

## **A Importância de Centro de Referência Regional na Investigação de Doenças Metabólicas Hereditárias**

Área Temática de Saúde

### Resumo

As Doenças Metabólicas Hereditárias (DMH) são desordens genéticas desencadeadas por deficiências enzimáticas em rotas metabólicas específicas. Uma das principais conseqüências é o acúmulo de substâncias que se tornam tóxicas para o organismo, podendo causar graves seqüelas como a deficiência mental. O Laboratório de Erros Inatos do Metabolismo (LEIM) da UFPA almeja tornar-se um Centro de Referência Regional na Investigação e Diagnóstico de DMH. Desde de 2000 o LEIM implanta protocolos para investigação de DMH, além disso, o LEIM realizou convênios com várias instituições públicas de saúde (Hospitais), para investigar a presença de DMH. Em dezembro de 2003, o LEIM promoveu a II Jornada Paraense de DMH: Um Abordagem Multiprofissional, com a finalidade de capacitar profissionais da área na identificação de DMH. No período de 2000 a 2004, o LEIM atendeu cerca de 530 pacientes, sendo que destes foram diagnosticados 12 casos de DMH. Através da aprovação de diversos projetos nas áreas de extensão, pesquisa e ensino, o LEIM esta aperfeiçoando suas técnica e seus recursos humanos para a investigação de tais doenças. Frente ao número de pacientes encaminhados e diagnosticados, é imprescindível um Centro de Referência Regional na investigação de DMH.

### Autores

Luiz Carlos Santana da Silva – Professor Doutor em Ciências Biológicas/Bioquímica  
Erik Artur Cortinhas Alves – graduando em Ciências Biológicas  
Lorena Matins Cunha - graduanda em Ciências Biológicas  
Cleber Monteiro Cruz - graduando em Ciências Biológicas  
Nathália Santos Serrão de Castro - graduanda em Ciências BiológicasP

### Instituição

Universidade Federal do Pará - UFP

Palavras-chave: doenças metabólicas hereditárias; pesquisa; extensão

### Introdução e objetivo

As ciências biológicas e médicas obtiveram nos últimos anos um grande avanço no que tange ao conhecimento e tratamento de doenças, passando a melhorar a qualidade de vida da população, criando novas metodologias no combate a diversas enfermidades. É nesse âmbito, que as alterações genéticas tornam-se freqüentes nos leitos hospitalares, levando o paciente, na maioria das vezes, ao óbito, devido à falta de experiência dos profissionais da saúde no reconhecimento de tais distúrbios.

O diagnóstico precoce das afecções genéticas oferece a possibilidade de um tratamento adequado e contribui para o controle do quadro clínico e melhoria significativa da condição de vida dos pacientes portadores.

Em 1986 foi criado o Laboratório de Erros Inatos do Metabolismo (LEIM), localizado no Departamento de Fisiologia do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Pará. Várias atividades de ensino, pesquisa e extensão, além de assistência gratuita à comunidade são desenvolvidas nas dependências do LEIM.

Os Erros Inatos do Metabolismo (EIM) ou Doenças Metabólicas Hereditárias (DMH) são doenças determinadas geneticamente, causadas por defeito enzimático específico que leva ao bloqueio de uma determinada rota bioquímica. Esse bloqueio tem como consequência o acúmulo do substrato, a deficiência do produto da reação ou desvio do substrato para uma rota alternativa (Scriver, 2001).

As DMH compreendem um grupo formado por mais de 500 diferentes distúrbios, a maioria envolvida nos processos de síntese, degradação, armazenamento e transporte de moléculas no organismo. Apesar de individualmente raros, as DMH são relativamente frequentes em seu conjunto, estimando-se que ocorrem 1 em cada 1000 recém-nascido (Giugliani, 1997).

O recém-nascido que se apresenta normal ao nascimento, após a gravidez normal e que desenvolve deterioração do quadro clínico sem razões óbvias é suspeito de apresentar alguma DMH. O intervalo entre o nascimento e o aparecimento de sintomas pode ser de poucas horas ou após algumas semanas, dependendo da natureza do defeito. Nestes pacientes serão realizados exames laboratoriais que vão auxiliar no diagnóstico clínico.

Alguns exames laboratoriais, denominados de Testes Bioquímicos de Triagem, devem ser realizados nos pacientes com suspeita de EIM. Estes procedimentos são geralmente realizados na urina. Apesar de serem rápidos e de baixo custo, os Testes Bioquímicos de Triagem não são determinantes para o diagnóstico dos DMH. Para suplantarmos esta limitação, a análise quantitativa de metabólitos, o ensaio enzimático e as técnicas de Biologia Molecular representam procedimentos definitivos no diagnóstico dos EIM.

A detecção precoce para muitas DMH é um passo para o tratamento adequado de tais doenças. Isto levou a introdução de Programas de Triagem Neonatal em Massa para algumas DMH que sejam ao mesmo tempo tratáveis, relativamente frequentes, de detecção simples e de baixo custo, como por exemplo, a Fenilcetonúria.

Embora no Brasil, e em particular no Estado do Pará, sejam muito mais prevalentes as doenças decorrentes da pobreza e do subdesenvolvimento, convém lembrar que os EIM existem e não serão diagnosticados se o pediatra e um laboratório especializado não estiverem alerta para essa possibilidade diagnóstica.

Considerando as características dos EIM, a atenção a este problema poderia partir do diagnóstico precoce de pacientes com DMH em populações de alto risco (famílias com um caso de EIM diagnosticado), possibilitando a identificação de grupos familiares em risco, às quais são oferecidas as medidas terapêuticas e preventivas disponíveis. A integração de uma equipe especializada, contando com o apoio de instituições governamentais, proporcionará a formação de um grupo atuante nesta área do conhecimento, economizando investimentos e melhorando a qualidade de vida da população do Estado do Pará.

De acordo com o exposto acima acerca das DMH, o presente artigo tem como objetivo principal apresentar os trabalhos realizados no LEIM, para que se torne um Centro de Referência na investigação e diagnóstico de DMH na Região Norte do Brasil.

## Metodologia

- Implantação de Protocolos Laboratoriais e Treinamento dos Recursos Humanos (Estagiários).

No ano de 2000 o LEIM retornou as atividades de ensino, pesquisa e extensão, a partir da implantação de protocolos laboratoriais para investigação de DMH, como a implantação da triagem bioquímica e a padronização de diversas técnicas (Ensaio enzimático para a Biotinidase, Cromatografia de Aminoácidos e de Glicosaminoglicanos). Além disso, o LEIM faz investimento em seus recursos humanos, treinando seus estagiários na padronização e desenvolvimento de todas as técnicas do laboratório, contribuindo dessa forma na formação

dos alunos de graduação que atualmente desenvolvem trabalhos nas áreas de ensino, pesquisa e extensão.

- Consolidação de Convênios com Unidades de Saúde.

A Consolidação de convênios com várias instituições de saúde pública como o Hospital Universitário Bettina Ferro de Souza (HUBFS), Unidade de Referência Especializada Materno Infantil e do Adolescente (UREMIA), Fundação Hospital Santa Casa de Misericórdia (FHSCM) e Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), com o objetivo de criar uma rede de comunicação entre o laboratório e essas unidades de saúde para facilitar a investigação e detecção de pacientes com DMH, para a definição de um diagnóstico e, quando possível, oferecer um tratamento adequado, para melhorar a qualidade de vida do paciente.

- Divulgação das Atividades do LEIM.

No período 21 a 22 de Novembro de 2002, o LEIM promoveu a I Jornada Paraense sobre Diagnóstico e Tratamento de Doenças Metabólicas Hereditárias e no ano de 2003 (04 a 06 de dezembro) promoveu a II Jornada Paraense sobre Doenças Metabólicas Hereditárias: Uma Abordagem Multiprofissional, com a finalidade de capacitar o profissional da saúde na identificação das DMH. Além disso, no mês de julho de 2004 o LEIM da UFPA, ficou a frente da organização do XVI Congresso Brasileiro de Genética Clínica, um dos eventos de grande importância que discutiu a situação dos Erros Inatos do Metabolismo no Brasil e, nesse ano, especificamente na região Norte.

Para uma melhor divulgação das atividades realizadas no LEIM, foi criado o site [www.ufpa.br/eim](http://www.ufpa.br/eim), que traz diversas informações sobre DMH, da equipe do laboratório, dos eventos, dos projetos e programas realizados nesse laboratório.

## Resultados e discussão

Na área de pesquisa o LEIM foi contemplado com a aprovação de diversos projetos, que disponibilizam verbas para a atual reestruturação do serviço de investigação de DMH na população da região norte.

Abaixo estão listados os projetos do LEIM que foram aprovados:

Investigação de Doenças Metabólicas Hereditárias na Região Norte – Aprovado pela Secretaria Executiva de Ciência, Tecnologia e Meio Ambiente do Estado do Pará.

Identificação e Caracterização Bioquímica, Clínica e Molecular de Erros Inatos do Metabolismo na Região Norte – Aprovado pelo CNPq.

Formação e Treinamento Técnico Laboratorial de Acadêmicos do Curso de Ciências Biológicas - Modalidade Biomédica para a investigação de Doenças Metabólicas Hereditárias – Programa Integrado de Apoio ao Ensino, Pesquisa e Extensão (PROINT).

Além de desenvolver os projetos citados acima o LEIM também é colaborador de outros projetos. Estes estão listados abaixo:

Projeto Fenilecetonúria Brasil.

Projeto Mucopolissacaridose Brasil.

Dietoterapia para Erros Inatos do Metabolismo.

Na área de assistência a comunidade o LEIM desenvolve atividade de investigação e detecção DMH. No período de 2000 a 2004, o laboratório atendeu cerca de 530 pacientes, sendo que a maioria desses é oriunda de Belém (55,0%) e uma parte provém de outros municípios (37,0%), como Santo Antônio do Tauá, Marituba, Barcarena, Bom Jesus do Tocantis, Benevides, Curalinho, Capanema, Acára, Ulianópolis, Moju, Ananindeua, Óbidos, Santa Maria, Cametá, Portel, Abaetetuba, Bragança, etc... Apenas 8,0% dos pacientes são oriundos de outros estados.

Do total de 530 pacientes encaminhados aos serviços do LEIM-UFPA foram diagnosticados 12 casos DMH, que estão descritos nos parágrafos seguintes. É importante,

também, ressaltar o apoio do Serviço de Genética Médica do HCPA com sua ajuda fundamental no diagnóstico definitivo desses pacientes.

Foram diagnósticos 03 casos de Mucopolissacaridoses (MPS) do tipo VI, doença que apresenta uma incidência que varia de 1:10000 a 1:25000 e é caracterizada pela deficiência ou ausência de enzimas lisossômicas, culminando com o acúmulo progressivo de açúcares complexos (glicosaminoglicanos - GAGS). As MPS representam doenças crônicas e progressivas com comprometimento multisistêmico (esquelético, cardiopulmonar, córnea, fígado, baço, cérebro e meninges), retardo de crescimento, macrocrania, fâcies grosseira e alterações oculares.

As crianças portadoras de MPS do tipo VI foram encaminhadas para Porto Alegre (com todas as despesas pagas) e estão participando de um protocolo de tratamento para MPS VI baseado na Terapia de Reposição Enzimática. Este procedimento terapêutico foi reconhecido pelo Ministério da Saúde do Brasil.

A Doença de Niemann-Pich tipo A (Esfingolipidose) foi detectada em um paciente, através da suspeita clínica e foi confirmado após o resultado do ensaio enzimático da enzima defeituosa. Esta é um distúrbio hereditário no qual a deficiência de uma enzima específica acarreta o acúmulo de esfingomielina, um produto do metabolismo das gorduras. Os pacientes acometidos por Niemann-Pich tipo A, apresentam alterações graves do sistema nervoso porque os nervos não conseguem usar a esfingomielina para produzir a mielina necessária para a formação da bainha de mielina que normalmente envolve muitos nervos.

Foram detectados 02 pacientes com Adrenoluecodistrofia Ligada ao X (X-ALD), que é uma doença genética neurodegenerativa causada pela  $\beta$ -oxidação deficiente dos ácidos graxos de cadeia muito longa (VLCFA), que ocorre em uma organela celular chamada de peroxissoma. Como consequência, ocorre acúmulo dos VLCFA nas células e plasma do paciente. Os sintomas clínicos advindos desse acúmulo são as convulsões, hipotonia e uma severa regressão neurológica a partir dos 6 a 8 anos de idade. Os 02 pacientes foram diagnosticados tardiamente e o tratamento está sendo acompanhado por neuropediatras da Fundação Hospital Santa Casa de Misericórdia do Pará, com o objetivo de melhorar a qualidade de vida dos mesmos.

Uma criança foi diagnosticada com Distúrbio do Ciclo da Uréia (DCU), devido ao quadro clínico de hiperamoninemia, crises de ausência, regressão de linguagem e comportamento, e ao quadro bioquímico, que revelou níveis elevados de aminoácidos no plasma sanguíneo, o paciente ainda não tem diagnóstico diferencial devido a limitações técnicas.

O LEIM, para definir o diagnóstico do paciente com DCU, está mantendo contato com centros internacionais especializados na identificação desses distúrbios. O ponto importante é que o paciente já faz uma dietoterapia que previne os severos sintomas dessa doença.

Foi detectado 01 pacientes portador de Fenilcetonúria, que é uma doença hereditária e se caracteriza pela falta ou deficiência da enzima fenilalanina-hidroxilase, impedindo que o organismo metabolize e elimine o aminoácido fenilalanina que, em excesso no sangue, é tóxico, causando, principalmente, deficiência mental.

A Tirosinemia do Tipo I foi detectada em um paciente através da análise realizada pelo serviço do HCPA. A tirosinemia é uma DMH caracterizada pela deficiência de algumas enzimas que metabolizam o aminoácido tirosina, que é um aminoácido não-essencial oriundo da dieta, da hidroxilação da fenilalanina no fígado e do catabolismo protéico. A tirosinemia tem como principais manifestações clínicas a disfunção hepática, hipoglicemia e anemia.

Um paciente foi diagnosticado tardiamente (foi à óbito) como portador da doença da Urina do Xarope do Bordo (DUXB). Esse é um EIM raro que é causado pela deficiência na atividade do complexo (-ceto ácido desidrogenase de cadeia ramificada (branched chain (-keto acid dehidrogenase [BCKAD])). Esse defeito leva ao acúmulo, nos tecidos e fluidos

corporais, dos alfa-cetoácidos ramificados e seus aminoácidos correspondentes: valina, leucina e isoleucina.

A forma neonatal clássica da DUXB é a mais comum, geralmente manifestando-se nos primeiros dias de vida, sendo o fenótipo clássico, que é o mais comprometedor visto que, na maioria dos casos e de acordo com a literatura, a morte do recém-nascido se dá por volta dos 4 meses de idade. Problemas alimentares, danos neurológicos progressivos alternando com hipotonia e hipertonia, aumento de leucina no sangue e letargia são típicos dessa doença.

Um caso de Galactosemia foi diagnosticado, sendo esta é uma doença metabólica rara causada pela deficiência da enzima galactose 1-fosfato uridil transferase presente no metabolismo da galactose, não permitindo que esta seja transformada em glicose, principal fonte de energia do organismo. O acúmulo da galactose ou de seus metabólitos é a causa das manifestações clínicas típicas nas duas primeiras semanas (insuficiência hepatocelular, hepatoesplenomegalia, catarata, anemia hemolítica e sepsis). Os órgãos mais atingidos são os rins, o fígado, o cérebro.

Os sintomas agudos são revestidos após a restrição da ingestão da galactose, a qual deve ser mantida durante todo o período de vida do paciente. Entretanto, nem o diagnóstico precoce nem a dietoterapia adequada parecem prevenir o desenvolvimento da disfunção cognitiva e de insuficiência ovariana.

A doença Leucodistrofia Metacromática (LDM) é caracterizada pelo distúrbio do metabolismo da mielina, causado pela deficiência da enzima arilsulfatase A ou da sua proteína ativadora. Os sintomas clínicos dessa enfermidade apresentam-se após os 14 e 16 meses de vida, e as crianças tem dificuldades para se locomover, quedas frequentes, genu recurvatum e pés eqüinos. Foi diagnosticado um caso dessa doença no LEIM.

A frequência mostra que para cada 44 pacientes encaminhados ao serviço de investigação de DMH do LEIM, 1 apresenta algum distúrbio metabólico hereditário. Essa revela uma estatística expressiva da presença de tais afecções na população da região norte.

De posse do diagnóstico correto para os pacientes, o LEIM permitiu ao médico, quando possível, a instituição do tratamento adequado, contribuindo dessa forma para o controle do quadro clínico e melhoria significativa da qualidade de vida dos pacientes.

Além da investigação e detecção de DMH, o LEIM preocupa-se com a conduta que deverá adotar com as famílias dos pacientes diagnosticados com EIM. Estas devem receber informações sobre o aconselhamento genético, esclarecendo os possíveis perigos para uma nova gestação do casal levando-se em conta o padrão de herança do distúrbio.

Se no caso o distúrbio apresentar-se como uma doença autossômica recessiva, esta terá uma probabilidade de recorrência de 25% em uma futura gestação e em outros casos, como as doenças genéticas com padrão de herança ligada ao cromossomo X, terão uma probabilidade de recorrência de 50% entre os filhos de sexo masculino e 50% das mulheres descendentes deste casal poderá carregar o gene para a DMH.

O LEIM já apresenta uma pequena experiência nesta área. Quando o laboratório diagnosticou o primeiro paciente portador da doença denominada de Adrenoleucodistrofia ligada ao X, também conhecida como a “Doença do Óleo de Lorenzo”, entrou em contato imediatamente com os familiares do enfermo, felizmente nenhum parente (irmãos ou primos) apresentava tal afecção genética.

## Conclusões

No setor laboratorial do LEIM houve um grande avanço com a padronização de diversas provas de triagem em material biológico de recém-nascidos e pacientes suspeitos ou de risco de apresentarem mutações genéticas. As técnicas padronizadas foram:

Triagem Bioquímica;

Ensaio Enzimático da Biotinidase;

Cromatografia de Aminoácidos;

Cromatografia de Glicosaminoglicanos;

Padronização da técnica qualitativa do Nitroprussiato de Sódio: Investigação de Homocistinúria (Aminoacidopatia).

A realização de eventos organizada pelo LEIM implantou mecanismos educacionais (cursos, palestras, seminários e oficinas) que proporcionaram a conscientização de profissionais da área da saúde e familiares de pacientes sobre a existência, a importância diagnóstico precoce e as consequências dos Erros Inatos do Metabolismo.

Uma extensa rede de comunicação foi firmada entre o LEIM e as direções de várias instituições de saúde pública como a do Hospital Universitário Bettina Ferro de Souza (HUBFS), Unidade de Referência Especializada: Materno Infantil e Adolescente (URE-MIA), Associação de Pais e Amigos dos Excepcionais do Pará (APAE), Hospital Santa Casa de Misericórdia (HSCM) e Centro de Reabilitação e Organização Neurológica do Pará (CEROM - IONPA), procurando identificar pacientes com algum EIM específico, e visando, também, a melhoria do serviço de detecção e investigação de novos casos de EIM.

A partir da aprovação de diversos projetos, o LEIM articulou a interação das atividades de extensão, ensino e pesquisa, as quais são desenvolvidas em suas dependências, incentivando a implantação de novos planos que, futuramente no Departamento de Fisiologia do Centro de ciências Biológicas - UFPA, definirão uma nova linha de pesquisa na área da Genética – Bioquímica.

As atividades do LEIM foram propagadas na mídia televisiva e na Internet, pelo “Programa Minuto da Universidade”, nos dias 07 e 09 de dezembro de 2002 e pelo site [www.ufpa.br/eim](http://www.ufpa.br/eim), respectivamente.

Frente ao número de pacientes encaminhados e diagnosticados, é imprescindível a consolidação de um Centro de Referência Regional na investigação de DMH, pois tais doenças apresentam uma frequência relevante na população da região norte, como mostrado na pesquisa realizada pelo LEIM. Um centro dessa magnitude oferecerá um serviço que ainda é incipiente em nossa região, contribuindo para a melhoria do quadro clínico de pacientes portadores de EIM.

O LEIM ao participar de ações de extensão, ensino e pesquisa, contribui para o início da construção de um serviço de investigação e tratamento, quando possível, de EIM oferecidos à população da região norte do Brasil. Dessa forma, o Laboratório proporcionou mudança, ainda em andamento, da realidade da saúde pública da nossa região.

Os graduando, hoje estagiários do LEIM, estarão, certamente, construindo conhecimentos e tendo uma formação diferenciada, que possibilitará estar atento a situações que demandem o conhecimento sobre as DMH.

O processo de ensino desenvolvidos no LEIM oferece embasamento teórico e prático aos seus estagiários, para que estes aperfeiçoem suas atividades profissionais, colaborando, dessa forma, para a formação de profissionais comprometidos com a sociedade na qual estão inseridos.

#### Referências bibliográficas

AUSUBEL, F.M. et al. *Current Protocols in Molecular Biology*. Cambridge, Jonh & sons, 1997.

BLAU, N.; DURAN, M.; BLASKOVICS, M.E. *Physician's Guide to the Laboratory Diagnosis of Metabolic Disease*. London: Chapman & Hall Medical. 1996

FARAH, S.B. *DNA Segredos e Mistérios*. São Paulo: Sarvier, 1997, 27 p.

GIMENEZ-SANCHEZ, G. et al. In: *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease*. 8 ed. New York: McGraw Hill, 1994.

GIUGLIANI, Roberto. Erros Inatos do Metabolismo no Período Neonatal. 2. ed. Porto Alegre, 1997. 254-267 p.

LATOUR, B. & WOOLGAR, S. A Vida de Laboratório: Produções dos Fatos Científicos. Rio de Janeiro: Editora Relume – Dumará, 1997.

SCRIVER, C. R. The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease. 8. ed. New York: McGraw Hill, 2001.

SCRIVER, C. R. Alkaptonuria: Such a Long Journey. Nature Genetics. 14: 5-6, 1996.

SILVA, L.C.S.; PIRES, R.F.; COELHO, J.C.; JARDIM, L.B.; GIUGLIANI, R. Evaluation of an Aspartame Loading Test for the Detection of Heterozygotes for Classical Phenylketonuria. Clin. Genet.51: 231-235. 1997.

Zschocke, J. Hoffmann, G.F. Vademecum Metabolicum: Manual of Metabolic Paediatrics. London: Schattauer. 1999. 1-34 p.