAX1 gene. In PAI, the initial clinical presentation may be nonspecific and mistaken for several common diseases of the neonatal period, which delays the administration of adequate therapy. Genetic analysis is increasingly important for the management of such cases, not only in family counseling but also because it allows an earlier diagnosis, which can prevent the serious clinical manifestations of this disease by administering adequate therapy.

<sup>1</sup> Médico Pediatra - Residente em Endocrinologia Pediátrica no Hospital Universitário Pedro Ernesto, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

<sup>2</sup> Professora adjunta do Departamento de Pediatria da Faculdade de Ciências Médicas da UERJ, coordenadora do Setor de Endocrinologia Pediátrica da Unidade Docente Assistencial de Endocrinologia do HUPE-UERJ - Supervisora do Programa de Residência Médica em Endocrinologia Pediátrica do Hospital Universitário Pedro Ernesto (HUPE) da UERJ, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

<sup>3</sup> Médico do setor de Endocrinologia Pediátrica da Unidade Docente Assistencial de Endocrinologia do HUPE-UERJ - Preceptor do Programa de Residência Médica em Endocrinologia Pediátrica do Hospital Universitário Pedro Ernesto, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

<sup>4</sup> Professor Adjunto da Unidade Docente Assistencial de Endocrinologia e Metabologia do Departamento de Medicina Interna da Faculdade de Ciências Médicas da UERJ. Médico do Setor de Endocrinologia Pediátrica da Unidade Docente Assistencial de Endocrinologia do HUPE-UERJ - Preceptor do Programa de Residência Médica em Endocrinologia Pediátrica do Hospital Universitário Pedro Ernesto, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

#### Endereço para correspondência:

Ana Luíza Velten Mendes.

Hospital Universitário Pedro Ernesto - Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Boulevard 28 de setembro, nº 77, Vila Isabel, Rio de Janeiro - RJ, Brasil. CEP: 20.551-030. E-mail: aluiza.velten@gmail.com

## INTRODUÇÃO

Insuficiência adrenal primária (IAP) é definida pela inabilidade do córtex adrenal em produzir quantidades suficientes de glicocorticoides e/ou mineralocorticoides<sup>1,2</sup>. É uma condição rara, porém grave e potencialmente letal. Em crianças, a forma congênita é mais comum, sendo a hiperplasia adrenal congênita (HAC) sua principal etiologia, com incidência estimada em 1:10.000 a 1:15.000 nascidos vivos<sup>3</sup>. O defeito mais prevalente, neste caso, ocorre por mutações no gene CYP21A2, com deficiência da enzima 21 $\beta$ -hidroxilase. Outros genes também podem ser acometidos com menor frequência, como 11 $\beta$ -hidroxilase, 3 $\beta$ -hidroxiesteroide dehidrogenase, 17 $\alpha$ -hidroxilase, etc<sup>3</sup>. Todos estes defeitos são herdados de forma autossômica recessiva.

Além dos defeitos na estereoidogênese, algumas das outras formas de IAP são: hipoplasia adrenal, deficiência familiar de glicocorticoide ou resistência ao hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) e destruição da glândula por causa infecciosa ou autoimune<sup>4,5</sup>. O quadro clínico inicial da insuficiência adrenal pode ser inespecífico e crianças afetadas podem morrer por convulsão, desconforto respiratório ou crise de perda de sal, antes mesmo de chegarem ao hospital. Podem também ser erroneamente diagnosticadas com sepse ou outras doenças, atrasando o início do tratamento adequado.

Especificamente no caso da HAC, as crianças podem apresentar quadros clínicos variados dependendo do nível de acometimento na estereoidogênese adrenal e da atividade enzimática residual<sup>3</sup>. O excesso de androgênios pode estar presente desde o nascimento nas formas clássicas da HAC gerando virilização na genitália masculina nos primeiros anos de vida e genitália ambígua em meninas.

Reconhecimento e tratamento precoces são fatores determinantes na morbimortalidade da doença. Recentemente, várias mutações genéticas têm sido identificadas, com grande valor devido à possibilidade de aconselhamento genético, além de permitir diagnóstico e tratamento pré-sintomáticos<sup>5</sup>.

## RELATO DO CASO

KGSS, sexo masculino, nascido no dia 19 de setembro de 2015, Mãe gesta IV, para III, aborto 0, apresentou doença hipertensiva específica da gestação e fez uso de alfa metildopa. Sem diabetes gestacional ou outras morbidades no pré-natal. Parto cesariana, com 41 semanas e um dia. Ao nascimento, peso 3030g, estatura 49cm, APGAR 9/9.

No segundo dia de vida, o recém-nascido (RN) passou a apresentar quadro de vômitos, desvio do olhar, abalos musculares, hipoatividade e sucção débil, sendo internado em unidade de terapia intensiva neonatal (UTIN). Os exames realizados revelaram glicemia capilar periférica de 29mg/dL, além de sódio sérico de 123mg/dl e potássio sérico de 6,7mg/dl.

Durante a internação, houve persistência das alterações hidroeletrólíticas, apesar das terapias adequadas, incluindo

reposições. Outras alterações clínicas foram diagnosticadas, com elevação de ureia e transaminases, e no período o RN recebeu tratamento para sepse neonatal tardia e insuficiência renal.

Aos três meses de vida, o lactente foi transferido para unidade hospitalar pediátrica, sendo solicitada avaliação pela endocrinologia pediátrica. Neste momento ele se apresentava em regular estado geral, hipoativo, reativo ao manuseio, hipotônico, moderadamente desidratado, anictérico e acianótico. Apresentava fontanela anterior deprimida e pele seca e áspera, com hiperpigmentação.

Aparelho cardiovascular com ritmo cardíaco regular em dois tempos, bulhas normofonéticas, sem sopros, frequência cardíaca de 124 batimentos por minuto, boa perfusão capilar periférica e com pulsos cheios e simétricos. Aparelho respiratório com tiragem subcostal e retração de fúrcula leves, murmúrio vesicular universalmente audível, sem ruídos adventícios e frequência respiratória de 24 incursões por minuto.

Abdome flácido, peristáltico, depressível e indolor, sem massas ou visceromegalias. Genitália tipicamente masculina, testículos palpáveis bilateralmente em canal inguinal, Tanner G1P1. Exames laboratoriais revelaram sódio de 115mg/dl, potássio 6,9mg/dl, ureia 135mg/dl, TGO 431mg/dl e TGP 521mg/dl, gasometria arterial com acidose metabólica.

Outros exames realizados na maternidade foram cariótipo, 46XY, 17hidroxiprogesterona 136,4ng/dL (VR: até 200ng/dL), ACTH 1250pg/ml (VR: 6-76pg/ml) e cortisol sérico menor que 1 $\mu$ g/dL. Ultrassonografia abdominal sem alterações e sem visualização de adrenais.

Pela suspeita de insuficiência adrenal congênita, além da terapia para controle dos distúrbios hidroeletrólíticos, foi iniciada hidrocortisona na dose de ataque (100mg/m<sup>2</sup>/dia, endovenoso dividido de seis em seis horas) seguida de dose de estresse (50mg/m<sup>2</sup>/dia, também em quatro doses diárias), além de reposição oral de sódio com 2meq/kg/dia.

Durante a internação, com a melhora clínica do paciente, foi realizado ajuste de dose do corticoide, passando para prednisolona oral e iniciado uso de fludrocortisona. No dia 24 de fevereiro de 2016 o lactente recebeu alta para o domicílio em uso de prednisolona na dose de 3mg/m<sup>2</sup>/dia, fludrocortisona 0,3mg/dia e sal, todos pela via oral.

A análise genética e molecular do sangue periférico do paciente, pela técnica de *Multiplex Ligation Probe-dependent Amplification (MLPA)* para detecção de variações de cópias numéricas relacionadas a genes envolvidos no desenvolvimento gonadal, revelou uma região de deleção de mais de 78 megabases envolvendo os genes NROB1 (conhecido como DAX1) e CXorf21 (Tabela 1), confirmando o diagnóstico de IAP.

Este método de análise tem por base a hibridização do DNA genômico a duas sondas específicas para cada região a ser estudada, em um total de seis genes (PHEX, NROB1, CXorf21, PQBP1, GJB1, COL4A5) que são, posteriormente,

**Tabela 1.** Resultado de análise de DNA pela técnica MLPA, kit MRC-Holland P185 v.C2. A região deletada encontra-se enquadrada em vermelho.

Gene	Posição genômica position no cromossoma X	Paciente
<i>PHEX</i>	X-022.106365	+
<i>NROB1</i> -Exon 2	X-030.232695	-
<i>NROB1</i> -Exon 1B	X-030.236440	-
<i>NROB1</i> -Exon 1A	X-030.237398	-
<i>NROB1</i> – region A	X-030.255082	-
<i>NROB1</i> – region B	X-030.363644	-
<i>CXorf21</i> -2	X-030.505510	-
<i>CXorf21</i> -1	X-030.525214	-
<i>PQBP1</i>	X-048.644183	+
<i>GJB1</i>	X-070.360638	+
<i>COL4A5</i>	X-107.725394	+

unidas por uma enzima ligase. A seguir, os produtos de ligação são amplificados por PCR, através de *primers* universais, e a leitura é feita em aparelhos de sequenciamento através de um *software* de genotipagem.

## DISCUSSÃO

Hipoplasia adrenal congênita (AHC) é um distúrbio raro do desenvolvimento da glândula adrenal<sup>6</sup>. Sua incidência é estimada em 1:12.500 nascidos vivos e pode ser herdada de forma autossômica recessiva ou ligada ao X<sup>6</sup>. A forma ligada ao X é causada por deleções ou mutações no gene *DAX1*, situado no braço curto do cromossomo X, posição 21, e tem uma incidência estimada em 1:140.000 a 1:200.000 nascidos vivos<sup>7,8</sup>.

O gene *DAX1* é responsável por codificar uma proteína de 470 aminoácidos, pertencente a uma grande família de receptores nucleares e tem importante papel no desenvolvimento e função de tecidos produtores de hormônios em glândulas como adrenal, hipófise, hipotálamo e gônadas<sup>9</sup>. O paciente em questão apresentava microdeleção em hemizigose na região genômica do braço curto do cromossoma X, anteriormente descrito. Neste caso, está indicada para fins de aconselhamento genético, a investigação materna quanto à presença de deleção em heterozigose<sup>9</sup>.

Apresentação clínica da AHC é variável. Aproximadamente 60% das crianças do sexo masculino com mutação no *DAX1* vão desenvolver IAP precoce, com crises de perda de sal nos primeiros dois meses de vida<sup>6,8</sup>. A doença também pode se manifestar de forma mais insidiosa com sintomas deflagrados pelo estresse, ou na puberdade com o hipogonadismo hipogonadotrófico<sup>6,8</sup>. Em meninas, mutações heterozigóticas do *DAX1* estão associadas a atraso na menarca, enquanto mutações homozigóticas cursam com hipogonadismo hipogonadotrófico<sup>8</sup>.

No caso descrito, o paciente apresentou-se com clínica de insuficiência adrenal já nos primeiros dias de vida. Em RN e lactentes, sinais e sintomas da doença podem ser inespecíficos

e causam dificuldade diagnóstica, com atraso na instituição de tratamento adequado. Em geral, podem ocorrer manifestações da deficiência de cortisol, com hipoglicemia, perda de peso, vômitos, anorexia, anemia, icterícia prolongada e hipotensão postural. Sinais e sintomas de falta de mineralocorticoides também são comuns, com perda de sal e hiponatremia, hipercalemia, acidose metabólica, hipotensão, desidratação e choque hipovolêmico<sup>2,3,7,10</sup>.

A hiperpigmentação da pele e mucosas ocorre pela ausência de *feedback* negativo para produção de ACTH. A baixa concentração plasmática de cortisol estimula a hipersecreção de ACTH e em conjunto são secretados outros peptídeos da molécula de pró-opiomelanocortina, incluindo várias formas do hormônio estimulador de melanócitos (MSH)<sup>7</sup>.

O diagnóstico de IAP é confirmado a partir da dosagem baixa de cortisol sérico associada a dosagem elevada de ACTH, visto que nestes casos os sistemas CRH (hormônio liberador de corticotropina) - ACTH estão intactos<sup>1,2</sup>. Na forma congênita de insuficiência, os andrógenos adrenais também devem ser avaliados. Formas mais comuns de HAC, como deficiência de 21 $\beta$ -hidroxilase, cursam com elevação da 17-hidroxiprogesterona e dos andrógenos da suprarenal, enquanto na hipoplasia da glândula tais hormônios estão fisiologicamente baixos no período pré-puberal<sup>2</sup>. No caso descrito, o paciente apresentava baixos níveis de cortisol, com ACTH elevado e 17-hidroxiprogesterona normal, levando à principal hipótese diagnóstica de hipoplasia adrenal.

Um espectro variado de doenças está associado à IAP em crianças. Dosagem de anticorpos anticórtex adrenal e anti-21 $\beta$ -hidroxilase, podem ajudar no diagnóstico de adrenalite autoimune<sup>2</sup>. Testes metabólicos com dosagens de ácidos graxos de cadeia muito longa para adrenoleucodistrofia ou 7-dehidrocolesterol para síndrome de Smith-Lemli Optiz também podem ser necessários<sup>2</sup>. Tais doenças, no entanto, se manifestam mais tardiamente na infância<sup>1-3</sup>. Nas formas congênitas, testes genéticos são fundamentais para confirmar etiologia exata da insuficiência adrenal<sup>2</sup>.

O tratamento da IAP se baseia na suplementação de corticoides e mineralocorticoides. Hidrocortisona é o corticoide de escolha para crianças, por apresentar meia vida mais curta, minimizando efeitos colaterais quando comparado aos glicocorticoides de longa ação<sup>2,3,10</sup>. Dose diária indicada varia de 8-10mg/m<sup>2</sup>/dia e deve ser dividida em 2 a 3 tomadas. No Brasil, pela ausência de comercialização de hidrocortisona oral, a prednisolona em dose equivalente pode ser utilizada.

Deve-se, no entanto, estar atento para sua maior associação com prejuízo no crescimento e ganho de peso<sup>3</sup>. Suplementação de mineralocorticoides deve realizada nos pacientes com deficiência de aldosterona. A fludrocortisona é indicada na dose de 100-150  $\mu$ g/m<sup>2</sup>/dia<sup>3,10</sup>. RN e lactentes, principalmente até o sexto mês de vida, podem necessitar também de suplementação oral de sódio, 1-2g/dia dividido nas dietas.

Todas as crianças em tratamento para IAP devem ser avaliadas quanto ao crescimento e ao desenvolvimento, como qualquer criança, com atenção especial à pressão arterial. Na idade escolar, as visitas médicas devem ser mantidas amiúde<sup>10</sup>. Pacientes em uso crônico de corticoides devem estar sempre cientes da necessidade de ajuste de dose em períodos de estresse, como doença febril, estresse cirúrgico ou trauma<sup>10</sup>.

Na suspeita de crise adrenal, as crianças devem receber hidrocortisona venosa na dose de 50mg/m<sup>2</sup>/dia, além de ressuscitação hídrica. Pacientes com hipoplasia da glândula devem ser acompanhados clinicamente quanto à puberdade e possível necessidade de suplementação de androgênios<sup>7</sup>. Rastreamento de perda na função auditiva também deve ser realizado, já que é frequente o acometimento da audição em adolescentes afetados<sup>11</sup>.

Diagnóstico e tratamento precoces de IAP são a única forma de diminuir a morbimortalidade da doença. Meninos com AHC em geral respondem bem à terapia com suplementação de corticoides e mineralocorticoides e tendem a necessitar do uso de testosterona para induzir puberdade, sendo a fertilidade espontânea rara nos portadores de mutações no DAX1, do sexo masculino<sup>7</sup>.

## AGRADECIMENTOS

Ao Dr. Gil Guerra Campos Júnior, da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), que colaborou intermediando a realização da análise molecular, e às Dras. Adriana Mangue Esquivetto Aun e Maricilda Palandí de Mello, do Laboratório de Genética Molecular Humana do Centro de Biologia Molecular e Engenharia Genética (CBMEG) da UNICAMP, responsáveis pela análise molecular do caso e do gene NROB1 (DAX1).

## REFERÊNCIAS

1. Donohoue PA. Diagnosis of adrenal insufficiency in children. Uptodate; 2016. [acesso 2016 Abr 18]. Disponível em: <https://www.uptodate.com/contents/diagnosis-of-adrenal-insufficiency-in-children>
2. Malikova J, Flück CE. Novel insight into etiology, diagnosis and management of primary adrenal insufficiency. *Horm Res Paediatr*. 2014;82(3):145-57. DOI: 10.1159/000363107 DOI: <http://dx.doi.org/10.1159/000363107>
3. Webb EA, Krone N. Current and novel approaches to children and young people with congenital adrenal hyperplasia and adrenal insufficiency. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*. 2015;29(3):449-68. DOI: 10.1016/j.beem.2015.04.002 DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.beem.2015.04.002>
4. Guran T, Buonocore F, Saka N, Ozbek MN, Aycan Z, Bereket A, et al. Rare Cases of Primary Adrenal Insufficiency: Genetic and Clinical Characterization of a Large Nationwide Cohort. *J Clin Endocrinol Metab*. 2016;101(1):284-92. DOI: <http://dx.doi.org/10.1210/jc.2015-3250>
5. Chan LF, Campbell DC, Novoselova TV, Clark AJ, Metherell LA. Whole-Exome Sequencing in the Differential Diagnosis of Primary Adrenal Insufficiency in Children. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2015;6:113.
6. Seminara SB, Achermann JC, Genel M, Jameson JL, Crowley WF Jr. X-linked adrenal hypoplasia congenita: a mutation in DAX-1 expands the phenotypic spectrum in males and females. *J Clin Endocrinol Metab*. 1999;84(12):4501-9.
7. Miller WL, Flück CE. Adrenal cortex and its disorders. In: Sperling MA. *Pediatric Endocrinology*. 4th ed. Philadelphia: Saunders-Elsevier; 2014. p. 471-532.
8. Evliyaoglu O, Dokurel I, Bucak F, Özcabi B, Ercan Ö, Ceylaner S. Primary adrenal insufficiency caused by a novel mutation in DAX1 gene. *J Clin Res Pediatr Endocrinol*. 2013;5(1):55-7. DOI: <http://dx.doi.org/10.4274/Jcrpe.895>
9. Rojek A, Krawczynski MR, Jamsheer A, Sowinska-Seidler A, Iwaniszewska B, Malunowicz E, et al. X-Linked Adrenal Hypoplasia Congenita in a Boy due to a Novel Deletion of the Entire NROB1 (DAX1) and MAGEB1-4 Genes. *Int J Endocrinol*. 2016;2016:5178953. DOI: 10.1155/2016/5178953 DOI: <http://dx.doi.org/10.1155/2016/5178953>
10. Bornstein SR, Allolio B, Arlt W, Barthel A, Don-Wauchope A, Hammer GD, et al. Diagnosis and Treatment of Primary Adrenal Insufficiency: An Endocrine Society Clinical Practice Guideline. *J Clin Endocrinol Metab*. 2016;101(2):364-89. DOI: <http://dx.doi.org/10.1210/jc.2015-1710>
11. Zachmann M, Fuchs E, Prader A. Progressive high frequency hearing loss: an additional feature in the syndrome of congenital adrenal hypoplasia and gonadotrophin deficiency. *Eur J Pediatr*. 1992;151(3):167-9. PMID: 1601004 DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/BF01954375>