
Resumo

Identificação de candidatos a biomarcadores urinários para o Transtorno do Espectro do Autismo

Nádia Isaac da Silva; Ivo Lebrun (orientador)

Programa de Pós-Graduação em Ciências. Coordenadoria de Controle de Doenças. Secretaria de Estado da Saúde;. São Paulo, Brasil, 2018.

RESUMO

O transtorno do espectro do autismo (TEA) é um distúrbio do desenvolvimento caracterizado por um quadro comportamental que envolve as áreas da interação social, da comunicação e do comportamento como também sensibilidade sensorial. Até o momento não existem biomarcadores que definam o TEA. Detectar metabólitos em urina de crianças com TEA por meio de diferentes técnicas analíticas e comparar com metabólitos de grupos controle com a finalidade de compor perfil metabólico específico para indivíduos com TEA. A pesquisa consiste em um estudo observacional retrospectivo, de desenho caso-controle. Os casos foram crianças (n=22) com TEA, do sexo masculino na faixa etária de 3 a 10 anos que foram comparados com crianças (n= 22) com desenvolvimento típico, pareadas por sexo e idade. As técnicas laboratoriais utilizadas para a identificação de metabólitos foram: quantificação de proteínas totais, separação e determinação da composição de aminoácidos por cromatografia CLUE, determinação da concentração de creatinina, perfil eletroforético de compostos proteicos, análise de espectrometria por método MALDI-TOF e estudo proteômico por meio de LC-ESI-IT-TOF/MS. A concentração de proteína do grupo de crianças com TEA foi significativamente inferior ao grupo controle constituído por crianças neurotípicas. Na análise dos aminoácidos foi observado que amostras de urina de crianças com TEA apresentaram maior concentração dos aminoácidos arginina, glicina, leucina e treonina e menor concentração dos aminoácidos ácido aspártico, alanina, histidina e tirosina quando comparados com amostras do grupo controle. A concentração de creatinina nas amostras de urina não apresentou diferença estatística entre os grupos observados. Na análise de eletroforese SDS-PAGE um composto com peso molecular de 250 kDa foi identificado com elevada frequência em urina de crianças com TEA. A busca em literatura sugere que seja a fibronectina plasmática. Na análise de espectrometria de massa foi identificado espectro de 654 Da com maior frequência em amostras de crianças neurotípicas e também um espectro de 1911 Da presente em maior número de amostras de crianças com TEA. A pesquisa em banco de dados sugeriu coproporfirina II e IV, gangliosídeo GT2 (d18:0/14:0) respectivamente. A análise proteômica identificou o espectro de 1911 Da como fragmento da glicoproteína uromodulina. A concentração de proteína e creatinina em urina não são marcadores metabólitos consistentes. A análise do perfil de aminoácidos replicou resultados observados em literatura, sendo assim, considerado um forte candidato a biomarcador. Apesar do resultado da análise proteômica divergir da análise de espectrometria de massa em relação à natureza dos compostos identificados, não pode ser excluída a possibilidade da existência de todos os compostos identificados nas amostras de urina dos grupos de participantes.

PALAVRAS-CHAVE: Biomarcadores urinários. Transtorno do Espectro do Autismo.

Abstract

Identification of candidates for urinary biomarkers for Autism Spectrum Disorder

Nádia Isaac da Silva; Ivo Lebrun (orientador)

Programa de Pós-Graduação em Ciências. Coordenadoria de Controle de Doenças. Secretaria de Estado da Saúde;. São Paulo, Brasil, 2018.

ABSTRACT

Introduction: Autism spectrum disorder (ASD) is a developmental disorder characterized by a behavioral framework that involves the areas of social interaction, communication and behavior as well as sensory sensitivity. To date, there are no biomarkers that define TEA. **Objective:** To detect metabolites in the urine of children with ASD through different analytical techniques and to compare them with metabolites of control groups in order to compose specific metabolic profile for individuals with ASD. **Material and methods:** The study consists of a retrospective, case-control study. The cases were children (n = 22) with ASD, males aged 3 to 10 years who were compared with children (n = 22) with typical development, matched by sex and age. The laboratory techniques used to identify metabolites were: quantification of total proteins, separation and determination of amino acid composition by CLUE chromatography, determination of creatinine concentration, electrophoretic profile of protein compounds, analysis of spectrophotometry by MALDI-TOF method and proteomic study by means of LC-ESI-IT-TOF / MS. **Results:** The protein concentration of the group of children with ASD was significantly lower than the control group constituted by neurotypical children. In the analysis of the amino acids, it was observed that urine samples from children with TEA had a higher concentration of the amino acids arginine, glycine, leucine and threonine and lower concentration of the amino acids aspartic acid, alanine, histidine and tyrosine when compared with samples from the control group. The creatinine concentration in the urine samples did not present statistical difference between the groups observed. In the SDS-PAGE electrophoresis analysis a compound with a molecular weight of 250 kDa was identified with high urine frequency in children with ASD. The literature search suggests that it is plasma fibronectin. In mass spectrometry analysis we identified 654 Da spectrum with the highest frequency in samples of neurotypical children and also a 1911 spectrum of the present in the largest number of samples of children with ASD. The database search suggested coproporphyrin II and IV, ganglioside GT2 (d18: 0/14: 0) respectively. Proteomic analysis identified the 1911 Da spectrum as a fragment of the uromodulin glycoprotein. **Conclusions:** Protein and creatinine concentration in urine are not consistent metabolic markers. Analysis of the amino acid profile replicated results observed in the literature, being thus considered a strong candidate for biomarker. Although the result of the proteomic analysis diverges from the mass spectrometry analysis in relation to the nature of the identified compounds, the possibility of the existence of all the compounds identified in the urine samples of the participant groups can not be ruled out.

KEYWORDS: Urinary biomarkers. Autism Spectrum Disorder.