

RECENTES AVANÇOS EM ERROS INATOS DO METABOLISMO

ARON J. DIAMENT *

Não é fácil discorrer sobre recentes avanços em erros inatos do metabolismo (EIM) se considerarmos o que se passa na literatura a respeito desse tópico, pois há inúmeras publicações sobre: novos erros descobertos, variantes dos já descritos, a compreensão mais real de determinadas cadeias metabólicas que estavam mal esclarecidas, a descoberta de novas cadeias alternativas com metabólitos diferentes, entre outras. Tentaremos enfocar o assunto por 4 aspectos relacionados aos avanços: 1. na compreensão geral dos EIM; 2. nos aspectos clínicos; 3. nos aspectos diagnósticos, abrangendo o diagnóstico pré-natal; 4. nos aspectos terapêuticos.

ASPECTOS GERAIS

Atualmente, mais de 3000 desordens congênitas, a maioria de origem hereditária, foram catalogadas e identificadas segundo McKusick¹⁶. Dessas, pouco mais de duzentas são consequência de aberrações cromossômicas²¹ e algumas centenas são devidas à combinação de fatores ambientais e poligênicos. Restam cerca de 2800 condições cuja causa varia desde modificações proteicas dificilmente detectáveis, que constituem a maioria, até doenças metabólicas progressivas e fatais e que são reconhecidas como devidas a mutação gênica única¹⁶. Os fatores que complicam o reconhecimento da maioria dessas entidades são: o grande número de desordens congênitas diferentes, sua relativa baixa incidência e a heterogenidade clínica, bioquímica e genética entre essas diferentes desordens e, freqüentemente, num mesmo tipo de desordem e/ou doença. Entretanto, os avanços tecnológicos dos últimos 40 anos vieram esclarecer várias dessas etiologias e reconhecer certo número de entidades até então conhecido pelos estudos de freqüência populacional e heredogramas.

Desde a descrição do número exato de cromossomos da espécie humana em 1956 por Tijo & Levan (in Diament⁷) e, em 1959, da descrição da primeira aberração cromossômica por Lejeune & col. (in Diament⁷), muito progrediu a genética auxiliada pela bioquímica e pela biologia molecular. Além das técnicas que permitiram o reconhecimento do número de cromossomos, passou-se também ao reconhecimento da estrutura desses elementos celulares pelo estudo das bandas cromossômicas, criando-se uma verdadeira anatomia cromossômica¹⁶. A par dessa evolução dos estudos cromossômicos, a genética sofreu enorme avanço após a descoberta da estrutura do DNA e do código genético no início da década de 60. Desenvolveu-se então, verdadeira revolução nesses conhecimentos que progrediram até os conceitos de genética molecular e/ou bioquímica genética e de engenharia genética. Isto foi possível em vista do concomitante progresso na metodologia bioquímica⁶, a saber: métodos cromatográficos nas suas várias modalidades, radioensaios, radio-imuno-ensaios, imu-

* Professor Adjunto do Departamento de Neurologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (FMUSP), Chefe do Serviço de Neurologia Infantil do Hospital das Clínicas da FMUSP.

no-enzima-ensaios, métodos espectrofluorométricos mais acurados, utilização da luminiscência e do laser, métodos estes que permitiram determinações de metabólitos de cadeias metabólicas bloqueadas e dosagem específica de enzimas e/ou proteínas envolvidas nos erros metabólicos. Daí o surgimento do conceito de marcadores genéticos que permitiram reconhecer o efeito do erro gênico conduzindo ao EIM. Por outro lado, técnicas envolvendo endonucleases, sonda de DNA e hibridização de DNA permitiram o reconhecimento da localização gênica — os loci — em vírus e bactérias e, também, no homem. Para se ter idéia da complexidade desses estudos, devemos mencionar que os 46 cromossomos humanos contêm suficiente DNA para cerca de 3 a 5×10^9 nucleotídeos; porém, o número total de pares gênicos ou loci foi estimado em 50000 (O'Brien, 1973; in Diamant⁷); se se levar em conta que uma proteína média de 350 aminoácidos (AMAC) requer 10^3 nucleotídeos, torna-se claro que o número de mutações gênicas pode ser enorme. Este fato se torna ainda mais patente se analisarmos o aumento progressivo do número de loci identificados pelas entradas sucessivas nas diversas edições do catálogo de doenças transmissíveis mendelianas, editado pela Universidade Johns Hopkins¹⁶, comparando-as a edição 1958 de um tratado de genética humana editado na Alemanha. Sendo conhecidas cerca de 2800 condições genéticas devidas a mutação gênica única e, na verdade, só conhecemos o marcador genético, isto é, alguma dosagem enzimática e/ou proteica que permita seu reconhecimento em menos de 10% delas, e, dessas, nem todas tem seu locus identificado nos cromossomos^{13,21,28}. Supoem os geneticistas que cada um de nós é portador, ao menos, de 30 alelos raros que determinam muito de nossa individualidade bioquímica e que cerca de 75% das mutações gênicas são alterações básicas que determinam alterações do código genético de tal maneira que um AMAC diferente é inserido na cadeia polipeptídica^{13,28}. Se um polipeptídeo médio contém cerca de 350 AMAC e uma proteína consiste de diversas cadeias polipeptídicas, o número de moléculas estruturalmente diferentes que pode ser produzido torna-se considerável. Estes fatos explicam a dificuldade em se determinar e/ou dosar os marcadores genéticos. Porém, mesmo assim, na última edição do referido catálogo¹⁶, cerca de 350 genes já são de localização definida²¹.

Na grande maioria das doenças genéticas é muito difícil, porém, detectar suas mutações, o que é mais evidente no caso das doenças dominantes, nas quais dificilmente encontramos um marcador genético. Mais ainda, o que se verificou nas duas últimas décadas é que muitos EIM apresentam considerável heterogeneidade clínica e bioquímica. Podemos citar vários exemplos¹³: 1º) o tipo infantil clássico da glicogenose tipo II (ou moléstia de Pompe), com severas manifestações clínicas logo após o nascimento, conduz à morte aos 2-4 anos de idade por falência cardíaca, enquanto os do tipo adulto só apresentam queixas de fraqueza muscular; porém, o cultivo de leucócitos ou fibroblastos ou de células hepáticas mostrou, em ambos, a deficiência da enzima lisossômica alfa-1,4-glicosidase; 2º) deficiência da enzima hipoxantina-guanina-fosforibosil-transferase (UGFT), cujo déficit completo causa a síndrome de Lesch-Nyhan, enquanto seu déficit parcial causa apenas artrite gotosa; 3º) deficiência da arilsulfatase-A, cujo déficit completo causa a leucodistrofia metacromática, enquanto seu déficit parcial causa uma esclerose difusa disseminada¹⁹; 4º) outra variante descrita é a relacionada ao déficit parcial da hexosaminidase-A no adulto levando a quadro diferente daquele descrito na moléstia de Tay-Sachs¹. O estudo das mutações gênicas, intensamente desenvolvido pelas técnicas de hibridização de células somáticas, permitiu identificar e classificar variantes, além de corrigir eventuais erros enzimáticos. Durante a hibridização, por um processo chamado de complementação, estudou-se a beta-galactosidase após fusão de fibroblastos de pacientes com os tipos infantil clássico e juvenil da GM₁-gangliosidose, com galactosidase de células deficitárias da variante adulta, tendo-se obtido a restauração da atividade enzimática; após alguns anos verificou-se que as células da variante adulta e de outros pacientes do mesmo grupo de complementação apresentavam déficit de neuraminidase; agora se sabe que a deficiência de beta-galactosidase é um efeito secundário¹³. Outro estudo semelhante foi o

efetuado por fusão de fibroblastos de pacientes com moléstia de Tay-Sachs e de Sandhoff, verificando-se duas diferentes mutações gênicas envolvidas e, a análise molecular efetuada (Beutler & col., 1975, in Galjaard¹³) revelou que as mutações estavam localizadas em duas diferentes cadeias da hexosaminidase ácida.

ASPECTOS CLÍNICOS

Os aspectos clínicos dos avanços em EIM se caracterizam por duas ordens de fenômenos: a descrição de variantes de EIM já descritos e a descrição de novos EIM.

EIM DOS AMINOÁCIDOS (AMAC) — Quanto à descrição de variantes é já classicamente conhecido o relato das diversas causas de *Hiperfenilalaninemias*, a partir dos estudos de seleção populacional³⁰. O simples bloqueio do fator lábil da fenilalanina-hidroxilase não era tão simples como foi descrito no início; descobriram-se erros na metabolização das pteridinas envolvidas na transformação de FAL em tirosina (TYR), além de defeito na transaminação da FAL.

No metabolismo da *Tirosina* (TYR), além das duas clássicas hipertirosinemias, descreveu-se recentemente o *déficit da oxidase do ácido 4-hidroxifenilpirúvico*, sem deficiência fumarilacetoacetase, numa criança do sexo masculino com 29 dias de idade¹⁰; teve gestação e parto normais, pesando 4050 g ao nascimento; aos 21 dias de idade apresentou pneumonia e convulsões e, aos 29 dias, sua TYR era de 21 mg/dl; melhorou com vitamina C (500 mg/dia) e com 46 dias apresentava fígado palpável, e crises tipo espasmo infantil, além de semi-coma; o EEG mostrava-se do tipo supressão e espículas ou polispículas nas áreas occipitais e parietal esquerda e a TAC mostrava atrofia cortical leve; o paciente excretava na urina grande quantidade de ácido 4-hidroxifenilpirúvico, além dos derivados acético e láctico do mesmo ácido; a atividade de oxidase do ácido 4-hidroxifenilpirúvico no fígado do paciente era 5% da normal.

No metabolismo da *Leucina*, descreveu-se a *acidúria 3-metilglutacônica*⁸ em dois irmãos, com 7 e 5 anos de idade, ambos do sexo masculino e de origem marroquina; a única manifestação era retardo na aquisição da fala, não tendo ficado claro se apresentavam ou não leve DM. Excretavam na urina grandes quantidades de metabólicos da leucina: ácido 3-metil-glutacônico, ácido 3-metil-glutárico e ácido-3-hidroxi-aléico. Haveria um déficit parcial na enzima 3-metil-glutaconil-CoA-hidratase.

No metabolismo da *Valina* se descreveu a *deficiência de beta-hidroxil-isobutiril-CoA-deacilase*⁴ numa criança do sexo masculino de pais egípcios; é um dos raros exemplos de EIM nascido com malformações múltiplas, com dismorfismo facial, alimentação pobre, retardo no desenvolvimento neuropsicomotor, marcada hipotonia, anomalias vertebrais, tetralogia de Fallot e que faleceu aos três meses de idade; a necropsia confirmou a cardiopatia e mostrou agenesia do corpo caloso e do giro cíngulo.

Outro EIM de AMAC de cadeia ramificada é a deficiência de *3-hidroxil-3-metilglutaril-CoA-liase*, descrita em 1976 por Faull & col. (Tanaka & col.²⁹), e atualmente, com mais 4 pacientes; nascem normais e com a alimentação láctea apresentam nos primeiros dias episódios de vômitos, cianose, hipotonia, letargia e acidose metabólica; dois pacientes morreram durante esses episódios, dois se recuperaram e tiveram desenvolvimento normal após dieta restrita em proteínas e somente uma criança sofreu graves lesões cerebrais durante um episódio, levando-a a hemiplegia e movimentos córeo-atetósicos.

A *deficiência de 3-cetoliase* envolve condição que interfere no catabolismo da isoleucina, levando à formação de propionil-CoA²⁹. Produz episódios de acidose metabólica, vômitos, convulsões e febre, podendo levar a retardo mental

por sucessivos episódios de acidose metabólica e convulsões; uma criança morreu num desses episódios.

No metabolismo do *propionato, metilmalonato e cobalamina*²⁰, se descreveu a deficiência de *carboxilases múltiplas*, os pacientes apresentando crises de acidose metabólica que responderam bem à administração de biotina. Pode haver alopecia, crises convulsivas, hipotonia, odor anormal na urina (urina de gato) e defeito imunitário mas não em todos os casos. Haveria déficit de três enzimas biotino-dependentes: propionil-CoA-carboxilase; beta-metil-crotonil-CoA carboxilase e piruvato-carboxilase.

Ainda no metabolismo dos AMAC de cadeia ramificada, da lisina e dos ácidos graxos de cadeia longa descreveram-se: as *acidúrias glutáricas tipos I e II* e a *acidúria etilmalonônica-adípica*¹⁷. Caracterizam-se por apresentar hipoglicemia e crises de acidose metabólica, tendo convulsões e episódios de vômitos; enquanto na acidúria glutárica tipo II a hipoglicemia e as convulsões são severas, levando à morte, na acidúria etilmalonônica-adípica, tal pode não acontecer; a diferença entre essas duas entidades está ao nível da excreção dos metabólitos urinários, sendo o quadro clínico semelhante. A deficiência nas três entidades envolveria várias vias metabólicas incluindo AMAC de cadeia ramificada, ácidos graxos, lisina, hidroxilisina e triptofano; haveria bloqueio no degrau da enzima acil-CoA-desidrogenase.

No estudo do metabolismo do *ácido gama-aminobutírico (GABA)* descreveram-se nos últimos 5 anos, três novos EIM: 1) *deficiência de succinico-semialdeído-desidrogenase*¹⁴, descrita por Jakobs & col. em 1981 num paciente com DM, ataxia e hipotonia muscular; os mesmos autores descreveram mais dois irmãos do primeiro paciente com idêntica anormalidade, apresentando DM, ataxia, problemas de comportamento e alterações oculares lembrando a ataxia telangiectasia; nos três pacientes, Gibson & col.¹⁴ descreveram deficiência da enzima antes citada nos linfócitos: 2) *deficiência da transaminase do ácido gama-aminobutírico*: descrita no catabolismo do GABA por Rasting & col., em 1982 (in Jaeken & col.¹⁵) em dois irmãos apresentando associação incomum de doença cerebral severa com leucodistrofia e aceleração do crescimento; Jaeken & col.¹⁵ descreveram dois outros pacientes irmãos (de sexos diferentes) e que apresentavam, logo após o nascimento, dificuldade alimentar, hipotonia, hiperreflexia generalizada (que depois desaparecia), grito agudo e frequentes convulsões parcialmente controladas com fenobarbital e difenilhidantina, além de extremo retardo no desenvolvimento neuropsicomotor, aceleração no crescimento físico; a necrópsia do irmão revelou leucodistrofia; 3) *deficiência de carboxilase do ácido glutâmico*, descrita por Yoshida & col.³⁵, numa criança que apresentou convulsões vitamínicas B6-dependente; verificou-se o déficit da enzima por biópsia renal.

A transformação por que passou o conceito de *homocistinúria*, permite constatar a diversidade de causas desta entidade, estreitamente ligada ao metabolismo da metionina e da cistationina, verificando-se inclusive causas não propriamente genético-metabólicas das três entidades (hipermetioninemia, homocistinúria, cistationinúria)¹⁸.

Dentre as *Hiperornitinemias* ressalta em importância a *atrofia girata da coróide e retina (AGCR)*, moléstia autossômica recessiva, descrita bioquimicamente em 91 casos até 1983, metade dos quais de origem finlandesa³¹. Suas características clínicas são: degeneração coriorretiniana progressiva, com miopia, cegueira noturna e perda da visão periférica (as quais podem se iniciar na primeira década), seguindo-se visão tubular e até cegueira eventual nas segunda e terceira décadas; a seguir, pode surgir catarata subcapsular. Os músculos esqueléticos podem mostrar agregados tubulares nas fibras tipo II. A ornitina plasmática está elevada (400 a 1400 µm), assim como sua excreção urinária (0,5 a 10 mmol/dia). Está diminuída a atividade da enzima ornitina-delta-aminotransferase em células e tecidos. Os pacientes respondem bem ao tratamento com

piridoxal-fosfato ou piridoxina e dieta restrita em arginina ajuda a normalizar os níveis plasmáticos de ornitina, porém sem regressão das anormalidades visuais. A administração de creatinina ajudou a melhorar as anormalidades histológicas musculares.

EIM dos carboidratos — As acidose lácticas passaram a ser melhor estudadas e entendidas quando várias delas foram enquadradas nos EIM do piruvato²: 1) *Deficiência do complexo piruvato-desidrogenase* (CPH)-relatada em cerca de 50 pacientes com 2 tipos clínicos: a) *acidose láctica* que cursa com retardo no desenvolvimento neuropsicomotor, apresentando microcefalia, atrofia óptica, hipotonia muscular e coordenação pobre, dando-se o óbito entre 5 e 6 anos de idade; a atividade da CPH varia de 7 a 15% do normal; b) *encefalopatia atáxica*: que se inicia, em geral, no segundo ano de vida, com episódios de ataxia durante, em média, uma semana e podendo ser deflagrados por "stresses" não específicos como infecções intercorrentes das vias aéreas superiores; subseqüentemente podem desenvolver atrofia óptica e outros podem apresentar verdadeiras encefalopatias atáxicas; outros foram descritos como *encefalopatia necrosante subaguada* ou *moléstia de Leigh*⁵, havendo controvérsias a respeito de mutações da CPH ocorrendo nas clássicas síndromes espinocerebelares como a ataxia de Friedreich. 2) *Deficiência de piruvato-carboxilase* (PC): caracteriza-se pelos pacientes nascerem normais e no segundo semestre apresentarem crises convulsivas e deterioração progressiva, com retardo no desenvolvimento neuropsicomotor e controle pobre da cabeça, além de posturas bizarras. A atividade da PC era 1% do normal em fibroblastos, menor que 17% no fígado e menor que 0,1% no cérebro e córtex renal. O diagnóstico das anormalidades do metabolismo do piruvato não é fácil, pois há uma variedade de estados clínicos em que aumenta o piruvato sanguíneo, como na septicemia, choque, síndrome de Reye, deficiência de tiamina, como resultado de decréscimos adquiridos das enzimas CPH e CP; a distinção requer ensaios dessas enzimas em fibroblastos cultivados, os quais ainda não estão estandardizados. Parece que as anormalidades do sistema nervoso nas alterações do metabolismo do piruvato seriam causadas por deficiência na síntese de neurotransmissores, mais do que produção inadequada de ATP e compostos de alta energia. Na deficiência de CPH por exemplo, a oxidação deteriorada de piruvato leva ao decréscimo da geração de acetil-CoA, que, por sua vez, causa decréscimo na síntese de acetilcolina. Nas deficiências de PC há impedimento da produção de oxalacetato, que por sua vez, impede a glicogênese, levando a decréscimo da síntese de AMAC neurotransmissores como espartato, glutamato e GABA.

A *encefalopatia necrosante subaguada* (ESN, ou moléstia de Leigh) parece agora estar dentro dos EIM do piruvato tendo-se descrito em 4 pacientes deficiência de PC. Porém, recentemente, Eggers & col.⁹ descreveram alterações mitocondriais em dois pacientes que foram à necrópsia, principalmente nos músculos cardíacos; concluem ser esta doença uma citopatia mitocondrial, podendo apresentar, miopatia, cardiopatia, nefropatia, e ENS; a disfunção mitocondrial explicaria a acidose metabólica permanente e a nefropatia (a qual não seria mera coincidência nas ENS); além disso, a degeneração esponjosa do cérebro (característica da ENS) já foi descrita em outras anormalidades mitocondriais. Mais recentemente, Van Erven & col.¹¹ descreveram distúrbio do metabolismo oxidativo na moléstia de Leigh, praticamente demonstrando tratar-se de disfunção e/ou lesão mitocondrial.

Deficiência de beta-manosidase: descrita inicialmente em cabras como doença fatal, foi relatada por Wenger & col.³² num menino de 46 meses de idade que se apresentava normal até 16 meses de idade, quando passou a ter regressão, principalmente na área da linguagem e, menos evidentemente, na área motora. Aos 46 meses apresentava características faciais grosseiras, lembrando a MPS III (síndrome de Sanfilippo tipo A), alterações ósseas leves (idade óssea atrasada, pectus excavatum, cifose torácica leve), sem visceromegalias, retardo na fala e DM, hiperatividade e déficit de beta-manosidase em leucócitos, plasma e fibro-

blastos cultivados; descobriu-se também que tinha déficit de enzima heparinasulfamidase (não-detectável) nos fibroblastos, semelhante à síndrome de Sanfilippo tipo A; porém, nesta síndrome a atividade da beta-manosidase é normal. Na urina, o paciente eliminava quantidade aumentada de MPS e a cromatografia em camada delgada mostrou tratar-se de heparan-sulfato, padrão semelhante à da síndrome de Sanfilippo. Os pais eram consanguíneos e tinham atividade reduzida da beta-manosidase à metade da normal, consistente com um padrão autossômico recessivo de herança. Concluindo: todo paciente com retardo leve ou até severo do desenvolvimento mental e características faciais grosseiras deve ser estudado quanto à atividade da beta-manosidase em leucócitos e/ou fibroblastos cultivados.

Outros EIM — Dentre outros EIM destaca-se a descrição recente²⁶ da deficiência de mioadenilato-deaminase (MAD), afecção relativamente benigna, autossômica recessiva e que se caracteriza por fraqueza muscular iniciando-se na meninice ou no início da segunda década; até 1983, foram descritos 26 pacientes que apresentavam fadigabilidade fácil, câimbras ou mialgias após exercícios; as biópsias musculares não mostraram anormalidades ou somente leves anormalidades na distribuição das fibras; a atividade da MAD estava virtualmente ausente (0 a 6,2% da dos controles). Parece que a administração de ribose auxilia na síntese de PP-ribose-P (fosforibosil-pirofosfato), que pode aumentar a síntese "de novo" de nucleotídeos purínicos e, se se administrar junto alopurinol, para aumentar as purinas "salváveis" como a hipoxantina, poderia ser possível restaurar o pool de ATP mais rapidamente, seguindo-se a exercícios. Outra terapêutica são os exercícios condicionados, que parecem produzir músculos esqueléticos com maior proporção de fibras tipo II-2 e I. Nunca realizar exercícios extenuantes. A prova do lactato é normal, mas a produção de NH₃ após exercício isquêmico do antebraço não ocorreu, o que pode servir de triagem.

Deficiência de fumarase: recentemente descrita como nova causa de encefalomiopatia mitocondrial por Zinn & col.³⁶ num menino que nasceu a termo, de mãe com 30 anos de idade (2 gestações e 1-para). Aparentemente normal ao nascimento, desde o primeiro dia passou a apresentar dificuldade em se alimentar, ganhar peso e letargia durante o primeiro mês; hipotonia intensa, retardo no desenvolvimento neuromotor e atrofia cerebral em torno do 6º mês e morreu aos 8 meses de idade após otite média e provável septicemia. Não se realizou necrópsia. Os testes metabólicos de triagem revelaram níveis elevados moderados de lactato e piruvato, com aumento intermitente da relação lactato/piruvato, porém sem acidose sistêmica. Havia padrão anormal de excreção urinária de ácidos orgânicos caracterizado por aumentos desproporcionados de fumarato, succinato e citrato. Por biópsias de fígado e músculo se pôde estudar o metabolismo mitocondrial e se mediu a atividade da fumarase, que estava virtualmente ausente, assim como a sua forma citosólica. Entretanto, diferentemente da evolução catastrófica deste caso, a acidúria fumárica já foi descrita em dois irmãos adultos com DM e retardo na fala (Whelan & col., 1983, in Zinn & col.³⁶).

Recentemente, verificou-se a existência de um EIM — a *deficiência de biotinidase*³⁴ que resulta justamente da degradação de carboxilases endógenas por inabilidade em separar a biotina da biotina ou de outros péptidos biotinilados e, portanto, em reciclar a vitamina biotina. Wolf & col.³⁴ descreveram 4 pacientes de duas famílias, sendo dois descobertos num programa de seleção populacional por gota de sangue em papel de filtro e dois irmãos de um dos casos assim descobertos. Apresentavam os seguintes sinais e sintomas: crises convulsivas, "rash" na pele, alopecia, ataxia, hipoacusia, retardo no desenvolvimento e podendo chegar a coma e morte por descompensação metabólica, o que não aconteceu com seus casos: os dois descobertos por seleção populacional são praticamente normais e tinham apenas polifagia e leves alterações cutâneas e cabelos esparsos quando definitivamente diagnosticados; os dois descobertos

com mais idade (irmãos de um dos casos anteriores) apresentavam leve retardo só na fala, hipertonia e reflexos profundos vivos, sendo que a terapêutica (10mg/dia de biotina) evitou que os dois primeiros tivessem problemas neurológicos e reverteu grande parte da sintomatologia dos dois últimos. Wolf & col.³⁴ fazem a hipótese de que a existência de biotina na dieta geral, embora em quantidade insuficiente, evitou que os mais velhos tivessem graves seqüelas.

ASPECTOS DIAGNÓSTICOS

O diagnóstico dos EIM praticamente não oferece muitas novidades, pois vem sendo realizado há muitos anos em nosso meio, embora em nem todos os centros médicos e universitários. Iniciamos nosso interesse em diagnosticar EIM no início da década de 60 com simples testes seletivos urinários que podem ser efetuados em qualquer laboratório. No início da década de 70, com a inauguração do Centro de Habilitação da APAE, Schmidt & col.^{22,24}, passaram a realizar não somente estes simples testes urinários como também a dosagem de AMAC, segundo esquema desenvolvido naquele Centro que visa o estudo bioquímico de todo DM atendido ambulatorialmente²². Entretanto, a maior preocupação de nosso grupo não era o diagnóstico de casos já com seqüela, mas poder prevenir a DM. Para isso, a APAE apoiou a proposta de se iniciar testes de triagem populacionais, ao nível de berçário, no intuito de, instalada terapêutica apropriada, poder-se evitar que o afetado bioquimicamente se tornasse um DM. Para tanto, foi proposta, em vista de sua maior freqüência, a pesquisa de *Hiperfenilalaninemia*, mediante coleta de sangue de RN segundo técnica proposta por Guthrie. Entretanto, em vez de se utilizar técnica bacteriológica com cepa especial de *B. subtilis*, achou-se mais conveniente e mais barato utilizar-se técnica espectrofluorométrica mediante autoanalisador, o que permite realizar cerca de 15000 dosagens de FAL/mês, com uma acurácia de 0,01mg. O nível plasmático normal de FAL é de 0,1 a 4,0mg% e no RN, desde que já alimentado por dieta láctea, iremos encontrar níveis acima de 4mg%. Os casos selecionados são redosados para confirmação e atualmente já se conta com cerca de 500000 dosagens, tendo se encontrado 30 FNC, o que dá uma freqüência aproximada de 1:16.000 nascidos vivos. Dizemos aproximadamente, pois, quase $\frac{1}{2}$ dos reconvocados para reconfirmar a hiperfenilalaninemia não retorna o que constitui fator de perda ou erro. Mais freqüente que as hiperfenilalaninemias é o *Hipotireoidismo congênito* (HC) para o qual foi proposto, utilizando a mesma gota de sangue colhida para FNC, dosar T4-Neonatal por técnica de micro-radio-imuno-ensaio (marcado com ¹²⁵I). A freqüência de HC, em geral, é de 1:3000 nascimentos e, em nosso meio, embora sendo um programa iniciado mais tarde que para a FNC, já realizamos 102221 dosagens, tendo se diagnosticado 28 casos de HC. Mediante esses dois programas, Schmidt & col.²³ conseguiram detectar, numa única paciente, os dois EIM (HC + FNC), fato inédito na literatura mundial.

Outro modo de se diagnosticar precocemente e, de modo preventivo, um EIM é a determinação de heterozigotos, principalmente quando se dispõe de um marcador genético, como é o caso da moléstia de Tay-Sachs (TS). Schmidt & col.²⁴ mostraram a incidência de heterozigotos na cidade de S. Paulo, dosando a hexosaminidase-A, a saber: 1/23,5 Judeus Ashkenazim e 1/56 não-judeus, o que se constituiu numa surpresa, pois a freqüência estimada em não-judeus, em geral, é de 1/300 pessoas. Em vista disso, através do Hospital Israelita Albert Einstein, foi iniciado programa de detecção de heterozigotos para hexosaminidase-A na comunidade em geral, programa esse que está em curso. Além disso, outros programas para detecção de EIM estão em ação, combinando o trabalho do Laboratório da APAE com grupos interessados em moléstias metabólicas hereditárias da Escola Paulista de Medicina e da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

Evidentemente que tais técnicas não são novidade, pois testes de seleção populacional são realizados em países industrializados há mais de quase duas

décadas. Também não é novidade que o diagnóstico efetivo de um EIM é aquele que pode ser realizado pela dosagem enzimática, para se demonstrar o déficit. Tais dosagens podem ser efetuadas em células periféricas (leucócitos) ou em biópsias de tecido e cultivos celulares dessas biópsias. Disparamos atualmente das dosagens celulares das seguintes enzimas: hexosaminidases A e B, arilsulfatases A e B, beta-galactosidase, beta-glicosidase e esfingomielinase, permitindo não somente o diagnóstico de certeza de alguns EIM dos lípides, como também permitindo o *diagnóstico pré-natal* e o subsequente aconselhamento genético³. Este diagnóstico pode ser efetuado por amniocentese entre a 12ª e 16ª semanas de gestação, e realizado no líquido amniótico (LA), sendo preferível ser realizado em células cultivadas do LA³. Esta tecnologia é segura, mormente tendo a ultrassonografia para localizar o nível de punção. Atualmente, sem se necessitar de amniocentese, realizam-se tais exames enzimáticos em células trofoblásticas cultivadas, que podem ser colhidas por via vaginal, ao nível do trofoblasto, por aspiração ou por amniocentese. Esta tecnologia pode ser realizada entre a 8ª e 11ª semanas de gestação³.

Pode-se detectar pré-natalmente os EIM por dosagens dos marcadores genéticos (isto é, enzimas e/ou proteínas). Porém, quando a enzima não se expressa nos amnióticos ou quando não há produtos metabólicos para se detectar no LA, o diagnóstico pré-natal pode se tornar difícil. Entretanto, nesses casos, já se tentou, em alguns poucos casos, a biópsia do fígado fetal, para essas dosagens enzimáticas. Recentemente, para não ter que se recorrer a esse processo da biópsia intra-uterina (não isenta de perigos) descreveu-se nova tecnologia¹²: a identificação de "polimorfismos dos fragmentos de restrição da extensão" do locus gênico da ornitina-transcarbamilase humana, por meio da obtenção de vilosidades coriônicas para análise cromossômica, obtendo-se, então, amostras do DNA daquela enzima.

ASPECTOS TERAPÊUTICOS

Para uma terapêutica de um EIM ser efetiva, é necessário que tal erro seja bem conhecido em seus três níveis de expressão: DNA, alterações proteicas e da função celular. Tal conhecimento ainda não existe para qualquer condição genética, embora certas entidades, como as hemoglobinopatias, as talassemias e alguns tipos de deficiência da G-6-PD, tenham suas patogenias melhor conhecidas, porém não completamente. Na maioria delas, conhece-se, as vezes, extensamente um ou dois dos níveis, sempre faltando o conhecimento de outros. Por exemplo, na FNC se conhecem os vários derivados da FAL que podem alterar a formação da mielina cerebral, porém, não se sabe de que modo é executada esta ação. Portanto, a terapêutica dos EIM, na maioria dos casos ou não existe ou é sintomática, raramente sendo curativa, no sentido de evitar sintomatologia neuropsíquica, podendo-se dizer que na prática o defeito bioquímico quase sempre permanece; em alguns poucos casos (principalmente, vitamino-sensíveis) o defeito bioquímico pode ser reversível.

De modo geral, podemos então falar em *tratamento curativo e sintomático*. Na dependência das entidades estudadas, estes tratamentos são variáveis²⁵: 1) por suplementar o agente desencadente que está em falta, como por exemplo, a tiroxina no hipotireoidismo e a hidrocortisona na síndrome adrenogenital; 2) suplementar o cofator faltante como por exemplo, a vitamina B-12 na acidemia metilmalônica, a vitamina B-6 na homocistinúria, a biopterina na ausência desse cofator em certas hiperfenilalaninemias; 3) limitação da ingestão do precursor através de dietas pobres ou seu agente nocivo, como por exemplo: limitação da ingestão de FAL na FNC, de galactose na galactosemia, dos AMAC de cadeia ramificada (valina, leucina e isoleucina) na leucinose; 4) administração de um inibidor, como por exemplo, o alopurinol na hiperuricemia; 5) acoplamento de certas substâncias com outras nocivas, que se depositam nos tecidos, facilitando sua eliminação, como por exemplo, a penicilamina na cistinúria e na moléstia de Wilson; 6) limitação do uso de drogas potencialmente nocivas,

dependendo da entidade em causa, como por exemplo, a limitação de quinino e antimaláricos na deficiência de G-6-PD, de succinilcolina na deficiência de pseudocolinesterase, de barbitúricos na porfiria; 7) utilização de indutores enzimáticos como, o uso de fenobarbital nas hiperbilirrubinemias de reação indireta (Criggler-Najjar); 8) suplementação da falta enzimática ou proteica, administrando-se insulina no diabetes mellitus, gamaglobulina na agama ou hipogamaglobulinemia; 9) estabilização do déficit proteico com o emprego, por exemplo, de cianato ou mesmo uréia na anemia esferocítica; 10) construção de vias "fisiológicas" metabólicas, como realização do "shunt" porto-cava na glicogenose hepática; 11) ex-sangüíneo-transfusão na tentativa de se retirar ou reduzir temporariamente substâncias nocivas da circulação sangüínea; 12) transplante de órgãos para suprir deficiências enzimáticas, tentado em alguns EIM, principalmente de rim, sem resultados convincentes; o transplante da medula óssea vem sendo tentado, assim como o de células pancreáticas (subcutaneamente); 13) leucoferese e plasmaferese periódicas, na tentativa de se fornecer a enzima deficitária, como nas mucopolissacaridoses. Introduzida em 1971, por Di Ferrante & col., a plasmaferese não deu resultados, porque os níveis de alfa-1-iduronidase são muito baixos no plasma. Daí, a indicação da transfusão de leucócitos ou o transplante de fibroblastos. Estamos seguindo pacientes com MPS, baseados nas propostas de tratamento por leucoferese de Knudsen & col. (1971), processando-se uma unidade a cada 2 e 1/2 a 3 meses, com melhores variáveis; 4 desses pacientes já estão sendo seguidos de 12 a 46 meses, sendo um com doença de Scheie, um com Hurler e 2 com Hurler-Scheie; após cada leucoferese há aumento da excreção de MPS, a seguir uma queda; mensalmente é seguida a mucopolissacaridúria e quando os níveis urinários começam a se elevar, faz-se nova leucoferese. Sempre são feitos testes de linfotoxicidade comparando-se soro do paciente contra os leucócitos do doador, além de testar os antígenos HLA de ambos. Do ponto de vista neuropsicomotor a criança fica mais ativa, com fascies mais esperto, as articulações se tornam menos rígidas; as lesões corneanas não se agravam e há regressão das visceromegalias. O tratamento da maioria das neurolipidoses ainda está nos seus primórdios, visando mais a uma terapêutica sintomática e/ou preventiva a nível de diagnóstico pré-natal (quando possível) e aconselhamento genético. Em algumas doenças, tentou-se a substituição da enzima deficitária sem resultados satisfatórios, quer pela falta de pureza da enzima utilizada, quer pela dificuldade de se introduzir a enzima ao nível do sistema nervoso para a sua devida utilização.

RESUMO

Apresenta-se análise dos avanços concernentes aos erros inatos do metabolismo (EIM) sob 4 aspectos: 1) da compreensão geral dos EIM, principalmente relacionados aos mecanismos, à localização gênica e à manifestação dos genes pela heterogenidade genética; 2) aos aspectos clínicos, apresentando de forma resumida a descrição ou de novas variantes dos EIM já conhecidos ou de novos EIM; 3) ao diagnóstico, em que se apresentam os meios diagnósticos de laboratório atualmente disponíveis em nosso meio: seja a dosagem de marcadores genéticos, sejam os testes de triagem populacionais a nível de berçário, sejam detecções de heterozigotos, assim como o diagnóstico pré-natal; 4) aos aspectos terapêuticos, em que são apresentadas as variadas terapêuticas substitutivas, ou dietas especiais, ou ainda as técnicas de plasmaferese e leucoferese, apresentando, quanto a esta última, alguns resultados observados em 4 mucopolissacaridoses.

SUMMARY

Inborn errors of metabolism: recent advances.

Four aspects of advances in inborn errors of metabolism (IEM) are analysed: 1) concerning the general comprehension of the pathogenesis, genic localization and genetic heterogeneity; 2) clinical aspects, with description of new

variants of known IEM or new IEM; 3) laboratory diagnostic tests presently used in our country: dosage of some genetic markers (arylsulfatases, hexosaminidases, beta-glicosidase; beta-galactosidase and sphyngomyelinase), newborn populational screening (for hyperphenylalaninemia, and hypothyroidism), heterozygote detection (for Tay-Sachs disease) and also some prenatal diagnosis; 4) therapeutic aspects presenting substitutive treatment, special diets, plasmapheresis and leucopheresis. The first results of 4 cases of mucopolysaccharidosis treated with the last technic are presented.

REFERÊNCIAS

1. ARGOV, Z. & NAVON, R. — Clinical and genetic variations in the syndrome of adult GM₂ gangliosidosis resulting from hexosaminidase A deficiency. *Ann. Neurol.* 16:14, 1984.
2. BLASS, J.P. — Inborn errors of pyruvate metabolism. In ref. 27, pg. 193.
3. BOUÉ, J.; DELUCHAT, C.; NICOLAS, H.; OURY, J.F. & DUMEZ, Y. — Diagnostic prénatal des maladies géniques sur villosités choriales. *J. Génét. Human.* 34:221, 1986.
4. BROWN, G.K.; HUNT, S.M.; SCHOLEM, R.; FOWLER, K.; GRIMES, A.; MERCER, J.F.B.; TRUSCOTT, R.M.; COTTON, R.G.H.; ROGERS, J.G. & DANKS, D.M. — Beta-hydroxyisobutyryl coenzyme A deacylase deficiency: a defect in valine metabolism associated with physical malformations. *Pediatrics* 70:532, 1982.
5. DE VIVO, D.C.; HAYMOND, M.W.; OBERT, K.A.; NELSON, J.S. & PAGLIARA, A.S. — Defective activation of the pyruvate dehydrogenase complex in subacute necrotizing encephalomyelopathy (Leigh disease). *Ann. Neurol.* 6:483, 1979.
6. DIAMENT, A.J.; SCHMIDT, B.J. & ROSEMBERG, S. — O diagnóstico neuropediátrico em deficiência mental. *Anais Nestlé* n° 104, 1980.
7. DIAMENT, A.J. — O diagnóstico pré-natal em Neurologia Infantil. In A.J. Diamant (ed.): *Neurologia Infantil*. Ed. 2. 1986 (no prelo).
8. DURAN, M.; BEEMER, F.A.; TIBOSCH, A.S.; BRUINVIS, L.; KETTING, D. & WADMAN, S.K. — Inherited 3-methylglutaconic aciduria in two brothers—another defect of leucine metabolism. *J. Pediatr.* 101:551, 1982.
9. EGGER, J.; PINCOTT, J.R.; WILSON, J. & ERDOHAZI, M. — Cortical subacute necrotizing encephalomyelopathy: a study of two patients with mitochondrial dysfunction. *Neuropediatrics* 15:150, 1984.
10. ENDO, F.; KITANO, A.; UEHARA, I.; NAGATA, N.; MATSUDA, I.; SHINKA, T.; KUHARA, T. & MATSUMOTO, I. — Four-hydroxyphenylpyruvic acid oxidase deficiency with normal fumarylacetoacetase: a new variant form of hereditary hypertyrosinemia. *Pediatr. Res.* 17:92, 1983.
11. van ERVEN, P.M.M.; RUITENBEEK, W.; GABRELLS, F.J.M. & RENIER, W.O. — Disturbed oxidative metabolism in subacute necrotizing encephalomyelopathy (Leigh syndrome). *Neuropediatrics* 17:28, 1986.
12. FOX, J.; HACK, A.M.; GOLBUS, M.S.; WINTER, S.; KALOUSEK, F.; ROZEN, R.; BRUSILOV, S.W. & ROSENBERG, L.E. — Prenatal diagnosis of ornithine transcarbamylase deficiency with use of DNA polymorphisms. *New Engl. J. Med.* 315:1205, 1986.
13. GOLJAARD, H. — Genetic Metabolic Diseases. Early Diagnosis and Prenatal Analysis. Elsevier/North-Holland, Amsterdam, 1980, pg. 3, 507.
14. GIBSON, K.M.; SWEETMAN, L.; NYHAN, W.L.; JAKOBS, C.; RATING, D.; SIEMES, H. & HANEFELD, F. — Succinic semialdehyde dehydrogenase deficiency: an inborn error of gamma-aminobutyric acid metabolism. *Clin. chim. Acta.* 133:33, 1983.
15. JAEKEN, J.; CASAER, P.; COCK, P. de; CORBEEL, L.; EECKELS, R.; EGGERMONT, E.; SCHECHTER, P.J. & BRUCCHER, J.M. — Gamma-aminobutyric acid transaminase deficiency: a newly recognized inborn error of neurotransmitter metabolism. *Neuropediatrics* 15:165, 1984.
16. McKUSICK, V.A. — Mendelian Inheritance in Man. Catalogue of Autosomal Dominant, Autosomal Recessive, and X-Linked Phenotype. Ed. 6. Johns Hopkins Univ. Press, Baltimore, 1983, pg. xi.

17. MEISTER, A. — 5-oxoprolinuria (pyroglutamic aciduria) and other disorders of gamma-glutamyl cycle. In ref. 27, pg. 348.
18. MUDD, S.H. & LEVY, H.L. — Disorders of transsulfuration. In ref. 27.
19. PEIFFER, J.; HARZER, K.; SCHLOTE, W. — Diffuse-disseminated sclerosis combined with partial arylsulfate A(ASA) deficiency: mixed heterozygosity of ASA-and pseudo-ASA-deficiency. *Neuropediatrics* 15:59, 1984.
20. ROSENBERG, L.E. — Disorders of propionate and methylmalonate metabolism. In ref. 27, pg. 474.
21. SCHINZEL, A. — Catalogue of Unbalanced Chromosome Aberrations in Man. Walter de Gruyter, Berlin, 1984, pg. 1.
22. SCHMIDT, B.J. & DIAMENT, A.J. — Erros inatos do metabolismo: diagnóstico e «screening» populacional. *Pediatr. Prát. (São Paulo)*, edição comemorativa (1929-1979), pg. 20.
23. SCHMIDT, B.J.; SOLBERG, P.C.; DIAMENT, A.J. & PIMENTEL, H. — Phenylketonuria in a patient with congenital hypothyroidism. *Pediatr. Res.* 2:176, 1981.
24. SCHMIDT, B.J.; DIAMENT, A.J.; KRYNSKI, S.; KAMEI, M.E.; RODRIGUES, M.M.C. & TAKATA, S. — Neonatal mass screening of hereditary metabolic diseases in S. Paulo-Brazil. *Acta paediatr. jpn.* 24:75, 1982.
25. SCHMIDT, B.J. — Tratamento dos erros inatos do metabolismo. In A.J. Diament (ed.): *Neurologia Infantil*. Ed. 2. 1986 (no prelo).
26. SWAIN, J.L.; SABINA, R.L. & HOLMES, E.W. — Myoadenilate deaminase deficiency. In ref. 27, pg. 1184.
27. STANBURY, J.B.; WYNGAARDEN, J.B.; FREDERICKSON, D.S.; GOLDSTEIN, J.L. & BROWN, M.S. (eds.): *The Metabolic Basis of Inherited Disease*. Ed. 5. McGraw-Hill, New York, 1983.
28. STANBURY, J.B.; WYNGAARDEN, J.B.; FREDERICKSON, D.S.; GOLDSTEIN, J.L. & BROWN, J.L. — Inborn errors of metabolism in the 1980s. In ref. 27, pg. 3.
29. TANAKA, K. & ROSENBERG, L.E. — Disorders of branched chain amino acid and organic acid metabolism. In ref. 27, pg. 440.
30. TOURIAN, A. & SIDBURY, J.B. — Phenylketonuria and hyperphenylalaninemia. In ref. 27, pg. 270.
31. VALLE, D. & SIMELL, O. — The hyperornithinemias. In ref. 27, pg. 382.
32. WENGER, D.A.; SUJANSKY, E.; FENNESSEY, P.V. & THOMPSON, J.N. — Human beta-mannosidase deficiency. *New Engl. J. Med.* 315:1201, 1986.
33. WHO Working Group-Fetal diagnosis of hereditary diseases. *Bull. World Health Organiz.* 62:345, 1984.
34. WOLF, B.; HEARD, G.S.; JEFFERSON, L.G.; PROUD, V.K.; NANCE, W.E. & WEISSBECKER, B.A. — Clinical findings in four children with biotinidase deficiency detected through a statewide neonatal screening program. *New Engl. J. Med.* 213: 16, 1985.
35. YOSHIDA, T.; TADA, K. & ARAKAWA, T. — Vitamin B₆ dependency of glutamic acid decarboxylase in the kidney from a patient with vitamin B₆ — dependent convulsion. *Tokofu J. exp. Med.* 104:195, 1971.
36. ZINN, A.B.; KERR, D.S. & HOPPEL, C.L. — Fumarase deficiency: a new case of mitochondrial encephalomyopathy. *New Engl. J. Med.* 315:169, 1986.