

Acidúria Glutárica Tipo I – Clínica, Imagiologia, Análise Mutacional e Tratamento

AGUINALDO CABRAL (*), ISABEL TAVARES ALMEIDA (**), TERESA TASSO (*), FILOMENA EUSÉBIO (*),
ANA GASPAR (*), ANA MOREIRA (***), ESTER ALMEIDA (*)

(*) *Unidade de Doença Metabólicas. Serviço de Pediatria. Hospital de Santa Maria*
(**) *Centro de Patogénese Molecular. Faculdade de Farmácia de Lisboa (UL)*
(***) *Serviço de Pediatria. Hospital Distrital de Faro*

Resumo

São apresentados 6 doentes com acidúria glutárica tipo I (AGI) (4 sexo M, 2 F), com idade actual entre os 29 e 251 meses (média: 121,5). Quatro tinham «cabeça grande» ao nascer, actualmente todos têm perímetro cefálico elevado.

Uma menina teve uma forma aguda de apresentação, like-encefalite; quatro uma forma crónica com atraso de aquisições motoras, hipotonia, distonia e macrocrânea, e um esteve sempre assintomático. Todos executaram um ou vários estudos de neuro-imagem, meses ou anos antes do diagnóstico; as alterações não foram sempre correctamente valorizadas, em 3 situações foram determinantes para o diagnóstico.

O perfil metabólico anómalo característico da AGI foi detectado em todos os doentes, apesar da variabilidade dos teores dos metabolitos excretados: ácidos glutárico e 3-OH-glutárico, permitindo o diagnóstico bioquímico, que se efectuou entre os 8 e 216 meses (média: 88,8).

O estudo mutacional revelou serem todos os doentes heterozigotos compostos, excepto o doente JSC homozigoto para a mutação R402W, associada ao haplotipo 4; esta mutação foi detectada em 5/8 alelos. Detectou-se uma mutação nova, a G390V, associada ao haplotipo 2. A presença da mutação R227P, relacionada com excreção baixa de metabolitos, foi encontrada num doente (R227P/R402W).

O início da terapêutica dietética e medicamentosa teve lugar entre os 10 e 216 meses (média: 90,2), e durou entre 4 e 60 meses (média: 31,3), com boa tolerância e melhoria clínica.

Como patologia tratável, prevenível, são referidos os elementos fundamentais para o reconhecimento precoce e a estratégia terapêutica para evitar dano cerebral irreversível.

Palavras-Chave: Macrocrânea; distonia; atrofia fronto temporal; crise encefalopática; dieta hipoproteica.

Correspondência: Dr. Aguiñaldo Cabral
Unidade de Doenças Metabólicas
Serviço de Pediatria
Hospital de Santa Maria
Av. Prof. Egas Moniz
1649-035 Lisboa

Aceite para publicação em 10/02/2001.
Entregue para publicação em 02/01/2001.

Summary

Glutaric Aciduria Type I – Clinical Presentation, Cranial Imaging, Mutation Analysis and Treatment

Six patients with AGI are presented (4 male and 2 female), aged between 29 and 251 months (mean: 121.5). Four of them had a «large head» at birth and, at present, all of them have a large head circumference.

One of the female patients presented an encephalitis-like acute onset; four patients presented a chronic form with motor delay, hypotonia, dystonia and large head; one patient was symptom-free.

All of them had one or several neuro-imageological examinations, months or years before diagnosis; changes were not always correctly valued and in 3 cases they were essential for diagnosis.

The abnormal metabolic profile which characterizes AGI was detected in all patients, in spite of the variability of excreted metabolite levels: glutaric and 3-OH-glutaric acids, allowed the biochemical diagnosis, which was obtained between 8 and 216 months (mean: 88.8).

The mutational study revealed that all patients were heterozygous, except for the patient JSC who was homozygous for the mutation R402W, associated to haplotype 4; this mutation was detected in 5/8 alleles. A new mutation was found, G390V, associated to haplotype 2. Mutation R227P, which has been associated with a low level of metabolite excretion, was found in one patient (R227P/R402W).

Medical treatment and diet were started between 10 and 216 months (mean: 90.2), and lasted between 4 and 60 months (mean: 31.3), were well tolerated and clinical improvement occurred.

As this is a treatable and preventable condition, its main features are described for early recognition and treatment, in order to avoid irreversible brain damage.

Key-Words: Macrocephaly; dystonia; frontotemporal atrophy; encephalopathic crises; low-protein diet.

Introdução

A Acidúria Glutárica Tipo I (AG I), McKusick 231670, é uma doença autossómica recessiva descrita pela pri-

meira vez em 1975, e devida à actividade deficitária da enzima glutaril-CoA desidrogenase (GCDH; EC 1.3.99.7). Esta enzima mitocondrial catalisa a desidrogenação do glutaril-CoA a glutaconil-CoA que, por descarboxilação, dá origem ao crotonil-CoA, na via catabólica da lisina, hidroxilisina e triptófano. O bloqueio metabólico determina a acumulação nos fluidos biológicos e órgãos, incluindo o cérebro, dos ácidos glutárico, 3-hidroxi-glutárico (3-OH-glutárico) e, eventualmente de glutacónico, assim como dos respectivos ésteres da carnitina, nomeadamente glutaril-carnitina e 3-OH-glutarilcarnitina⁽¹⁻⁶⁾. O ácido 3-OH-glutárico é o metabolito ao qual se tem atribuído maior patogenicidade, o seu potencial tóxico é dependente da quantidade acumulada e aumenta com a idade⁽⁶⁻¹⁰⁾. Os gânglios basais, particularmente o caudado e o putamen, são muito sensíveis aos metabolitos referidos e em especial ao 3-OH-glutárico^(5, 9, 11). A análise do perfil cromatográfico dos ácidos orgânicos nos fluidos biológicos, essencialmente na urina, é fundamental para o diagnóstico. A caracterização inequívoca da presença de níveis anómalos dos ácidos glutárico e, especificamente do 3-OH-glutárico, habitualmente não detectado, permite o diagnóstico bioquímico^(3-5, 7, 8, 11, 12). Contudo, em número crescente de doentes tem sido descrita uma excreção normal, moderada ou intermitente de ácido glutárico, o que pode dificultar o diagnóstico bioquímico^(1-3, 5, 7, 11-15). Nos casos bioquimicamente incharacterísticos mas clinicamente sugestivos, a confirmação do diagnóstico só é possível através da determinação da actividade enzimática, ou pela caracterização molecular, caso se tratem de mutações já descritas^(3-5, 7, 15, 16).

A forma de apresentação clínica e o curso da doença é muito variável^(2, 3, 5, 17), desde uma forma aguda, mais comum, com crise like-encefalite^(1, 3-7, 11, 13, 15), a que se segue um processo neurodegenerativo; a forma crónica frequentemente interpretada como paralisia cerebral distónica progressiva^(1-5, 7, 11, 15); a crise metabólica Reye-like com atingimento hepático e grande mortalidade^(3-5, 7, 11, 13, 15); ou mesmo formas assintomáticas^(5, 18). Os doentes «pré-sintomáticos» apresentam comumente alguns sinais e sintomas que não são devidamente valorizados como: hipotonia, irritabilidade, dificuldades alimentares e macrocrânea^(1, 3, 5, 7, 11, 15). A macrocrânea pode ser detectada ao nascer ou desenvolver-se um pouco mais tarde; pela sua frequência é um elemento clínico muito significativo^(2-5, 11, 13, 15).

As alterações neuroradiológicas podem ser determinantes para a suspeita clínica, particularmente quando existirem, entre outras, uma atrofia frontotemporal com opérculo aberto e extensa perda neuronal do caudado e putamen^(1-5, 7, 11, 13, 15).

A AGI é uma doença tratável, o grave quadro neurológico pode ser prevenido ou melhorado com tratamento

dietético e medicamentoso apropriado^(2-5, 13, 15). A terapêutica iniciada na fase pré-sintomática, mesmo existindo já macrocrânea e/ou alterações neuroradiológicas, pode determinar uma situação estável, sem sintomas, ou mesmo eventual normalização^(2-5, 11, 15). O pronto tratamento das intercorrências infecciosas e o controlo eficaz da hiperpirexia é essencial na prevenção das crises encefalopáticas ou metabólicas^(1-3, 5, 7, 11, 15, 17).

Assim, para um diagnóstico e terapêutica precoces, devem os pediatras, neurologistas, especialistas de desenvolvimento, neuroradiologistas e outros estarem atentos e conhecerem as diferentes manifestações clínicas, bioquímicas e neuroradiológicas da doença.

Neste contexto, apresenta-se a experiência da Unidade de Doenças Metabólicas do Serviço de Pediatria do Hospital de Santa Maria (Lisboa), no diagnóstico e tratamento de seis doentes com AGI.

Doentes

São apresentados seis doentes, quatro do sexo masculino e dois do feminino, com idade actual compreendida entre os 29 e os 251 meses (média: 121,5) (Quadro I). Os dois homens mais velhos com 20 anos 9 meses, são gémeos, tendo nascido às 35 semanas com baixo peso, 1900 e 1950 g, e «cabeça grande».

Quatro crianças apresentaram ao nascer um perímetro craniano (PC) relativamente elevado: os dois gémeos referidos (primeira medição registada aos 2 meses: 41 cm), uma menina com 37,2 cm e outro rapaz com 38 cm de PC. Dois pacientes que nasceram com PC normal, desenvolveram macrocrânea nos meses imediatos ao nascimento.

As formas clínicas de apresentação foram diversas: um rapaz com macrocrânea após o período de RN, esteve sempre assintomático até aos 8 meses, altura em que o diagnóstico foi sugerido pelas alterações da TAC craneoencefálica; uma menina (PCN de 37,2 cm) esteve sem sintomas até aos 10,5 meses, idade em que sofreu uma crise aguda like-encefalite, após quadro de gastroenterite, convulsão e coma, ficando com grave atraso psicomotor, hipotonia generalizada e distonia da boca e membros; os outros, três rapazes e uma menina, tiveram uma apresentação crónica, sem crise encefalopática ou metabólica prévia, mas com sintomas pré-diagnóstico como: hipotonia, atraso das aquisições motoras, distonia e macrocrânea. Um destes doentes, um rapaz com atraso psicomotor e PC elevado desde a nascença sofreu, aos 8 meses, uma cirurgia cerebral (trepanações frontais bilaterais) por hematomas subdurais, com grave regressão psicomotora post-intervenção (Quadro I).

Todos os doentes fizeram até ao momento do diagnóstico um ou vários estudos de neuro-imagem, em metade

dos casos o diagnóstico foi sugerido pelos achados neuro-radiológicos (Quadro II).

Na investigação bioquímica efectuada, em todos os pacientes estudados, a análise dos ácidos orgânicos urinários revelou a presença dos metabolitos patognomónicos da AGI. A identificação inequívoca dos mesmos, glutarato e 3-hidroxi-glutarato, foi efectuada através da análise do espectro de massa respectivo, após separação dos metabo-

litos por cromatografia gás-líquido de alta resolução (Quadro II). Apenas num dos doentes se detectou a presença do ácido glutacónico.

A idade do diagnóstico variou entre os 8 e 216 meses (média: 88,8) (Quadro I).

Posteriormente, após confirmação bioquímica da patologia, efectuiu-se o estudo mutacional em DNA genómico (Quadro II).

QUADRO I

DOENTES	SEXO	PCN	SINTOMAS INICIAIS	ID. DIAGN.	ID. ACTUAL
RPM	F	34	Hipotonia, quedas > 14 M; ataxia, macrocrânea	24 M	89 M
MSCB	F	37.2	Normal até 10M. Crise aguda → hipotonia, distonia, grave regressão PM	10.5 M	46 M
MTP*	M	↑ 2M:41	Atraso motor, hipotonia, macrocrânea, distonia, ataxia > 2-3 A; hígroma bilateral: DVP aos 24 e 36 M	216 M	251 M
PTP*	M	↑ 2M:41	Atraso motor, hipotonia, macrocrânea. Quistos aracnoideus, hígroma à esquerda	216 M	251 M
MRPA	M	38	Atraso motor > 6.5 M, macrocrânea. Hematomas subdurais: cirurgia 8 M → regressão grave, hipotonia, distonia	58 M	63 M
JSC	M	35	Assintomático. Macrocefalia após RN	8 M	29 M

(*) Gémeos, 35 s. PN=1900 e 1950g. «Cabeça grande ao nascer»

PCN: perímetro craniano ao nascer em cm

DVP: derivação ventrículo peritoneal

QUADRO II

DOENTES	SEXO	BIOQUÍMICA	IMAGIOLOGIA	ID. DIAGN.	GENÓTIPO	HAPLOTIPO
RPM	F	Glut. ↑↑↑ 3-OH-Glut ↑↑↑ Glutacón. ↑	RM (24M): alt. mielinização PAL, SB e ND; AVS e QA RM (4 A): = ligeira ↓ hipersinal em T2	24 M	G178R/R402W	4,4
MSCB	F	Glut. ↑ 3-OH-Glut ↑↑	TAC (10.5 M): AVS, hipod. lenticular bilat. RM (11M): hipersinal CAU, lenticular bilat.; AVS + à dt TAC (20 M): AVS, alargamento sulcos corticais	10.5 M	R227P/R402W	1,4
MTP	M	Glut ↑↑↑ 3-OH-Glut ↑↑↑	TAC (21 M): hígroma bilat. RM (17 A): hígroma Fron TP, AVS, atrofia polos temporais, opérculo. Alteração SB, PUT, C. Caloso	216 M	G390V/G178R	2,4
PTP	M	Glut ↑↑↑ 3-OH-Glut ↑↑↑	TAC (24 M): QA temp. esq.; hígroma Fron TP TAC (5 A): agénésia parcial LT esq. RM (19 A): alt. SB, C. CAL, PUT, AVS; QA + à esq.	216 M	G390V/G178R	2,4
MRPA	M	Glut. ↑↑ 3-OH-Glut. ↑↑	TAC (8 M): QA Fron TP bil., derrame subd. Fron TP + à esq. 5 TAC + 3 RM : imagens ≈ RM (55 M): atraso mielinização SB, degen. lenticular, PUT, CAU; AVS, QA, dilatação ventric.	58 M	R402W/360del c	4,
JSC	M	Glut. ↑↑ 3-OH-Glut. ↑	TAC (8 M): QA bilat.; atrofia temp. ant. bilat.; colecção frontal dt, hipodensidades multifocais da SB	8 M	R402W/R402W	4,4

AVS: Alargamento valas silvicas; CAU: Caudado; PAL: Pallido; Fron TP: Fronto parietal; SB: Substância branca; PUT: Putamen; C. CAL: Corpo caloso; QA: Quistos aracnoideus; ND: Núcleo dentado; LT: Lobo temporal.

O início do tratamento, dietético e medicamentoso, teve lugar entre os 10 e os 216 meses (média: 90,2) (Quadro III). Todos iniciaram dieta hipoproteica, carnitina e riboflavina, e três terapêutica suplementar com baclofen (Quadro III).

tria de massa (GC-MS), de acordo com M. Duran et al ⁽¹⁹⁾. A identificação dos metabolitos específicos da AGI (ácido 3-hidroxi-glutárico e ácido glutárico) foi reconfirmada por comparação dos espectros de massa com os obtidos após análise dos respectivos padrões puros.

QUADRO III

DOENTES	SEXO	ID. TRAT.	DIETA	CARNITINA	Vit. B2	BACLOFEN	TEMPO/DIETA	EVOLUÇÃO
RPM	F	29 M	1.1 g/kg Prot. Nat.	+	+	+	60 M	Ataxia. PC: 52,5 cm P > 75 QG: 91.84 2.º Ano IMC: 14 P = 10 I. Nutricional: 82.3 M.M.
MSCB	F	11 M	1.16 g/kg Prot. Nat.	+	+	+	35 M	Melhoria. Hipotonia, distonia, espasticidade. PC: 51 cm P>75 QG: 55.73; IMC: 13.6 P3 I. MacLaren: 135.2 M.M. I. Nutricional: 83.9 M.M.
MTP	M	216 M	0.8 g/kg Prot. Nat.	+	+	+	35 M	Distonia, tremor, dif. fala PC: 59,5 cm P>97 10.º Ano escolar IMC: 19,4 P>10 I. Nutricional: 84 M.M. Atraso mat. sexual
PTP	M	216 M	0.8 g/kg Prot. Nat.	+	+	—	35 M	Distonia ligeira PC: 58,5 cm P=97 11.º Ano escolar IMC: 19,3 P>10 I. Nutricional: 82,8 M.M. Atraso mat. sexual
MRPA	M	59 M	1 g/kg Prot. Nat.	+	+	—	4 M	Melhoria fala e distonia PC: 55 cm P>97 QG: 55.09 IMC: 15 P>10 I. Nutricional: 94.3 N
JSC	M	10 M	1.1 g/kg Prot. Nat.	+	+	—	19 M	Assintomático PC: 53,2 cm P>97 QG: 94,5 IMC: 16,6 P>25 I. MacLaren: 137 N I. Nutricional: 92,6 N

IMC: Índice de massa corporal MM: Malnutrição moderada N: Normal

Métodos

Os ácidos orgânicos urinários, após extracção por acetato de etilo, foram analisados na forma de derivados tri-metil-silil (TMS) por cromatografia gasosa/espectrome-

O DNA genómico foi preparado a partir de sangue total de acordo com o método clássico, adaptado às condições experimentais. A caracterização molecular do gene da glutaril-CoA desidrogenase (GCDH) foi efectuada de acordo com o descrito por C. Busquets e col. ⁽²⁰⁾.

Resultados

Dos seis casos apresentados de AGI, apenas uma doente teve uma forma de apresentação aguda like-encefalite, quatro tiveram uma forma crónica com sintomas progressivos pré-diagnóstico como hipotonia, atraso de aquisições motoras, distonia e macrocênea, e um esteve sempre assintomático apesar do PC ter aumentado muito nos primeiros meses de vida.

Quatro crianças apresentaram ao nascer um perímetro craniano elevado; actualmente todos têm um PC acima do P75, um no P97 e três acima do P97.

Todos os doentes foram submetidos a estudos de neuro-imagem, metade executaram mesmo múltiplos estudos neuroradiológicos, em diferentes idades, em diferentes instituições (pelo menos seis), ao longo de muitos meses ou anos antes do diagnóstico (Quadro II).

Os achados neuroradiológicos mais significativos foram o alargamento das valas sylvicas, quistos aracnoideus, alterações da substância branca, do caudado, putamen e pallido, atrofia temporal e higroma ou colecção subdural (Quadro II). Em metade dos casos estas alterações foram consideradas sugestivas de AGI.

O perfil metabólico anómalo característico da AGI foi detectado em todos os doentes. O teor dos ácidos glutárico e 3-OH-glutárico variou entre 39 e 12271 mmol/mol creatinina (C), e 49 e 283 mmol/mol C, respectivamente. Curiosamente, a doente MSCB, que sofreu crise aguda, foi a que revelou a presença de ácido glutárico em menor concentração (39 mmol/mol C), e uma excreção de 107 mmol/mol C de ácido 3-OH-glutárico, enquanto que no doente JSC, assintomático com macrocênea após o período de RN, se verificou a menor excreção de ácido 3-OH-glutárico (49 mmol/mol C) concomitante com um teor elevado de glutarato (5488 mmol/mol C).

A caracterização molecular do gene que codifica a enzima GCDH revelou serem todos os doentes heterozigotos compostos, excepto o doente JSC homozigoto para a mutação R402W (Quadro II), mutação que se encontra associada ao haplotipo 4, e que foi detectada em 5/8 alelos. Detectou-se ainda uma mutação nova, a G390V, nos doentes gémeos (PT e MT), associada ao haplotipo 2.

Todos foram submetidos a tratamento dietético cumprindo uma dieta hipoproteica, mais restritiva e rigorosa nos doentes mais jovens, menores de 6 anos. O aporte de proteínas naturais variou entre 0,8 e 1,16 g/kg/dia, com boa tolerância e razoável aderência. Os pacientes foram medicados com L-carnitina na dose de 100 mg/kg/dia, em tomas fraccionadas, e riboflavina na dose de 100-200 mg/dia; três doentes com distonia mais grave foram medicados com baclofen na dose de 1-2 mg/kg/dia, com boa tolerância e melhoria sintomática. A duração do tratamen-

to dietético e medicamentoso variou entre os 4 e 60 meses (média: 31,3) (Quadro III). Em termos nutricionais, quatro doentes apresentam malnutrição moderada avaliada pelo Índice de MacLaren e Read (≤ 5 anos), e pelo Índice Nutricional. O Índice de Massa Corporal (IMC) foi igual ou superior ao P10 em cinco pacientes, e igual ao P3 noutra.

Após a instituição da terapêutica nenhum doente sofreu qualquer crise, encefalopática ou metabólica, ou sequer pioria do estado neurológico, apesar de algumas intercorrências febris. A excreção dos metabolitos urinários diminuiu de modo evidente com a dieta hipoproteica.

A doente que sofreu a crise aguda tem tido algumas aquisições motoras, mantendo hipotonia axial, espasticidade e distonia dos membros e atraso mental (QI: 55,73). O rapaz que manifestou agravamento neurológico após a intervenção neurocirúrgica, aos 8 meses, apesar do curto tempo de terapêutica, mostra evolução na linguagem e melhoria da distonia e um QI: 55,09. Os outros têm QI acima de 80, apresentando o menino que sempre foi e se mantém assintomático o melhor resultado QI: 94,5. Os gémeos, agora adultos de 20 anos, com forma crónica e diagnóstico tardio (216 meses), completaram respectivamente o 10.^o e 11.^o ano de escolaridade e, apesar de alguma dificuldade na aprendizagem e na concentração da atenção, procuram em escolas profissionais obter competência na área das artes gráficas; os dois apresentam atraso da maturação sexual.

Discussão

Dos seis casos de AGI, apenas um teve uma forma de apresentação aguda, encefalopática, na sequência de intercorrência febril, com grave regressão psicomotora. Esta forma aguda é, normalmente, a mais comum, representando 75% dos casos^(1, 11, 15). Os doentes podem ter um desenvolvimento psicomotor considerado normal até que, entre os 6 e 18 meses, sofrem uma crise aguda like-encefalite após um quadro infeccioso e febril^(1-6, 11, 15). A recuperação é lenta e incompleta, seguindo-se um processo neurodegenerativo com distonia, coreoatetose, ataxia, disquinesia, espasticidade, convulsões e regressão psicomotora muito grave^(3-7, 11, 13, 15), como foi o caso da doente MSCB.

Quatro pacientes tiveram uma forma de apresentação crónica, com atraso de desenvolvimento desde os primeiros meses de vida, mais notório nas aquisições motoras. Esta forma representa 20-30% dos casos de AGI, com hipotonia, distonia e macrocênea, num quadro frequentemente interpretado como paralisia cerebral distónica progressiva^(1-5, 7, 11, 15), com alguma preservação do intelecto

(1, 3-5, 15) e alterações da linguagem (1). Os pediatras devem ter especial atenção com as paralisias cerebrais tipo distónico (2).

Um doente esteve sempre assintomático até o diagnóstico ter sido sugerido pelas alterações do TAC-CE. Estão descritos pacientes, não tratados, que se mantêm sem sintomatologia (5). Contudo, frequentemente os doentes pré-sintomáticos apresentam retrospectivamente alguns sinais e sintomas não valorizados devidamente como: hipotonia, irritabilidade, vômitos, dificuldades alimentares, movimentos e postura particular das mãos e macrocrânea (1, 3, 5, 7, 11, 15). A macrocrânea pode ser detectada ao nascer ou iniciar-se pouco depois, com velocidade de crescimento superior à do peso (3, 5, 11, 13, 15).

Quatro dos nossos doentes tiveram ao nascer um PC elevado, nos dois restantes a macrocrânea iniciou-se nos meses imediatos ao nascimento. Actualmente todos têm «cabeça grande», com valores de PC superiores ao P75, três dos quais bem acima do P97. A macrocrânea não é constante mas muito frequente (2, 4, 5, 15), com maior expressão entre os 3 e os 9 meses (11, 13). Quando presente, especialmente se acompanhada de progressivas alterações atroficas da neuro-imagem e/ou disquinésia aguda ou atraso motor subagudo, com progressiva coreoatetose e distonia, a hipótese de AGI é muito forte (2).

Nenhum doente sofreu crise metabólica, Reye-like, que é forma rara de apresentação da doença com hepatomegália, cetose, hipoglicémia, hiperamoniémia, transaminases elevadas, deficiência secundária de carnitina, esteatose microvesicular e grande mortalidade (3-5, 11, 13, 15).

Um dos doentes teve grave regressão psicomotora após uma intervenção neurocirúrgica cerebral, aos 8 meses. Nestes doentes, os traumatismos cranianos, por vezes mínimos, e as intervenções neurocirúrgicas podem ter consequências devastadoras (3, 5, 11, 15).

Todos os pacientes foram sujeitos a estudos de neuro-imagem tendo alguns deles executado múltiplos exames ao longo de meses ou anos antes do diagnóstico. As alterações apesar de sugerirem o diagnóstico em três doentes, não foram correcta e atempadamente interpretadas em exames anteriores. Ora, os achados neuroradiológicos são determinantes, como: atrofia frontotemporal com opérculo aberto, alargamento das valas sílvicas, perda neuronal do caudado e putamen, alterações espongiiformes da substância branca, derrames subdurais e hematomas, atraso de mielinização e pseudo quistos subependimários (1, 2, 4, 5, 7, 11, 13, 15), em concordância, aliás, com as alterações descritas nos nossos doentes. As colecções subdurais e hematomas com ou sem hemorragia retiniana podem levantar suspeitas de maus tratos (3, 5, 7, 11, 13, 15).

O mecanismo do dano cerebral, sua especificidade quanto à idade e topografia da neurodegenerescência, continua em discussão. A investigação humana e animal aponta

para um mecanismo de excitotoxicidade (6, 9, 10, 11). Os gânglios basais são especificamente afectados, particularmente o caudado e putamen, muito sensíveis aos glutaratos e, em especial, ao 3-OH-glutárico (3, 5-11). A toxicidade do 3-OH-glutárico é mediada pelo subtipo NR2B dos receptores NMDA, em associação com produção energética mitocondrial alterada, excessiva despolarização das membranas, influxo de Ca⁺⁺ que origina disfunção mitocondrial, agressão e morte celular (3, 6, 9).

O diagnóstico clínico definitivo só foi possível após confirmação bioquímica da anomalia metabólica, pela análise do perfil dos ácidos orgânicos urinários, utilizando-se a cromatografia gás-líquido acoplada a um espectrómetro de massa. A identificação inequívoca dos metabolitos marcadores da AGI permite o diagnóstico bioquímico. Todos os nossos doentes se comportaram como casos típicos apesar da variabilidade dos teores dos metabolitos excretados. O ácido 3-OH-glutárico é o metabolito crucial para o diagnóstico uma vez que é detectado em quantidade vestigial em circunstâncias normais; a sua presença na urina, plasma ou liquor torna o diagnóstico praticamente certo (3-10, 12, 13). Contudo, estão descritos doentes com excreção intermitente, moderada ou vestigial dos metabolitos patognomónicos, o que dificulta o diagnóstico (1, 5). A análise destes metabolitos por cromatografia gasosa/espectrometria de massa e diluição isotópica tem sido utilizada dada a elevada sensibilidade desta metodologia (3, 5, 7, 12). Nos casos bioquimicamente incaracterísticos, o diagnóstico passa pela determinação da actividade da enzima GCDH nos fibroblastos ou leucocitos (1, 2, 4, 5, 17). A pesquisa de mutações permite igualmente o diagnóstico, caso estejamos na presença de mutações conhecidas (1, 2, 5, 16).

O teor da carnitina plasmática, total e livre, encontra-se frequentemente diminuído nestes pacientes (3-5, 11, 13, 15). Nos nossos doentes verificou-se esta alteração metabólica secundária, a qual é devida ao facto do organismo utilizar como mecanismo de destoxificação a esterificação dos metabolitos tóxicos com a carnitina (3-5, 14). A maior solubilidade facilita a eliminação.

O diagnóstico pré-natal é hoje possível nas famílias com um caso index, quer através da determinação da actividade enzimática nos amniócitos e vilosidades coriônicas, quer da análise dos metabolitos no líquido amniótico, ou da pesquisa de mutações.

Todos os pacientes foram caracterizados molecularmente. A mutação R402W foi a detectada com maior frequência nos nossos doentes, 5 em 8 alelos, e está associada ao haplotipo 4. Esta mutação é prevalente na Europa, com uma frequência estimada de 12 a 20% (1, 3, 5, 17, 21). A mutação R402W em Portugal, Espanha e Itália partilha o mesmo haplotipo, o que sugere um possível «founder-effect» no Sul da Europa (22). Todos os doentes revelaram ser heterozigotos compostos, excepto JSC que

é homocigoto para a mutação R402W. Este doente, sempre assintomático e com macrocêfala após o período de RN, foi o que teve menor excreção de 3-OH-glutárico e alto teor de ácido glutárico. A doente MSCB, que sofreu grave crise encefalopática, é heterocigota composta, portadora das mutações R227P e R402W e revelou uma excreção baixa de ácido glutárico, mas um nível de ácido 3-OH-glutárico cerca do dobro do de JSC. Este facto reforça a noção de toxicidade que é atribuída a este ácido orgânico. Publicações recentes ^(1, 22, 23) sugerem que a presença da mutação R227P esteja associada a uma diminuta excreção de ácido glutárico, e que a homocigotia para a mutação R402W, pelo contrário, venha associada a uma excreção elevada deste metabolito, efeito observado nos nossos doentes portadores dos génotipos referidos.

Todos os pacientes foram sujeitos a dieta hipoproteica e tratamento medicamentoso. O objectivo é prevenir as crises encefalopáticas ou metabólicas e a progressão da deterioração neurológica ⁽⁵⁾. O início precoce do tratamento, de preferência na fase assintomática, é essencial. A dieta hipoproteica (isenta de lisina e pobre em triptófano) não previne só por si as descompensações; a suplementação em carnitina é mandatória ⁽⁵⁾. A dieta melhora o desenvolvimento psicomotor; a distonia piora com o aumento do aporte proteico ⁽⁵⁾. É de primordial importância fornecer energia suficiente e manter bom estado nutricional; os movimentos musculares, a distonia e a sudorese aumentada necessitam energia e maior aporte de líquidos ^(5, 15). Quatro doentes têm malnutrição moderada e dois um estado nutricional normal, precisamente os com menor tempo de dieta, 4 e 19 meses, respectivamente.

Todos foram medicados com carnitina e riboflavina. A terapêutica com carnitina é indispensável não só no quotidiano como, em doses superiores, nas descompensações. Na maioria dos casos a carnitina plasmática, total e livre, está diminuída devido a perdas excessivas de glutaril-carnitina pela urina ^(3-5, 11, 13, 15). Nas descompensações os níveis plasmáticos poderão ser ainda mais baixos com deficiência aguda ⁽⁵⁾. A riboflavina é utilizada na dose de 100-200 mg/dia como cofactor da enzima GCDH ⁽⁵⁾. Os doentes com distonia mais grave, metade dos casos, foram medicados com baclofen, com boa tolerância e melhoria sintomática. O baclofen pode melhorar a função motora reduzindo o tónus muscular ⁽¹⁵⁾, em certos casos pode surgir agravamento da hipotonia truncal.

Deve evitar-se o valproato pois este compete com o ácido glutárico na esterificação com a carnitina ^(5, 15).

O tratamento das intercorrências febris deve ser enérgico e imediato para evitar dano cerebral irreversível. Atenção às vacinas, diarreia, vômitos, febre, traumatismos cranianos e má nutrição ⁽⁵⁾. Ao primeiro sinal de doença restringir ou parar o aporte de proteínas naturais, aumentar o valor calórico especialmente à custa dos hidratos de

carbono, duplicar o aporte de carnitina. Se não houver melhoria a hospitalização impõe-se para corrigir a acidose, a hipoglicémia, manter o Na > 140, o bicarbonato > 22 e o pH > 7.35, combater a febre, dar carnitina IV, soros IV com electrolitos e glucose ^(5, 15).

Com os cuidados acima referidos nenhum dos doentes sofreu qualquer crise de descompensação desde o diagnóstico e início da terapêutica.

Em conclusão, a AGI é uma doença grave, tratável, em que o quadro neurológico pode ser prevenido ou melhorado com estratégia terapêutica apropriada. Desgraçadamente a doença é com frequência não diagnosticada ou erradamente interpretada ⁽¹⁵⁾.

Agradecimento: Os autores agradecem à Dra. Antonia Ribes do Institut de Bioquímica Clínica, Barcelona (Espanha), a efectivação do estudo molecular nos nossos doentes.

Bibliografia

- Ribes A, Busquets C, Coll MJ. Aciduria Glutarica Tipo I. In: AECOM ed. III Congreso Nacional Errores Innatos del Metabolismo (soporte bibliografico), 1999: 233-5.
- Pineda M, Ribes A, Busquets C, Vilaseca MA, Aracil A, Christensen E. Glutaric aciduria type I with high residual glutaryl-CoA dehydrogenase activity. *Develop Med Child Neurol* 1998; 40: 840-2.
- Hoffmann GF, Zschocke J. Glutaric aciduria type I: From clinical, biochemical and molecular diversity to successful therapy. *J Inher Metab Dis* 1999; 22: 381-91.
- Goodman SI, Frerman FE. Glutaric Acidemia (Type I). In: Scriver R, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, ed. *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease*. McGraw-Hill, Inc, 7th ed. 1995: 1454-60.
- Baric I, Zschocke J, Christensen E, Duran M, Goodman SI, Leonard JV, Muller E, Morton DH, Superti-Furga A, Hoffmann GF. Diagnosis and management of glutaric aciduria type I. *J Inher Metab Dis* 1998; 21: 326-40.
- Kolker S, Ahlrmeyer B, Krieglstein J, Hoffmann GF. 3-Hydroxy glutaric and glutaric acids are neurotoxic through NMDA receptors in vitro. *J Inher Metab Dis* 1999; 22: 259-62.
- Baric I, Wagner L, Feyh P, Liesert M, Buckel W, Hoffmann GF. Sensitivity and specificity of free and total glutaric and 3-hydroxyglutaric acid measurements by stable-isotop dilution assays for the diagnosis of glutaric aciduria type I. *J Inher Metab Dis* 1999; 22: 855-66.
- Liesert M, Zschocke J, Hoffmann GF, Muhlhauser, Buckel W. Biochemistry of glutaric aciduria type I: Activities of in vitro expressed wild-type and mutant cDNA encoding human glutaryl-CoA dehydrogenase. *J Inher Metab Dis* 1999; 22: 256-8.
- Ullrich K, Flott-Rahmel B, Schluff P, Musshoff U, Das A, Lucke T, Steinfeld R, Christensen E, Jakobs C, Ludolph A, Neu A, Roper R. Glutaric aciduria type I. Pathomechanisms of neuro degeneration. *J Inher Metab Dis* 1999; 22: 392-403.
- Flott-Rahmel, Falter C, Schluff P, Fingerhut R, Christensen E, Jakobs C, Musshoff U, Fantek JD, Denfel T, Ludolph A, Ullrich K. Nerve cell lesions caused by 3-hydroxyglutaric acid: A possible mechanism for neurodegeneration in glutaric acidemia I. *J Inher Metab Dis* 1997; 20: 387-90.

11. Hoffmann GF. Glutaric Aciduria Type I and related Cerebral Organic Acid Disorders. In: Fernandes J, Saudubray J-M, van den Bergh G, ed. *Inborn Metabolic Diseases*, 2th ed., Springer, 1996: 229-36.
12. Baric'I Wagner L, Buckel W, Hoffmann GF. Sensitivity of free and total glutaric and 3-OH-glutaric acid measurements by stable isotope dilution-assays for the diagnosis of glutaric aciduria type I. *J Inher Metab Dis* 1997; 20; 1: 34.
13. Nyhan WL, Ozand PT. 7. Glutaric Aciduria (Type I). In: *Atlas of Metabolic Diseases*. Chapman & Hall Medical, 1998: 46-52.
14. Christensen E, Ribes A, Busquets C, Pineda M, Duran M, Poll-The BT, Greenberg CR, Leffers H, Schwartz M. Compound heterozygosity in the glutaryl-CoA dehydrogenase gene with R227P mutation in one allele is associated with no or very low free glutarate excretion. *J Inher Metab Dis* 1997; 20: 383-6.
15. Hoffmann GF, Athanassopoulos S, Burlina AB, Duran M, Klerk JBC, Lehnert W, Leonard JV, Monavari AA, Muller E, Muntau AC, Naughten ER, Plecko-Starting B, Superti-Furga A, Zschocke J, Christensen E. Clinical Course, Early Diagnosis, Treatment and Prevention of Disease in Glutaryl-CoA Dehydrogenase Deficiency. *Neuropediatrics* 1996; 27: 115-23.
16. Busquets C, Coll MJ, Christensen E, Campistol J, Clusellas N, Vilaseca MA, Ribes A. Feasibility of molecular prenatal diagnosis of glutaric aciduria type I in chorionic villi. *J Inher Metab Dis* 1998; 21: 243-6.
17. Goodman SI, Stein DE, Schlesinger S, Christensen E, Schwartz M, Greenberg CR, Elpeleg ON. Glutaryl-CoA Dehydrogenase Mutations in Glutaric Acidemia (Type I): Review and Report of thirty Novel Mutations. *Hum Mut* 1998; 12: 141-4.
18. Renner C, Razeghi S, Uberall MA, Hartmann P, Lehnert W. Clinically asymptomatic glutaric aciduria type I in a 4 5/12-year-old girl with bilateral temporal arachnoid cysts. *J Inher Metab Dis* 1997; 20: 840-1.
19. Duran M, Ketting D, van Vossen R, Beckering TE, Dorland L, Bruinvis L, Wadman SK. Octanoylglucuronide excretion in patients with a defective oxidation of medium-chain fatty acids. *Clin Chim Acta* 1985; 152: 253-60.
20. Busquets C, Soriano M, Tavares de Almeida I, Garavaglia B, Rimoldi M, Rivera I, Uziel G, Cabral A, Josep Coll M, Ribes A. Mutation analysis of the GCDH gene in Italian and Portuguese Patients with Glutaric Aciduria Type I. *Mol Genet Metab* 2000; 71: 535-7.
21. Busquets C, Coll MJ, Ribes A. Evidence of a single origin for the most frequent mutation (R402W) causing glutaryl-CoA dehydrogenase deficiency: identification of 3 novel polymorphisms and haplotype definition. *Hum Mutat* (in press).
22. Busquets C, Soriano M, Tavares de Almeida I, Garavaglia B, Rimoldi M, Rivera I, Uziel G, Coll MJ, Ribes A. Mutation Analysis of GCDH Gene in Italian and Portuguese Patients with Glutaric Aciduria Type I: Identification of three novel Mutations and Reinforcement of the common origin Hypothesis for Mutation R402W. *Hum Mut* (in press).
23. Busquets C, Merinero B, Christensen E, Gelpi J, Campistol J, Pineda M, Fernández-Alvarez E, Pratzs J, Sans A, Arteaga R, Marti M, Campos M, Martinez-Pardo M, Martinez-Bermejo A, Ruiz-Falco M, Vaquerizo J, Orozco M, Ugarte M, Coll MJ, Ribes A. Glutaryl-CoA dehydrogenase deficiency in Spain: Evidence of two groups of patients, genetically and biochemically distinct. *Pediatr Res* (in press).