

Epilepsia infantil decorrente de alteração no gene *grin2b*: um relato de caso

Childhood epilepsy due to alteration in the GRIN2B gene: a case report

Epilepsia infantil por alteración del gen GRIN2B: reporte de un caso

Olavo Leite de Macêdo Neto¹, Maria Victória Lima Gonçalves²,
Cristina Nogueira Marques Alencar³

1. Acadêmico de Medicina, Faculdade de Medicina Estácio de Juazeiro do Norte (FMJ). Juazeiro do Norte-CE, Brasil. Orcid: <https://orcid.org/0000-0001-8645-4633>

2. Acadêmica de Medicina, Faculdade de Medicina Estácio de Juazeiro do Norte (FMJ). Juazeiro do Norte-CE, Brasil. Orcid: <https://orcid.org/0000-0003-1469-8609>

3. Neurologista Pediátrica pela Hospital de Base do Distrito Federal (HBDF), Hospital da Criança de Brasília (HCB). Docente do curso de Medicina, Faculdade de Medicina Estácio de Juazeiro do Norte (FMJ). Juazeiro do Norte-CE, Brasil. Orcid: <https://orcid.org/0000-0001-6123-5231>

Resumo

Introdução. O desenvolvimento de novos estudos genéticos tem possibilitado um avanço maior no conhecimento das etiologias das encefalopatias epiléticas infantis (EEI) e tem proporcionado um rastreamento mais seguro de certas doenças congênitas na prática clínica. A anomalia no gene *GRIN2B* está relacionada à formação dos receptores glutamatérgicos do tipo NMDA, promovendo uma maior predisposição às atividades epiléticas, que durante o início da maturação cerebral, interfere diretamente no processo de neurodesenvolvimento, repercutindo no atraso cognitivo, motor, comunicativo e na socialização da criança.

Objetivo. Relatar e discutir o caso clínico de uma criança com diagnóstico de epilepsia decorrente da alteração no gene *GRIN2B*. **Método.** Trata-se de um estudo observacional, descritivo, transversal no formato de relato de caso. **Resultados.** Os principais genes alterados nas epilepsias são os codificadores das subunidades de canais iônicos, e a outra grande parte dos genes identificados em estudos, codifica proteínas que interagem com esses canais. O gene *GRIN2B* é responsável por codificar a subunidade GluN2B do receptor NMDA, receptores glutamatérgicos, permitindo que partículas carregadas positivamente entrem através dos canais iônicos, gerando excitações nos neurônios. O diagnóstico é estabelecido através de painel multigênico para deficiência intelectual (com presença no painel do gene *GRIN2B*), Exoma, SNP-array, ou mais atualmente, o Genoma com pesquisa de CNV. **Conclusão.** A importância da investigação de mutações genéticas, através de todo o arsenal de exames disponibilizados na área, como possível origem das síndromes epiléticas, está no objetivo de oferecer todo um suporte terapêutico ao paciente, melhorando assim a sua qualidade de vida.

Unitermos. Crise Epilética; Encefalopatia; Bases de Dados Genéticos; Mutação; Distúrbios do Neurodesenvolvimento

Abstract

Introduction. The development of new genetic studies has enabled a greater advance in the knowledge of the etiologies of childhood epileptic encephalopathies (IES) and has provided a safer tracking of certain congenital diseases in clinical practice. The anomaly in the *GRIN2B* gene is related to the formation of glutamatergic receptors of the NMDA type, promoting a greater predisposition to epileptic activities, which, during the beginning of brain maturation, directly interferes in the neurodevelopment process, affecting cognitive, motor, communicative and socialization delay of child. **Objective.** To report and discuss the clinical case of a child diagnosed with epilepsy resulting from an alteration in the *GRIN2B* gene.

Method. This is an observational, descriptive, cross-sectional study in case report format.

Results. The main altered genes in epilepsias are the ones that encode ion channel subunits,

and the other large part of the genes identified in studies encodes proteins that interact with these channels. The *GRIN2B* gene is responsible for encoding the GluN2B subunit of the NMDA receptor, glutamatergic receptors, allowing positively charged particles to enter through the ion channels, generating excitations in neurons. The diagnosis is established through a multigene panel for intellectual disability (with the presence of the GRIN2B gene panel), Exoma, SNP-array, or more recently, the Genome with CNV research. **Conclusion.** The importance of investigating genetic mutations, through the entire arsenal of tests available in the area, as a possible origin of epileptic syndromes, is in the objective of offering therapeutic support to the patient, thus improving their quality of life.

Keywords. Epileptic Seizure; Encephalopathy; Databases Genetic; Mutation; Neurodevelopmental Disorders

Resumen

Introducción. El desarrollo de nuevos estudios genéticos ha permitido un mayor avance en el conocimiento de las etiologías de las encefalopatías epilépticas infantiles (EEI) y ha proporcionado un cribado más seguro de algunas enfermedades congénitas en la práctica clínica. La anomalía en el gen *GRIN2B* está relacionada con la formación de receptores glutamatérgicos NMDA, promoviendo una mayor predisposición a actividades epilépticas, las cuales, durante la maduración cerebral temprana, interfieren directamente en el proceso de neurodesarrollo, afectando procesos cognitivos y motores y retrasos en la socialización infantil. **Objetivo.** Reportar y discutir el caso clínico de un niño diagnosticado de epilepsia por alteración en el gen *GRIN2B*. **Método.** Se trata de un estudio observacional, descriptivo, transversal, en forma de reporte de caso. **Resultados.** Los principales genes alterados en la epilepsia son los que codifican subunidades de canales iónicos, y la otra gran parte de los genes identificados en estudios que codifican proteínas que interactúan con estos canales. El gen *GRIN2B* es el encargado de codificar la subunidad GluN2B del receptor NMDA, receptores glutamatérgicos, permitiendo la entrada de partículas cargadas positivamente a través de canales iónicos, generando excitación en las neuronas. El diagnóstico se establece a través de un panel multigénico para discapacidad intelectual (con presencia del panel de genes GRIN2B), Exoma, SNP-array o, más recientemente, Genoma con investigación de CNV. **Conclusiones.** La importancia de investigar las mutaciones genéticas, a través de todo el arsenal de pruebas disponibles en el área, como posible origen de los síndromes epilépticos, radica en el objetivo de ofrecer un apoyo terapéutico completo al paciente, mejorando así su calidad de vida.

Palabras clave: Crisis Epiléptica; Encefalopatía; Bases de datos genéticas; Mutación; Trastornos del Neurodesarrollo

Trabalho realizado na Faculdade de Medicina Estácio Juazeiro do Norte. Juazeiro do Norte-CE, Brasil.

Conflito de interesse: não

Recebido em: 23/01/2023

Aceito em: 26/04/2023

Endereço para correspondência: Olavo Leite de Macêdo Neto. Faculdade Medicina Estácio de Juazeiro do Norte. R. Ten. Raimundo Rocha 515. Cidade Universitária. Juazeiro do Norte-CE. Brasil. CEP 63040-360. E-mail: olavoleitemacedo@gmail.com

INTRODUÇÃO

O desenvolvimento de novos estudos genéticos tem possibilitado um avanço maior no conhecimento das etiologias das encefalopatias epilépticas infantis (EEI) e tem proporcionado um rastreamento mais seguro de certas doenças congênitas na prática clínica. A crise epiléptica é resultado de uma atividade cerebral excessiva ou

hipersincrônica, causada por uma associação entre fatores endógenos, desencadeantes e epileptogênicos, gerando um desequilíbrio entre a excitação e inibição no sistema nervoso central¹. Nesse contexto etiológico, os genes responsáveis pelas EEI possuem diversas funções e são capazes de condicionar dois ou mais fenotípicos sindrômicos, sendo necessários exames genéticos com o objetivo de distinguir quais dos genes encontram-se alterados.

A anomalia no gene *GRIN2B* está relacionada à formação dos receptores glutamatérgicos do tipo NMDA, promovendo uma maior predisposição às atividades epiléticas, que durante o início da maturação cerebral, interfere diretamente no processo de neurodesenvolvimento, repercutindo no atraso cognitivo, motor, comunicativo e na socialização da criança². O distúrbio do neurodesenvolvimento relacionado ao gene *GRIN2B* deve ser considerado em indivíduos com os seguintes achados clínicos: atraso global do desenvolvimento associado com deficiência intelectual, epilepsia, transtorno do espectro autista, microcefalia, distúrbio de movimento e prejuízo cortical visual e de malformações do desenvolvimento cortical vista na imagem do encefálo. O diagnóstico é estabelecido através de painel multigênico para deficiência intelectual (com presença no painel do gene *GRIN2B*), Exoma, SNP-array, ou mais atualmente, o Genoma com pesquisa de CNV^{1,2}.

MÉTODO

Trata-se de um estudo observacional, descritivo, transversal no formato de relato de caso. Realizou-se a coleta de dados no prontuário do paciente no Ambulatório Elizabete Bernardo de Oliveira e uma revisão bibliográfica nas seguintes bases de dados: PubMed, Google Scholar e SciELO, utilizando os descritores: Epilepsia, GRIN2B, Encefalopatia e Genes epilépticos. Além disso, tal projeto foi submetido e aprovado dentro dos padrões pelo Comitê de Ética e Pesquisa da Faculdade Medicina Estácio de Juazeiro do Norte por meio da Plataforma Brasil, pelo CAAE 51693321600008074.

RELATO DE CASO

Paciente sexo masculino, 2 anos e 6 meses, nasceu prematuro de 36 semanas, com pontuação 9/9 no índice de Apgar, sem qualquer alteração nos exames pós-parto. Aos cinco meses de idade, foi levado pela mãe e avó materna ao ambulatório de neuropediatria com o quadro de atraso no desenvolvimento psicomotor e de leve espasmos musculares acompanhados por superversão binocular há dois meses, que surgia com frequência de cinco vezes ao dia, com duração média de um minuto por episódio, desencadeados quando o mesmo se irritava ou chorava. Além disso, a criança apresentava uma hipotonia axial significativa, ponte nasal baixa, pregas epicânticas, orelhas baixas implantadas, calcâneos protusos e um olhar que não acompanhava ou fixava o contato visual. O exame

neurológico demonstrou sustento cefálico com aquisição, tetraparesia com hipotonia, reflexos grau II, simétricos, cutâneo plantar indiferente bilateralmente, nervos cranianos: pupilas isocóricas, fotorreagentes, motilidade ocular extrínseca preservada, presença de estrabismo divergente esporádico (Figura 1).

Figura 1. Paciente apresentando tetraparesia com hipotonia, orelhas baixas implantadas, ponte nasal baixa e calcâneos protusos.



Posteriormente, realizou-se ressonância magnética de crânio, no qual não apresentou alterações encefálicas estruturais e/ou anormalidades na mielinização. Seguindo com o eletroencefalograma (EEG) que detectou uma

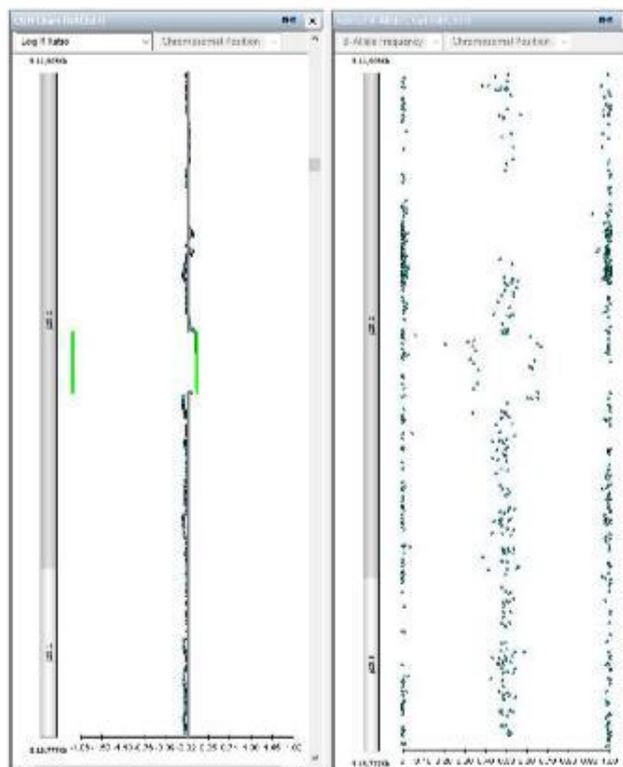
atividade epileptiforme interictal frequente na região centro-parieto-temporal esquerda, rara multifocal, alentecimento difuso e assimétrico da atividade de base de leve intensidade, o que confirmou o diagnóstico precoce da epilepsia; e o exame de determinação da atividade enzimática da biotinidase (BTD), revelando uma discreta deficiência de biotina. Nesse contexto, foi introduzido Levetiracetam, feito à reposição de biotina e o acompanhamento com fisioterapia/terapia ocupacional para o tratamento, apresentando melhora parcial do quadro.

Aos 14 meses, a criança evoluiu com disfagia, sialorreia, vedamento labial incompleto, um atraso no desenvolvimento cognitivo, comunicativo e nas reações aos estímulos verbais, além de uma atividade epilética mais duradoura no EEG. Buscou-se identificar possíveis alterações cromossômicas causadoras de encefalopatias epiléticas infantis (EEI) por meio da Hibridação Genômica Comparativa (CGH) – Array, que demonstrou uma duplicação de 170kb na banda 3p25.2 no braço curto do cromossomo 3, de herança paterna, e na região 10q26.3, o que não explicava totalmente o fenótipo do paciente (Figura 2).

Na investigação foi realizado o exoma pelo método do sequenciamento de nova geração, evidenciado uma alteração no gene *GRIN2B* pela variante Chr 12:13.720.098 C>A, promovendo a substituição do aminoácido glicina no códon 820 por valina (p.Gly 820 Val) que não foi herdada pelos genitores, resultando em um evento mutacional e no

diagnóstico de deficiência intelectual autossômica dominante 6 (Figura 3).

Figura 2. Perfil de número de cópias (à esquerda) e de genotipagem por SNP (à direita) de parte do braço curto do cromossomo 3 mostrando a duplicação detectada.

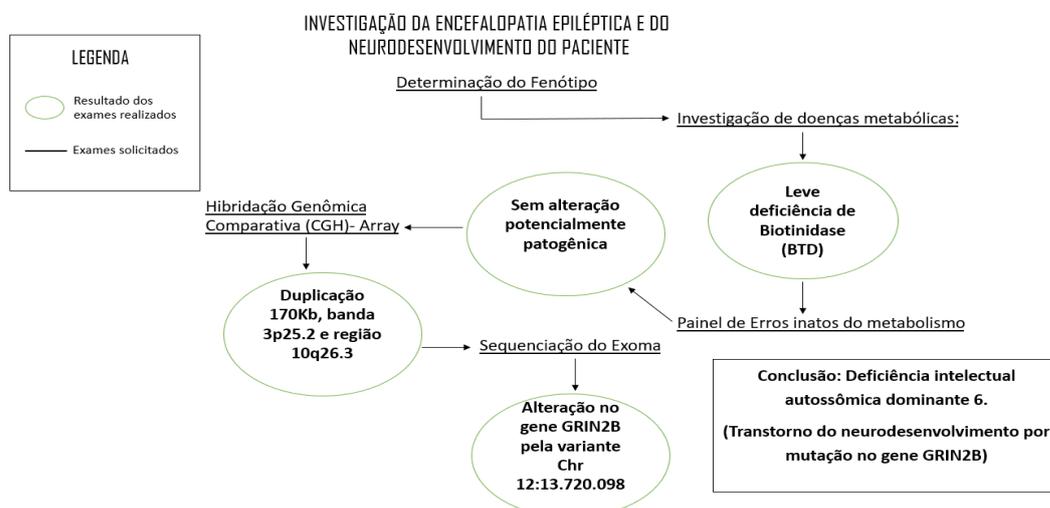


DISCUSSÃO

O gene *GRIN2B* está localizado no braço curto do 12º cromossomo em 12p13.1, fazendo parte de uma família composta por 7 genes, que codificam três classes de subunidades do receptor N-metil-D-aspartato (NMDA): o GluN1, GluN3 são de ligação com à glicina e o GluN2 de ligação ao glutamato. O *GRIN2B* é responsável por codificar a subunidade GluN2B do receptor NMDA, receptores

glutamatérgicos, permitindo que partículas carregadas positivamente entrem através dos canais iônicos, gerando excitações nos neurônios^{3,4}. Estudos relatam uma elevada expressividade da subunidade *GluN2B* no período pré-natal, com declínio dessa expressão na maioria das regiões cerebrais após o nascimento. Esse fato revela o importante papel dessa subunidade no desenvolvimento do cérebro, participando na plasticidade sináptica, aprendizado e memória. Com o sequenciamento do exoma completo, permitiu-se a detecção de um extenso número de variantes no gene *GRIN2B*, no qual possui implicação direta em diversos distúrbios do neurodesenvolvimento, como: deficiência intelectual (DI), transtorno do espectro do autismo (TEA), atraso no desenvolvimento (DD), encefalopatia epiléptica infantil (EEI), transtorno de déficit de atenção e hiperatividade (TDAH), deficiência visual cerebral (CVI)^{5,6}.

Figura 3. Fluxograma demonstrando as etapas de investigação.



A encefalopatia epiléptica infantil é definida clinicamente por crises tônicas focais, posturais ou generalizadas, podendo ter associações com crises clônicas focais, parciais simples e espasmos epilépticos. Sua ocorrência durante a infância, período importante no processo de maturação cerebral, interfere diretamente no neurodesenvolvimento da criança, resultando em atrasos cognitivos e motores^{7,8}. A investigação das EEI genéticas é extensa e complexa, envolvendo história clínica detalhada com destaque para a gravidez e período perinatal, classificação das crises, padrão do EEG e RM cranioencefálica com o objetivo de determinar o fenótipo. Em casos de resultados inespecíficos, a investigação ganha novas etapas, iniciando nas tentativas de excluir doenças metabólicas potencialmente tratáveis. Nos fenótipos sugestivos de uma síndrome genética específica, o estudo dirigido do gene é realizado. Em contrapartida, nos fenótipos não sugestivos de entidade genética específica, a análise cromossômica por microarranjo aplicada (MAC) deve ser realizado⁹. O último passo é marcado pela realização da sequenciação do exoma, responsável por realizar a análise de toda a região codificante do genoma humano, possuindo uma rentabilidade diagnóstica de 25%, que pode atingir os 50% quando aplicado no doente e nos pais¹⁰.

Durante a investigação do paciente relatado, no qual realizou avaliação formal visual, foi identificado uma discreta deficiência de biotinidase (DB), doença metabólica

de herança autossômica recessiva, responsável pela depleção da biotina, vitamina do complexo B, no organismo do paciente. As células com deficiência em biotina cursam com uma suscetibilidade aumentada para o dano oxidativo em resposta ao estresse. Dentre as anormalidades neurológicas ocasionadas pela DB, estão as crises epilépticas que são resultantes do acúmulo de lactato no cérebro por sua incapacidade reciclar a biotina. No entanto, na realização do painel de erros inatos do metabolismo, o gene BTBD9 (biotinidase) teve sua região codificante e os introns proximais integralmente avaliados, não identificando qualquer alteração potencialmente patogênica. Descartado a doença metabólica como uma possível causa do quadro clínico do paciente, a investigação foi continuada com um novo objetivo de identificar alterações cromossômicas por meio da realização da Hibridação Genômica Comparativa por Arrais (CGH-Array), no qual foi possível encontrar uma duplicação no cromossomo 10 (na região 10q26.3) e no cromossomo 3 (na região 3p25.2), sendo essa última mutação herdada do pai. Apesar da duplicação cromossômica ter sido considerada de significado clínico incerto, uma vez que o pai do paciente apresentava características normais, é possível identificar por meio de revisão de artigos uma correlação do locus 3p25 com o gene da biotinidase (Figura 4) sendo assim, a mutação do cromossomo 3 poderia justificar a leve deficiência de biotinidase apresentada pela criança¹¹.

Figura 4. Representação da codificação do gene em seu respectivo locus genético do cromossomo 3 e a sua repercussão metabólica.

braço p		
Locus	Gene	Descrição
3p21.1	ALAS 1	5'aminolevulinato sintase 1
3p25	BTD	biotinidase
3p21.31	CCR5	receptor 5 de quimiocina
3p26.3	CNTN4	contactina 4
3p21.1	COL7A1	colágeno, tipo 7, alfa 1
3p14.2	C3orf14	Fase de leitura aberta 14
3p14.2-p14.1	MITF	fator de transcrição associado a microftalmia
3p21.3	MLH1	homólogo 1 de mutL
3p25	OXTR	receptor de oxitocina
3p22-p21.1	PTH1R	receptor 1 do hormônio paratireoidal
3p21	SCN5A	canal de sódio dependente de voltagem tipo 5, subunidade alfa
3p21.31	SLC25A20	veículo de transporte de soluto, família 25, membro 15 d
3p21	TMIE	transmembrana do ouvido interno
3p25.3	VHL	supressor de tumor von Hippel-Lindau
3p14.1	FOXP1	forkhead box P1
3p26.2	CRBN	proteína cereblon

Fonte: Cromossoma 3 (2020), WikiMedia Foundation¹¹.

A investigação foi elucidada com a realização do exoma genético que evidenciou uma heterozigose no gene *GRIN2B*, promovendo a substituição do aminoácido glicina no códon 820 por valina (p.Gly 820 Val). Adicionalmente, a presença da variante p.Gly820Val foi confirmada na criança, pelo sequenciamento do método Sanger e descartada em seus genitores. Portanto, devido as características do padrão epiléptico migratório nas crises do caso clínico e no EEG, se faz suspeita de patologias

sobrepostas como: Síndrome de West, Epilepsia focal migratória e Síndrome de Lennox-Gastaut.

O tratamento para os portadores de mutações do *GRIN2B* tem caráter multidisciplinar e deve ser realizada de forma individualizada, abordando as principais necessidades do paciente, nos casos de EEI, habitualmente são indicados o uso do fenobarbital, valproato de sódio, topiramato e dos benzodiazepínicos^{1,2}.

CONCLUSÃO

Diante do exposto, torna-se claro a importância da investigação de mutações genéticas, através de todo o arsenal de exames disponibilizados na área, como possível origem das síndromes epiléticas, objetivando oferecer todo um suporte terapêutico ao paciente, melhorando assim a sua qualidade de vida. No entanto, é necessário deixar claro que apesar do avanço na detecção das mutações, por meio do advento de técnicas de sequenciamento de genomas e consequente aumento do número de novas variantes de *GRIN*, estudos que forneçam informações completas acerca da temática e medicamentos direcionados exclusivamente para a problemática, ainda se encontram limitados.

REFERÊNCIAS

- 1.Cendes IL, Ribeiro PA. Aspectos genéticos das epilepsias: uma visão atual. Rev Med Clin Condes 2013;24:903-8. [https://doi.org/10.1016/S0716-8640\(13\)70243-8](https://doi.org/10.1016/S0716-8640(13)70243-8)
- 2.Benke TA, Park K, Krey I, Camp CR, Song R, Ramsey AJ, et al. Clinical and therapeutic significance of genetic variation in the GRIN

gene family encoding NMDARs. *Neuropharmacology* 2021;199:108805.

<https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2021.108805>

3. Ende S, Rosenberger G, Geider K, Popp B, Tamer C, Stefanova I, *et al.* Mutations in GRIN2A and GRIN2B encoding regulatory subunits of NMDA receptors cause variable neurodevelopmental phenotypes. *Nat Genet* 2010;42:1021-6. <https://doi.org/10.1038/ng.677>

4. Akazawa C, Shigemoto R, Bessho Y, Nakanishi S, Mizuno N. Differential expression of five N-methyl-D-aspartate receptor subunit mRNAs in the cerebellum of developing and adult rats. *J Comp Neurol* 1994;347:150-60. <https://doi.org/10.1002/cne.903470112>

5. Donya PM, Niloofar F, Sajjad R, Parvaneh K. Single-locus and Haplotype Associations of GRIN2B Gene with Autism Spectrum Disorders and the Demographic and Clinical Characteristics of Patients in Guilan, Iran. *J Autism Develop Dis* 2022:1-8. <https://doi.org/10.1007/s10803-022-05818-2>

6. Lemke JR, Hendrickx R, Geider K, Laube B, Schwake M, Harvey RJ, *et al.* GRIN2B mutations in west syndrome and intellectual disability with focal epilepsy. *Ann Neurol* 2014;75:147-54. <https://doi.org/10.1002/ana.24073>

7. Martins R, Moldovan O, Sousa AB, Levy A, Quintas S. Epileptic Encephalopathies of Childhood: The New Paradigm of Genetic Diagnosis. *Acta Med Port* 2020;33:415-24. <https://doi.org/10.20344/amp.12550>

8. Hamdan FF, Srour M, Capo-Chichi JM, Daoud H, Nassif C, Patry L, *et al.* De novo mutations in moderate or severe intellectual disability. *PLoS Genet* 2014;10:e1004772. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1004772>

9. Talkowski ME, Rosenfeld JA, Blumenthal I, Pillalamarri V, Chiang C, Heilbut A, *et al.* Sequencing chromosomal abnormalities reveals neurodevelopmental loci that confer risk across diagnostic boundaries. *Cell* 2012;149:525-37. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2012.03.028>

10. Myers SJ, Yuan H, Kang JQ, Tan Kuan FC, Traynelis SF. Distinct roles of GRIN2A and GRIN2B variants in neurological conditions. *F1000 Res* 2019;8:1-14. <https://doi.org/10.12688/f1000research.18949.1>

11. Cromossoma 3 (Internet). Wikipedia; 2020 (accessed 2022/11/23). Available from: https://pt.m.wikipedia.org/wiki/Cromossoma_3