

Flávia Madalena Pinto Mendes

Hipocolesterolemias: Síndrome de Smith-Lemli-Opitz, uma revisão narrativa.

Faculdade de Ciências da Saúde

Universidade Fernando Pessoa

Porto, 2024



Flávia Madalena Pinto Mendes

Hipocolesterolemias: Síndrome de Smith-Lemli-Opitz, uma revisão narrativa.

Faculdade de Ciências da Saúde

Universidade Fernando Pessoa

Porto, 2024

Flávia Madalena Pinto Mendes

Hipocolesterolemias: Síndrome de Smith-Lemli-Opitz, uma revisão narrativa.

Atesto a originalidade do trabalho

Flávia Madalena Pinto Mendes

Flávia Madalena Pinto Mendes

Trabalho apresentado à Universidade Fernando Pessoa como parte dos requisitos para obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas, sob a orientação da Professora Doutora Carla Guimarães Moutinho.

Porto, 2024

## **Resumo**

As hipocolesterolemias, contrariamente às hipercolesterolemias, constituem um grupo heterogêneo de patologias ainda pouco conhecido associado a uma elevada morbidade, sendo por conseguinte necessário aprofundar o seu estudo para que o respetivo diagnóstico e tratamento possam ser melhorados.

Nos doentes com comprometimento da biossíntese do colesterol, há um desenvolvimento embrionário anormal o qual leva ao aparecimento de diversas características fenotípicas ainda no período pré-natal, uma vez que a passagem do colesterol através da barreira placentária é limitada. O processo patológico subjacente à carência em colesterol decorre como consequência do bloqueio da via metabólica responsável pela sua síntese.

Apesar de pouco conhecidas, estão presentemente descritas dez doenças genéticas afetando a parte distal da via metabólica da biossíntese deste esterol, a mais frequente das quais é a síndrome de Smith-Lemli-Opitz (SLOS), causada pelo défice da enzima 7-dehidrocolesterol redutase que catalisa a conversão de 7-dehidrocolesterol a colesterol. O espectro fenotípico da SLOS é muito amplo, variando desde uma doença leve com problemas comportamentais e de aprendizagem a uma síndrome de malformações letais, sendo que as características clínicas mais frequentes são sindactilia do segundo e terceiro dedo dos pés, microcefaleia, retrognatismo, narinas antevertidas, entre outras.

Este trabalho tem como objetivos uma revisão bibliográfica atual sobre as hipocolesterolemias, tendo como foco principal a SLOS, a importância do diagnóstico dos défices da biossíntese do colesterol e os potenciais tratamentos.

Este estudo permitiu comprovar que o diagnóstico ainda é um desafio, por existirem outras síndromes que compartilham algumas características clínicas de SLOS. No entanto, a sindactilia do segundo e terceiro dedo em forma de Y, presente na maioria dos indivíduos com SLOS, raramente é observada noutros distúrbios. Concluiu-se que atualmente não há tratamento comprovadamente eficaz para pacientes com SLOS; a suplementação dietética de colesterol e a terapia com estatinas são discutidas de forma controversa. O ácido cólico pode ser benéfico por melhorar a absorção de colesterol, mas não é suficiente para reverter a patologia. A utilização de miglustato (aprovado pela FDA como Zavesca<sup>®</sup>), um fármaco de iminoaçúcar que inibe a glucosilceramida sintase, tem

sido considerado como terapia, pelo potencial de tratar anormalidades associadas ao sistema nervoso central presentes em SLOS. A suplementação com antioxidantes, como a vitamina E, demonstraram igualmente inibir a formação de oxisterois derivados de 7-deidrocolesterol em fibroblastos de pacientes com SLOS, alguns dos quais são altamente tóxicos para as células e podem contribuir para a fisiopatologia da doença. Contudo, é crucial a continuidade da investigação científica sobre os benefícios dos tratamentos.

**Palavras-chave:** Síntese de colesterol; Erro inato; Hipocolesterolemias; Déficit enzimático; Síndrome de Smith-Lemli-Opitz.

## **Abstract**

Hypocholesterolemias, unlike hypercholesterolemias, are a heterogeneous group of pathologies that are still poorly understood and associated with high morbidity. It is therefore necessary to study them further in order to improve their diagnosis and treatment.

In patients with impaired cholesterol biosynthesis, there is an anormal embryonic development which leads to the appearance of several phenotypic characteristics even in the prenatal period, since the passage of cholesterol through the placental barrier is limited. The pathological process underlying cholesterol deficiency occurs as a result of the blockage of the metabolic pathway responsible for its synthesis.

Although little known, ten genetic diseases affecting the distal part of the metabolic pathway of this sterol biosynthesis are currently described, the most common of which is Smith-Lemli-Opitz syndrome (SLOS), caused by a deficit of the enzyme 7-dehydrocholesterol reductase which catalyses the conversion of 7-dehydrocholesterol to cholesterol. The phenotypic spectrum of SLOS is very broad, ranging from a mild illness with behavioral and learning problems to a syndrome of lethal malformations. The most frequent clinical features being syndactyly of the second and third toes, microcephaly, retrognathism, anteverted nares, between others.

The aim of this study is to review the current literature on hypocholesterolemia, focusing mainly on SLOS, the importance of diagnosing deficits in cholesterol biosynthesis and potential treatments.

This study showed that diagnosis is still a challenge, as there are other syndromes that share some of the clinical characteristics of SLOS. However, the Y-shaped syndactyly of the second and third fingers, present in most individuals with SLOS, is rarely observed in other disorders. It was concluded that there is currently no proven effective treatment for patients with SLOS; dietary cholesterol supplementation and statin therapy are controversially discussed. Cholic acid can be beneficial by improving cholesterol absorption, but is not sufficient to reverse the pathology. The use of miglustat (FDA-approved as Zavesca®), an iminosugar drug that inhibits glucosylceramide synthase, has been considered as a therapy, due to its potential to treat central nervous system-associated abnormalities present in SLOS. Supplementation with antioxidants such as

vitamin E has also been shown to inhibit the formation of oxysterols derived from 7-dehydrocholesterol in fibroblasts from patients with SLOS, some of which are highly toxic to cells and may contribute to the pathophysiology of the disease. However, further scientific research into the benefits of treatments is crucial.

**Keywords:** Cholesterol synthesis; Inborn error; Hypocholesterolemias; Enzyme deficiency; Smith-Lemli-Opitz syndrome.

## **Agradecimentos**

Esta dissertação teve como base um intensivo trabalho de pesquisa.

Assim, agradeço à Professora Doutora Carla Guimarães Moutinho por orientar o trabalho de pesquisa, pelo empenho e dedicação para encontrar soluções face a todas as dificuldades que foram surgindo, pelo estímulo e confiança, os quais foram decisivos para finalizar a redação deste texto.

Agradeço à Professora Doutora Márcia Carvalho pela orientação na formatação da dissertação conforme o manual de estilo da Universidade Fernando Pessoa e pelas dicas de pesquisa de informação científica.

## Índice Geral

Resumo .....	v
Abstract.....	vii
Agradecimentos .....	ix
Índice de figuras .....	xii
Índice de tabelas .....	xiii
Lista de abreviaturas .....	xiv
I. Introdução.....	1
1.1 Motivação .....	5
1.2 Objetivos.....	5
1.3 Metodologia.....	5
II. Colesterol.....	6
2.1. Colesterol exógeno .....	9
2.2. Biossíntese do colesterol.....	10
2.3. Absorção do colesterol.....	12
2.4. Transporte do colesterol.....	12
2.5. Homeostase do colesterol .....	14
2.6. Erros inatos da biossíntese do colesterol .....	16
III. Hipocolesterolemias .....	18
IV. Síndrome de Smith-Lemli-Opitz.....	20
4.1.Contextualização histórica .....	20
4.2. Caracterização da síndrome de Smith-Lemli-Opitz.....	21
4.2.1. SLOS tipo I .....	22
4.2.2. SLOS tipo II .....	23
4.3. Aspectos bioquímicos: enzima 7-DHCR.....	23
4.4. Aspectos moleculares: gene <i>DHCR7</i> .....	25
4.5. Relação genótipo-fenótipo .....	26
4.6. Incidência da SLOS .....	30
4.7. Diagnóstico da SLOS.....	31
4.7.1. Diagnóstico pré-natal .....	31
4.7.2. Diagnóstico pós-natal.....	33
4.7.3. Distinção do diagnóstico da SLOS e outras colesteropatias .....	34
4.8. Tratamento .....	35

V. Conclusão .....	40
VI. Bibliografia.....	41

## Índice de figuras

<b>Figura 1.</b> Derivados de ácidos biliares, glucocorticoides e hormonas sintetizados a partir do colesterol (adaptado de Donoghue <i>et al.</i> , 2018). .....	3
<b>Figura 2.</b> Colesterol (C <sub>27</sub> H <sub>46</sub> O), (adaptado de Jezela-Stanek <i>et al.</i> , 2020). .....	6
<b>Figura 3.</b> Biossíntese do colesterol (adaptado de Waterham <i>et al.</i> , 2000). .....	11
<b>Figura 4.</b> Papel da proteína de ligação ao elemento regulador de esteróis (SREBP-2)/proteína ativadora de clivagem de (SCAP-SREBP-2) na regulação de colesterol (adaptado de Yanagisawa <i>et al.</i> , 2022). .....	15
<b>Figura 5.</b> Erros inatos da biossíntese de colesterol pós-lanosterol (adaptado de Korade <i>et al.</i> , 2022). As enzimas participam em vários processos de conversão, mas, para simplificar, as setas indicam apenas as principais etapas. ....	17
<b>Figura 6.</b> Hipocolesterolemias primárias e secundárias. ....	20
<b>Figura 7.</b> Mutação em <i>DHCR7</i> e defeitos bioquímicos e físicos associados a SLOS (adaptado de Chattopadhyay <i>et al.</i> , 2023). .....	25

## Índice de tabelas

<b>Tabela 1.</b> Apresentação clínica de distúrbios da biossíntese de colesterol (adaptado de Jezela-Stanek et al., 2020).....	28
--	----

## **Lista de abreviaturas**

Apo- Apolipoproteína

ABCA1- Transportador de cassete de ligação de ATP A1, do inglês *ATP binding cassette transporter A1*

ABL- Abetalipoproteinemia

Acetil-CoA- Acetil coenzima A

BBM- Membrana da borda em escova, do inglês *brush border membrane*

BHE- Barreira hematoencefálica

CT- Colesterol total

DNA- Ácido desoxirribonucleico, do inglês *deoxyribonucleic acid*

DHCR24- 24-Dehidrocolesterol redutase

*DHCR24*- Gene 24-Dehidrocolesterol redutase

7-DHC- 7-Dehidrocolesterol

8-DHC- 8-Dehidrocolesterol

7 DHD- 7-Dehidrodesmosterol

DHCEO- 3 $\beta$ ,5 $\alpha$ -Dihidroxicolest-7-en-6-ona

*DHCR7*- gene 7-Dehidrocolesterol redutase

7-DHCR- 7-Dehidrocolesterol redutase

ER- Retículo endoplasmático, do inglês *endoplasmic reticulum*

FHBL- Hipobetalipoproteinemia familiar

GC-MS- Cromatografia gasosa-espectrometria de massa, do inglês *Gas chromatography – mass spectrometry*

GPCRs- Receptores acoplados à proteína G, do inglês *G-protein coupled receptors*

HDL- Lipoproteína de alta densidade, do inglês *high density lipoprotein*

Hh- Via de sinalização Hedgehog, do inglês *hedgehog signaling pathway*

HMG- 3-Hidroxi-3 Metilglutaril

HMG-CoA- 3-Hidroxi-3-metilglutaril-CoA

HMG-CoAr- 3-Hidroxi-3 Metilglutaril-CoA Redutase

INSIG- Gene induzido por insulina, do inglês *insulin induced gene*

IF- Fator inibitório, do inglês *inhibitory factor*

LDL- Lipoproteína de baixa densidade, do inglês *low density lipoprotein*

LDLr- Recetor de lipoproteína de baixa densidade, do inglês *low density lipoprotein receptor*

LXRs- Recetores X do fígado, do inglês *liver x-receptores*

NGS- Sequenciamento de próxima geração, do inglês *next generation sequencing*

nSREBP -2 – Fragmento NH<sub>2</sub>-terminal de SREBP-2, do inglês *the NH<sub>2</sub>-terminal domain cleavage of the sterol regulatory element binding protein*

NPC1L1- Do inglês *Niemann-Pick C1-Like 1*

PCR- Do inglês *polymerase chain reaction*

RCT- Transporte reverso de colesterol, do inglês *reverse cholesterol transport*

SLOS- Síndrome de Smith-Lemli-Opitz

SHh- *Sonic Hh*

Hipocolesterolemias: Síndrome de Smith-Lemli-Opitz, uma revisão narrativa.

SREBP-2- Proteína de ligação ao elemento regulador de esterol tipo 2, do inglês *sterol regulatory element-binding protein 2*

SCAP- Proteína ativadora de clivagem, do inglês *sterol cleavage activating protein*

SR-B1- Do inglês *scavenger receptor B1*

SNC- Sistema nervoso central

S1P- Site-1 protease

S2P- Site-2 protease

TG- Triglicerídeos

VE- Vitamina E

VC- Vitamina C

VLDL- Lipoproteína de densidade muito baixa, do inglês *very low density lipoprotein*

WES- Sequenciamento completo de exoma, do inglês *whole exome sequencing*

WGS- Sequenciamento completo de genoma, do inglês *whole genome sequencing*

## I. Introdução

O colesterol é uma molécula lipídica essencial para a manutenção de uma variedade de funções e vias indispensáveis. É um componente importante das membranas celulares, interage com outros lípidos para regular a permeabilidade membranar a certos iões e solutos e controla a rigidez da membrana para atuar como um suporte das proteínas plasmáticas (Abe *et al.*, 2022; Galano *et al.*, 2022).

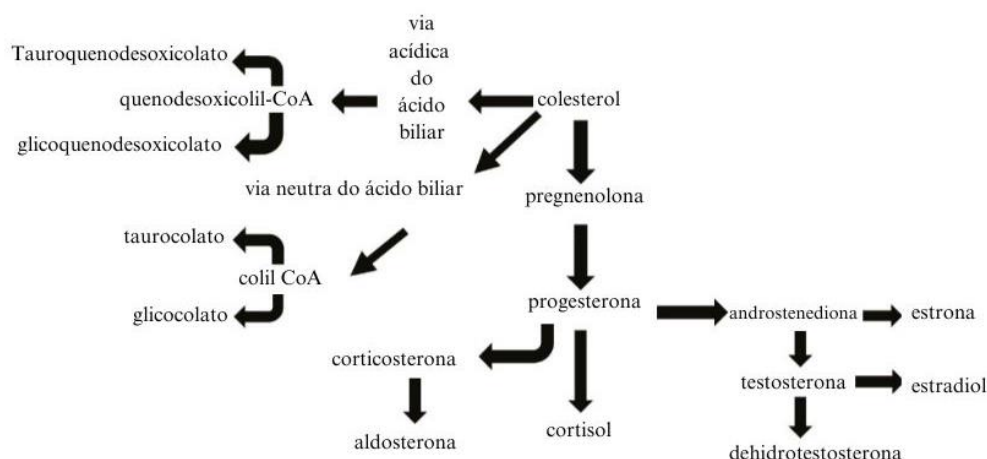
O colesterol afeta as características fisiológicas da membrana, controlando a fluidez desta e regulando a curvatura negativa através da interação com cadeias acilo fosfolipídicas. Essas interações são essenciais para a criação de microdomínios de membrana ordenados por líquido. Outra interação essencial é a formação de ligações de hidrogénio entre o colesterol e a esfingomielina. As interações laterais do colesterol com lípidos relativamente saturados ou espécies lipídicas glicosiladas separam a membrana em duas fases líquidas distintas: i) a fase líquida ordenada é caracterizada pela diminuição da liberdade *trans-gauche* tendo maior ordem do que a fase *bulk*; ii) a fase líquida desordenada é fluida, contendo menos colesterol e principalmente lípidos insaturados. Conjuntos instáveis em nanoescala dentro da membrana, principalmente complexos oligoméricos proteína-colesterol-lípido, associam-se em nanodomínios funcionais maiores, também conhecidos como jangadas de membrana (jangadas planas em estado de repouso), as quais se reúnem em agregados de grande escala micrométrica, denominados plataformas de jangadas, que são necessárias para a compartimentação e organização membranar (Hryniewicz-Jankowska *et al.*, 2019).

As interações proteína-lípido também desempenham papéis importantes na regulação das jangadas. Estas proteínas estão associadas a jangadas de membrana, provavelmente através da interação com o colesterol ou por processos de oligomerização. Incluem várias proteínas palmitoiladas, duplamente aciladas e transmembranares que se dividem nos domínios de jangadas lipídicas da membrana. Outros componentes das jangadas de membrana incluem proteínas ancoradas em glicosilfosfatidilinositol e proteínas das vias de transdução de sinal, como tirosina quinases da família src, subunidades  $\alpha$  de proteínas G heterotriméricas, óxido nítrico sintase endotelial e proteínas *hedgehog* (Hh). Muitas destas proteínas da via de transdução de sinal são modificadas através de palmitoilação e miristoilação ou com o colesterol, o que se pensa aumentar a afinidade destas proteínas

aos domínios de jangadas, sendo responsáveis pelas propriedades de ligação ao colesterol de algumas das proteínas que reconhecem esfingolípido ou glicolípido específicos, como o gangliosídeo, essencial para a diferenciação celular, desenvolvimento e funcionamento do sistema nervoso (Hryniewicz-Jankowska *et al.*, 2019).

O colesterol é particularmente importante na integridade da mielina. A bainha de mielina é uma estrutura formada por uma membrana rica em colesterol e glicofosfolípido que se estende da membrana plasmática dos oligodendrócitos. As membranas de mielina envolvem e isolam os axónios neuronais para facilitar a rápida condução do impulso. O colesterol é necessário para a sinaptogénese, plasticidade sináptica, induz o desenvolvimento sináptico, aumenta a diferenciação pré-sinapse, aumenta as moléculas associadas à sinapse e estabiliza a transmissão sináptica. Além disso, o metabolismo neuronal do colesterol é responsável pelo aumento do crescimento dendrítico. Portanto, defeitos no metabolismo do colesterol estão ligados a características neurológicas anormais e podem interromper a neurotransmissão, a qual é importante para manter a função do sistema nervoso central (SNC) e periférico. Como a importação de colesterol para o SNC é muito limitada, a mielinização do desenvolvimento é impulsionada pela síntese local, predominantemente em oligodendrócitos (Berghoff *et al.*, 2022; Cheon, 2023).

Como referido, o colesterol desempenha um papel integral em várias funções corporais, incluindo não só a manutenção de processos de membrana celular, mas também na imunidade, sinalização e regulação de vias, e atua como um precursor para a síntese de hormonas esteroídes, vitamina D, ácidos biliares e oxisteróis (figura 1). Foi demonstrado que tem um papel fundamental na modificação de proteínas sinalizadores *sonic* Hh (SHh), neurodesenvolvimento, mielinização e crescimento cerebral (Donoghue *et al.*, 2018; Hofmaenner *et al.*, 2022).



**Figura 1.** Derivados de ácidos biliares, glucocorticoides e hormonas sintetizados a partir do colesterol (adaptado de Donoghue *et al.*, 2018).

O colesterol também desempenha um papel essencial no desenvolvimento embrionário, pois está envolvido na sinalização SHh, como mencionado anteriormente. A sinalização SHh é uma das vias de transdução de sinal que desempenha um papel instrucional durante o desenvolvimento embrionário, biologia de células-tronco e homeostase tecidual. A desregulação da sinalização SHh resulta em defeitos de desenvolvimento, como holoprosencefalia, microencefalia, ciclopia, síndromes congénitas e outras malformações de desenvolvimento. Defeitos na biossíntese do colesterol afetam significativamente a atividade dos componentes de SHh, levando à atenuação da sinalização, dado que aquela molécula desempenha um papel crítico na geração e transdução de sinais de SHh da superfície celular para o espaço intracelular (Kaushal *et al.*, 2022).

O colesterol é igualmente importante nas mulheres grávidas, nomeadamente para a formação da membrana placentária e para o crescimento da placenta. A placenta humana precisa de mais de 1 g de colesterol para o crescimento do tecido e produz aproximadamente 400 mg/dia de hormonas sexuais a partir do colesterol (Chatuphonprasert *et al.*, 2018; Armistead *et al.*, 2020).

Nos humanos, a síntese de colesterol ocorre por etapas bioquímicas catalisadas por enzimas. Erros inatos na via biossintética do colesterol, devido a mutações nas enzimas envolvidas na via metabólica, poderá levar à acumulação de precursores do colesterol, resultando em fenótipos letais. Entre os erros inatos do metabolismo, os distúrbios do

metabolismo do colesterol associam-se a malformações congénitas (Blassberg *et al.*, 2016; Chattopadhyay *et al.*, 2023).

Erros inatos do metabolismo são um grupo de distúrbios congénitos devido a um defeito genético que leva ao desarranjo metabólico numa via bioquímica, por um defeito enzimático, cofator ou proteína de transporte, e resultam no acúmulo de substratos tóxicos ou na deficiência de metabólitos essenciais. Os distúrbios mais prevalentes (por ordem decrescente) incluem distúrbios de aminoácidos, armazenamento lisossomal, ácidos orgânicos, mitocondriais, ácidos gordos, metabolismo de carboidratos, peroxissomais e ciclo da ureia. Mesmo que individualmente raros, são numerosos coletivamente, com uma incidência global estimada de 1 em 4 000 recém-nascidos. O diagnóstico imediato é importante para orientar medidas terapêuticas e reduzir ou prevenir morbidade e morte (Escriba *et al.*, 2021; Falsaperla *et al.*, 2021; Driesen *et al.*, 2022; Lai *et al.*, 2022).

Estão descritos dez distúrbios devidos a defeitos enzimáticos na biossíntese de colesterol. Os pacientes com essas doenças metabólicas apresentam diferentes malformações, tais como características dismórficas (Jezela-Stanek *et al.*, 2020). Vários autores relataram uma relação quantitativa entre concentrações baixas de colesterol plasmático, altos níveis de 7-deidrocolesterol (7-DHC) e 8-deidrocolesterol (8-DHC) e a gravidade de manifestações clínicas e longevidade nestes pacientes. Assumiu-se que as malformações encontradas podem resultar de diminuição do colesterol, aumento de 7-DHC ou uma combinação desses dois fatores. No entanto, outros fatores podem estar envolvidos na gravidade das manifestações clínicas (Dang Do *et al.*, 2018; Begic *et al.*, 2021; Koczok *et al.*, 2021).

A Síndrome de Smith-Lemli-Opitz (SLOS) é uma anomalia múltipla congénita causada por uma anormalidade no metabolismo do colesterol (Temple *et al.*, 2020); é causada por mutações no gene 7-deidrocolesterol redutase (*DHCR7*) que leva à deficiência da atividade da enzima 7-deidrocolesterol redutase (7-DHCR). Representa um distúrbio metabólico autossómico recessivo caracterizado por malformações congénitas variadas, dismorfismo facial e atraso mental (Begic *et al.*, 2021). Foram mencionadas 207 mutações na codificação do gene *DHCR7*. A prevalência da SLOS é de aproximadamente 1/20 000 a 1/60 000, com uma frequência geral de portadores de 1,4 %, mais alta em judeus Ashkenazi (1 em 43) e europeus do norte (1 em 54). Foram também relatados

casos de morte pré-natal com esta anomalia múltipla congénita (Temple *et al.*, 2020; Koczok *et al.*, 2021; Chattopadhyay *et al.*, 2023).

### 1.1 Motivação

As hipocolesterolemias, contrariamente às hipercolesterolemias, constituem um grupo heterogéneo de patologias ainda pouco conhecido associado a uma elevada morbilidade, sendo necessário aprofundar o seu estudo e permitir um diagnóstico mais rápido para melhorar a qualidade de vida destes doentes.

### 1.2 Objetivos

Esta dissertação tem como objetivo aprofundar o estudo das hipocolesterolemias, tendo como foco principal a síndrome de Smith-Lemli-Opitz, para que o respetivo diagnóstico e tratamento possam ser melhorados.

### 1.3 Metodologia

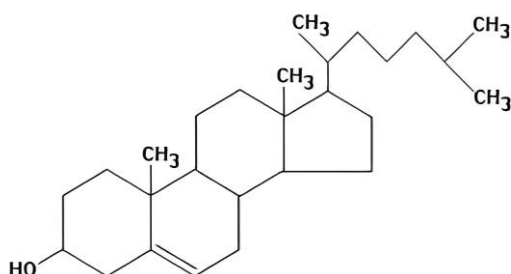
Trata-se de um estudo qualitativo de revisão narrativa, apropriado à atualização do conhecimento sobre a temática proposta. Procedeu-se à revisão da literatura, mediante o levantamento de artigos nas bases de dados PubMed, Science Direct, B-ON e Google Académico considerando o período de 2018 a 2024. Os termos de indexação utilizados foram “Síntese de colesterol”, “Erro inato”, “Hipocolesterolemias”, “Défice enzimático” e “Síndrome de Smith-Lemli-Opitz” e os seus equivalentes em língua inglesa. Os critérios utilizados para inclusão foram: (a) presença dos descritores utilizados no título ou no resumo; (b) artigos publicados em língua portuguesa ou inglesa. Os critérios de exclusão foram: (a) duplicidade de artigos; (b) artigos que não atendiam ao tema proposto; (c) artigos com textos não disponibilizados na íntegra; (d) dissertações e teses. Posteriormente, realizou-se uma apreciação crítica do conteúdo dos artigos. Para analisar a produção científica identificada, não se utilizaram técnicas qualitativas e/ou quantitativas específicas de tratamento de dados, tendo sido feita a análise de conteúdo de cada um dos textos individualmente. Assim sendo, realizou-se a revisão da literatura recorrendo a 87 artigos.

Além disso, outras 8 referências bibliográficas foram incluídas na fundamentação teórica, sendo necessárias aos conceitos primordiais do tema. Dada a sua importância, foi utilizada outra referência bibliográfica proveniente do site da fundação de Smith-Lemli-

Opitz. Desta forma, totalizaram-se 96 referências bibliográficas aquando da redação deste trabalho de dissertação.

## II. Colesterol

O colesterol (colest-5-en-3-ol) é um composto químico pertencente à classe dos lípidos específicos denominados esteroides (Jezela-Stanek *et al.*, 2020). A característica estrutural do colesterol consiste em quatro anéis hidrofóbicos aromáticos ligados, conhecido como núcleo esteroide, um grupo hidroxilo hidrofílico e uma cadeia hidrofóbica lateral (figura 2) (Soliman, 2018; Hofmaenner *et al.*, 2022).



**Figura 2.** Colesterol (C<sub>27</sub>H<sub>46</sub>O), (adaptado de Jezela-Stanek *et al.*, 2020).

O colesterol é o esteroide mais importante nos mamíferos, dado que é necessário para todas as membranas celulares. Os genes envolvidos na biossíntese do colesterol, vias reguladoras, transporte e recetores estão presentes em todos os tipos de células. A homeostase do colesterol é regulada principalmente pelo fígado, sendo libertado em lipoproteínas para transporte através de um processo estritamente regulado. As lipoproteínas são partículas complexas contendo uma única camada lipídica, dispostas de modo que a camada externa contenha a membrana hidrofílica, com um núcleo interno hidrofóbico. A superfície externa contém apolipoproteínas, outras proteínas, fosfolípidos e colesterol que podem interagir com as membranas celulares, incluindo as células endoteliais cerebrais. Essas partículas são a principal via de distribuição de lípidos por todo o corpo. Os níveis sanguíneos de colesterol são determinados pela ingestão de colesterol dietético e pelo colesterol sintetizado de novo a partir da acetil coenzima A (acetil-CoA) (Aguilar-Ballester *et al.*, 2020; Rhea *et al.*, 2021).

O fígado é o principal local de síntese do colesterol. As glândulas adrenais, intestino e órgãos reprodutivos sintetizam quantidades menores. Como os tecidos podem sintetizar colesterol suficiente para as suas várias funções biológicas, o colesterol da ingestão de alimentos não é significativo para a manutenção da homeostase (Abe *et al.*, 2022).

Durante o desenvolvimento, o feto requer uma quantidade significativa de colesterol para o crescimento normal. Consequentemente, a síntese de colesterol interrompida causa várias doenças congênitas. Distúrbios da síntese de colesterol surgiram como erros inatos comuns do metabolismo devido à sua forte associação com a dismorfogénese fetal. Comum a todas essas condições é a deficiência de colesterol e o acúmulo de esteróides precursores determinados pela enzima afetada nas vias biossintéticas (Chattopadhyay *et al.*, 2023).

O feto adquire colesterol principalmente da síntese de novo, com uma segunda fonte de colesterol derivada da circulação materna. Durante a gravidez, um aumento no colesterol materno, que é frequentemente denominado hipercolesterolemia fisiológica materna, é uma adaptação fisiológica normal para garantir o desenvolvimento fetal adequado. Ocorrem múltiplas alterações fisiológicas que contribuem para as alterações no perfil lipídico de mulheres saudáveis em gestação. Inicialmente, há uma fase anabólica com aumento na síntese lipídica e armazenamento de gordura, em preparação para o aumento das necessidades energéticas fetais no final da gravidez. Durante o terceiro trimestre, a fisiologia lipídica transita para uma fase catabólica líquida com quebra dos depósitos de gordura. O catabolismo aumenta os substratos para o feto em crescimento. As mudanças na fisiologia lipídica ao longo da gravidez permitem nutrientes adequados para o feto e refletem o aumento da resistência à insulina na mãe. Geralmente, numa gravidez normal, os níveis de colesterol total aumentam aproximadamente 50 %, a LDL (lipoproteína de baixa densidade) em 30-40 %, a HDL (lipoproteína de alta densidade) em 25 % e os triglicéridos (TG) em 2 a 3 vezes (Alston *et al.*, 2022).

A transferência de colesterol materno-fetal ocorre por meio de recetores de lipoproteínas e transportadores de esteróides no endoderma visceral no saco vitelínico, células trofoblásticas na placenta e células endoteliais fetais (Chattopadhyay *et al.*, 2023). A verdadeira barreira física entre as circulações materna e fetal é constituída por uma camada de sincitiotrofoblastos, que são trofoblastos multinucleados. Para que o colesterol de origem materna entre na circulação fetal, este deve ser absorvido pelo lado materno,

ou apical, dos trofoblastos sob a forma de lipoproteínas. Os receptores de lipoproteínas expressos na placenta ou nos trofoblastos (ou ambos) incluem os receptores de LDL, VLDL (lipoproteína de densidade muito baixa) e *scavenger* de classe A, a proteína relacionada ao recetor de LDL, o recetor 2 da apolipoproteína (apo) E, a megalina, a cubilina, e o recetor *scavenger* classe B tipo I (SR-BI). Os receptores apo B,E, os que captam as VLDL e LDL, estão localizados em fossas revestidas de clatrina. Como tal, as partículas são direcionadas para os lisossomas onde os ésteres de colesterol são hidrolisados. O SR-BI absorve seletivamente ésteres de colesterol, principalmente de HDL, que são hidrolisados por colesterol esterases neutras ou ácidas. A cubilina, que também capta a HDL, atua em conjunto com a megalina e, assim, as partículas podem ser direcionadas para os lisossomas. No entanto, alguns ésteres podem ser hidrolisados por outras enzimas celulares. O colesterol de origem materna fica então disponível para outros processos metabólicos, incluindo efluxo ou secreção (Woollett, 2005).

O baixo nível de colesterol materno, bem como a síntese defeituosa do colesterol fetal de novo, resulta em restrições de crescimento intrauterino. Vários estudos relatam um maior risco de mortalidade fetal associado a concentrações mais baixas de colesterol total (Hofmaenner *et al.*, 2022; Kaushal *et al.*, 2022; Luo *et al.*, 2022; Chattopadhyay *et al.*, 2023).

Como referido anteriormente, o metabolismo do colesterol é crucial para as células, em particular a biossíntese no SNC que ocorre *in situ*. A desregulação envolve alterações morfológicas que causam variações funcionais e desencadeiam apoptose. A patogénese de doenças raras, como a deficiência de mevalonato quinase ou a SLOS, surge devido a defeitos enzimáticos nas vias metabólicas do colesterol, resultando em escassez de produtos a jusante. As manifestações clínicas mais graves dessas doenças aparecem como defeitos neurológicos (Marcuzzi *et al.*, 2018).

O cérebro é o órgão mais rico em colesterol, contendo 25 % do colesterol do corpo, mas apenas um grupo seletivo de células do SNC (astrócitos e oligodendrócitos) pode sintetizar colesterol no cérebro adulto. A síntese de colesterol no cérebro é maior durante o desenvolvimento e a reciclagem eficiente ocorre na idade adulta. A barreira hematoencefálica (BHE) impede que o colesterol entre no SNC vindo do resto do corpo. Muitas funções da BHE, incluindo transportadores, atividade de transcitose e até mesmo a integridade da BHE, são afetadas por TG, apolipoproteínas e colesterol. Alguns lípidos,

como ácidos gordos livres, TG, HDL, e certas apolipoproteínas, como apoJ e apoA-I, podem ser transportados através do recetor SR-BI que auxilia no fluxo de colesterol entre as lipoproteínas, particularmente LDL e HDL, e as membranas celulares na BHE. A apoE e o colesterol na forma livre não podem atravessar esta barreira. Desta forma, a síntese de colesterol no cérebro é a principal fonte de colesterol no SNC (Rhea *et al.*, 2021; Korade *et al.*, 2022).

## 2.1. Colesterol exógeno

Os níveis fisiológicos de colesterol são mutuamente regulados pelas vias endógena e exógena do metabolismo do colesterol; a quantidade de colesterol dietético tem apenas um impacto modesto nos níveis de colesterol circulante na população em geral. No entanto, a quantidade de colesterol ingerido pode ser um fator a considerar no aumento dos níveis de colesterol LDL e oxisterol. O colesterol pode ser oxidado enzimaticamente ou não enzimaticamente por espécies reativas de oxigénio formando os oxisterois. Os oxisterois, ingeridos dos alimentos e sintetizados de novo, representam uma grande família de derivados oxidados do colesterol. Os oxisterois podem exercer funções através de recetores acoplados à proteína G (GPCRs), recetores nucleares e outras vias moleculares, regulando muitos processos, desde a produção de citocinas até à entrada de vírus nas células. Os oxisterois modulam a funcionalidade dos neutrófilos, das células B e das células T, aumentam a imunidade inata e regulam a produção da citocina anti-inflamatória IL-10 com múltiplas ações biológicas, incluindo imunomodulação. Compostos dietéticos como  $\beta$ -glucano, esteróis/estanois vegetais, lípidos  $\omega$ -3, polifenóis e proteínas de soja podem reduzir os níveis de colesterol no sangue, interferindo na absorção e no metabolismo do colesterol (Hofmaenner *et al.*, 2022; Yanagisawa *et al.*, 2022).

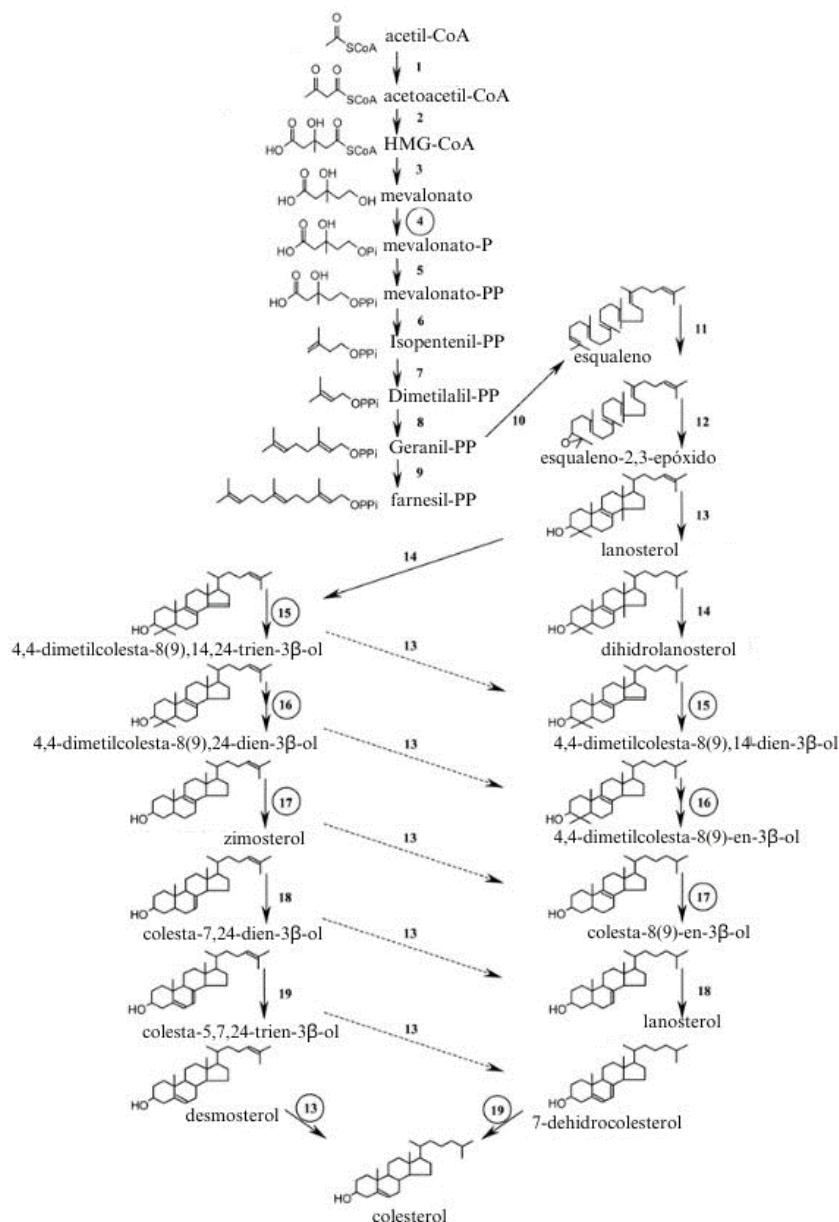
Estima-se que a taxa de absorção intestinal de colesterol varie de aproximadamente 25 % a 85 % na quantidade de ingestão de colesterol na dieta, mas é de aproximadamente 50 %, em média. Embora o colesterol dietético possa ser facilmente distribuído para a maioria dos órgãos, os reservatórios de colesterol diminuem significativamente nas células, devido à utilização celular como constituinte da membrana e intermediário no metabolismo, levando assim à dependência celular da reposição do colesterol para processos vitais, pela biossíntese de novo do colesterol (Piscianz *et al.*, 2019; Gunda *et al.*, 2022).

## 2.2. Biossíntese do colesterol

A biossíntese de esteróis é um mecanismo homeostático; começa durante o início da vida embrionária e continua ao longo da vida (Genaro-Mattos *et al.*, 2021).

A síntese do colesterol é um processo muito complexo de várias etapas que consome muita energia. A síntese de uma molécula de colesterol requer 18 acetil-CoA, 36 ATP, 16 NADPH e 11 moléculas de oxigénio. Envolve muitas enzimas diferentes, algumas das quais são solúveis no citosol e outras estão ligadas à membrana do retículo endoplasmático (ER) (Hofmaenner *et al.*, 2022). A biossíntese pode ser dividida em 3 fases (figura 3):

1. Formação de hidroximetilglutaril-coenzima A (HMG-CoA) a partir de acetil-CoA. A Acetil CoA e acetoacetil-CoA são desidratadas para formar HMG-CoA. (Korade *et al.*, 2022).
2. Conversão de HMG-CoA em esqualeno, sendo a enzima chave a HMG-CoAr (hidroximetilglutaril-coenzima A redutase) (Abe *et al.*, 2022). A HMG-CoAr converte HMG-CoA em farnesil pirofosfato (farnesil-PP) e posteriormente, esqualeno (Garcia-Ruiz *et al.*, 2021).
3. Conversão do esqualeno em colesterol. Uma série de reações enzimáticas converte sequencialmente o esqualeno, a esqualeno-2,3-epóxido, a lanosterol e, finalmente, colesterol. Envolve duas vias distintas, as vias Block e Kandutsch-Russell, as quais usam desmosterol e 7-DHC como precursores imediatos do colesterol (Koczok *et al.*, 2019; Bai *et al.*, 2022). A 7-DHCR catalisa a etapa final da biossíntese do colesterol na via de Kandutsch-Russel através da redução da dupla ligação C7-C8 do 7-DHC para produzir colesterol (Tuckey *et al.*, 2021). O desmosterol é convertido em colesterol na etapa subsequente da via de Bloch pela enzima 24-dehidrocolesterol redutase (DHCR24) (Waterham *et al.*, 2000; Temple *et al.*, 2020; Kanuri *et al.*, 2021).



**Figura 3.** Biossíntese do colesterol (adaptado de Waterham *et al* , 2000).

1. Acetil-CoA acetiltransferase;
2. HMG-CoA sintetase;
3. HMG-CoA redutase;
4. Mevalonato quinase;
5. Mevalonato-P quinase;
6. Mevalonato-PP descarboxilase;
7. Isopentenil-PP isomerase;
8. Geranyl-PP sintetase;
9. Farnesil-PP sintetase;
10. Esqualeno sintetase;
11. Esqualeno epoxidase;
12. 2,3-Oxidoesqualeno esterol ciclase;
13. DHCR24;
14. Complexo da lanosterol 14  $\alpha$ -desmetilase
15. 3 $\beta$ -hidroxiesterol- $\Delta^{14}$ -redutase
16. Complexo da esterol C4-desmetilase;
17. Esterol  $\Delta^8$ - $\Delta^7$  isomerase;
18. 3 $\beta$ -hidroxiesterol  $\Delta^5$ -desaturase;
19. 7-DHCR.

### 2.3. Absorção do colesterol

Embora o colesterol seja absorvido e sintetizado no corpo para suprir as células, o excesso de colesterol endógeno é eliminado da circulação através do intestino; é excretado nas fezes como ácidos biliares ou na forma original, não apenas para equilibrar a abundância total de colesterol, mas também para a renovação fisiológica do colesterol (Nakano *et al.*, 2019).

A absorção de colesterol do intestino delgado proximal para o fígado é geneticamente regulada e intimamente associada à biossíntese hepática de colesterol, à eliminação de colesterol nas fezes, à síntese de ácidos biliares e ao metabolismo da ApoB100 (Simonen *et al.*, 2023). Além da dieta, a bile e as células epiteliais eliminadas da parede intestinal também fornecem colesterol no lúmen intestinal. O colesterol é solubilizado em micelas lipídicas no lúmen, penetrando de seguida, e na forma difusa, na parede intestinal e atingindo a membrana da borda em escova (BBM), o reservatório primário de colesterol no intestino (Abdel-Khalik *et al.*, 2021). O colesterol entra nos enterócitos através do transportador NPC1L1, sendo endocitados, e re-exportados para o lúmen intestinal pelos transportadores ABC-G5/G8 que efluem colesterol usando energia da hidrólise de ATP para manter a quantidade necessária deste esterol. Posteriormente, o colesterol na BBM move-se para os compartimentos de reciclagem endocítica através do tráfego vesicular mediado por NPC1L1, depois para o complexo de Golgi, e é incorporado em quilomicrons para ser secretado na circulação. A descamação de células epiteliais e efluxo não mediado por transportadores também medeiam a transição do colesterol da mucosa para o lúmen. A funcionalidade destes transportadores desempenha um papel crucial nos fluxos líquidos de colesterol da mucosa e o fluxo linfático determina a quantidade de colesterol que passa do reservatório para a circulação (Nakano *et al.*, 2019; Simonen *et al.*, 2023).

### 2.4. Transporte do colesterol

Para permitir o transporte no plasma, o colesterol deve estar incorporado em lipoproteínas ou ligado à albumina. As lipoproteínas são categorizadas em quilomicrons, quilomicrons remanescentes, lipoproteínas VLDL, LDL e HDL por densidade, tamanho e tipos de proteínas formadoras de partículas e outras proteínas associadas (Hofmaenner *et al.*, 2022). As partículas de LDL transportam o colesterol para os tecidos periféricos. A HDL é responsável pelo transporte reverso de colesterol (RCT) dos tecidos periféricos para o

fígado, para a síntese de ácidos biliares e para a síntese de esteróis ou para a eliminação do anel de colesterol através da bile (Yanez *et al.*, 2022).

O colesterol exógeno, os lípidos e os TG são reunidos no intestino em quilomicrons que são transportados para o fígado. Neste órgão, o colesterol, os TG endógenos e dietéticos e outros lípidos são reunidos em lipoproteínas contendo ApoB e transportados para os tecidos periféricos através da circulação (Abe *et al.*, 2022).

O colesterol hepático sintetizado de novo é incorporado no complexo de Golgi em partículas de VLDL, que são lipoproteínas ricas em TG e pobres em éster de colesterol, com uma única molécula de ApoB100 na sua superfície e são secretadas na circulação para ser distribuído entre os outros tecidos (Aguilar-Ballester *et al.*, 2020).

A HDL foi identificada como um elemento-chave no RCT, ou seja, a transferência do colesterol dos tecidos periféricos, incluindo a parede arterial, para o fígado para eliminação. Como recetor e transportador de colesterol, a HDL facilita o efluxo de colesterol dos tecidos periféricos, extra-hepáticos e arteriais, incluindo macrófagos derivados de monócitos carregados de colesterol e células espumosas, de volta ao fígado para proteger as células da toxicidade induzida do colesterol livre e oxisterol (Abe *et al.*, 2022). As partículas de HDL nascentes são sintetizadas pelo intestino e pelo fígado e utilizam a apoA-I como principal constituinte da lipoproteína. A apoA-I medeia a interação das partículas discoidais de HDL com o transportador de cassete de ligação de ATP A1 (ABCA1), que aumenta o efluxo de colesterol das células extra-hepáticas. O colesterol pode ser transferido da HDL na circulação para a LDL, pela proteína de transferência de éster de colesterol. A HDL é captada pelos hepatócitos por meio do SR-B1 (Malhotra *et al.*, 2020).

Ao contrário dos adultos, a HDL é a principal lipoproteína transportadora de colesterol na circulação fetal. Para que o colesterol exógeno esteja disponível para uso fetal, deve ser transportado através dos tecidos que separam a mãe e o feto. No início da gravidez, o saco vitelino é o local do sistema de transporte entre os dois. Aproximando-se das 8 semanas de gestação, a placenta torna-se totalmente funcional e assume o papel de transportador de nutrientes. Como mencionado anteriormente, o colesterol é captado no lado apical ou materno dos trofoblastos por meio de processos de transporte mediados e independentes de recetor. Os lípidos da apolipoproteína são então transportados através

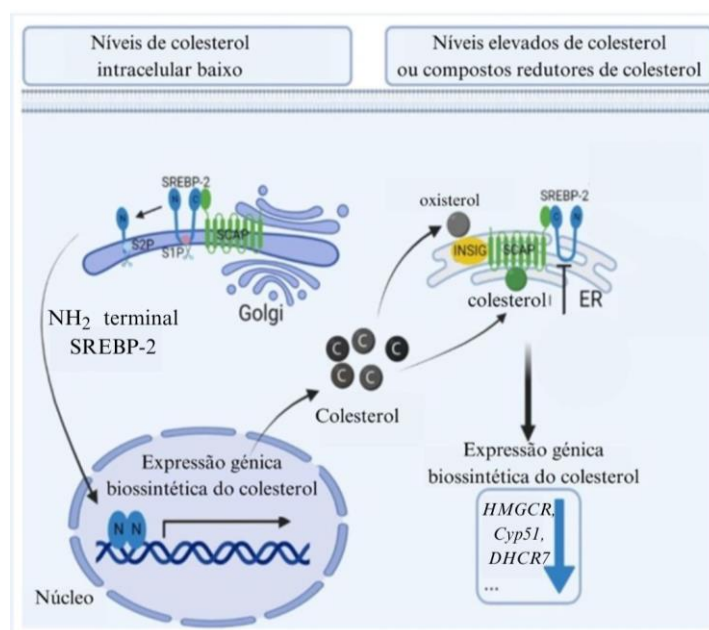
das barreiras celulares e entregues à circulação fetal no lado basolateral ou fetal dos trofoblastos. O SR-BI é predominantemente expresso no lado apical das células endoteliais da placenta *in situ*, permitindo a interação com a HDL madura circulando no sangue fetal (Strahlhofer-Augsten *et al.*, 2022).

## 2.5. Homeostase do colesterol

A homeostase do colesterol é determinada pela interação entre vários processos complexos, incluindo a absorção intestinal e biliar do colesterol e a síntese endógena do mesmo (Schroor *et al.*, 2021).

O fator inibitório 1 (IF1) é uma proteína mitocondrial endógena bem conhecida que funciona como uma proteína reguladora, inibindo a atividade da hidrolase da ATP sintase mitocondrial. Nos últimos anos, foi relatado que o IF1 está presente no lado externo da membrana plasmática de muitas linhagens celulares, desempenhando vários papéis. Entre eles, foi relatado que o IF1 extracelular bloqueia a endocitose da HDL (Delvecchio *et al.*, 2020). Outras proteínas estão envolvidas na regulação do colesterol, a SREBP-2 (proteína de ligação ao elemento regulador de esterol tipo 2) liga-se a outras duas proteínas: SCAP (proteína ativadora da clivagem) e INSIG (proteína induzida por insulina). Quando os níveis de colesterol descem, a proteína INSIG dissocia-se do complexo SCAP-SREBP-2, permitindo que este complexo migre para o aparelho de Golgi, onde a SREBP-2 é clivada pelas proteases S1P e S2P, para libertar o fragmento NH<sub>2</sub>-terminal de SREBP-2 (nSREBP-2). O nSREBP-2 é transportado para o núcleo e liga-se aos elementos reguladores de esteróis na região promotora, os quais induzem a expressão gênica da biossintética do colesterol relacionados à via do mevalonato, como HMG-CoA e outras enzimas-chave, aumentando os níveis de colesterol (Aguilar-Ballester *et al.*, 2020) (Figura 4). Em níveis baixos de colesterol, a ligação INSIG-SCAP é interrompida, permitindo que a SREBP-2 seja transportada do ER para o aparelho de Golgi pela SCAP. No Golgi, a SREBP-2 é clivada, processada e enviada ao núcleo, onde ativa genes relacionados à biossíntese do colesterol (*HMGCR*, *Cyp51*, *DHCR7*, entre outros) levando ao aumento da HMG-CoA, bem como da captação de colesterol pelo recetor de lipoproteína de baixa densidade (LDLr). O aumento resultante no colesterol inibe novamente o transporte para o complexo de Golgi de SCAP-SREBP-2, resultando na inibição da ativação de SREBP-2 (Abe *et al.*, 2022) (Figura 4).

Quando os níveis de colesterol intracelular são elevados, a ligação do colesterol à SCAP altera a sua estrutura e a SCAP forma um complexo com a INSIG e bloqueia a exportação de proteínas de ligação a elementos reguladores de esteróis. Desta forma, faz com que o complexo SCAP-SREBP-2 seja uma forma inativa na membrana do ER. Os oxisteróis ligam-se à INSIG e formam o complexo SREBP-2-SCAP-INSIG que impede a clivagem da SREBP-2 e promove a degradação de HMG-CoA (Abe *et al.*, 2022; Yanagisawa *et al.*, 2022) (figura 4).



**Figura 4.** Papel da proteína de ligação ao elemento regulador de esteróis (SREBP-2)/proteína ativadora de clivagem de (SCAP-SREBP-2) na regulação de colesterol (adaptado de Yanagisawa *et al.*, 2022).

A expressão de genes responsáveis pelo transporte e metabolismo do colesterol é rigidamente regulada por ações coordenadas de fatores de transcrição. O conteúdo celular em colesterol é controlado pelo sistema SCAP-SREBP-2. A diminuição do nível de colesterol celular ativa o fator de transcrição ligado à membrana do ER, o esteroide regulador da proteína SREBP-2, a qual que induz a expressão da HMGCoAr e do LDLr. Por outro lado, o aumento do colesterol celular eleva os níveis dos oxisteróis intermediários do colesterol oxigenado que acionam fatores de transcrição dos recetores X do fígado (LXR<sub>s</sub>). Estes recetores pertencem à família de recetores nucleares que formam heterodímeros com o recetor X e estimulam a expressão de genes alvo. São sensores de colesterol que atuam por diversos mecanismos, nomeadamente: 1) inibindo a

absorção intestinal de colesterol; 2) estimulando o efluxo de colesterol das células para as lipoproteínas HDL através de transportadores de cassete de ligação de ATP A1 e G1; 3) ativando a conversão de colesterol em ácidos biliares no fígado e 4) ativando o efluxo do colesterol biliar pela excreção de ácidos biliares. Desta forma, estimulam as vias de efluxo de colesterol e promovem a eliminação do colesterol do fígado (Malhotra *et al.*, 2020).

## 2.6. Erros inatos da biossíntese do colesterol

A ausência completa da biossíntese do colesterol é incompatível com a vida. Mutações na via pós-esqualeno podem ser viáveis se a síntese parcial do colesterol for preservada, mas resultam em distúrbios intelectuais e de desenvolvimento graves (Genaro-Mattos *et al.*, 2021).

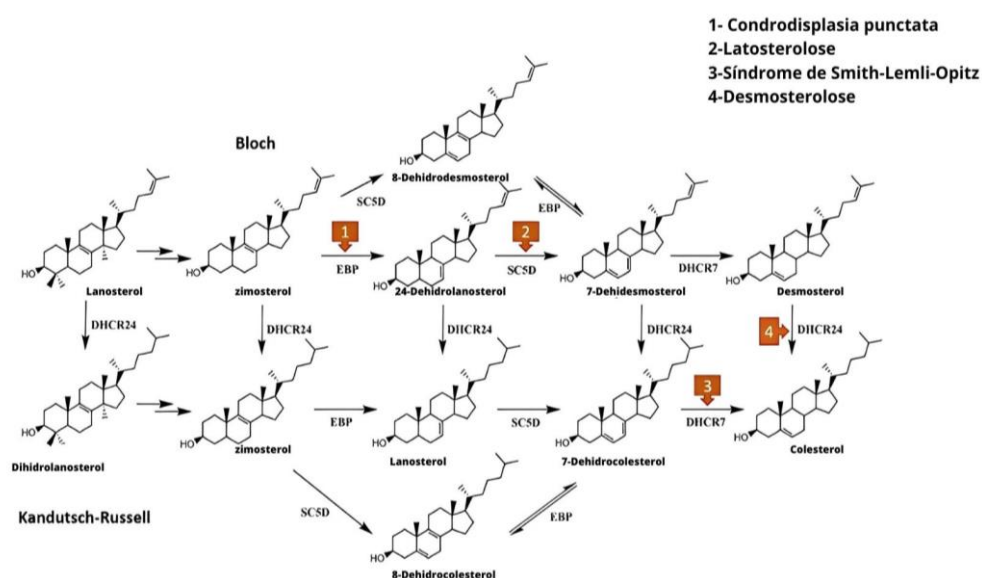
Na via biossintética do colesterol, os dois precursores imediatos do colesterol são o desmosterol e o 7-DHC. Uma incapacidade de converter esses precursores em colesterol resulta em dois distúrbios distintos, mas relacionados: desmosterolose e SLOS, respetivamente (Allen *et al.*, 2019; Aguilar-Ballester *et al.*, 2020).

No metabolismo sintético do colesterol cerebral, a DHCR24 é conhecida como a enzima chave na síntese do colesterol. Além disso, mutações no gene *DHCR24* resultam na inibição da atividade enzimática da DHCR24, causando deficiência de colesterol no cérebro e acúmulo de desmosterol (Bai *et al.*, 2022). Embora as enzimas DHCR24 e 7-DHCR catalisem a síntese de colesterol, os seus substratos, desmosterol e 7-DHC, respetivamente, têm propriedades e funções muito distintas (Gerrick *et al.*, 2018). Na via pós-lanosterol da síntese de colesterol, a etapa final na via Bloch ou a primeira etapa na via Kandutsch-Russell é catalisada pela enzima DHCR24. Além disso, como uma ponte de ligação entre as duas vias, a DHCR24 pode teoricamente atuar em qualquer intermediário do lanosterol ao desmosterol para transferir intermediários da via Bloch para a via Kandutsch-Russell. É importante referir que a DHCR24 também pode controlar sinergicamente a atividade da 7-DHCR, uma enzima chave final na via Kandutsch-Russell, que garantiria o controle coordenado da síntese do colesterol (Bai *et al.*, 2022).

Quando o gene *DHCR24* é eliminado, a atividade do *DHCR7* também é eliminada. Por outro lado, a superexpressão de *DHCR24* aumenta a atividade do gene *DHCR7*. Portanto,

a atividade do *DHCR7* é controlada pelo *DHCR24*, e este gene controla a síntese do colesterol na via pós-lanosterol (Genaro-Mattos *et al.*, 2018; Bai *et al.*, 2022).

A última fase pós-esqualeno da biossíntese do colesterol, começando com o lanosterol, é dividida nos ramos de Bloch e Kandutsch-Russell, como já referido. Mutações nos genes que codificam as enzimas da biossíntese pós-lanosterol resultam na SLOS (mutações em *DHCR7*), desmosterolose (mutações em *DHCR24*), condrodisplasia punctata (mutações em *EBP*) e latosterolose (mutações em *SC5D*). Todas essas síndromes afetam o desenvolvimento cerebral e craniofacial e levam a deficiências intelectuais e físicas (figura 5) (Korade *et al.*, 2022). Outras doenças genéticas também foram descritas como afetando a parte distal da via metabólica da biossíntese do colesterol. São elas: deficiência de proteína de ligação a emopamil (distúrbio masculino com defeitos neurológicos), hemidislplasia congênita com eritrodermia ictiosiforme e anomalias dos membros, deficiência de C4-metil-esterol oxidase, síndrome de creatinoquinase, displasia esquelética tipo Greenberg, síndrome de Antley-Bixler (hiperplasia suprarrenal congênita por deficiência de citocromo P450 oxidorreductase) (Jezela-Stanek *et al.*, 2020).



**Figura 5.** Erros inatos da biossíntese de colesterol pós-lanosterol (adaptado de Korade *et al.*, 2022). As enzimas participam em vários processos de conversão, mas, para simplificar, as setas indicam apenas as principais etapas.

### III. Hipocolesterolemias

A hipocolesterolemia é definida como níveis plasmáticos de colesterol total (CT) e de LDL abaixo do quinto percentil da população em geral, ajustado para idade, sexo e raça. Concentrações de CT abaixo de 160 mg/dl são classificados como hipocolesterolemia (Moutzouri *et al.*, 2011; Dewangan *et al.*, 2019; Liu *et al.*, 2020).

A hipocolesterolemia pode ser atribuída a distúrbios hereditários ou a várias causas secundárias, podendo ser observado em doenças crônicas e neoplasias. Vários perfis de dislipidemia têm sido demonstrados em neoplasias hematológicas adultas e pediátricas, na anemia, hipertiroidismo e nas insuficiências adrenal e hepática (Ozturk, 2021). Os níveis de CT demonstraram ser substancialmente reduzidos em várias condições patológicas, incluindo também infecções e queimaduras (Lee *et al.*, 2018; Nowak *et al.*, 2019).

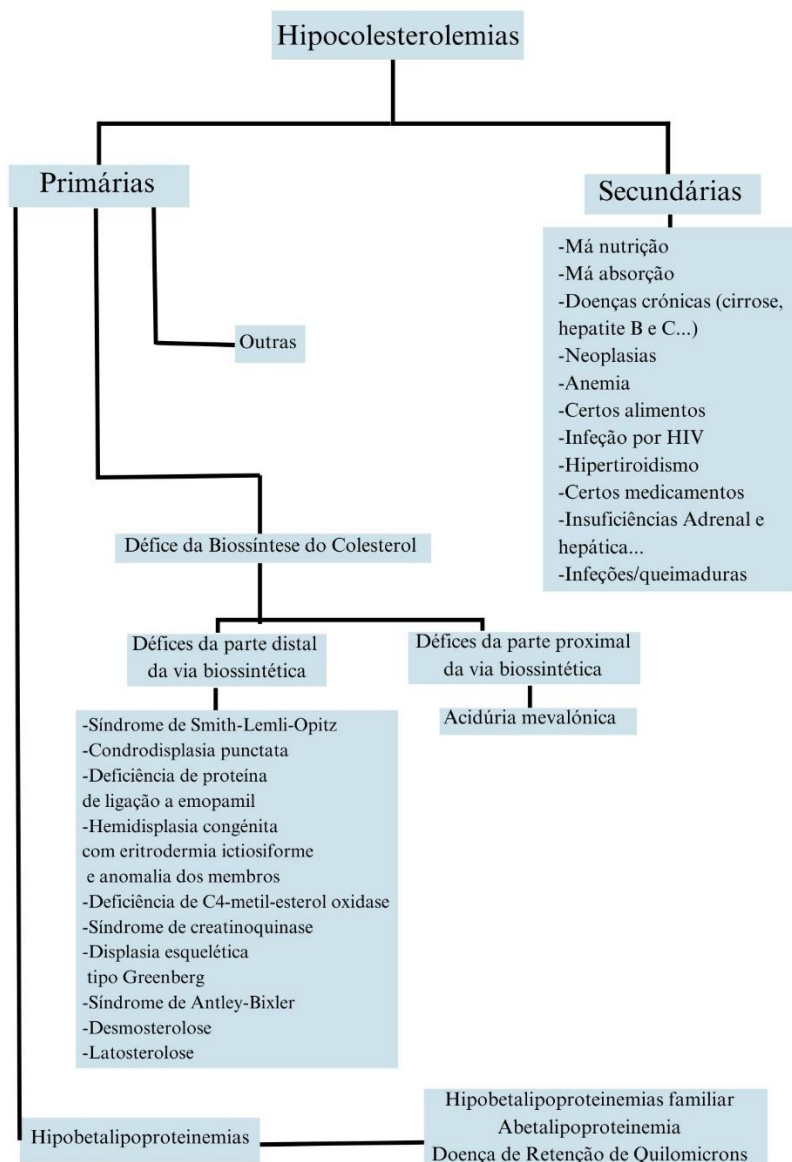
Embora a hipocolesterolemia seja considerada como um biomarcador de desnutrição, sabe-se que os níveis plasmáticos de colesterol diminuem após cirurgia, trauma e hemorragia aguda, bem como durante a sepsis e disfunção hepática. Estudos relataram que a hipocolesterolemia persistente crítica (<50 – 60 mg/dl) está associada a doença grave, sepsis e complicações no pós-operatório (Lee *et al.*, 2018; Jiang *et al.*, 2020; Lubert *et al.*, 2021; Strahlhofer-Augsten *et al.*, 2022).

A hipocolesterolemia é igualmente um marcador de doença hepática, como a cirrose ou a hepatite B e C (Lubert *et al.*, 2021). Sabe-se que a hepatite C possui uma relação mútua com o metabolismo de lípidos e de lipoproteínas do hospedeiro. O vírus da hepatite C circula como uma partícula rica em lípidos, utilizando recetores celulares de lipoproteínas para entrar no hepatócito. Nestas células, influencia três mecanismos no metabolismo lipídico: regula positivamente a biossíntese lipídica, prejudica a  $\beta$ -oxidação mitocondrial e, portanto, a degradação lipídica e reduz a exportação do colesterol, principalmente de LDL, resultando num acúmulo lipídico intracelular significativo, hipocolesterolemia circulante e hipolipoproteinemia (Shengir *et al.*, 2021).

A disfunção da tiroide também afeta o metabolismo lipídico, e a tireotoxicose pode estar associada a níveis baixos de lípidos. O hipertiroidismo é reconhecido como uma causa significativa de hipocolesterolemia adquirida (Shyamali *et al.*, 2020).

Em condições patológicas, as células respondem preferencialmente às suas altas necessidades de colesterol, aumentando a síntese endógena desta biomolécula através da regulação positiva da HMG-CoAr. Além disso, e de acordo com estudos epidemiológicos, o baixo colesterol sérico está associado a uma maior incidência de mortalidade. Esta teoria pode ser explicada pela relação entre o sistema imunológico e o metabolismo do colesterol: de facto, o baixo nível de CT sérico está associado ao comprometimento do sistema imunológico (Shin *et al.*, 2021).

Formas hereditárias de hipocolesterolemia constituem um grupo de doenças raras. As mais bem estudadas são a hipobetalipoproteinemia familiar (FHBL) e a abetalipoproteinemia (ABL) (Moutzouri *et al.*, 2011). A FHBL é a forma monogénica mais comum de hipobetalipoproteinemia primária. É um distúrbio genético codominante que afeta o metabolismo das lipoproteínas, caracterizado por níveis plasmáticos reduzidos de CT, LDL e de ApoB. A gravidade da redução depende do gene envolvido, da mutação e do modo de herança dessa doença (Ayoub *et al.*, 2021). A FHBL homozigótica, a ABL e a doença de retenção de quilomicrons apresentam condições genéticas raras que se manifestam no início da vida e causam complicações graves sem tratamento adequado. A ausência ou baixos níveis de lípidos plasmáticos, em particular de colesterol e de TG, juntamente com má absorção de gordura e de vitaminas lipossolúveis são características dessas doenças (Bredefeld *et al.*, 2022) (figura 6).



**Figura 6.** Hipocolesterolemias primárias e secundárias.

## IV. Síndrome de Smith-Lemli-Opitz

### 4.1. Contextualização histórica

A SLOS foi a primeira síndrome, descrita em 1964, atribuída a um erro inato da síntese de esteróis com malformações múltiplas (Jezela-Stanek *et al.*, 2020). Mais tarde, em 1993, baixos níveis de colesterol e altos níveis de 7-DHC foram encontrados em pacientes com SLOS, indicando uma possível deficiência de 7-DHCR. Nos anos seguintes, foram identificadas mutações no gene que codifica a enzima 7-DHCR na última etapa da via Kandutsch-Russell da biossíntese do colesterol e o gene *DHCR7* foi clonado. As

mutações causadoras foram identificadas no gene *DHCR7* no sítio de *splicing* c.964-1G>C. A enzima 7-DHCR reduz a ligação dupla em 7-DHC para formar colesterol. Mutações em *DHCR7* levam ao acúmulo de 7-DHC e ao seu isômero posicional 8-DHC e a alterações subsequentes na relação colesterol/esterol total (Schoner *et al.*, 2020; Chattopadhyay *et al.*, 2023).

#### 4.2. Caracterização da síndrome de Smith-Lemli-Opitz

SLOS é uma doença genética humana autossômica recessiva caracterizada por anomalias congénitas múltiplas. Resulta de variantes no gene *DHCR7*; é um distúrbio de um único gene causado por um defeito enzimático na última etapa da síntese de colesterol, onde o 7-DHC não é convertido em colesterol (Fliesler *et al.*, 2018; Kruszka *et al.*, 2018; Zalewski *et al.*, 2021).

Na população humana, SLOS é a síndrome causada pelo distúrbio genético mais comumente diagnosticado da biossíntese de esteróis. Tem um padrão de herança recessivo, mais comumente associado à heterozigosidade composta, onde diferentes alelos mutantes são herdados de cada progenitor. Bioquimicamente, é caracterizada por níveis altamente elevados de 7-DHC e oxisterol, colesterol reduzido e desmosterol diminuído (Korade *et al.*, 2022). Muitos, se não a maioria, dos subprodutos de oxisterol de 7-DHC foram isolados de tecidos e fluidos corporais obtidos de pacientes com SLOS (Pfeffer *et al.*, 2021). Foi relatado que a proporção desses esteróis para o colesterol está linearmente relacionada ao comprometimento da função cognitiva e adaptativa, sendo a quantidade de acúmulo de 7-DHC o determinante mais importante (Sharma *et al.*, 2021).

SLOS é caracterizado pela expressão variável de fenótipos, incluindo múltiplas malformações congénitas, características dismórficas, erros metabólicos e deficiência intelectual. Ao avaliar a correlação genótipo-fenótipo, parece que o fenótipo extremo grave está associado a variantes nulas bialélicas, dado que a etiologia da doença está associada a variantes bialélicas no gene *DHCR7* (Daum *et al.*, 2020).

As características dismórficas e clínicas do distúrbio resultam da diminuição da síntese de colesterol. Vários autores relataram uma relação quantitativa entre baixo colesterol plasmático, altos níveis de 7-DHC e 8-DHC e a gravidade das manifestações clínicas e longevidade em pacientes com SLOS (Donoghue *et al.*, 2018). Devido ao papel insubstituível do colesterol, sintomas clínicos como: polidactilia, déficits

comportamentais e cognitivos (incluindo transtorno do espectro do autismo), atraso no crescimento de órgãos e mau funcionamento dos sistemas imunológico e endócrino são frequentemente relatados. As malformações craniofaciais e da linha média, genitália ambígua e sindactilia do segundo e terceiro dedo são as manifestações mais referidas (Luo *et al.*, 2022). As malformações craniofaciais incluem aurículas de formato anormal e orelhas de implantação baixa ou com rotação posterior. A presença de malformações craniofaciais que afetam a ventilação da orelha média e a função da tuba auditiva podem aumentar o risco de otite média recorrente ou comprometer a resolução espontânea. Além da microcefalia, os pacientes com SLOS apresentam redução da largura da cabeça, largura da base do crânio, redução da largura frontal e redução da largura facial superior com preservação da largura facial inferior e da altura facial. Essas diferenças de medição são frequentemente combinadas com outras alterações estruturais internas, como um palato ogival, uma fenda palatina submucosa ou, em casos mais graves, uma fenda palatina (Zalewski *et al.*, 2021). Dismorfismos faciais, anomalias cardíacas congênitas e defeitos da genitália externa em homens também são reportados na SLOS (Kruszka *et al.*, 2018). Acredita-se que a maioria das anormalidades cognitivas e neurocomportamentais da SLOS resulte de uma combinação de déficit de colesterol e acúmulo de 7-DHC no feto em desenvolvimento (Ballout *et al.*, 2020). Embora haja comprometimento da síntese de colesterol endógeno, a transferência de colesterol materno-fetal *in utero* e o colesterol dietético pós-natal fornecem reposição parcial de colesterol nesses pacientes e pode levar a alguma mitigação do fenótipo (Kanuri *et al.*, 2021).

A gravidade de SLOS em pacientes humanos depende das mutações que afetam um ou ambos os alelos de *DHCR7*, o que pode levar à expressão de proteína com atividade enzimática residual ou à completa falta de produto gênico funcional. Os fenótipos resultantes podem variar de letalidade embrionária a deficiências físicas e cognitivas, algumas extremamente profundas, e que podem resultar em morte nas primeiras décadas de vida (Pfeffer *et al.*, 2021). O fenótipo é altamente variável, o tipo I é uma forma leve e o tipo II é mais grave (Gibbins *et al.*, 2018).

#### 4.2.1. SLOS tipo I

Classicamente, SLOS tipo I é caracterizado por atraso de crescimento pré- e pós-natal, microcefalia, malformações múltiplas, como fenda palatina, hipospádia, anormalidades gengivais ou genitália ambígua (especialmente nos homens), fotossensibilidade,

polineuropatia e características faciais dismórficas. O fenótipo SLOS clássico envolve dismorfismos craniofaciais, atrasos no desenvolvimento e crescimento, distúrbios comportamentais e sindactilia do segundo e terceiro dedo (Dang Do *et al.*, 2018), nariz encurtado com narinas antevertidas ou micrognatia, membros curtos ou polidactilia pós-axial com polegares encurtados e deslocados posteriormente (Ballout *et al.*, 2020).

Um sistema de pontuação para avaliar a gravidade da apresentação de SLOS organiza as principais características em dez sistemas de órgãos, distinguidos pela sua origem embriológica (Dang Do *et al.*, 2018). A variabilidade clínica é observada mesmo no ambiente familiar, pois foram relatados irmãos com SLOS com problemas médicos e de desenvolvimento diferentes (Nowaczyk *et al.*, 2020).

#### 4.2.2. SLOS tipo II

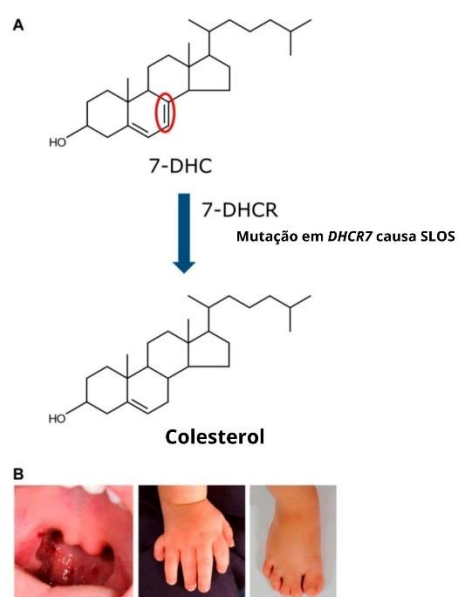
Indivíduos com SLOS tipo II apresentam anomalias com evolução clínica grave. Características faciais dismórficas como micrognatia, narinas antevertidas, lábio superior em forma de V, pescoço alado, microglossia, fenda/palato alto, úvula bífida e saliências maxilares-alveolares espessas. Apresentam também microcefalia, atraso mental, hipotonia, fechamento prematuro da fontanela, polidactilia, sindactilia do segundo e terceiro dedo do pé e anomalias geniturinárias (criptorquidismo, hipospádia, hipertrofia do clitóris e genitália ambígua) (Eren *et al.*, 2021), malformações graves de órgãos, afetando particularmente o cérebro, como ventriculomegalia, adelgaçamento do corpo caloso, holoprosencefalia ou defeitos de mielinização (ou qualquer combinação destes). Várias outras malformações multissistêmicas de órgãos também podem ser observadas, incluindo cistos renais, estenose pilórica, doença de Hirschsprung, doença hepática colestática, catarata congénita, atrofia ótica, retorno venoso pulmonar anómalo total e malformações cardíacas graves (mais comumente defeitos do canal atrioventricular) (Ballout *et al.*, 2020), patologias gastrointestinais, como hiperplasia das células das ilhotas pancreáticas, patologias da glândula adrenal e covinhas sacrais podem ser observadas (Eren *et al.*, 2021).

#### 4.3. Aspectos bioquímicos: enzima 7-DHCR

Distúrbios metabólicos hereditários causados por mutações em enzimas de esteróis levam à morte pré-natal ou a deficiências de desenvolvimento, como a SLOS (Koczok *et al.*, 2019).

A síntese de colesterol a partir da acetil-CoA envolve mais de 20 reações enzimáticas que envolvem genes chave como: *HMGCS1*, *HMGCR*, *MSMO1*, *MVK*, *MVD*, *IDII*, *FDPS*, *LSS* e *DHCR7* que codificam as enzimas envolvidas nessas reações (Shi *et al.*, 2018). A *HMGCR*, *SC5D*, *7-DHCR* e a *DHCR24* são enzimas essenciais na via de síntese do colesterol (Jiang *et al.*, 2020); *HMGCR* e *7-DHCR* são conhecidos por serem regulados pela alteração dos níveis de esteróis na transcrição e pós-tradução (Capell-Hattam *et al.*, 2020; Luo *et al.*, 2022).

Além das interrupções genéticas da biossíntese do colesterol, as enzimas da biossíntese de esteróis podem ser quimicamente inibidas tendo um impacto mais severo no feto durante o desenvolvimento intrauterino. Quando as mulheres são expostas a inibidores da enzima *7-DHCR* durante a gravidez, esses produtos químicos agem como agentes teratogênicos para um feto em desenvolvimento (Genaro-Mattos *et al.*, 2021). Uma série de pequenas moléculas, incluindo alguns produtos farmacêuticos amplamente prescritos, modulam a atividade da *7-DHCR*, aumentando os níveis celulares de *7-DHC* e reduzindo os níveis de colesterol de uma forma que se assemelha às perturbações da homeostase de esterol encontradas em pacientes com SLOS (Xiao *et al.*, 2020; Abdel-Khalik *et al.*, 2021; Bai *et al.*, 2022; Korade *et al.*, 2022; Tomita *et al.*, 2022). Quando a atividade da *7-DHCR* é comprometida, o *7-DHC* acumula-se e os níveis de colesterol tornam-se reduzidos. Uma porção do *7-DHC* é então oxidada para formar vários oxisteróis, alguns dos quais são altamente tóxicos para as células, resultando em sequelas como danos em proteínas por eletrófilos lipídicos, alterações na expressão gênica, alterações estruturais e funcionais da membrana, formação de espécies reativas que coletivamente levam à disfunção de fotorreceptores, degeneração e morte (Fliesler *et al.*, 2018). Os oxisteróis derivados de *7-DHC* acumulado, interrompem a neurogênese embrionária normal, acelerando a depleção progressiva de precursores corticais através da neurogênese, resultando numa redução significativa da espessura do córtex cerebral com camadas corticais anormais (Tomita *et al.*, 2022). Como o *7-DHC* é altamente instável e oxida espontaneamente, o resultado é a formação de esteróis altamente reativos, chamados de oxisteróis derivados de *7-DHC*, nomeadamente o  $3\beta,5\alpha$ -dihidroxicolest-7-en-6-ona (DHCEO),  $4\alpha$ -hidroxi-*7-DHC* e  $4\beta$ -hidroxi-*7-DHC* (Korade *et al.*, 2022).



**Figura 7.** Mutação em *DHCR7* e defeitos bioquímicos e físicos associados a SLOS (adaptado de Chattopadhyay *et al.*, 2023).

(A) A etiologia da SLOS está na última etapa da via Kandutsch-Russell da biossíntese do colesterol, ou seja, a conversão de 7-DHC em colesterol. A enzima que catalisa esta etapa (7-DHCR) perde capacidade de converter eficientemente 7-DHC em colesterol devido a mutações em *DHCR7* detetadas em pacientes com SLOS. A única diferença entre o colesterol e o 7-DHC é a presença de uma ligação dupla adicional (destacada a vermelho). (B) Defeitos anatómicos representativos exibidos por pacientes SLOS incluem fenda palatina, polidactilia e sindactilia, entre outros.

#### 4.4. Aspectos moleculares: gene *DHCR7*

Mutações homozigóticas ou heterozigóticas compostas com perda de função no gene *DHCR7* é a causa mais comum de erros inatos da síntese de colesterol que dão origem a SLOS (Kanuri *et al.*, 2021).

O gene *DHCR7*, localizado na região cromossômica 11q13, contém nove exões; os exões 3 a 9 codificam a proteína 7-DHCR, a qual consiste em nove hélices transmembranares putativas e um domínio de detecção de esteróides. Mais de 150 variantes patogênicas foram descritas. A maioria dos pacientes com SLOS (aproximadamente 60 %) tem uma combinação de uma variante sem sentido, 10 % uma variante sem sentido e

aproximadamente 30 % tem duas variantes sem sentido (Genaro-Mattos *et al.*, 2018; Genaro-Mattos *et al.*, 2019; Temple *et al.*, 2020).

A variante *DHCR7* herdada paternalmente, c.964-1G>C (p?), é uma das variantes mais comuns em caucasianos (frequência alélica de aproximadamente 30 %) e interrompe o local acetor de *splicing* canônico adjacente ao último exão 9. Prevê-se que resulte numa proteína não funcional e está associada a um fenótipo grave (Temple *et al.*, 2020). Mais de 200 mutações foram descritas neste gene. Humanos com mutações de alelo único *DHCR7* parecem ser saudáveis, sem um fenótipo distinto. No entanto, fibroblastos dérmicos humanos com um único alelo mutante no gene *DHCR7* têm níveis elevados de 7-DHC (Tuckey *et al.*, 2021; Korade *et al.*, 2022). O *DHCR7* defeituoso resultante das mutações leva à deficiência no colesterol e ao acúmulo de 7-DHC nos tecidos e fluidos dos indivíduos afetados. Os oxisterois derivados de 7-DHC podem exercer citotoxicidade em células neuronais, interromper a neurogênese e aumentar a formação de arborização dendrítica de neurónios corticais como mencionado anteriormente (Tomita *et al.*, 2022).

Os astrócitos e a microglia são cruciais na manutenção da homeostase cerebral e funcionam como um mecanismo regulador em doenças neurológicas. Como célula imunológica do cérebro, a microglia é ativada por lesão ou doença e pode induzir astrócitos reativos. A desregulação do metabolismo do colesterol induz um estado reativo em astrócitos e microglia mutantes no gene *DHCR7*, caracterizado por alterações morfológicas e transcricionais. Além disso, a microglia conduz à astrogliose reativa em *DHCR7*. Segundo Freel e colaboradores (2022), a ativação de astrócitos ocorre principalmente devido à microglia no gene *DHCR7*, fornecendo evidências de que a atividade glial é regulada por este gene. Assim, a homeostase do colesterol impacta a conectividade e a função imunológica da astroglia, com implicações para doenças neurológicas associadas à interrupção do colesterol, como SLOS (Freel *et al.*, 2022).

#### 4.5. Relação genótipo-fenótipo

SLOS é herdado de forma autossômica recessiva. Na concepção, cada irmão de um indivíduo afetado tem 25 % de probabilidade de ser afetado, 50 % de ser um portador assintomático e 25 % de não ser afetado e não ser portador. A detecção do portador é possível se as variantes patogénicas da família forem conhecidas. O teste pré-natal para uma gravidez de risco aumentado é realizado usando testes bioquímicos ou testes

genéticos moleculares se as variantes patogênicas na família forem conhecidas (Nowaczyk *et al.*, 2020).

*DHCR7* é o único gene no qual as variantes patogênicas são conhecidas por causar SLOS e aproximadamente 96 % das variantes patogênicas conhecidas são detetadas na análise de sequência do gene *DHCR7*. Uma correlação genótipo-fenótipo estreita é difícil porque a maioria dos indivíduos são heterozigotos compostos (tabela 1) (Temple *et al.*, 2020).

Das aproximadamente 150 mutações conhecidas do gene *DHCR7*, a mutação do sítio de *splicing* IVS8-1G>C é a mais comum, na maioria das vezes leva a uma forma moderada a grave de SLOS, enquanto a mutação T93M é a mutação *missense* mais comum. Indivíduos gravemente afetados têm numerosas dismorfologias congênitas e geralmente morrem logo após o nascimento, se não no útero. Em comparação, indivíduos SLOS com defeitos morfológicos e cognitivos leves a moderados, por exemplo na mutação homozigótica T93M *DHCR7* hipomórfica, exibem anormalidades comportamentais distintas consistentes com transtornos do espectro autista (tabela 1) (Farkas *et al.*, 2022).

Em geral, os indivíduos que são homozigotos para dois alelos nulos, como as variantes comuns c.964-1G>C ou p.Trp151Ter têm um fenótipo grave. Uma avaliação detalhada de 207 indivíduos com SLOS mostrou que os fenótipos mais graves foram observados em indivíduos com duas variantes nulas ou com duas variantes no *loop* 8-9 (aminoácidos 352-411), enquanto aqueles com uma ou duas variantes patogênicas no *loop* 1-2 (aminoácidos 59-94 e aminoácidos 119-151, respectivamente) ou uma variante patogênica no N-terminal (aminoácidos 1-37) têm fenótipos mais leves. Variante heterozigótica composta c.901C > A;p.(His301Asn) e c.1376G > A;p.(Trp459Ter) em *DHCR7* (NM\_001163817.1) foram detetadas com características clínicas leves (Yan *et al.*, 2019). Um fenótipo grave é descrito como homozigoto para a mutação IVS8G-C *DHCR7* da junção intron-exon (Farkas *et al.*, 2022).

No entanto, a variação significativa observada na gravidade, mesmo entre indivíduos com variantes patogênicas semelhantes, sugere influências no fenótipo diferente da variante patogênica *DHCR7*. Um fator importante pode incluir o transporte de colesterol da mãe para o feto, no início da gravidez. Um fenótipo mais grave foi observado em descendentes de mulheres que têm um alelo *APOE E2*, o que pode interferir na ligação de lipoproteínas maternas contendo apo E na placenta (Nowaczyk *et al.*, 2020).

Num estudo com um casal portadores de SLOS, em que a mulher apresentava mutação associada a um fenótipo grave (*DHCR7*: c.964-1G > C) e o homem com um fenótipo mais leve (*DHCR7*: c.976G > T), o feto foi considerado positivo para ambas as mutações paternas e maternas, resultando num embrião afetado. Este caso sugere uma possível ligação entre SLOS embrionário e perda da gravidez. Relatos de casos adicionais sugeriram que a perda no primeiro trimestre pode ocorrer em gestações com fenótipos graves. A perda precoce dessas gestações afetadas ajudaria a explicar a diferença entre a incidência esperada e a observada da doença (Mitra *et al.*, 2020). Estudos recentes sobre a causa genética de natimortos relataram associações com SLOS. Além disso, a exposição a fármacos como aripiprazol ou trazodona aumenta a concentração de 7-DHC, aumentando assim a vulnerabilidade do portador da variante *DHCR7*. Portanto, é importante conhecer a frequência de portadores dos alelos *DHCR7* variante patogénica /variante provavelmente patogénica (Park *et al.*, 2021).

Em suma, a inibição genética de *DHCR7* em pacientes SLOS apresenta malformações em vários sistemas de órgãos. Acredita-se que a inibição de *DHCR7* e, subsequentemente, níveis elevados de 7-DHC e 7-DHC derivados de oxisterol, desempenham um papel crítico nesses resultados negativos, já que os oxisterois derivados de 7-DHC são conhecidos por comprometer a viabilidade neuronal e diferenciação. Além de uma fase específica da vida em que o 7-DHC pode ter consequências mais graves, cada tecido específico pode exibir uma resistência diferencial ou vulnerabilidade ao 7-DHC e aos oxisterois derivados do 7-DHC (Genaro-Mattos *et al.*, 2021). A deficiência de colesterol não é o único mecanismo fisiopatológico que leva ao fenótipo SLOS. Concentrações elevadas de 7-DHC e 8-DHC e os seus derivados provavelmente são as principais contribuintes para a fisiopatologia da doença (Koczok *et al.*, 2021). Portanto, o diagnóstico oportuno e a antecipação vigilante são necessários para a identificação precoce de complicações graves da SLOS e outros distúrbios da biossíntese de colesterol (Luo *et al.*, 2022; Strahlhofer-Augsten *et al.*, 2022). Na tabela 1 estão representadas as principais características fenotípicas associadas a mutações genéticas e os principais marcadores bioquímicos que permitem detetar os distúrbios associados a essas mutações.

**Tabela 1.** Apresentação clínica de distúrbios da biossíntese de colesterol (adaptado de Jezela-Stanek *et al.*, 2020).

## Hipocolesterolemias: Síndrome de Smith-Lemli-Opitz, uma revisão narrativa.

Distúrbio	Características fenotípicas (pré-natal e pós-natal)	Gene/enzima causador	Marcadores bioquímicos (pré e pós-natal)
Síndrome de Smith-Lemli-Opitz	Tanslucência nucal aumentada; crescimento retardado, microcefalia, malformações do SNC (holoprosencefalia), fenda palatina, defeitos cardíacos (defeito do canal atrioventricular), anomalias renais e genitais (especialmente reversão sexual em 46, XY fetal), polidactilia	DHCR7/ 7-dehidrocolesterol redutase	Pré-natal: 7-dehidropregnantriol e 8-dhidroestriol na urina materna. Pós-natal: 7-dehidrocolesterol elevado e 8-dehidrocolesterol; valor baixo ou normal de colesterol
Condrodisplasia <i>punctata</i>	Afeta o sexo feminino; encurtamento assimétrico dos ossos longos, pontilhado das epífises, pé torto, contraturas articulares, defeitos cardíacos e renais; manifestação cutânea pós-natal (ictiose seguindo as linhas de Blaschko, alopecia cicatricial), cataratas	Proteína de ligação EBP/Emopamil (3 $\beta$ -hidroxiesteroide- $\Delta^8$ , $\Delta^7$ -esterol isomerase)	colesta-8(9)-en-3 $\beta$ -ol elevado (e 8-dhidrocolesterol)
Deficiência de proteína de ligação de emopamil em homens (síndrome recessiva ligada ao cromossoma X de múltiplos anormalidades e deficiência intelectual, condrodissplasia puntiforme dominante ligada ao alelo do cromossoma X	Malformações do SNC (agenesia do corpo caloso, malformação de Dandy-Walker, hidrocefalia), defeito cardíaco, polidactilia pós-axial; dismorfismo facial pós-natal, pontilhado epifisário	Mutações hipomórficas do Gene <i>EBP</i> /proteína de ligação a emopamil (3 $\beta$ -hidroxiesteroide- $\Delta^8$ , $\Delta^7$ -esterol isomerase)	colesta-8(9)-en-3 $\beta$ -ol elevado (e 8-dhidrocolesterol)
Hemidissplasia congénita com eritoderma ictiosiforme e anomalias dos membros	Defeitos unilaterais de redução de membros, poli-oligodactilia, malformações renais unilaterais, defeitos cardíacos congénitos e calcificações epifisárias puntiformes	3 $\beta$ -hidroxiesteroide desidrogenase	esteróis 4 $\alpha$ -monometil e 4,4' $\alpha$ -dimetil elevados ou 4 $\alpha$ -carboximetilcolest-8(9)-en-3 $\beta$ -ol elevado nos tecidos
Deficiência de C4-metil-esterol oxidase	Microcefalia	C4-metil-esterol oxidase	esteróis 4 $\alpha$ -monometil e 4,4' $\alpha$ -dimetil elevados; colesterol baixo a normal (pós-natal)
Síndrome de creatinoquinase	Microcefalia; pós-natal: dismorfismo facial e atraso no desenvolvimento grave	Mutações hipomórficas de 3 $\beta$ -hidroxiesteroide desidrogenase	esteróis 4 $\alpha$ -monometil e 4,4' $\alpha$ -dimetil elevados nos tecidos
Displasia esquelética tipo Greenberg	Letal no pré-natal; hidròpsia fetal (não imune), encurtamento grave dos membros com arquitetura cartilaginosa/óssea desorganizada, tórax pequeno	Recetor Lamin B (tem atividade de esterol- $\Delta^14$ -redutase)	colesta-8,14-dien-3 $\beta$ -ol e colesta-8,14,24-trien-3 $\beta$ -ol elevados
Síndrome de Antley-Bixler	Anomalias esqueléticas, craniofaciais e urogenitais: craniosinostose, exoftalmia, sinostose rádio-umeral, arqueamento do fémur/ulna, múltiplos contraturas (semelhante à síndrome de Antley-Bixler devido a mutações <i>FGFR2</i> ), genitália ambígua em fetos 46, XX e 46, XY	Citocromo P450 oxidorreductase (deficiência de CYP21A2, CYP17A1, CYP19A1)	Lanosterol e dihidrolanosterol elevados + presença de marcadores de hiperplasia adrenal/gonadal (concentrações séricas elevadas de 17 $\alpha$ -hidroxiprogesterona, 21-desoxicortisol, corticosterona, progesterona, androgénios diminuídos e estrogénios)
Desmosterolose	Agenesia do corpo caloso com manchas brancas atrofia da matéria com/sem ventriculomegalia, retromicrognatia com/sem fenda palatina, artrogripose distal e atraso na crescimento e desenvolvimento	<i>DHCR24/24</i> -Dehidrocolesterol redutase	Desmosterol elevado (e 7-dehidrocolesterol)
Latosterolose	Anomalias congénitas sobrepondo-se aos de Smith-Lemli-Opitz: microcefalia, polidactilia pós-axial, rim em ferradura, espinha bífida com envolvimento hepático progressivo	3 $\beta$ -hidroxiesteroide- $\Delta^5$ -desaturase (esterol C5-desaturase)	Latosterol elevado (e concentração elevada de 8(9)-colesterol)

#### 4.6. Incidência da SLOS

Há uma discrepância entre a incidência esperada de SLOS, com base na frequência do portador, e a incidência observada desta síndrome. A incidência observada é de 1/26 500, em contraste com uma taxa esperada de 1/3 906. Estes valores podem ser explicados pelo facto de a doença não ser diagnosticada por apresentar um fenótipo clínico leve ou, por outro lado, existir uma maior taxa de perda gestacional em embriões afetados. De facto, e embora a apresentação clínica da SLOS seja bem estudada, pouco se sabe sobre a probabilidade de perda da gravidez em fetos afetados (Mitra *et al.*, 2020).

A frequência de portadores típicos para SLOS é maior na população caucasiana com incidência de 1/10 000 a 1/70 000 e uma frequência de portadores de 1/30. A relação entre gravidade clínica e parâmetros bioquímicos em SLOS continua a ser uma área de pesquisa em desenvolvimento e carece de consenso (Chattopadhyay *et al.*, 2023).

As estimativas da frequência do portador dependem da variante avaliada e da população estudada. Com base na variante c.964-1G > C, sabe-se que a frequência do portador é de aproximadamente 1 % em caucasianos, mas foi relatada até 3 % entre pessoas de ascendência europeia (Mitra *et al.*, 2020; Park *et al.*, 2021). Sabe-se que as frequências de mutação variam de acordo com a localização geográfica/etnia. Da mesma forma, o espectro das mutações do *DHCR7* varia de acordo com a localização geográfica. Há evidências de que T93M é a mutação fundadora com origem na bacia do Mediterrâneo e é comum em Itália, Espanha e Portugal. Por outro lado, os europeus do norte (austríacos, alemães, holandeses) apresentam a mutação W151X com mais frequência. Pessoas de ascendência africana raramente desenvolvem SLOS; no entanto, alguns portadores foram observados entre pessoas de ascendência africana. Um paciente SLOS com ascendência mista hispano-africana foi identificado com as mutações T93M e V281M. A frequência de portadores de mutações *DHCR7* entre os afro-canadenses é baixa, com um valor de 0,79 % (Boland *et al.*, 2016).

SLOS é relativamente comum na população caucasiana (Sharma *et al.*, 2021). A taxa de incidência da SLOS varia, com maior prevalência na população de ascendência europeia, com o número crescente de casos relatados na Ásia nos últimos anos. SLOS pode ser mais comum do que se pensava originalmente (Luo *et al.*, 2022).

#### 4.7. Diagnóstico da SLOS

O diagnóstico da SLOS é estabelecido por características clínicas sugestivas, nível elevado de 7-DHC e pela identificação de variantes patogênicas bialélicas em *DHCR7* por teste genético molecular (Nowaczyk *et al.*, 2020).

Embora a maioria dos indivíduos também tenha hipocolesterolemia, nem sempre é útil para o diagnóstico, pois aproximadamente 10 % dos indivíduos afetados apresentam níveis normais de colesterol, especialmente quando os indivíduos são mais velhos ou têm um fenótipo mais leve (Temple *et al.*, 2020; Sharma *et al.*, 2021). No entanto, altos níveis plasmáticos de 7-DHC (pelo menos 10 vezes maiores do que os apresentados por indivíduos saudáveis) e baixos níveis plasmáticos de colesterol (59–1790 µg/ml em pacientes com SLOS *versus* 429–2743 µg/ml em pacientes saudáveis) foram descritos como uma manifestação bioquímica característica e como critérios de diagnósticos da SLOS (Luo *et al.*, 2022).

##### 4.7.1. Diagnóstico pré-natal

O diagnóstico pré-natal da SLOS é possível usando amniocentese ou amostragem de vilosidades coriônicas para testar as mutações em *DHCR7* e as relações 7-DHC e 7-DHC/colesterol. Geralmente é feito quando há suspeita de SLOS, com base em ultrassonografia obstétrica anormal com restrição de crescimento intrauterino ou múltiplas anomalias congênitas ou em famílias com mutações conhecidas. Além disso, baixos níveis de estriol não conjugado na triagem de marcadores séricos maternos estão associados a um aumento no risco de SLOS (Gibbins *et al.*, 2018). Esteróides anormais podem ser identificados na urina materna. Às vezes, o teste pré-natal para SLOS é realizado após níveis anormalmente baixos de estriol não conjugado serem observados no teste de triagem do soro materno, no segundo trimestre. Como a síntese feto-placentária de estriol não conjugado requer colesterol como precursor, níveis baixos de estriol não conjugado são sugestivos de SLOS, enquanto os outros dois marcadores de SLOS, alfa-fetoproteína e gonadotrofina coriônica humana, permanecem relativamente inalterados (Bianconi *et al.*, 2015).

Quase todos os tecidos de um feto afetado demonstram elevação de 7-DHC (Mitra *et al.*, 2020). A concentração de 7-DHC geralmente é quantificada em amostras de sangue, mas pode ser medida em outros tecidos. Em casos raros, as concentrações séricas de 7-DHC

e colesterol podem estar nos valores normais e uma forte suspeita clínica de SLOS pode exigir análise de esteróis de fibroblastos em cultura ou teste genético confirmatório (Jayamanne *et al.*, 2018; Nowaczyk *et al.*, 2020; Eren *et al.*, 2021).

A análise genética pré-implantação é importante no diagnóstico (Schoner *et al.*, 2020). A introdução do sequenciamento de próxima geração (NGS) revolucionou esse diagnóstico ao oferecer painéis multigênicos ou sequenciamento completo do exoma (Jezela-Stanek *et al.*, 2020). Nos últimos anos, NGS permitiu a identificação de variações genéticas em múltiplos genes e tornou-se uma estratégia eficaz para análise genética. Com base na tecnologia NGS, três testes de diagnóstico, incluindo NGS direcionado, também conhecido como painel de genes, sequenciamento completo do exoma (WES) e sequenciamento completo do genoma (WGS) são usados atualmente para o diagnóstico de deficiência intelectual e atraso no desenvolvimento como SLOS (Yan *et al.*, 2019).

O NGS é uma tecnologia que permite o sequenciamento de grandes regiões genômicas (ou mesmo de todo o genoma) de forma rápida e com um custo acessível, através do sequenciamento de milhões de fragmentos de DNA ao mesmo tempo. O NGS é capaz de detectar alterações genômicas, como substituições de bases, inserções, deleções, alterações no número de cópias e rearranjos genéticos, podendo também ser usado para detectar alterações na expressão gênica e variações epigenéticas. O NGS permite a caracterização molecular abrangente, sendo o sequenciamento realizado em apenas um número de genes específicos, quando há uma hipótese diagnóstica de uma doença específica, a fim de proporcionar o melhor tratamento (Cappello *et al.*, 2022). No WGS efetua-se o sequenciamento de todo o material genético ou DNA de um indivíduo, sendo mais indicado em estudos científicos. A cobertura de leitura de todo o genoma pode permitir a detecção confiável de variações no número de cópias, o que pode contribuir substancialmente para o diagnóstico de doenças (Meienberg *et al.*, 2016). WES é utilizado como método de diagnóstico quando existe suspeita de o paciente ter outras mutações genéticas, ou seja, casos em que existe hipótese diagnóstica de mais de uma doença específica, ou ainda, que não se tem hipótese diagnóstica específica. O grande valor do WES no diagnóstico diferencial para casos complexos com mais de um distúrbio genético é a importância de um exame clínico completo quando múltiplas características dismórficas foram apresentadas. A avaliação combinada de dados clínicos e laboratoriais fornece uma visão extremamente valiosa para o diagnóstico (Gumus, 2019).

As principais diferenças entre os três testes são o diferente intervalo das regiões-alvo sequenciadas. O NGS direcionado concentra-se em centenas de genes específicos do distúrbio. Por outro lado, o WES cobre aproximadamente todos os 20 000 genes codificadores de proteínas e o sequenciamento WGS de todos os genomas inteiros, são ambos testes não direcionados. Com mais regiões do genoma cobertas, WES e WGS obtêm uma taxa de diagnóstico mais alta, em comparação com o NGS direcionado. Devido ao seu custo mais baixo, cobertura mais profunda e gerenciamento de dados mais fácil, o NGS direcionado ainda é uma abordagem comum em laboratórios de diagnóstico clínico de rotina (Yan *et al.*, 2019).

Para um grupo selecionado de distúrbios metabólicos congênitos, resultantes de defeitos na biossíntese do colesterol, a aplicação da cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa (GC-MS) pode também fornecer ou orientar o diagnóstico. GC-MS é uma técnica para diagnóstico de SLOS, e outras colesteropatias, que se beneficia pela excelente resolução de pico, maior eficiência cromatográfica e custo relativamente baixo (Jezela-Stanek *et al.*, 2020).

Interpretar as variantes corretamente e elaborar um diagnóstico genético robusto ainda é um desafio considerável. Além da origem, muitos outros fatores, como frequência de alelos variantes, modelo de herança e fenótipo do paciente, também devem ser avaliados cuidadosamente para determinar se as variantes prejudicam a função do gene e fundamentam o fenótipo (Yan *et al.*, 2019).

#### 4.7.2. Diagnóstico pós-natal

Mediante suspeita clínica, o rastreio recomendado para SLOS é a quantificação de 7-DHC no plasma através de GC-MS. Valores acima de 2 µg/ml são considerados anormais. A maioria dos laboratórios clínicos determina o colesterol usando um teste enzimático baseado na colesterol oxidase, o qual não é específico pois o resultado obtido inclui não só o colesterol, como também os precursores deste (tais como 7 e 8-DHC), fornecendo, portanto, um valor falsamente elevado. Como um nível normal de colesterol plasmático não exclui SLOS, o 7-DHC plasmático é um biomarcador sensível para detecção desta síndrome; contudo podem ser observados falsos positivos com medicamentos psicoativos, incluindo aripiprazol e trazodona, que são inibidores de 7-DHCR. Outros agentes psicotrópicos, como o haloperidol, podem conduzir a acréscimos nos níveis de 7-

DHC, aumentando a síntese de colesterol. A perda de ácidos biliares após a ressecção ileal, também podem resultar numa elevação dos níveis de 7-DHC, levando a erros de diagnósticos (Jezela-Stanek *et al.*, 2020).

Nestes casos, recomenda-se o teste genético do *DHCR7*. A análise de sequência pode detetar até 96 % das mutações. Se nenhuma mutação, ou apenas uma mutação for encontrada, recomenda-se um teste quantitativo, como *polymerase chain reaction* (PCR) quantitativo, análise de amplificação de múltiplas sondas ou microarray cromossómico que abranja *DHCR7* (Bianconi *et al.*, 2015)

Ao contrário das matrizes convencionais, isto é, do plasma e do soro, o cabelo, como matriz complementar, pode refletir o nível bioquímico dos pacientes e evitar a interferência da dieta nos resultados das análises. Isto ocorre porque, uma vez que os analitos (7-DHC e colesterol) incorporados no cabelo podem permanecer inalterados sem flutuações no conteúdo causadas pela degradação ou metabolismo. Além disso, a análise do cabelo tem uma janela de deteção muito mais ampla e pode identificar a presença dos analitos no corpo do indivíduo, desde algumas semanas até um ano, o que é significativo para a monitorização do nível bioquímico (Luo *et al.*, 2022).

#### 4.7.3. Distinção do diagnóstico da SLOS e outras colesterolopatias

Embora muitas síndromes de malformação compartilhem pelo menos algumas das características clínicas de SLOS, a sindactilia do segundo e terceiro dedo em forma de Y, presente na maioria dos indivíduos com SLOS, raramente é observada em outros distúrbios. Descobertas bioquímicas devem permitir a pronta diferenciação entre indivíduos com SLOS e aqueles com condições clínicas e bioquimicamente semelhantes, pois bioquimicamente, apenas SLOS se apresenta com 7-DHC elevado e colesterol plasmático baixo ou normal, enquanto que outros distúrbios metabólicos de esteróis apresentam padrões distintos de anormalidades e é improvável que sejam confundidos com SLOS (Nowaczyk *et al.*, 2020).

A SLOS permanece sem diagnóstico em muitos fetos afetados devido a variações nos fenótipos fetais e falta de experiência com a síndrome fetal. As manifestações clássicas devem permitir um diagnóstico à primeira vista com a presença de características faciais específicas da síndrome, associadas a hexadactilia pós-axial, sindactilia do segundo e terceiro dedo e/ou hipospádia. Para o diagnóstico ecográfico pré-natal, a malformação

interna associada à hexadactilia pós-axial pode ser de maior relevância diagnóstica. Essas malformações internas incluem anomalias cardíacas, anomalias renais que variam de hipoplasia renal a agenesia renal uni ou bilateral e malformações cerebrais, por exemplo, cisto de Dandy-Walker e holoprosencefalia. Essas anomalias fazem parte de um padrão específico de malformação e estão relacionadas à modificação anormal da diminuição dos níveis de colesterol. O diagnóstico diferencial abrange um amplo espectro de síndromes de polidactilia, mas pode ser restrito em consideração ao padrão de malformação interna (Schoner *et al.*, 2020).

#### 4.8. Tratamento

Atualmente não há tratamento comprovadamente eficaz para pacientes com SLOS. Os benefícios da suplementação dietética de colesterol e da terapia com sinvastatina são discutidos de forma controversa. Mesmo que o tratamento dietético possa normalizar os níveis de colesterol, os danos pré-natais não podem ser corrigidos e o 7-DHC sérico leve pode persistir mesmo após anos de terapia (Delvecchio *et al.*, 2020).

A maioria dos pacientes com SLOS é tratada com suplementação oral de colesterol, através da administração de colesterol de origem alimentar (como gema de ovo, por exemplo), suspensão de colesterol cristalino em óleo ou em Ora Plus® (solução aquosa coloidal usada em preparações de medicamentos) ou colesterol microencapsulado disponível no mercado como Cholextra® ou SLOesterol® (Bianconi *et al.*, 2015).

Algumas das principais consequências da deficiência de colesterol incluem a formação anormal do SNC. A intervenção terapêutica com suplementação de colesterol e tratamento sintomático após o diagnóstico precoce diminui a mortalidade e melhora o resultado, a longo prazo (Zigman *et al.*, 2021). No entanto, esse colesterol suplementar não atravessa a BHE, por isso não reverte as anomalias que possam surgir na formação do SNC. Desde a identificação do defeito bioquímico e a subsequente identificação molecular do gene responsável, o espectro da doença é expandido, com maior apuração especialmente de apresentações mais leves (Zalewski *et al.*, 2021). Alternativamente, como o neurodesenvolvimento continua após o nascimento, com vários fatores ambientais, a suplementação de colesterol, juntamente com uma redução nos níveis de 7-DHC e outras moléculas neurotóxicas precursoras do colesterol, pode ser benéfica na promoção de níveis normais ou quase normais. No desenvolvimento pós-natal, a

suplementação com colesterol permite atenuar as anormalidades neurocomportamentais que, de outro modo, provavelmente se manifestariam de forma mais grave sem qualquer intervenção. De facto, iniciar a essa suplementação mais cedo mostrou efeitos favoráveis em retardar o início ou reduzir a gravidade em indivíduos com SLOS (Ballout *et al.*, 2020).

A terapia com suplementação de colesterol na dieta não se mostra, em muito casos, eficaz, uma vez que os lípidos são mal absorvidos, possivelmente devido ao comprometimento da síntese de ácidos biliares. Estes ácidos desempenham um papel positivo importante na absorção intestinal do colesterol e induzem variações compensatórias na atividade da HMG-CoAR, controlando a síntese de mevalonato e precursores intracelulares do colesterol. Desta forma, a suplementação de ácido cólico melhora a absorção do colesterol e aumenta os níveis plasmáticos deste, uma vez que o tratamento com este composto é consistente com a regulação negativa da biossíntese de novo dos ácidos biliares (Elias *et al.*, 2024).

Pacientes com SLOS podem apresentar produção reduzida de ácidos biliares ou ter síntese normal, no caso de indivíduos levemente afetados. Portanto, é provável que a deficiência clinicamente significativa de ácidos biliares, que resultaria em absorção prejudicada de colesterol, possa ser limitada a pacientes com SLOS mais gravemente afetados e com níveis de colesterol muito baixos. A adição de ácido cólico à dieta aumenta a eficiência geral da absorção do colesterol, mesmo em indivíduos com SLOS que apresentam produção normal de ácidos biliares. Embora o colesterol plasmático possa ser aumentado com a suplementação de ácido cólico, não existe redução dos níveis médios de precursores de esterol, 7-DHC ou 8-DHC, e outros oxisterois derivados de 7-DHC. Portanto, o ácido cólico pode ser uma abordagem racional para o tratamento da SLOS, juntamente com a suplementação de colesterol e de antioxidantes (Elias *et al.*, 2024).

O tratamento de pacientes com SLOS é principalmente sintomático, pois a suplementação dietética de colesterol não parece melhorar a função cerebral. É importante ressaltar que a biossíntese reduzida do colesterol é apenas parte da fisiopatologia do SLOS e é provável que os níveis tóxicos de 7-DHC e oxisterois derivados do 7-DHC desempenhem um papel crítico no desenvolvimento interrompido que leva ao fenótipo de SLOS (Korade *et al.*, 2022).

A potencial terapia da SLOS visa prevenir a formação ou neutralização dos oxisterois derivados de 7-DHC mais tóxicos (Piscianz *et al.*, 2019), os quais provavelmente contribuem para a fisiopatologia da doença; portanto, o tratamento antioxidante pode ser benéfico devido ao elevado stresse oxidativo (Koczok *et al.*, 2021). Em particular, a vitamina E (VE) demonstrou inibir efetivamente a formação de oxisterois derivados de 7-DHC em fibroblastos derivados de pacientes com SLOS. A combinação com vitamina C (VC), que recicla a VE oxidada, aumenta a atividade antioxidante de VE contra a peroxidação lipídica. Adicionalmente, a glutatona, uma importante molécula abundantemente distribuída nos tecidos, envolvida na defesa antioxidante e na regulação da morte celular e destoxificação de xenobióticos, pode potencialmente inibir a formação de DHCEO ao reagir com seu precursor eletrofílico, o 5 $\alpha$ ,6 $\alpha$ -epóxido-7-DHC, um produto de oxidação do 7-DHC (Tomita *et al.*, 2022). Assim, antioxidantes que quebram a cadeia de radicais livres, como a VE, e antioxidantes nucleofílicos, como a glutatona, podem efetivamente resgatar o fenótipo de neurogênese observado em SLOS, inibindo a oxidação de radicais livres de 7-DHC (Tomita *et al.*, 2022). Da suplementação dietética com colesterol e antioxidantes (VE, VC e selênio), obtém-se assim uma redução concomitante nos níveis de oxisterois derivados de 7-DHC em tecidos e soro (Kapphahn *et al.*, 2019).

A suplementação de VE pode ser benéfica mesmo na ausência de uma deficiência evidente. No entanto, para se obter todos os benefícios da administração da VE, é provável que a suplementação deva começar numa idade jovem, pois pode melhorar o desenvolvimento do cérebro e do corpo de pacientes com SLOS e pode potencialmente prevenir, ou diminuir, o surgimento de alguns fenótipos comportamentais associados a SLOS (Koczok *et al.*, 2021) pelo aumento do 7-DHC. O tratamento com substâncias que aumentam o 7-DHC pode ser potencialmente inseguro para 1-1,5 % da população com distúrbios de alelo único do gene *DHCR7*. O teste genético pré-natal e parental para *DHCR7* deve ser considerado antes de prescrever medicamentos que interferem nos esteroides durante a gravidez (Genaro-Mattos *et al.*, 2019).

A sinvastatina, inibidor farmacológico da HMG-CoAR, tem sido a primeira escolha dos investigadores no tratamento da SLOS, pois é a mais lipofílica de todas as estatinas disponíveis e, portanto, aquela com maior probabilidade de atravessar a BHE para exercer os efeitos desejados no cérebro (Wassif *et al.*, 2017; Schoner *et al.*, 2020). Embora possa

parecer contraditório usar um fármaco para reduzir o colesterol, no tratamento da SLOS espera-se que, ao bloquear a via de biossíntese do colesterol próxima ao local do defeito na SLOS, as concentrações anormalmente altas de 7-DHC potencialmente tóxico (e de 8-DHC) possam ser diminuídos, reduzindo assim os níveis de mevalonato e de todos os seus metabolitos precursores do colesterol. As estatinas também demonstraram aumentar a expressão do gene *DHCR7*, em indivíduos com atividade enzimática residual apreciável, isto é, com variantes de alelos hipomórficos, levando a um resultado bioquímico favorável com o aumento da conversão de 7-DHC em colesterol (Ballout *et al.*, 2020; Chattopadhyay *et al.*, 2023).

A observação de que SLOS envolve um defeito secundário, também observado em distúrbios de armazenamento lisossomal, sugere que terapias e fármacos recomendados para estes distúrbios podem ser terapias potenciais para SLOS. A proteólise lisossomal ajuda a hidrolisar os componentes degradados por autofagia que incluem proteínas, nucleotídeos, lípidos e organelos celulares e reciclá-los para uso no metabolismo celular. Uma correlação positiva com a concentração celular de 7-DHC, destaca o papel dos esteróis celulares na regulação da autofagia. Uma vez que os autofagossomas entregam a sua carga aos lisossomas, é possível que o acúmulo de compartimentos lisossomais possa fornecer outro mecanismo de *feedback* para regular os níveis de autofagossoma em células SLOS, pois a função lisossomal defeituosa induz autofagia. Uma cultura de fibroblastos *in vitro* de doentes com SLOS mostrou que a acumulação de 7-DHC conduziu identicamente ao armazenamento lisossomal de colesterol, esfingomielina e de múltiplos glicosfingolípidos (Sharma *et al.*, 2021). Para tratar distúrbios de armazenamento lisossomal, um medicamento clinicamente aprovado conhecido como miglustato (aprovado pela FDA como Zavesca<sup>®</sup>) é usado. Miglustat é um fármaco de iminoaçúcar, análogo sintético da D-glucose, administrado por via oral que inibe a glucosilceramida sintase, a enzima que catalisa o primeiro passo na biossíntese de glicosfingolípidos. Uma vez que o miglustato pode atravessar a BHE, tem o potencial de tratar anormalidades associadas ao SNC (Chattopadhyay *et al.*, 2023).

A intervenção precoce é essencial, as terapias físicas, ocupacionais e da fala, consulta com nutricionista, consideração de fórmulas hipoalergénicas ou elementares em lactentes e gastrostomia conforme necessidade para alimentação são indicadas. A doença hepática colestática neonatal geralmente resolve-se com terapia de colesterol e/ou ácidos biliares

(Nowaczyk *et al.*, 2020). O transplante hepático precoce pode ser considerado para pacientes com defeito na biossíntese do colesterol, mesmo na ausência de cirrose, e pode ser uma opção de tratamento futuro para prevenir riscos de deterioração neurológica (Ertugrul *et al.*, 2022). O tratamento cirúrgico deve ser considerado para pacientes SLOS com anomalias congênitas como fenda palatina, cardiopatia congênita, anomalias genitais ou outro distúrbio grave, geralmente letal (Nowaczyk *et al.*, 2020).

O tempo de vida geral dos indivíduos com SLOS é geralmente reduzido, variando de alguns dias a 30 anos ou mais, com morte prematura muitas vezes decorrente de malformações graves subjacentes (Ballout *et al.*, 2020; Chattopadhyay *et al.*, 2023). A intervenção e tratamento precoces podem melhorar a condição dos recém-nascidos, sendo por isso fundamental ter um método de diagnóstico eficiente e simples. Deve ser efetuada supervisão de saúde de rotina, incluindo controlo dos parâmetros de crescimento, estado nutricional, progresso do desenvolvimento, comportamento, padrão de evacuação, alterações no tónus, convulsões e distúrbios do movimento em cada consulta. Deve ser realizada uma monitorização do colesterol, concentração sérica de 7-DHC e aminotransferases séricas a cada três a quatro meses nos primeiros anos de vida e duas vezes ao ano a partir de então. A triagem para problemas de visão e perda auditiva anualmente na infância, avaliações odontológicas duas vezes por ano a partir dos três anos de idade devem ser consideradas. Devem ser avaliados sinais de puberdade e taxa de progressão a partir dos dez anos de idade, bem como a localização gonadal de sinais e sintomas de infeção do trato urinário, conforme indicação clínica de forma que o tratamento seja o mais adequado para o estado do doente (Nowaczyk *et al.*, 2020).

Doentes com SLOS enfrentam desafios significativos, incluindo cirurgias, terapias, uma porta giratória de consultas médicas e inúmeras perguntas sem resposta. Em 1990, 37 famílias que viviam com SLOS criaram a Fundação Smith-Lemli-Opitz com o objetivo de ajudar centenas de milhares de pessoas em todo o mundo que vivem com SLOS. A Fundação Smith-Lemli-Opitz continua a aumentar a conscientização sobre a síndrome e a financiar pesquisas para melhorar os tratamentos, na esperança de algum dia encontrar uma cura para a SLOS (Foundation, 1990).

## **V. Conclusão**

A presente revisão bibliográfica permitiu concluir que o diagnóstico precoce de SLOS e a implementação do tratamento adequado pode melhorar a qualidade de vida destes pacientes.

A SLOS, que se caracteriza por aparência dismórfica e múltiplas anomalias, desenvolve-se com distúrbio da síntese de colesterol. Assim, o nível de colesterol plasmático deve ser verificado nos casos de desnutrição, vômitos e anomalias indicativas da síndrome. O exame genético deve ser realizado considerando SLOS no diagnóstico diferencial e a consulta genética deve ser recomendada à família. Apesar de poder corrigir cirurgicamente e tratar muitas das malformações congênitas e manifestações físicas associadas a SLOS, a grande maioria dos pacientes afetados continua a apresentar anormalidades neurocomportamentais variáveis que impedem o desenvolvimento e as funcionalidades normais. As malformações viscerais e as manifestações físicas do distúrbio desenvolvem-se quase totalmente no período pré-natal, ou seja, enquanto o feto ainda está em desenvolvimento no útero e falha em atender às suas próprias necessidades de colesterol sintetizado endogenamente, necessário para a organogênese normal. No entanto, como o desenvolvimento neurológico e comportamental persiste além do período fetal e na primeira infância, tratamentos que complementam o colesterol, enquanto reduzem o acúmulo de precursores tóxicos do colesterol como 7-DHC, podem ajudar a aliviar e melhorar os resultados neurocomportamentais a longo prazo destes doentes.

Ainda não existe tratamento comprovadamente eficaz para SLOS. A investigação contínua de novas estratégias terapêuticas deve ser considerada para travar a progressão da doença.

## VI. Bibliografia

- Abdel-Khalik, J. *et al.* (2021). Bile acid biosynthesis in Smith-Lemli-Opitz syndrome bypassing cholesterol: Potential importance of pathway intermediates. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 206, pp. 105794.
- Abe, R. J. *et al.* (2022). Free Cholesterol Bioavailability and Atherosclerosis. *Curr Atheroscler Rep*, 24(5), pp. 323-336.
- Aguilar-Ballester, M. *et al.* (2020). Impact of Cholesterol Metabolism in Immune Cell Function and Atherosclerosis. *Nutrients*, 12(7), pp. 19.
- Allen, L. B. *et al.* (2019). Desmosterolosis and desmosterol homeostasis in the developing mouse brain. *J Inherit Metab Dis*, 42(5), pp. 934-943.
- Alston, M. C., Redman, L. M. e Sones, J. L. (2022). An Overview of Obesity, Cholesterol, and Systemic Inflammation in Preeclampsia. *Nutrients*, 14(10), pp. 1-9.
- Armistead, B. *et al.* (2020). Placental Regulation of Energy Homeostasis During Human Pregnancy. *Endocrinology*, 161(7), pp. 1-14.
- Ayoub, C. *et al.* (2021). Identification of a Variant in APOB Gene as a Major Cause of Hypobetalipoproteinemia in Lebanese Families. *Metabolites*, 11(9), pp. 1-13.
- Bai, X. *et al.* (2022). The role of DHCR24 in the pathogenesis of AD: re-cognition of the relationship between cholesterol and AD pathogenesis. *Acta Neuropathol Commun*, 10(1), pp. 35.
- Ballout, R. A. *et al.* (2020). Statins for Smith-Lemli-Opitz syndrome. *Cochrane Database Syst Rev*, 2020(1), pp. 1-22.
- Begic, N., Begic, Z. e Begic, E. (2021). Smith-Lemli-Opitz syndrome: Bosnian and Herzegovinian experience. *Balkan Journal of Medical Genetics*, 24(1), pp. 99-102.
- Berghoff, S. A., Spieth, L. e Saher, G. (2022). Local cholesterol metabolism orchestrates remyelination. *Trends Neurosci*, 45(4), pp. 272-283.

- Bianconi, S. E. *et al.* (2015). Pathogenesis, Epidemiology, Diagnosis and Clinical Aspects of Smith-Lemli-Opitz Syndrome. *Expert Opin Orphan Drugs*, 3(3), pp. 267-280.
- Blassberg, R. *et al.* (2016). Reduced cholesterol levels impair Smoothed activation in Smith-Lemli-Opitz syndrome. *Hum Mol Genet*, 25(4), pp. 693-705.
- Boland, M. R. e Tatonetti, N. P. (2016). Investigation of 7-dehydrocholesterol reductase pathway to elucidate off-target prenatal effects of pharmaceuticals: a systematic review. *Pharmacogenomics J*, 16(5), pp. 411-429.
- Bredefeld, C. *et al.* (2022). Guidance for the diagnosis and treatment of hypolipidemia disorders. *J Clin Lipidol*, 16(6), pp. 797-812.
- Capell-Hattam, I. M. *et al.* (2020). Twin enzymes, divergent control: The cholesterologenic enzymes DHCR14 and LBR are differentially regulated transcriptionally and post-translationally. *J Biol Chem*, 295(9), pp. 2850-2865.
- Cappello, F. *et al.* (2022). FFPE-Based NGS Approaches into Clinical Practice: The Limits of Glory from a Pathologist Viewpoint. *J Pers Med*, 12(5), pp. 1-18.
- Chattopadhyay, A. e Sharma, A. (2023). Smith-Lemli-Opitz syndrome: A pathophysiological manifestation of the Bloch hypothesis. *Front Mol Biosci*, 10, pp. 1120373.
- Chatuphonprasert, W., Jarukamjorn, K. e Ellinger, I. (2018). Physiology and Pathophysiology of Steroid Biosynthesis, Transport and Metabolism in the Human Placenta. *Front Pharmacol*, 9, pp. 1027.
- Cheon, S. Y. (2023). Impaired Cholesterol Metabolism, Neurons, and Neuropsychiatric Disorders. *Exp Neurobiol*, 32(2), pp. 57-67.
- Dang Do, A. N. *et al.* (2018). Spontaneously regressing brain lesions in Smith-Lemli-Opitz syndrome. *Am J Med Genet A*, 176(2), pp. 386-390.
- Daum, H. *et al.* (2020). Smith-Lemli-Opitz syndrome: what is the actual risk for couples carriers of the DHCR7:c.964-1G>C variant? *Eur J Hum Genet*, 28(7), pp. 938-942.

- Delvecchio, M. *et al.* (2020). Dietary cholesterol supplementation and inhibitory factor 1 serum levels in two dizygotic Smith-Lemli-Opitz syndrome twins: a case report. *Ital J Pediatr*, 46(1), pp. 161.
- Dewangan, L. *et al.* (2019). A colorimetric nanoprobe based on enzyme-immobilized silver nanoparticles for the efficient detection of cholesterol. *RSC Adv*, 9(72), pp. 42085-42095.
- Donoghue, S. E. *et al.* (2018). Smith-Lemli-Opitz syndrome: clinical and biochemical correlates. *J Pediatr Endocrinol Metab*, 31(4), pp. 451-459.
- Driesen, K. e Witters, P. (2022). Understanding Inborn Errors of Metabolism through Metabolomics. *Metabolites*, 12(5), pp. 1-19.
- Elias, E. R. *et al.* (2024). Cholic acid increases plasma cholesterol in Smith-Lemli-Opitz syndrome: A pilot study. *Mol Genet Metab Rep*, 38, pp. 101030.
- Eren, E. E. *et al.* (2021). A Case of Smith-Lemli-Opitz Syndrome Diagnosed with Hypertrophic Pyloric Stenosis. *Sisli Etfal Hastan Tip Bul*, 55(2), pp. 268-271.
- Ertugrul *et al.* (2022). Liver Transplant and Improvements in Cholesterol Biosynthesis Defect: A Case Report of Smith-Lemli-Opitz Syndrome. *Experimental and Clinical Transplantation*, 20(1), pp. 104-107.
- Escriba, R., Ferrer-Lorente, R. e Raya, A. (2021). Inborn errors of metabolism: Lessons from iPSC models. *Rev Endocr Metab Disord*, 22(4), pp. 1189-1200.
- Falsaperla, R. *et al.* (2021). Neonatal seizures as onset of Inborn Errors of Metabolism (IEMs): from diagnosis to treatment. A systematic review. *Metab Brain Dis*, 36(8), pp. 2195-2203.
- Farkas *et al.* (2022). Morphological, biochemical, and transcriptomic characterization of iPSC-derived human RPE cells from normal and Smith-Lemli-Opitz syndrome patients. *Molecular Vision*, 28, pp. 394-411.
- Fliesler, S. J. e Xu, L. (2018). Oxysterols and Retinal Degeneration in a Rat Model of Smith-Lemli-Opitz Syndrome: Implications for an Improved Therapeutic Intervention. *Molecules*, 23(10), pp. 1-11.

- Foundation, S.-L.-O. (1990). Fundação Smith-Lemli-Opitz [Em linha]. Disponível em <<https://www.smithlempiopitz.org/>> [Consultado em 22/11/2023/].
- Freel, B. A. *et al.* (2022). Sterol dysregulation in Smith-Lemli-Opitz syndrome causes astrocyte immune reactivity through microglia crosstalk. *Dis Model Mech*, 15(12), pp. 1-15.
- Galano, M., Venugopal, S. e Papadopoulos, V. (2022). Role of STAR and SCP2/SCPx in the Transport of Cholesterol and Other Lipids. *Int J Mol Sci*, 23(20), pp. 1-14.
- Garcia-Ruiz, C. *et al.* (2021). Mitochondrial Cholesterol and Cancer. *Semin Cancer Biol*, 73, pp. 76-85.
- Genaro-Mattos, T. C. *et al.* (2019). Maternal aripiprazole exposure interacts with 7-dehydrocholesterol reductase mutations and alters embryonic neurodevelopment. *Mol Psychiatry*, 24(4), pp. 491-500.
- Genaro-Mattos, T. C. *et al.* (2021). Sterol Biosynthesis Inhibition in Pregnant Women Taking Prescription Medications. *ACS Pharmacol Transl Sci*, 4(2), pp. 848-857.
- Genaro-Mattos, T. C. *et al.* (2018). Dichlorophenyl piperazines, including a recently-approved atypical antipsychotic, are potent inhibitors of DHCR7, the last enzyme in cholesterol biosynthesis. *Toxicol Appl Pharmacol*, 349, pp. 21-28.
- Gerrick, K. Y. *et al.* (2018). Transcriptional profiling identifies novel regulators of macrophage polarization. *PLoS One*, 13(12), pp. e0208602.
- Gibbins, K. J. *et al.* (2018). Smith-Lemli-Opitz Mutations in Unexplained Stillbirths. *Am J Perinatol*, 35(10), pp. 936-939.
- Gumus, E. (2019). A Novel Frameshift Homozygous Mutation in DHCR7 with a Known Missense Homozygous Mutation in the PROC in a 6-Year-Old Boy: A Child with Two Rare Genetic Diseases. *J Pediatr Genet*, 8(3), pp. 168-171.
- Gunda, V. *et al.* (2022). Ubiquitous Aberration in Cholesterol Metabolism across Pancreatic Ductal Adenocarcinoma. *Metabolites*, 12(1), pp. 1-14.

- Hofmaenner, D. A. *et al.* (2022). The Many Roles of Cholesterol in Sepsis: A Review. *Am J Respir Crit Care Med*, 205(4), pp. 388-396.
- Hryniewicz-Jankowska, A., Augoff, K. e Sikorski, A. F. (2019). The role of cholesterol and cholesterol-driven membrane raft domains in prostate cancer. *Exp Biol Med (Maywood)*, 244(13), pp. 1053-1061.
- Jayamanne, C. *et al.* (2018). Smith-Lemli-Opitz syndrome presenting as acute adrenal crisis in a child: a case report. *J Med Case Rep*, 12(1), pp. 217.
- Jezela-Stanek, A. *et al.* (2020). GC-MS as a tool for reliable non-invasive prenatal diagnosis of Smith-Lemli-Opitz syndrome but essential also for other cholesterolopathies verification. *Ginekol Pol*, 91(5), pp. 287-293.
- Jiang, K. *et al.* (2020). Evolution, Expression Profile, Regulatory Mechanism, and Functional Verification of EBP-Like Gene in Cholesterol Biosynthetic Process in Chickens (*Gallus Gallus*). *Front Genet*, 11, pp. 587546.
- Kanuri, B. *et al.* (2021). Generation and validation of a conditional knockout mouse model for the study of the Smith-Lemli-Opitz syndrome. *J Lipid Res*, 62, pp. 100002.
- Kapphahn, R. J. *et al.* (2019). Lipid-derived and other oxidative modifications of retinal proteins in a rat model of Smith-Lemli-Opitz syndrome. *Exp Eye Res*, 178, pp. 247-254.
- Kaushal, J. B., Batra, S. K. e Rachagani, S. (2022). Hedgehog signaling and its molecular perspective with cholesterol: a comprehensive review. *Cell Mol Life Sci*, 79(5), pp. 266.
- Koczok, K. *et al.* (2019). Subcellular localization of sterol biosynthesis enzymes. *J Mol Histol*, 50(1), pp. 63-73.
- Koczok, K. *et al.* (2021). Biochemical and Clinical Effects of Vitamin E Supplementation in Hungarian Smith-Lemli-Opitz Syndrome Patients. *Biomolecules*, 11(8), pp. 1-11.

- Korade, Z., Heffer, M. e Mirnics, K. (2022). Medication effects on developmental sterol biosynthesis. *Mol Psychiatry*, 27(1), pp. 490-501.
- Kruszka, P. e Muenke, M. (2018). Syndromes associated with holoprosencephaly. *Am J Med Genet C Semin Med Genet*, 178(2), pp. 229-237.
- Lai, L. M., Gropman, A. L. e Whitehead, M. T. (2022). MR Neuroimaging in Pediatric Inborn Errors of Metabolism. *Diagnostics (Basel)*, 12(4), pp. 1-25.
- Lee, S. H. *et al.* (2018). Severe persistent hypocholesterolemia after emergency gastrointestinal surgery predicts in-hospital mortality in critically ill patients with diffuse peritonitis. *PLoS One*, 13(7), pp. e0200187.
- Liu, J. *et al.* (2020). 7-dehydrocholesterol suppresses melanoma cell proliferation and invasion via Akt1/NF-kappaB signaling. *Oncol Lett*, 20(6), pp. 398.
- Lubert, A. M. *et al.* (2021). Fontan-Associated Dyslipidemia. *J Am Heart Assoc*, 10(7), pp. e019578.
- Luo, Y. *et al.* (2022). Measurement of 7-dehydrocholesterol and cholesterol in hair can be used in the diagnosis of Smith-Lemli-Opitz syndrome. *J Lipid Res*, 63(6), pp. 100228.
- Malhotra, P. *et al.* (2020). Disturbances in Cholesterol Homeostasis and Non-alcoholic Fatty Liver Diseases. *Front Med (Lausanne)*, 7, pp. 467.
- Marcuzzi, A. *et al.* (2018). Neuronal Dysfunction Associated with Cholesterol Deregulation. *Int J Mol Sci*, 19(5), pp. 1-12.
- Meienberg, J. *et al.* (2016). Clinical sequencing: is WGS the better WES? *Hum Genet*, 135(3), pp. 359-362.
- Mitra, A. *et al.* (2020). Smith-Lemli-Opitz's Syndrome as a Possible Cause of Recurrent Pregnancy Loss: A Case Report. *AJP Rep*, 10(1), pp. e118-e120.
- Moutzouri, Moisés Elisaf e Liberopoulos, E. N. (2011). Hypocholesterolemia *Current Vascular Pharmacology*, 9, pp. 200-212.

- Nakano, T., Inoue, I. e Murakoshi, T. (2019). A Newly Integrated Model for Intestinal Cholesterol Absorption and Efflux Reappraises How Plant Sterol Intake Reduces Circulating Cholesterol Levels. *Nutrients*, 11(2), pp. 1-18.
- Nowaczyk *et al.* (2020). Smith-Lemli-Opitz Syndrome. *Gene Reviews*, pp. 1-25.
- Nowak, J. K. *et al.* (2019). Cystic fibrosis dyslipidaemia: A cross-sectional study. *J Cyst Fibros*, 18(4), pp. 566-571.
- Ozturk, E. (2021). The Relationship Between Hematological Malignancy and Lipid Profile. *Medeni Med J*, 36(2), pp. 146-151.
- Park, J. E. *et al.* (2021). Carrier frequency and incidence estimation of Smith-Lemli-Opitz syndrome in East Asian populations by Genome Aggregation Database (gnomAD) based analysis. *Orphanet J Rare Dis*, 16(1), pp. 166.
- Pfeffer, B. A., Xu, L. e Fliesler, S. J. (2021). Transcriptomic Changes Associated with Loss of Cell Viability Induced by Oxysterol Treatment of a Retinal Photoreceptor-Derived Cell Line: An In Vitro Model of Smith-Lemli-Opitz Syndrome. *Int J Mol Sci*, 22(5), pp. 1-48.
- Piscianz, E. *et al.* (2019). Is autophagy an elective strategy to protect neurons from dysregulated cholesterol metabolism? *Neural Regen Res*, 14(4), pp. 582-587.
- Rhea, E. M. e Banks, W. A. (2021). Interactions of Lipids, Lipoproteins, and Apolipoproteins with the Blood-Brain Barrier. *Pharm Res*, 38(9), pp. 1469-1475.
- Schoner, K. *et al.* (2020). Smith-Lemli-Opitz syndrome - Fetal phenotypes with special reference to the syndrome-specific internal malformation pattern. *Birth Defects Res*, 112(2), pp. 175-185.
- Schroor, M. M. *et al.* (2021). Associations between SNPs in Intestinal Cholesterol Absorption and Endogenous Cholesterol Synthesis Genes with Cholesterol Metabolism. *Biomedicines*, 9(10), pp. 1-14.
- Sharma, A., Kumar, G. A. e Chattopadhyay, A. (2021). Late endosomal/lysosomal accumulation of a neurotransmitter receptor in a cellular model of Smith-Lemli-Opitz syndrome. *Traffic*, 22(10), pp. 332-344.

- Shengir, M., Elgara, M. e Sebastiani, G. (2021). Metabolic and cardiovascular complications after virological cure in hepatitis C: What awaits beyond. *World J Gastroenterol*, 27(17), pp. 1959-1972.
- Shi, H. *et al.* (2018). Effects of a wide range of dietary forage-to-concentrate ratios on nutrient utilization and hepatic transcriptional profiles in limit-fed Holstein heifers. *BMC Genomics*, 19(1), pp. 148.
- Shin, H. J. *et al.* (2021). Prognostic value of hypocholesterolemia in patients with gastric cancer. *Asian J Surg*, 44(1), pp. 72-79.
- Shyamali, N. L. A. e Ponnampereuma, C. (2020). Pulmonary Hypertension and Hypocholesterolemia Secondary to Thyrotoxicosis. *Case Rep Endocrinol*, 2020, pp. 8884061.
- Simonen, P. *et al.* (2023). High cholesterol absorption: A risk factor of atherosclerotic cardiovascular diseases? *Atherosclerosis*, 376, pp. 53-62.
- Soliman, G. A. (2018). Dietary Cholesterol and the Lack of Evidence in Cardiovascular Disease. *Nutrients*, 10(6), pp. 1-14.
- Strahlhofer-Augsten, M. *et al.* (2022). The Distinct Role of the HDL Receptor SR-BI in Cholesterol Homeostasis of Human Placental Arterial and Venous Endothelial Cells. *Int J Mol Sci*, 23(10), pp. 1-16.
- Temple, S. E. L., Sachdev, R. e Ellaway, C. (2020). Familial DHCR7 genotype presenting as a very mild form of Smith-Lemli-Opitz syndrome and lethal holoprosencephaly. *JIMD Rep*, 56(1), pp. 3-8.
- Tomita, H. *et al.* (2022). 7-Dehydrocholesterol-derived oxysterols cause neurogenic defects in Smith-Lemli-Opitz syndrome. *Elife*, 11, pp. 1-27.
- Tuckey, R. C. *et al.* (2021). Selective ability of rat 7-Dehydrocholesterol reductase (DHCR7) to act on some 7-Dehydrocholesterol metabolites but not on lumisterol metabolites. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 212, pp. 105929.
- Wassif, C. A. *et al.* (2017). A placebo-controlled trial of simvastatin therapy in Smith-Lemli-Opitz syndrome. *Genet Med*, 19(3), pp. 297-305.

- Waterham e Wanders, R. J. A. (2000). Biochemical and genetic aspects of 7-dehydrocholesterol reductase and Smith-Lemli-Opitz syndrome. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1529, pp. 340-356.
- Woollett, L. A. (2005). Maternal cholesterol in fetal development: transport of cholesterol from the maternal to the fetal circulation. *Am J Clin Nutr*, 82(6), pp. 1155-1161.
- Xiao, J. *et al.* (2020). Targeting 7-Dehydrocholesterol Reductase Integrates Cholesterol Metabolism and IRF3 Activation to Eliminate Infection. *Immunity*, 52(1), pp. 109-122 e106.
- Yan, H. *et al.* (2019). Targeted next generation sequencing in 112 Chinese patients with intellectual disability/developmental delay: novel mutations and candidate gene. *BMC Med Genet*, 20(1), pp. 80.
- Yanagisawa, R. *et al.* (2022). The Impacts of Cholesterol, Oxysterols, and Cholesterol Lowering Dietary Compounds on the Immune System. *Int J Mol Sci*, 23(20), pp. 1-25.
- Yanez, M. J. e Leiva, A. (2022). Human Placental Intracellular Cholesterol Transport: A Focus on Lysosomal and Mitochondrial Dysfunction and Oxidative Stress. *Antioxidants (Basel)*, 11(3), pp. 1-15.
- Zalewski, C. K. *et al.* (2021). Auditory phenotype of Smith-Lemli-Opitz syndrome. *Am J Med Genet A*, 185(4), pp. 1131-1141.
- Zigman, T. *et al.* (2021). Inborn Errors of Metabolism Associated With Autism Spectrum Disorders: Approaches to Intervention. *Front Neurosci*, 15, pp. 673600.