



FACULDADE DE CIÊNCIAS DA NUTRIÇÃO E ALIMENTAÇÃO
UNIVERSIDADE DO PORTO

**Intervenção Nutricional na Acidúria 3-Hidroxi-3-Metilglutárica
(3HMG, McKusick: 246450)**

**Nutritional Intervention in 3-Hydroxy-3-Methylglutaryl-Coenzyme A
Lyase Deficiency (3HMG, McKusick:246450)**

Patrícia Sofia Lima e Costa

Orientada por: Dr.^a Carla Vasconcelos

Monografia

Porto, 2008/2009

Dedicatória

Dedico este trabalho à minha família e amigos pelo apoio ao longo destes anos.

Agradecimentos

À Dr.^a Carla Vasconcelos por todo o carinho com me acolheu, pela sua dedicação e pelos bons momentos que me proporcionou ao longo deste período de estágio e que por tudo isso me pareceu demasiado curto.

À Mestre Diana Silva, ao Prof. Doutor António Guerra e Dr.^a Elisa pelo prazer de ter trabalhado com eles e pela boa disposição.

Ao pessoal do Serviço.

Índice

Dedicatória.....	i
Agradecimentos.....	ii
Lista de Abreviaturas.....	iv
Resumo em Português e Inglês.....	v
Palavras-Chave em Português e Inglês.....	v
1. Introdução.....	1
2. Definição.....	3
3. Genética.....	3
4. Apresentação Clínica e Evolução.....	7
5. Complicações da Doença.....	11
6. Metabolismo.....	13
7.Tratamento.....	15
-Fase Aguda.....	15
a)Via Oral.....	17
b)Via Intravenosa.....	18
c)Avaliação/Monitorização.....	19
d)Reintrodução da Alimentação Oral.....	19
-A Longo Prazo.....	20
8. Diagnóstico Pré-Natal.....	24
9. Recomendações Nutricionais.....	26
10. Conclusão.....	27
11. Referências Bibliográficas.....	28
12. Índice de Anexos.....	33

Lista de Abreviaturas

HMGCL- Gene codificante da enzima 3- hidroxi-3-metilglutaril-CoA líase

HL- Enzima 3-Hidroxi-3 Metilglutaril Co-A líase

3HMG- Acidúria 3-Hidroxi-3-Metilglutárica

HMG-CoA líase- 3-Hidroxi-3-metilglutaril Coenzima A líase

SNP's -Polimorfismos singulares de nucleótidos

GC-MS –Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa

Resumo

A Acidúria 3-hidroxi-3-metilglutárica (3HMG, McKusick:246450) é uma doença hereditária do metabolismo final da leucina e da via cetogénica por deficiência de actividade da enzima mitocondrial 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA líase (HL). É uma doença de transmissão autossómica recessiva, com prevalência mais elevada nas populações Árabes e é a acidúria orgânica mais frequente na população Portuguesa.

Normalmente manifesta-se durante o 1º ano de vida, com sintomatologia dominada por vómitos, hipotonia e letargia, até quadros mais graves de convulsões, coma, hepatomegalia ou quadros Reye-like.

O estudo bioquímico específico com a avaliação do perfil de acilcarnitinas (sangue seco em papel) e de ácidos orgânicos urinários permite o registo de padrões característicos com elevação variável das transaminases. O diagnóstico final é confirmado pela determinação da actividade enzimática em leucócitos e fibroblastos e/ou por estudos de biologia molecular para caracterização mutacional.

A abordagem terapêutica baseia-se na evicção do jejum, numa dieta controlada tanto a nível lipídico (dieta hipolipídica) como a nível proteico (dieta hipoproteica, com controlo de leucina) e suplementada em hidratos de carbono e aminoácidos essenciais, para além de vitaminas e minerais adequados à idade e sexo; complementarmente é utilizada terapêutica farmacológica que inclui a utilização de carnitina.

Palavras-Chave acidúria orgânica; 3-hidroxi-3-metilglutárica; 3-hidroxi-3-metilglutaril CoA líase; quadros Reye-like; ácidos orgânicos urinários.

Abstract

3-Hidroxy-3-Methylglutaric aciduria (3HMG, McKusick:246450) is a genetic disorder that affects the final step of leucine catabolism and ketogenic pathways and it is caused by deficiency of the mitochondrial enzyme 3-hydroxy-3-methylglutaryl CoA lyase (HL). It is a rare autosomal recessive disease relatively common in Arabic populations and the most frequent organic aciduria in the Portuguese population.

Generally appears during the first year of life with vomiting, hypotonia, lethargy, and also with seizures, hepatomegaly or clinical manifestations similar with Reye-like syndrome.

A preliminary diagnosis of HL deficiency may be indicated by an abnormal acylcarnitines profile or by the characteristic urinary organic acid profile which include a variable elevation of transaminases. The confirmation of HL deficiency requires direct assay of the enzyme activity in leukocytes, fibroblast or liver biopsy. Molecular diagnosis requires the analyses of the HMGCL gene.

The therapeutic is based on a diet restrict in protein (mainly leucine) and lipids, high in carbohydrate content, with avoidance of fasting, and supplementation of carnitine, vitamins and minerals and essential amino acids, adjusted to age and sex.

Key-Words: organic aciduria; 3- hydroxy-3-methylglutaric; 3-hydroxy-3-methylglutaryl CoA lyase; Reye-like syndrome; urinary organic acids.

1. Introdução

A deficiência hereditária da enzima mitocondrial e peroxisomal⁽¹⁾ 3- hidroxi-3-metilglutaril-CoA líase (HL) é uma doença autossómica recessiva rara⁽²⁾ que participa no metabolismo final da L-leucina⁽¹⁾ e na produção de corpos cetónicos⁽³⁾ provenientes do metabolismo dos ácidos gordos⁽⁴⁾.

Inicialmente descrita por Faul e colaboradores em 1976⁽⁵⁾, trata-se de uma acidúria orgânica de carácter panétnico⁽⁶⁾, com incidência elevada em populações Árabes, representando cerca de 16% de todas as acidúrias orgânicas desses países^(7, 8). É a acidúria mais frequente na população Portuguesa, nomeadamente na zona Norte do país⁽¹⁾.

A deficiência de HL é caracterizada por episódios recorrentes de descompensação metabólica⁽⁹⁾, durante os quais se observam sintomas de hipoglicemia, hiperamonemia, acidose metabólica acentuada e ausência de cetonúria⁽¹⁰⁾. Na maioria dos casos, estes sintomas aparecem durante o primeiro ano de vida⁽³⁾. Formas tardias de apresentação inicial foram reportadas durante o período de infância e adolescência mas não em adultos⁽³⁾.

Como manifestações clínicas, surgem durante o período neonatal, quadros clínicos semelhantes ao síndrome de 'Reye-Like'^(11, 12), episódios agudos de vómitos, letargia, hipoglicemias, hipocetose⁽¹³⁾, convulsões, hepatomegalia e hipotonia por vezes com apneia e coma⁽⁹⁾.

1

Esta doença apresenta um perfil cromatográfico de ácidos orgânicos urinários padrão⁽⁷⁾ caracterizado por uma elevação variável das transaminases bem como valores diminuídos de carnitina na sua forma livre⁽⁴⁾, sendo uma doença fatal em aproximadamente 20% dos casos diagnosticados⁽¹⁴⁾. Assim, é crucial um diagnóstico precoce uma vez que se trata de uma doença tratável desde que seja instituída uma dieta específica.⁽¹⁾

A terapêutica nutricional consiste numa dieta restrita em proteína (principalmente em leucina) e lípidos, rica em hidratos de carbono e suplementada com carnitina⁽¹⁰⁾. A administração nocturna de amido crú após o 1º ano de idade também faz parte do tratamento nutricional sendo fundamental para a manutenção do equilíbrio metabólico e na prevenção de hipoglicemias.⁽¹⁵⁾ Desta forma, é possível atingir um bom desenvolvimento cognitivo e um crescimento de acordo com o recomendado ^(16, 17).

2. Definição

A acidúria orgânica 3HMG, é um erro hereditário do metabolismo final da leucina e cetogénese ⁽¹⁶⁾ por deficiência da enzima 3-hidroxi-3-metilglutaril CoA líase (HL).

Normalmente manifesta-se durante o primeiro ano de vida⁽¹⁸⁾ e apresenta-se clinicamente como síndrome de 'Reye-Like' ^(19, 20).

A prevalência da 3HMG é menor que 1/100,000 nados vivos, apesar de muitas vezes ser confundida com morte súbita e síndrome de Reye.⁽²¹⁾

As causas da doença são mutações no gene que codifica a enzima HMG-CoA líase sendo as mutações E37X e V168fs(-2), comuns em indivíduos da Península Ibérica ancestrais^(2, 22).

3. Genética

A acidúria 3-hidroxi- 3-metilglutárica (3HMG, McKusick: 2464650), é uma doença de transmissão autossómica recessiva, afectando igualmente indivíduos do sexo feminino e masculino.⁽²³⁾ É uma patologia frequente na Arábia Saudita e na Península Ibérica, onde duas mutações (122G>A e 109G>A) foram identificadas em 87% e 94% dos casos, respectivamente. Na maioria dos países, alguns indivíduos afectados apresentavam um nível elevado de heterogeneidade alélica.⁽²¹⁾

2

Trata-se de uma doença causada por mutações no gene HL(HMGCL), tendo os indivíduos geneticamente afectados pela deficiência desta enzima, uma capacidade reduzida de produção de corpos cetónicos. O gene HMGCL, (*Genomic Accession No. NT_004610.17*), codificante da enzima mitocondrial HMG-CoA líase está localizado no cromossoma 1, entre a posição 1p36.1-p35, entre *FUCA1* e *TCEB3* e possui 9 exões, 8 intrões e 24,336 pares de bases ⁽²¹⁾.

Foram identificadas até à data 31 variações nos alelos do gene HMGCL, das quais 29 são mutações e 2 são polimorfismos singulares de nucleótidos (SNP's) em 93 pacientes (tratando-se um deles de um aborto). ⁽²¹⁾

Na região codificante, as mutações missense são as mais frequentes, estando incluídas as mutações H233R, R41Q, D42G e recentemente, a mutação E279K, esta última bastante frequente entre a população japonesa^(8, 24). Seguidamente, encontram-se as mutações nonsense, entre as quais se encontra a mutação G109T ('mutação mediterrânica'). Esta mutação pode ser responsável pelo '*aberrant splicing*' com três variações de RNAm: uma com o tamanho esperado, uma com deleção do exão 2 e uma terceira com deleção dos exões 2 e 3. ⁽²¹⁾

Puisac e colaboradores, propuseram um modelo 3D de estrutura $(\beta-\alpha)_8$ - *TIM Barrel* - para a HL humana, no qual estudaram o efeito das deleções dos exões 2 e 2 e 3. Verificaram que o *skipping* do exão 2 levou à perda da folha β 1, e a do exão 2 e 3 levou ao desaparecimento da α -hélice 1 e folhas β 1 e 2. ⁽²⁵⁾ Segundo Mir, a maior parte das mutações missense identificadas estão

2

4

localizadas nas folhas β que definem a cavidade interior. Defende ainda que, há mutações que impedem a catalização pelo bloqueio da entrada da cavidade interior da enzima, e consequentemente, ocorre a perda da funcionalidade da mesma.⁽²²⁾

Seguem-se ainda, nas mutações mais frequentes, as deleções *frameshit* ou inserções e grandes deleções. As mutações estão uniformemente distribuídas ao longo das sequências genéticas, apesar de se observar algum *clustering* no exão 2, o que o pode tornar num sítio crítico para mutações.⁽²¹⁾

Pié et al., identificaram uma mutação em dois pacientes homozigóticos (um português e um marroquino) relacionada com o exão 2. Uma mutação nonsense foi identificada numa sequência rica em purina, no meio do exão 2 do gene HL: uma transversão G-T que originou um codão STOP UAA. A proteína traduzida pelo RNAm com a mutação é uma proteína truncada incapaz de catalisar a reacção enzimática da HL.⁽²⁶⁾

Por sua vez Mitchell et al., observaram diversidade genética entre 9 pacientes árabes com deficiência de HL, 6 dos quais eram homozigóticos para a mutação R41Q e 2 homozigóticos para a mutação *frameshit* F30Efs(-2). Em outros 32 pacientes não árabes, identificaram mutações deletérias nos codões 41 e 42: R41X, D42E, D42G e D42H, sendo estas mutações responsáveis por uma diminuição da actividade da enzima HL⁽⁷⁾.

Recentemente, foram publicadas as estruturas da enzima HL humana e bacteriana, de forma a obter uma localização mais exacta das mutações e um melhor conhecimento dessas alterações na funcionalidade da enzima.⁽²⁴⁾

4

5

A estrutura em cristal confirma a presença de um domínio adicional COOH com importância na estrutura e resíduos da funcionalidade da enzima e oligomerização dos processos.⁽²¹⁾

O número de casos de acidúria 3HMG na população portuguesa é maior que nas restantes populações europeias, tendo sido identificados pelo menos 14 casos em Portugal e 12 casos em emigrantes portugueses em todo o mundo⁽¹⁾.

A mutação E37X (c.1096 G>T), localizada no exão 2, inicialmente reportada por Pié et al. é uma mutação comum na população portuguesa e brasileira com 3HMG, tendo sido uma das primeiras mutações a ser descoberta. Há na literatura mais de 40 casos reportados com a mutação E37X, em indivíduos árabes e espanhóis. O levantamento da hipótese de que esta mutação foi introduzida em Portugal durante as invasões árabes na Península Ibérica no octagésimo centenário, é pertinente.^(1, 21)

De acordo com um estudo desenvolvido por Cardoso et al., realizado em famílias não relacionadas da zona Norte de Portugal, 84% da população alvo possuía a mutação E37X nos cromossomas. A elevada frequência da mutação torna útil o desenvolvimento de uma confirmação molecular rápida e específica de novos casos com deficiência de HL em Portugal.

No entanto, coorelações genótipo-fenótipo são difíceis de estabelecer, uma vez que, a evolução da doença parece mais relacionada com as causas de hipoglicemia (jejum, infecções) do que com o genótipo particular.⁽²¹⁾

5

4. Apresentação clínica e evolução

A apresentação clínica da acidúria 3HMG aparece normalmente nos primeiros dias ou meses de vida, embora possa haver casos assintomáticos até a adolescência.⁽²⁷⁾ Aproximadamente 30% dos doentes tornam-se sintomáticos durante o período neonatal e aproximadamente 60% entre os 3 e os 12 meses de idade.⁽⁶⁾

O quadro clínico mais evocado e comum é caracterizado por sintomas de vômitos, hipotonia, convulsões, hepatomegalia, letargia, entre outros. Cerca de 10% podem evoluir até apneia e coma^(12, 28). Esta apresentação clínica é mandatória em relação à evolução. Associadas à acidúria 3HMG, aparecem também casos de cardiomiopatia fatal e síndrome de morte súbita infantil.⁽¹⁴⁾

Do ponto de vista bioquímico, e em crise, o doente regista hipoglicemia hipocetótica e acidose metabólica. Alterações hepáticas, hiperlactacidemia e hiperamoniémia podem também ocorrer.

As crises agudas, tendem a ocorrer quando não há ingestão exógena de glicose (jejum) ou quando a metabolização de glicose é excessiva (condições de stress metabólico, febre e exercício).^(21, 29) São, portanto, factores precipitadores desta doença situações de infeccção, períodos prolongados de jejum, de sobrecarga, de catabolismo e de vacinação⁽³⁰⁾.

Segundo Gibson, o rastreio de doenças metabólicas é um processo sequencial que envolve a avaliação clínica do doente, determinação dos níveis plasmáticos de carnitina, análise dos níveis de ácidos orgânicos

5

urinários e estudos enzimáticos em culturas ou células periféricas isoladas.⁽³¹⁾

O diagnóstico laboratorial de uma doença metabólica pode ser efectuado a vários níveis: bioquímico, enzimático e molecular.

O primeiro passo no diagnóstico bioquímico deve ser a determinação dos níveis de ácidos orgânicos urinários, que nesta doença, têm um perfil cromatográfico característico de níveis elevados de ácidos: 3-hidroxi-3-metilglutárico, 3- metilglutacónico, 3-hidroxi-isovalérico e 3-metilglutárico.^{(12,}

³²⁾ Este último é derivado da hidrólise de 3-hidroxi- 3-metilglutaril CoA que se acumula devido à deficiência da enzima HL. Trata-se de um metabolito derivado tanto do catabolismo da leucina como da cetogénese, proveniente da oxidação de ácidos gordos.⁽²³⁾ Durante crises agudas, o ácido glutárico pode estar elevado^(23, 33), explicado pela inibição do metabolismo da enzima glutaril-CoA desidrogenase pelos ácidos 3-metilglutárico e 3-metilglutacónico⁽¹⁰⁾.

Para além da determinação bioquímica dos ácidos orgânicos urinários, a confirmação do diagnóstico pode também ser efectuada pela determinação das acilcarnitinas: 3-metilglutarilcarnitina e 3-hidroxiisovalerilcarnitina em sangue seco em papel (cartão de Guthrie).

Concentrações elevadas de 3-metilglutarilcarnitina podem também ser detectadas, associadas a uma excreção urinária aumentada dos ácidos pirúvico, láctico e dicarboxilados.⁽³⁰⁾ A excreção de 3-metilglutarilcarnitina pode, em parte, explicar a deficiência secundária em carnitina verificada nesta doença.⁽⁴⁾

5

5

Relativamente à concentração urinária média do ácido 3-hidroxi-3-metilglutárico, esta, em doentes controlados, apresenta um valor médio de 130 mmol/mole de creatinina e em doentes em crise metabólica o valor médio pode elevar-se a 11,000 mmol/mole de creatinina.⁽²³⁾

Gibson e colaboradores, num estudo realizado em culturas de fibroblastos e linfócitos, defendem que deve ser realizado um estudo enzimático da actividade da HL em qualquer doente que apresente excreções continuamente acima do valor normal dos ácidos orgânicos anteriormente referidos.⁽³⁰⁾

Existem várias técnicas para o diagnóstico da acidúria 3HMG, entre elas, uma técnica não radioquímica, HPLC (High Performance Liquid Chromatographic)⁽³⁴⁾, efectuada na urina, com detecção ultravioleta para identificação e quantificação dos ácidos orgânicos urinários. Esta é uma técnica que envolve a extracção da urina com acetato de etilo, desidratação dos resíduos de extração e trimetilação. Os ácidos orgânicos, são identificados através de uma lista com os índices de retenção, sendo estes comparados com o perfil cromatográfico de ácidos orgânicos urinários de indivíduos com acidúrias orgânicas bem definidas.⁽³⁵⁾ No entanto, esta técnica não é suficiente para se fazer a distinção entre a acidúria 3-metilglutacónica e a deficiência da HL.⁽²³⁾

Foi desenvolvida por Gibson et al., uma técnica na qual o substrato e o produto eram separados por uma fina camada cromatográfica em celulose. Esta técnica tem como vantagens o facto de ser rápida e de não necessitar

5

5

de uma coluna cromatográfica ou espectrofotómetro, o que a torna acessível a qualquer tipo de laboratório desde que esteja equipado para radioisótopos. Nesta, utilizaram para o estudo enzimático, células como fibroblastos ou linfócitos isolados do sangue dos doentes, de modo a proceder à caracterização do perfil dos ácidos orgânicos urinários. A simplicidade desta técnica é vantajosa tanto para o rastreio clínico como para o rastreio metabólico em laboratório, dado o aumento da frequência da acidúria 3HMG em idade pediátrica.⁽³⁰⁾

Pospisilova et al., por sua vez, compararam duas técnicas de diagnóstico da acidúria 3HMG, a técnica de HPLC e espectrofotometria. Foram analisados os resultados da actividade da enzima HL em três doentes com acidúria 3HMG e respectivos familiares. A actividade da enzima HL em culturas de fibroblastos e/ou linfócitos dos indivíduos em estudo encontrava-se abaixo dos limites de detecção dos métodos usados. Verificou-se que ambos os métodos eram aplicáveis no reconhecimento de heterozigóticos das famílias afectadas, tendo este estudo tido um papel importante na expansão do conhecimento da variabilidade genética da acidúria 3HMG.⁽³⁶⁾

Estudos comprovam que após o tratamento com uma dieta restrita em leucina, a excreção de metabolitos da leucina diminui, no entanto, a excreção dos ácidos 3-metilglutacónico e 3-hidroxi-3-metilglutárico permanece elevada. Desta forma, conclui-se que estes dois metabolitos são necessários para o diagnóstico bioquímico da acidúria 3HMG⁽³⁷⁾.

5

9

O diagnóstico enzimático desta acidúria deve ser demonstrado em linfócitos, leucócitos e/ou fibroblastos de tecidos como, fígado, placenta ou pele e por caracterização mutacional do gene HMGCL^(7, 9, 33) que codifica a enzima HL podendo esta ser útil para a realização de aconselhamento genético de famílias afectadas por esta doença.⁽³⁸⁾

Segundo um estudo desenvolvido por Norman et al., no qual foram quantificados os ácidos orgânicos urinários durante períodos de ingestão alternada entre proteína e gordura, verifica-se que a ingestão de ambas contribui para o aumento da excreção dos ácidos 3-hidroxi-3-metilglutárico, 3-metilglutacónico, 3-metilglutárico e 3-hidroxi-isovalérico. Como conclusão Norman et al. referem que este estudo sugere que crises agudas de hipoglicemias são melhor prevenidas por uma dieta restrita em proteína e gordura.⁽¹⁹⁾

5. Complicações associadas à doença

Como complicações desta doença foram descritas por Muroi, o enfarte cerebral no período neonatal e episódios recorrentes de pancreatite durante a adolescência.⁽³⁹⁾ Sintomas de hiperamonemia são variáveis,⁽⁹⁾ explicados pelo aumento de proteólise devido à falta de corpos cetónicos⁽²¹⁾. A ausência de cetonúria observada nestes doentes⁽²⁸⁾ é explicada pela ausência da enzima que possui um papel fundamental na síntese de corpos cetónicos (ácido acetoacético e 3-OH-butírico).⁽¹⁰⁾

9

9

Na ausência de glicose para suprir as necessidades metabólicas, o organismo recorre ao acetoacetato e 3-hidroxibutirato para obtenção de energia para o cérebro.⁽²¹⁾ Os corpos cetónicos são também substrato da síntese de lípidos como o colesterol na mielina.

É frequente o aparecimento de lesões e múltiplos *focus* de hiperintensidade anormal na substância branca cerebral, muitas vezes acompanhada por atrofia cerebral sendo detectada por ressonância magnética cerebral em doentes com deficiência de HL não assintomáticos.^(29, 33, 40) Recentemente, foi descrito o envolvimento da 3HMG com um caso de uma proeminência do tracto corticoespinal, sendo ainda desconhecido o envolvimento desta doença no cérebro⁽²⁷⁾. Existem dois estudos que procederam ao estudo histológico de pacientes afectados com a acidúria 3HMG, e em ambos se verificou a degeneração espongiiforme e glíose como principais manifestações neurológicas^(41, 42). Van der Knapp, baseado nas suas experiências considerou a hipomielinização e a glíose como factores hipotéticos que contribuem para alterações na substância branca cerebral.⁽⁴³⁾ Uma vez que estes doentes não conseguem metabolizar a cadeia carbonada da leucina nem produzir corpos cetónicos em resposta a um período prolongado de fome⁽²⁷⁾, a leucina pode provocar danos cerebrais.⁽⁴⁴⁾ Quando tratada precocemente, as lesões cerebrais podem, em alguns casos, ser reversíveis⁽⁶⁾. A deficiência da 3HMG foi também associada ao síndrome de Usher tipo I, ou síndrome de VATER.^(45, 46)

9

9

Assim, a acidúria 3HMG deve ser considerada em crianças aparentemente saudáveis e com um desenvolvimento neurológico normal mas que apresentem convulsões sem causa determinada, devendo ser efectuados exames de ressonância magnética.⁽²⁷⁾

Em suma, o prognóstico destes doentes está normalmente dependente do quadro inicial e suas repercussões neurológicas. Pode evoluir de forma fatal, mas se o diagnóstico for precoce e se houver adequação de atitudes (farmacológicas e dietéticas) e houver controlo nas descompensações, o prognóstico será favorável.

6. Metabolismo

Entende-se por acidúria orgânica, a acumulação de ácidos orgânicos nos líquidos biológicos, com alteração das vias bioquímicas intracelulares e do equilíbrio ácido-base.⁽¹⁵⁾

Indivíduos afectados pela acidúria 3HMG sofrem de alterações em duas áreas do metabolismo. Primeiro, são incapazes de metabolizar por completo a cadeia carbonada da leucina, e segundo, não produzem corpos cetónicos em resposta a um período prolongado de jejum.⁽⁴⁷⁾

A enzima HL funciona como componente do processo de catabolismo da leucina da maior parte das mitocôndrias. No fígado, tem a função adicional de síntese de corpos cetónicos, ácido acetoacético e ácido 3-hidroxibutírico.⁽²³⁾

A enzima HMG-CoA líase de 31,6 kDa, encontra-se na matriz mitocondrial,

9

9

forma um homodímero pela ligação dissulfito entre o aminoácido Cistina³²³ e a porção terminal C da proteína^(1, 48), e catalisa a clivagem do catião divalente da HMG-CoA líase em acetil-CoA e acetoacetato^(9, 49), reacção fundamental na cetogénese. Esta é responsável pela manutenção da energia necessária aos tecidos extrahepáticos, especialmente durante o jejum ou fome. A reacção é também importante no catabolismo da leucina. Reacções semelhantes são catalisadas pela família de enzimas da HL, sendo a Arginina⁴¹ um resíduo das HMG-CoA líases. A mutação deste resíduo (R41Q) traduz-se em acidúria 3HMG.⁽⁴⁹⁾

A clivagem de HMG-CoA líase requer a presença de um catião divalente tal como Mg^{2+} ou Mn^{2+} e um componente tiol, como a glutatona e, trata-se de uma clivagem irreversível.⁽²³⁾ Os catiões divalentes formam a ligação entre o substrato e a proteína alvo.⁽²¹⁾ Aminoácidos como a Histidina²³³, Asparagina⁴² e Glutamato⁷² foram propostos como suporte na ligação do divalente à proteína. Por sua vez, os aminoácidos, Asparagina⁴², Histidina²³³ e Cistina²⁶⁶ são importantes para a eficiência catalítica.⁽²⁴⁾ Um estudo desenvolvido por Roberts e colaboradores, teve como conclusão o facto de pequenas mutações na enzima HL, nomeadamente no aminoácido Histidina²³³, serem suficientes para se observarem as manifestações clínicas desta doença.⁽⁵⁰⁾ Este é considerado o aminoácido principal na catálise da HMG-CoA líase, e na estrutura da enzima, está localizado na folha β -7, atrás da cavidade do substrato. O desenvolvimento de estudos mutacionais em doentes com acidúria 3HMG permitem a detecção de resíduos que são importantes para a

9

actividade da enzima HL.⁽⁵¹⁾

A HL humana é sensível à oxidação, revelando um aumento da actividade em condições reduzidas, e possui um pH óptimo de 9. Wanders et al., observaram que uma significativa actividade da enzima HMG-CoA líase é melhorada em concentrações elevadas de sulfidril e do catião divalente.⁽³⁰⁾ Em condições oxidativas, a enzima pode formar um dímero de dois monómeros idênticos ligados por uma ponte dissulfito, e a sua actividade é perdida.⁽⁵²⁾

Embora a maior parte da enzima HL se encontre nas mitocôndrias, 16-20% está localizada também nos peroxisomas⁽⁵³⁾, sendo o seu papel aqui ainda desconhecido. Sabe-se no entanto que, o pH da HL peroxisomal é mais alcalino e possui uma maior massa molecular que a HL mitocondrial.⁽⁵⁴⁾ Pensa-se que a HL peroxisomal poderá estar envolvida na síntese de colesterol ou na degradação de ácidos gordos de cadeia longa⁽²¹⁾.

7. Tratamento

Fase aguda

Na acidúria 3HMG, a hipoglicemia é considerada uma emergência médica, uma vez que o cérebro se encontra privado da fonte de energia, proveniente tanto de glicose como de gordura (corpos cetónicos).⁽⁶⁾

Uma privação prolongada do aporte de glicose ao cérebro pode levar a danos cerebrais irreversíveis⁽⁶⁾, pelo que é essencial a aplicação de medidas

9

de suporte gerais e rápido restabelecimento da glicemia e da acidose⁽⁴³⁾, administrando altas doses de glicose por via intravenosa.⁽⁵⁵⁾

A nível nutricional, há portanto, de acordo com o carácter de urgência ou semi urgência do doente, diferentes intervenções nutricionais.

Em regime de urgência, a intervenção nutricional baseia-se num elevado aporte de hidratos de carbono (administração intravenosa ou entérica contínua), juntamente com restrição proteica total e lipídica da dieta, o que resulta num aumento do aporte calórico, importante para manutenção do doente em anabolismo. A terapêutica farmacológica com carnitina permite uma adequação com evolução.

A administração de bicarbonato durante as crises agudas, resulta numa rápida correcção do estado metabólico.^(6, 21) Nestas condições é necessário o rápido restabelecimento do estado metabólico do doente.

Sendo assim, em situação de urgência, como medidas gerais de suporte considera-se a estabilização hemodinâmica, hidroelectrolítica e equilíbrio ácido-base.

Uma vez realizado o plano inicial de avaliação, no qual é efectuada uma cuidada avaliação clínica, incluindo a avaliação da pressão arterial e da escala de coma de Glasgow (ainda que o doente não apresente sinais de encefalopatia) devem ainda ser realizadas várias análises, especificamente ao pH na gasometria, determinação da glicemia e ureia e electrólitos.

Quanto à intervenção, esta deve ser baseada na situação clínica do doente, de forma a ser tomada a decisão do melhor modo do doente ser

9

tratado. Relativamente à intervenção terapêutica, os factores que influenciam a decisão incluem a situação clínica do doente bem como a história clínica do mesmo (historial de crises agudas).

Se o doente se encontrar clinicamente estável, este deve ser tratado por via oral, não descuidando uma avaliação constante do mesmo. Se pelo contrário, o doente se encontrar clinicamente instável, deve ser tratado por via intravenosa. Em caso de dúvida, deve recorrer-se à via intravenosa. ⁽⁶⁴⁾

Em regime de semi-urgência, é importante o ensino/treino familiar no reconhecimento de situações de febre, vacinação entre outras, de modo a actuar preventivamente. A administração oral de líquidos açucarados, um aporte proteico e lipídico restrito e um aporte calórico aumentado por hidratos de carbono são medidas preventivas ou de início de sintomatologia. Nestas situações, recomenda-se uma vigilância de evolução (clínica e analítica) e posteriormente, a retoma progressiva da dieta anterior.

a) Via Oral

Se o doente se encontrar clinicamente estável e sem vômitos a opção da via oral é viável. Note-se que em alguns casos pode ocorrer precocemente a recusa em beber, pelo que nestas situações, se deve recorrer a uma sonda nasogástrica, evitando assim a via intravenosa.

No caso de existirem vômitos e/ou diarreia devem ser adicionados à bebida, electrólitos, utilizando misturas de rehidratação *standard* segundo as indicações do fabricante da mistura em questão.

9

b) Via Intravenosa

Se o doente se encontra clinicamente instável, deve-se administrar soluções de glicose (2ml/Kg de glicose a 10% ou 1ml/Kg de glicose a 20%).

No caso de uma má circulação periférica do doente ou se este se encontrar em estado de choque, deve administrar-se imediatamente 20 ml/Kg de solução salina normal em bólus. A administração deve ser repetida se a má circulação periférica persistir. Se esta pelo contrário, cessar, deve-se administrar 5 ml/Kg/h de glicose a 10% até que a solução salina 0,45% / glicose a 10%, seja atingida.

É portanto essencial calcular o défice, o regime de manutenção e a preparação dos líquidos intravenosos. O défice é calculado mediante os sinais clínicos caso não se disponha do peso recente. Já o regime de manutenção é calculado a partir de uma fórmula usada para calcular o volume diário de líquidos de manutenção 100ml/Kg até 10Kg, 50ml/Kg para os seguintes 10Kg e 20 ml/Kg para o peso restante. Deve utilizar-se o peso calculado rehidratado. Assim, deve-se descontar o líquido já administrado do total para as primeiras 24 horas.

Uma vez calculado o défice e o regime de manutenção, deve ser administrado durante as seguintes 6 horas, 1/3 do total preparado para as 24 horas, e o restante para as 18 horas posteriores.

Pode ser efectuada a adição de potássio, se necessário, quando normalizada a produção de urina e conhecida a concentração plasmática de potássio.

9

9

No caso de uma acidose metabólica marcada, pode adicionar-se bicarbonato de sódio (pH for inferior a 7,1 ou se o pH piorar rapidamente ou se o défice de bases for > a 15mmol/L).

Deve ser efectuada a correcção de metade do défice [$0,15 \times \text{peso} \times \text{défice de bases (mmol/L)}$] mmol de bicarbonato de sódio durante pelo menos 30 minutos. 1ml de bicarbonato de sódio a 8,4% contém 1mmol, no entanto, a solução deve ser diluída de 1:5 de glicose a 5%. Os valores de ureia, electrólitos, pH e gases sanguíneos devem ser a este ponto avaliados. Como normalmente a acidose metabólica é restituída rapidamente, não é necessário repetir a dose de bicarbonato de sódio.

Eventualmente podem ocorrer situações de hiperglicemia. Se a glicose for > a 14mmol/L (252mg/dL) e houver glicosúria, deve-se iniciar uma infusão de insulina.

c) Avaliação/Monitorização

Deve ser efectuada em cada 4 a 6 horas, incluindo a avaliação da pressão arterial e da escala de Glasgow e análises sanguíneas (pH na gasometria, ureia e electrólitos)

d) Reintrodução da alimentação oral

Deve ser efectuada o mais rapidamente possível, quando o doente estiver consciente e sem vómitos. Aqui, é importante a intervenção da nutricionista do local⁽⁶⁴⁾

9

A Longo Prazo

Segundo Giovaninni, a intervenção terapêutica nutricional deve ser o caminho de eleição para o tratamento de doenças inatas do metabolismo. De acordo com o tipo de doença, a intervenção nutricional pode ser direccionada para três objectivos: restrição dietética (total ou parcial) de um ou mais nutrientes que podem tornar-se 'tóxicos' pela deficiência enzimática; suplementação de um nutriente que esteja em défice; eliminação, através da dieta ou da utilização de fármacos de um nutriente 'tóxico' que esteja acumulado.

A eficácia da terapêutica nutricional deve ser determinada por contínuas avaliações clínicas e bioquímicas, assim como, por uma monitorização constante da dieta de modo a prevenir subseqüentes deficiências secundárias.⁽⁵⁶⁾

Assim, é fundamental o treino dos pais e parentes próximos na preparação das refeições da criança com 3HMG, uma vez que é importante a precisão na restrição do aminoácido 'tóxico'.⁽⁵⁷⁾

As recomendações do tratamento para a acidúria 3HMG, a longo prazo, consistem numa restrição proteica, com restrição de proteínas naturais, nomeadamente a leucina- e lipídica, de forma a evitar o catabolismo proteico e a lipólise, respectivamente. É no entanto importante a obtenção de um equilíbrio nestas medidas, para isso recorre-se a um fornecimento mínimo de aminoácidos essenciais e de ácidos gordos essenciais como DHA. É ainda

recomendado um aporte energético aumentado, derivado a hidratos de carbono sendo importante a adequação da carga calórica do indivíduo; a evicção de jejum com o fraccionamento de refeições e administração de amido (em idades superiores a 1 ano); suplementação/adequação com sais minerais e vitaminas (suplementação *per si*) e terapêutica farmacológica com carnitina.

Estas recomendações são geralmente eficazes na prevenção de descompensação aguda^(6, 10) e a longo prazo. Constata-se que à medida que as crianças com acidúria 3HMG vão crescendo, a incidência de crises de hipoglicémicas vão diminuindo⁽⁴⁷⁾ o que leva a um normal desenvolvimento e crescimento, sem danos neurológicos.^(16, 43)

A restrição de gordura (fonte de acetil-CoA, precursor dos metabolitos elevados) tem demonstrado ser mais eficaz que a restrição em proteína na redução da excreção de metabolitos da acidúria 3HMG.⁽²³⁾

Segundo Norman, tanto o aporte de leucina como o de gordura contribuem para aumentar a excreção de ácidos orgânicos urinários da acidúria 3HMG.⁽¹⁹⁾

É importante evitar o jejum, uma vez que provoca hipoglicemia e promove a oxidação de ácidos gordos, pois a acetil-CoA formada nesta situação não pode ser metabolizada a corpos cetónicos em virtude da deficiência da HL. Além disso, a partir da acetil-CoA, ocorre o aumento da produção de HMG-CoA, pela 3-hidroxi-3-metil-glutaril síntase.^(10, 23)

9

De acordo com Thompson, tanto a mobilização de proteína como a oxidação da leucina, como a excreção urinária de metabolitos da leucina são importantes na descompensação metabólica, apresentando durante a infecção, valores aumentados. Por sua vez, em períodos de jejum, a oxidação da leucina não sofre alterações e o catabolismo proteico diminui, apesar de excreções urinárias de metabolitos da leucina aumentadas. Estes resultados indicam que a mobilização de proteína e a oxidação da leucina desempenham importantes papéis na descompensação metabólica apenas durante a infecção. É então provável que, este aumento de metabolitos verificado durante o jejum, ocorra primeiramente pelo catabolismo dos ácidos gordos, demonstrando-se a importância deste substrato na descompensação metabólica na acidúria 3HMG.⁽⁵⁸⁾

O acetil-CoA proveniente da oxidação de ácidos gordos não pode ser metabolizado a corpos cetónicos devido à deficiência da enzima 3-hidroxi-3-metilglutaril CoA líase. Em vez disso, acetil-CoA é, em parte metabolizada em 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA, o que resulta num nível elevado de metabolitos e acidose metabólica.⁽²³⁾

Foi descrito num estudo elaborado por Roe et al. que, inúmeros doentes com 3HMG possuíam um nível elevado de ácidos orgânicos urinários associados a valores de carnitina livre diminuídos, o que sugere a importância da suplementação em carnitina juntamente com a restrição dietética.⁽⁴⁾ Roe identificou também um novo metabolito que caracteriza a acidúria 3HMG, designado por 3-metilglutarilcarnitina, o que sugere a

9

importância da inclusão de carnitina na terapêutica dietética desta acidúria.⁽⁴⁾

A identificação de compostos de acilcarnitina em diversas acidúrias orgânicas, indicam que a carnitina representa uma significativa via alternativa para a eliminação de compostos tóxicos intermediários que acumulam devido à deficiência da enzima.

A suplementação com carnitina pode ser adequada para prevenir o desenvolvimento de deficiência em carnitina, no entanto, não é um meio eficaz de remoção de um elevado nível de metabolitos.⁽²³⁾ Como resultado da terapêutica nutricional, verificou-se a diminuição da excreção de ácidos orgânicos urinários e níveis normais de carnitina. Paralelamente, verifica-se que esta terapêutica previne o aparecimento de novas crises metabólicas e que a maioria das crianças se desenvolve normalmente e sem danos neurológicos.^(21, 33)

É importante salientar que, a acidúria 3HMG é uma doença tratável. No entanto, danos neurológicos permanentes, tais como atraso mental ou até morte⁽⁴³⁾, podem ocorrer posteriormente a episódios de hipoglicemia em doentes não diagnosticados ou não tratados adequadamente.⁽⁶⁾

Assim, é essencial manter um bom controlo metabólico para assegurar um prognóstico favorável.

8. Diagnóstico Pré-Natal

O diagnóstico Pré-Natal da acidúria 3HMG é efectuado pela análise dos ácidos orgânicos urinários, especificamente, pela elevação dos ácidos 3-hidroxi-3-metilglutárico, 3-metilglutacónico e 3-hidroxi-isovalérico. A análise é realizada na urina materna ou no líquido amniótico, entre as 23 semanas de gestação e o parto. O ácido 3-metilglutacónico é o metabolito que se encontra mais elevado (cerca de 140 mmol/mol creatinina). Não é contudo linear, a etapa gestacional na qual é possível fazer um DPN fiável, daí ser preferível, tal como acontece com outras acidúrias orgânicas, realizar o estudo quantitativo dos metabolitos em questão no líquido amniótico. A enzima HL tem sido identificada em culturas normais de amniócitos, indicando que o diagnóstico pré-natal pode ser realizado por determinação dos níveis de enzima em líquido amniótico.⁽²³⁾

A deficiência da HL pode ainda ser diagnosticada *in* útero através do estudo enzimático em cultura de fibroblastos.^(10, 59)

A confirmação do diagnóstico requer um ensaio directo da actividade da enzima em leucócitos⁽⁶⁰⁾, fibroblastos⁽⁶¹⁾ da pele, placenta ou fígado. A actividade da enzima HL foi também testada em culturas de amniócitos de vilosidades coriônicas^(62, 63). Já o diagnóstico molecular requer a análise do gene HMGCL.⁽²¹⁾

A acidúria 3HMG, actualmente, é uma doença integrada no teste de triagem neonatal (Teste do Pezinho) desde 2006, sendo efectuado em sangue seco

9

colhido em papel e efectuada a determinação do perfil de acilcarnitinas, encontrando-se estas alteradas. O perfil de acilcarnitinas é importante no controlo da doença. A integração desta doença em testes de triagem neonatal, leva à diminuição de episódios de decompensação, por adequação da terapêutica nutricional, com uma abordagem mais específica e precoce da doença.⁽¹⁰⁾

É ainda de salientar a importância do diagnóstico dos erros inatos do metabolismo em crianças que apresentam quadros de descompensação metabólica no período neonatal, muitas vezes mal diagnosticados, e que quando não tratados adequadamente podem levar à morte ou a sequelas graves e irreversíveis. Desta forma, o diagnóstico precoce, determina uma diminuição das complicações associadas à doença e fornece aos pais informação sobre a possibilidade de ter outro filho afectado.⁽¹⁰⁾

9

9. Recomendações Nutricionais

Evitar hipoglicemias	Evitar longos períodos de jejum ao longo do dia, ingerindo alimentos de 4 em 4h; Evitar o jejum nocturno.
Restrição proteica e lipídica	Controlo quantitativo de leucina na dieta; Controlo de alimentos ricos em proteína (ex: carne, leite e derivados, entre outros); Incluir na dieta produtos hipoproteicos; Vegetais e frutas devem ser ingeridas em quantidades contabilizadas.
Aumento do aporte de hidratos de carbono	Utilização de dextrinomaltose e/ou amido crú
Suplementação com carnitina	9

10. Conclusão

Conclui-se assim, que a acidúria 3HMG, é uma doença com uma sintomatologia inespecífica e intermitente, daí ser importante o padrão clínico e bioquímico inicial para orientação do diagnóstico.

O perfil de ácidos orgânicos urinários, obtido por GC-MS, é em situações de crise, orientador, e importante para a confirmação do diagnóstico.

A sensibilização dos clínicos é essencial para o rastreio desta patologia em situações de risco, sendo importante o registo simultâneo da glicemia e corpos cetónicos urinários no momento do exame inicial antes de adoptar qualquer atitude terapêutica.

Uma dieta nutricionalmente controlada associada ao controlo de períodos de descompensação, leva a uma evolução favorável do doente.

11. Bibilografia

1. Cardoso ML, Rodrigues MR, Leao E, Martins E, Diogo L, Rodrigues E, et al. The E37X is a common HMGCL mutation in Portuguese patients with 3-hydroxy-3-methylglutaric CoA lyase deficiency. *Mol Genet Metab.* 2004; 82(4):334-8
2. Vargas CR, Sitta A, Schmitt G, Ferreira GC, Cardoso ML, Coelho D, et al. Incidence of 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A lyase (HL) deficiency in Brazil, South America. *J Inherit Metab Dis.* 2007;
3. Reimao S, Morgado C, Almeida IT, Silva M, Real HC, Campos J. 3-Hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A lyase deficiency: Initial presentation in a young adult. *J Inherit Metab Dis.* 2009;
4. Roe CR, Millington DS, Maltby DA. Identification of 3-methylglutaryl-carnitine. A new diagnostic metabolite of 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A lyase deficiency. *J Clin Invest.* 1986; 77(4):1391-4. 424505.
5. Faull KF, Bolton PD, Halpern B, Hammond J, Danks DM. The urinary organic acid profile associated with 3-hydroxy-3-methylglutaric aciduria. *Clin Chim Acta.* 1976; 73(3):553-9
6. Zafeiriou DI, Vargiami E, Mayapetek E, Augoustidou-Savvopoulou P, Mitchell GA. 3-Hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme a lyase deficiency with reversible white matter changes after treatment. *Pediatr Neurol.* 2007; 37(1):47-50
7. Mitchell GA, Ozand PT, Robert MF, Ashmarina L, Roberts J, Gibson KM, et al. HMG CoA lyase deficiency: identification of five causal point mutations in codons 41 and 42, including a frequent Saudi Arabian mutation, R41Q. *Am J Hum Genet.* 1998; 62(2):295-300. 1376904.
8. Muroi J, Yorifuji T, Uematsu A, Shigematsu Y, Onigata K, Maruyama H, et al. Molecular and clinical analysis of Japanese patients with 3-hydroxy-3-methylglutaryl CoA lyase (HL) deficiency. *Hum Genet.* 2000; 107(4):320-6
9. Gibson KM, Breuer J, Nyhan WL. 3-Hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A lyase deficiency: review of 18 reported patients. *Eur J Pediatr.* 1988; 148(3):180-6
10. Casella EB, Martins FR, Miura IK, Vieira MA, Porta G. 3-Hydroxy-3-methyl-glutaryl-CoA-lyase deficiency as coma etiology in the neonatal period: case report. *Arq Neuropsiquiatr.* 1998; 56(3A):472-5
11. Robinson BH, Oei J, Sherwood WG, Slyper AH, Heininger J, Mamer OA. Hydroxymethylglutaryl CoA lyase deficiency: features resembling Reye syndrome. *Neurology.* 1980; 30(7 Pt 1):714-8
12. Eiris J, Ribes A, Fernandez-Prieto R, Rodriguez-Garcia J, Rodriguez-Segade S, Castro-Gago M. 3-hydroxy-3-methylglutaric aciduria and recurrent Reye-like syndrome. *Rev Neurol.* 1998; 26(154):911-4

13. Schutgens RB, Heymans H, Ketel A, Veder HA, Duran M, Ketting D, et al. Lethal hypoglycemia in a child with a deficiency of 3-hydroxy-3-methylglutarylcoenzyme A lyase. *J Pediatr*. 1979; 94(1):89-91
14. Buesa C, Pie J, Barcelo A, Casals N, Mascaro C, Casale CH, et al. Aberrantly spliced mRNAs of the 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A lyase (HL) gene with a donor splice-site point mutation produce hereditary HL deficiency. *J Lipid Res*. 1996; 37(11):2420-32
15. Cardoso ML, Leao E, Rodrigues E, Martins E, Vilarinho L. Acidúria 3-Hidroxi-3-Metilglutárica na População Portuguesa. *Arquivos de Medicina*. 2000; 14(5/6)
16. Al-Sayed M, Imtiaz F, Alsmadi OA, Rashed MS, Meyer BF. Mutations underlying 3-hydroxy-3-methylglutaryl CoA lyase deficiency in the Saudi population. *BMC Med Genet*. 2006; 7:86. 1764877.
17. Vilaseca Busca MA, Ribes Rubio A, Briones Godino P, Cusi Sanchez V, Baraibar Castello R, Gairi Taull JM. [Sudden death of a patient with 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A lyase deficiency]. *An Esp Pediatr*. 1990; 32(2):149-53
18. Pie J, Casals N, Puisac B, Hegardt FG. Molecular basis of 3-hydroxy-3-methylglutaric aciduria. *J Physiol Biochem*. 2003; 59(4):311-21
19. Norman EJ, Denton MD, Berry HK. Gas-chromatographic/mass spectrometric detection of 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA lyase deficiency in double first cousins. *Clin Chem*. 1982; 28(1):137-40
20. Lee C, Tsai FJ, Wu JY, Peng CT, Tsai CH, Hwu WL, et al. 3-hydroxy-3-methylglutaric aciduria presenting with Reye like syndrome: report of one case. *Acta Paediatr Taiwan*. 1999; 40(6):445-7
21. Pie J, Lopez-Vinas E, Puisac B, Menao S, Pie A, Casale C, et al. Molecular genetics of HMG-CoA lyase deficiency. *Mol Genet Metab*. 2007; 92(3):198-209
22. Mir C, Lopez-Vinas E, Aledo R, Puisac B, Rizzo C, Dionisi-Vici C, et al. A single-residue mutation, G203E, causes 3-hydroxy-3-methylglutaric aciduria by occluding the substrate channel in the 3D structural model of HMG-CoA lyase. *J Inher Metab Dis*. 2006; 29(1):64-70
23. Valle D, Sly WS, Beaudet AL, Scriver RC. Branched Chain Organic Acidurias. In: *The Metabolic Basis of Inherited Disease I*. 6ª ed.: McGraw - Hill, Inc; 1988. I, p. 791-804.
24. Fu Z, Runquist JA, Forouhar F, Hussain M, Hunt JF, Miziorko HM, et al. Crystal structure of human 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA Lyase: insights into catalysis and the molecular basis for hydroxymethylglutaric aciduria. *J Biol Chem*. 2006; 281(11):7526-32
25. Puisac B, Lopez-Vinas E, Moreno S, Mir C, Perez-Cerda C, Menao S, et al. Skipping of exon 2 and exons 2 plus 3 of HMG-CoA lyase (HL) gene produces the loss of beta sheets 1 and 2 in the recently proposed (beta-alpha)8 TIM barrel model of HL. *Biophys Chem*. 2005; 115(2-3):241-5
26. Pie J, Casals N, Casale CH, Buesa C, Mascaro C, Barcelo A, et al. A nonsense mutation in the 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA lyase gene

produces exon skipping in two patients of different origin with 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA lyase deficiency. *Biochem J.* 1997; 323 (Pt 2):329-35. 1218323.

27. Yilmaz Y, Ozdemir N, Ekin G, Baykal T, Kocaman C. Corticospinal tract involvement in a patient with 3-HMG coenzyme A lyase deficiency. *Pediatr Neurol.* 2006; 35(2):139-41

28. Plochl E, Colombo JP, Wermuth B, Gibson KM. Increased plasma amylase in the family of a patient with 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A lyase deficiency. *Clin Chem.* 1992; 38(2):307-9

29. Ozand PT, al Aqeel A, Gascon G, Brismar J, Thomas E, Gleispach H. 3-Hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A (HMG-CoA) lyase deficiency in Saudi Arabia. *J Inherit Metab Dis.* 1991; 14(2):174-88

30. Gibson KM, Lee CF, Kamali V, Johnston K, Beaudet AL, Craigen WJ, et al. 3-Hydroxy-3-methylglutaryl-CoA lyase deficiency as detected by radiochemical assay in cell extracts by thin-layer chromatography, and identification of three new cases. *Clin Chem.* 1990; 36(2):297-303

31. Gibson KM, Lee CF, Hoffmann GF. Screening for defects of branched-chain amino acid metabolism. *Eur J Pediatr.* 1994; 153(7 Suppl 1):S62-7

32. Dodelson de Kremer R, Kelley RI, Depetris de Boldini C, Paschini de Capra A, Corbella L, Givogri I, et al. 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A lyase deficiency as a cause of severe neurological damage. *Medicina (B Aires).* 1992; 52(1):30-6

33. Funghini S, Pasquini E, Cappellini M, Donati MA, Morrone A, Fonda C, et al. 3-Hydroxy-3-methylglutaric aciduria in an Italian patient is caused by a new nonsense mutation in the HMGCL gene. *Mol Genet Metab.* 2001; 73(3):268-75

34. Kikuchi M, Narisawa K, Tada K, Sweetman L. Enzymatic diagnosis of 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA lyase deficiency with high-performance liquid chromatography. *Clin Chim Acta.* 1990; 189(3):297-301

35. Tanaka K, West-Dull A, Hine DG, Lynn TB, Lowe T. Gas-chromatographic method of analysis for urinary organic acids. II. Description of the procedure, and its application to diagnosis of patients with organic acidurias. *Clin Chem.* 1980; 26(13):1847-53

36. Pospisilova E, Mrazova L, Hrda J, Martincova O, Zeman J. Biochemical and molecular analyses in three patients with 3-hydroxy-3-methylglutaric aciduria. *J Inherit Metab Dis.* 2003; 26(5):433-41

37. Shinka T, Kuhara T, Inoue Y, Matsumoto M, Matsumoto I, Nakamura H, et al. GC/MS analysis of urine in 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA lyase deficiency. *Acta Paediatr Jpn.* 1992; 34(2):157-65

38. Lin WD, Wang CH, Lai CC, Tsai Y, Wu JY, Chen CP, et al. Molecular analysis of Taiwanese patients with 3-hydroxy-3-methylglutaryl CoA lyase deficiency. *Clin Chim Acta.* 2009; 401(1-2):33-6

39. Muroi J, Yorifuji T, Uematsu A, Nakahata T. Cerebral infarction and pancreatitis: possible complications of patients with 3-hydroxy-3-

- methylglutaryl-CoA lyase deficiency [Free Preview]. *J Inherit Metab Dis.* 2000; 23(6):636-7
40. Yalcinkaya C, Dincer A, Gunduz E, Ficicioglu C, Kocer N, Aydin A. MRI and MRS in HMG-CoA lyase deficiency. *Pediatr Neurol.* 1999; 20(5):375-80
41. Gibson KM, Cassidy SB, Seaver LH, Wanders RJ, Kennaway NG, Mitchell GA, et al. Fatal cardiomyopathy associated with 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA lyase deficiency. *J Inherit Metab Dis.* 1994; 17(3):291-4
42. Zoghbi HY, Spence JE, Beaudet AL, O'Brien WE, Goodman CJ, Gibson KM. Atypical presentation and neuropathological studies in 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA lyase deficiency. *Ann Neurol.* 1986; 20(3):367-9
43. van der Knaap MS, Bakker HD, Valk J. MR imaging and proton spectroscopy in 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A lyase deficiency. *AJNR Am J Neuroradiol.* 1998; 19(2):378-82
44. Yudkoff M, Daikhin Y, Nissim I, Horyn O, Luhovyy B, Lazarow A. Brain amino acid requirements and toxicity: the example of leucine. *J Nutr.* 2005; 135(6 Suppl):1531S-8S
45. al-Essa M, Rashed M, Ozand PT. 3-Hydroxy-3-methylglutaryl-CoA lyase deficiency in a boy with VATER association. *J Inherit Metab Dis.* 1998; 21(4):443-4
46. Jones KJ, Wilcken B, Kilham H. The long-term evolution of a case of 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A lyase deficiency associated with deafness and retinitis pigmentosa. *J Inherit Metab Dis.* 1997; 20(6):833-4
47. Wysocki SJ, Hahnel R. 3-Hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme a lyase deficiency: a review. *J Inherit Metab Dis.* 1986; 9(3):225-33
48. Kramer PR, Miziorko HM. Purification and characterization of avian liver 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A lyase. *J Biol Chem.* 1980; 255(22):11023-8
49. Tuinstra RL, Wang CZ, Mitchell GA, Miziorko HM. Evaluation of 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A lyase arginine-41 as a catalytic residue: use of acetyldithio-coenzyme A to monitor product enolization. *Biochemistry (Mosc).* 2004; 43(18):5287-95
50. Roberts JR, Mitchell GA, Miziorko HM. Modeling of a mutation responsible for human 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA lyase deficiency implicates histidine 233 as an active site residue. *J Biol Chem.* 1996; 271(40):24604-9
51. Casals N, Gomez-Puertas P, Pie J, Mir C, Roca R, Puisac B, et al. Structural (betaalpha)8 TIM barrel model of 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A lyase. *J Biol Chem.* 2003; 278(31):29016-23
52. Roberts JR, Narasimhan C, Hruz PW, Mitchell GA, Miziorko HM. 3-Hydroxy-3-methylglutaryl-CoA lyase: expression and isolation of the recombinant human enzyme and investigation of a mechanism for regulation of enzyme activity. *J Biol Chem.* 1994; 269(27):17841-6
53. Ashmarina LI, Pshezhetsky AV, Branda SS, Isaya G, Mitchell GA. 3-Hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A lyase: targeting and processing in peroxisomes and mitochondria. *J Lipid Res.* 1999; 40(1):70-5

54. Ashmarina LI, Robert MF, Elsliger MA, Mitchell GA. Characterization of the hydroxymethylglutaryl-CoA lyase precursor, a protein targeted to peroxisomes and mitochondria. *Biochem J.* 1996; 315 (Pt 1):71-5. 1217198.
55. Zschocke J, Hoffmann GF. *Vademecum Metabólico (Manual de Pediatria Metabólica)*. Brasil: Segmento Farma Editores Ltda; 2007.
56. Giovannini M, Biasucci G, Luotti D, Fiori L, Riva E. Nutrition in children affected by inherited metabolic diseases. *Ann Ist Super Sanita.* 1995; 31(4):489-502
57. Thomas E. Dietary management of inborn errors of amino acid metabolism with protein-modified diets. *J Child Neurol.* 1992; 7 Suppl:S92-111
58. Thompson GN, Chalmers RA, Halliday D. The contribution of protein catabolism to metabolic decompensation in 3-hydroxy-3-methylglutaric aciduria. *Eur J Pediatr.* 1990; 149(5):346-50
59. Chalmers RA, Tracey BM, Mistry J, Stacey TE, McFadyen IR. Prenatal diagnosis of 3-hydroxy-3-methylglutaric aciduria by GC-MS and enzymology on cultured amniocytes and chorionic villi. *J Inherit Metab Dis.* 1989; 12(3):286-92
60. Wysocki SJ, Hahnel R. 3-Hydroxy-3-methylglutaric aciduria: 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A lyase levels in leucocytes. *Clin Chim Acta.* 1976; 73(2):373-5
61. Wysocki SJ, Hahnel R. 3-Hydroxy-3-methylglutaric aciduria: deficiency of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A lyase. *Clin Chim Acta.* 1976; 71(2):349-51
62. Wanders RJ, Zoeters PH, Schutgens RB, de Klerk JB, Duran M, Wadman SK, et al. Rapid diagnosis of 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A lyase deficiency via enzyme activity measurements in leukocytes or platelets using a simple spectrophotometric method. *Clin Chim Acta.* 1990; 189(3):327-34
63. Mitchell GA, Jakobs C, Gibson KM, Robert MF, Burlina A, Dionisi-Vici C, et al. Molecular prenatal diagnosis of 3-hydroxy-3-methylglutaryl CoA lyase deficiency. *Prenat Diagn.* 1995; 15(8):725-9
64. www.eimaep.org - Sociedade Espanhola de Erros Inatos do Metabolismo

9

Anexos

9

Índice de Anexos

9

Anexo 1. Representação da estrutura da HMG-CoA líase Humana.....a1

Anexo 2. Perfil cromatográfico de ácidos orgânicos urinários característico da HMG- CoA líase.....a2

Anexo 3. Origem dos metabolitos na acidúria 3HMG.....a3

Anexo 4. Formação de corpos cetônicos, acetoacetato, 3-hdroxibutirato e acetona a partir de acetil-CoA.....a4

Anexo 5. Via metabólica do catabolismo da Leucina.....a5

9

9

Anexo 1

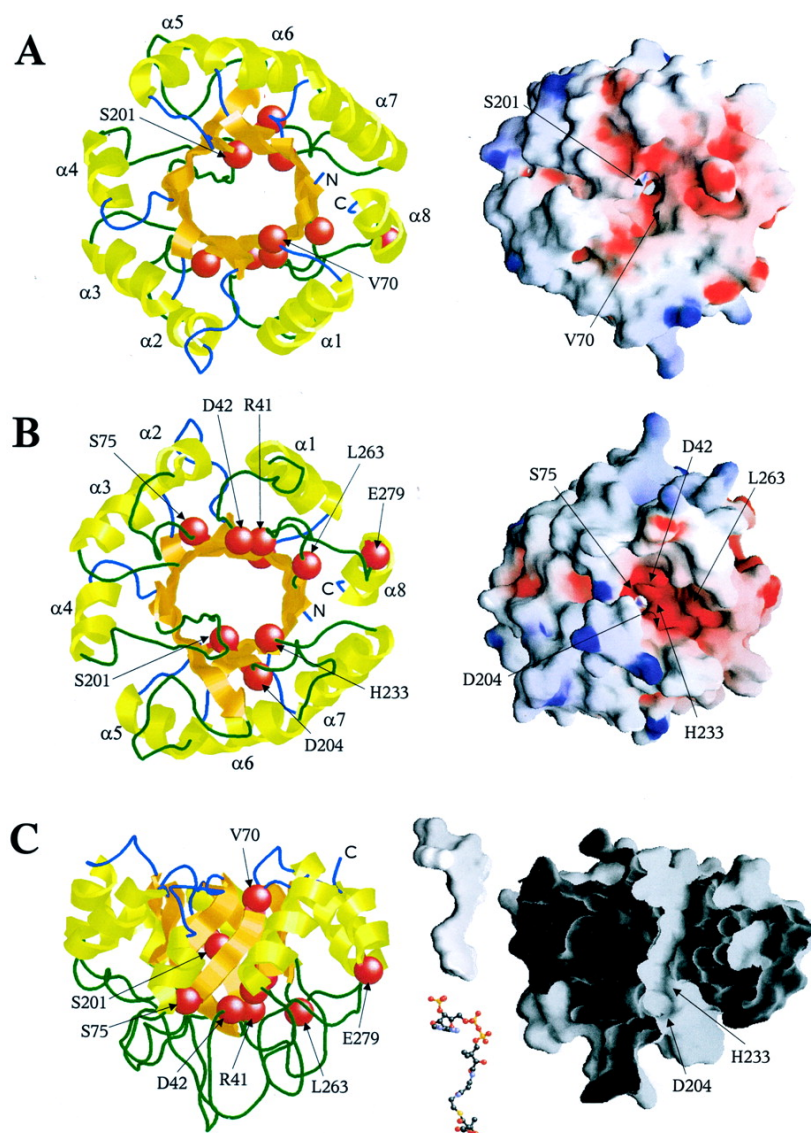


Fig 1. Representação da estrutura da HMG- CoA líase Humana;

Retirado de Casals, N. et al. J. Biol. Chem. 2003;278:29016-29023

Anexo 2

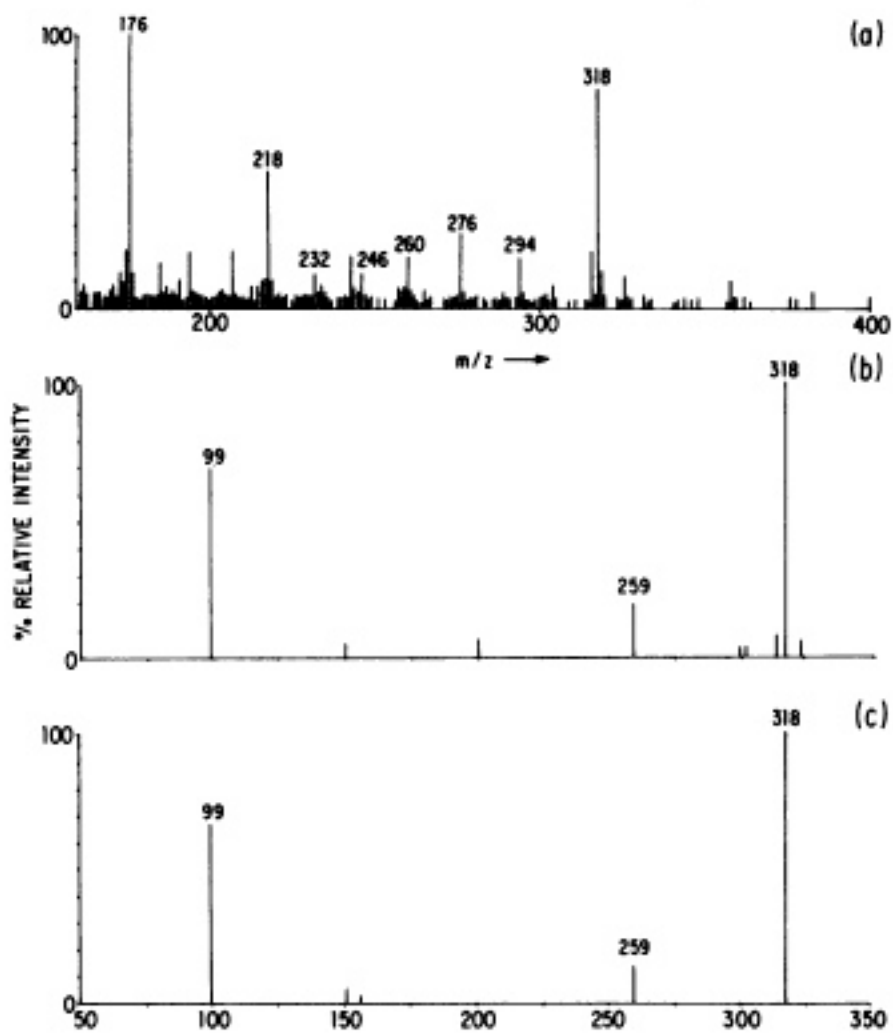


Fig 2 : Perfil cromatográfico de ácidos orgânicos urinários característico da acidúria 3HMG.

Retirado de Roe, C. R. et al. J. Clin. Investigation. 1986;77: 1391-1394

Anexo 3

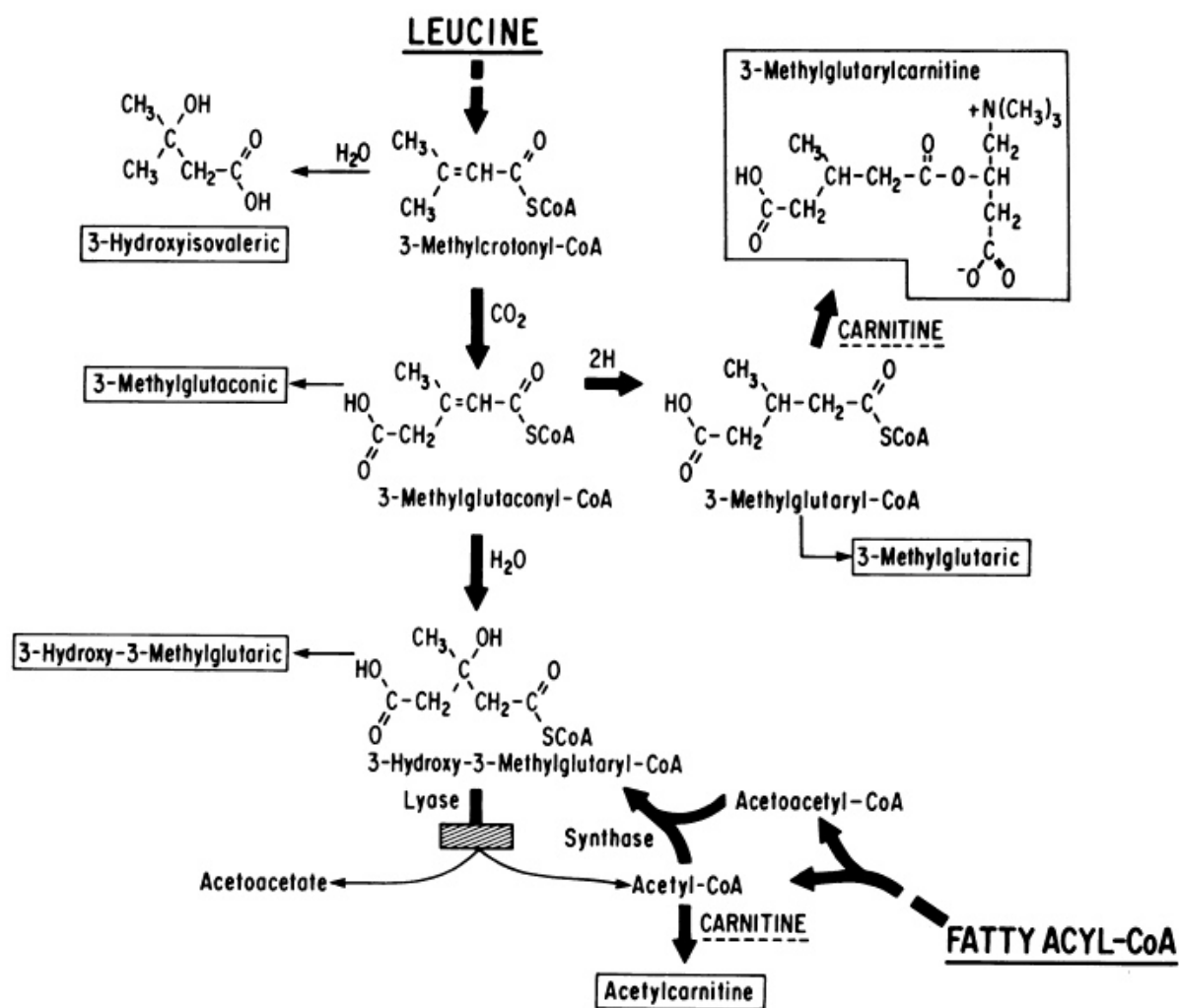


Fig 3: Origem dos metabolitos na acidúria 3HMG.

Retirado de Roe, C. R. et al. J. Clin. Investigation. 1986;77: 1391-1394

Anexo 4

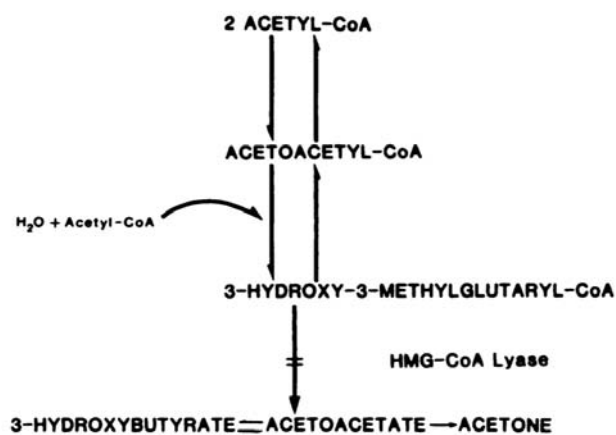


Fig 4: Formação de corpos cetônicos, acetoacetato, 3-hidroxibutirato e acetona a partir de acetil-CoA

Retirado de Norman, E. J. et al. Clin. Chemi.1982; 28/1:137-140

Anexo 5

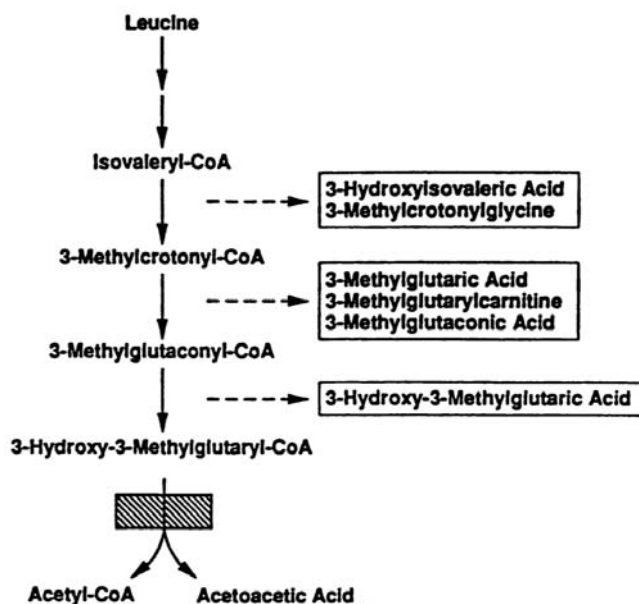


Fig 5: Via metabólica do catabolismo da Leucina.

Retirado de Gibson, K. M. et al. Clin. Chem. 1990; 36/2: 297-303