Catabolismo dos aminoácidos: ciclo da ureia

Esmeralda Rodrigues
Unidade de Doenças Hereditárias do Metabolismo
Hospital Pediátrico Integrado
Centro Hospitalar de São João, EPE

XIII Curso Básico Doenças Hereditárias Metabolismo, Coimbra

Proteínas corporais

Proteólise

Síntese proteica

Síntese de novo

Compostos carbono + nitrogénio

Pool Amino Ácidos

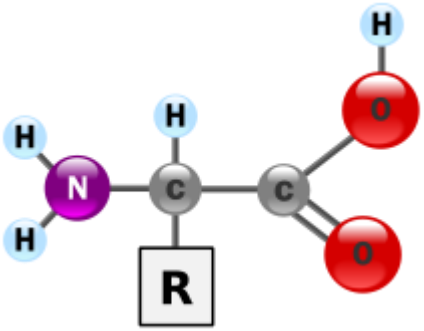
Catabolismo

Ureia + CO_2

Biosíntese compostos nitrogenados

AA dieta

Porfirinas, creatina, carnitina hormonas, nucleótidos



Fontes de AA

Destinos dos AA

Fontes e destinos dos aminoácidos (AA)

Catabolismo aminoácidos: amónia

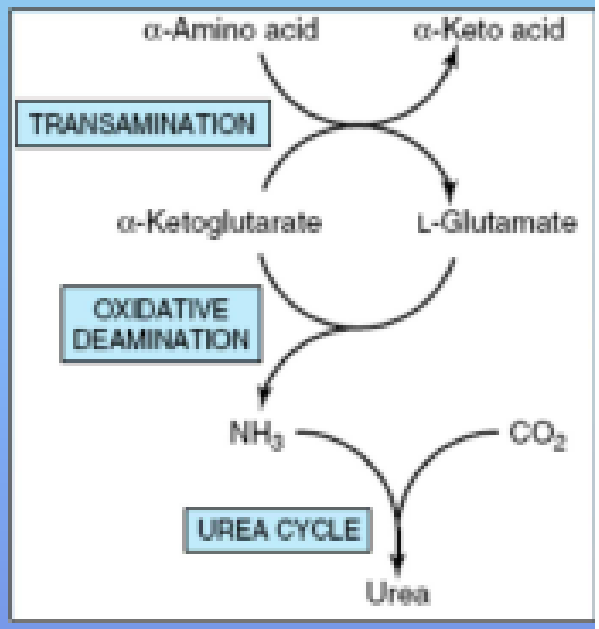
Destino dos átomos de azoto dos a.a. (biossíntese da ureia)

1 - Transaminação

2 - Desaminação oxidativa do Glu

3 - Transporte do amónio

4 - Reações do ciclo da ureia

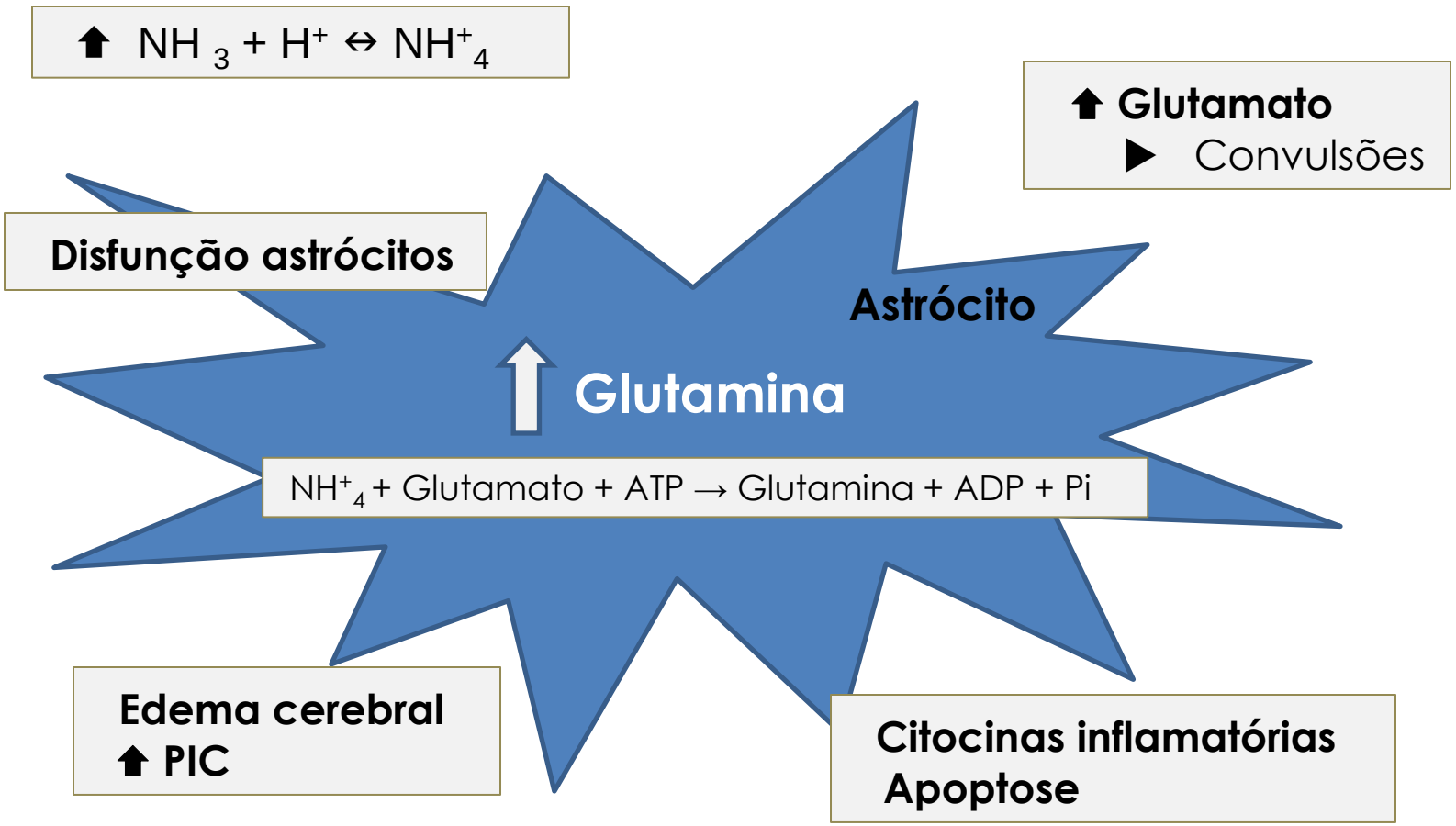


Transporte do amónio

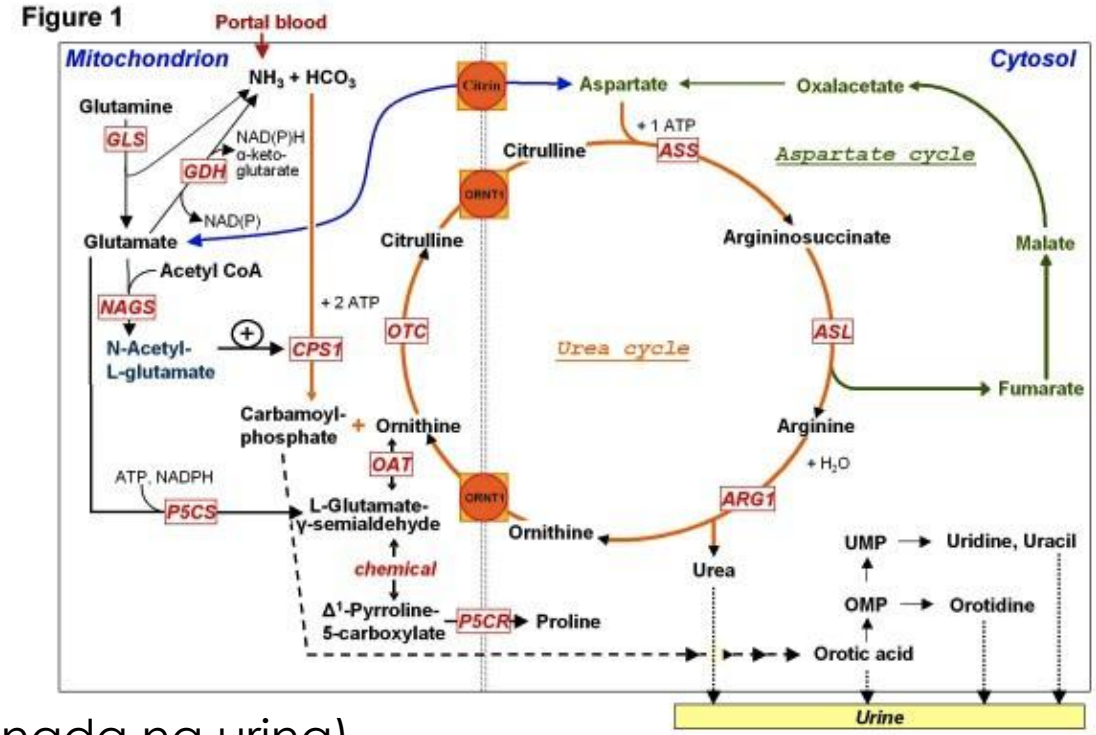
Amónio
(produzido em todos os tecidos)
↓
Glutamato
↙ ↘
Glutamina ↓ Alanina
↓ ↓ ↓
Transporte para o fígado
↓
Conversão do NH_4^+ a ureia

Amónia : Tóxica !

Hiperamoniémia: encefalopatia



Ciclo da Ureia



- Depuração amónia

  amónia > **ureia** (eliminada na urina)

- Síntese arginina

2 enzimas mitocondriais – CPS_1, OCT

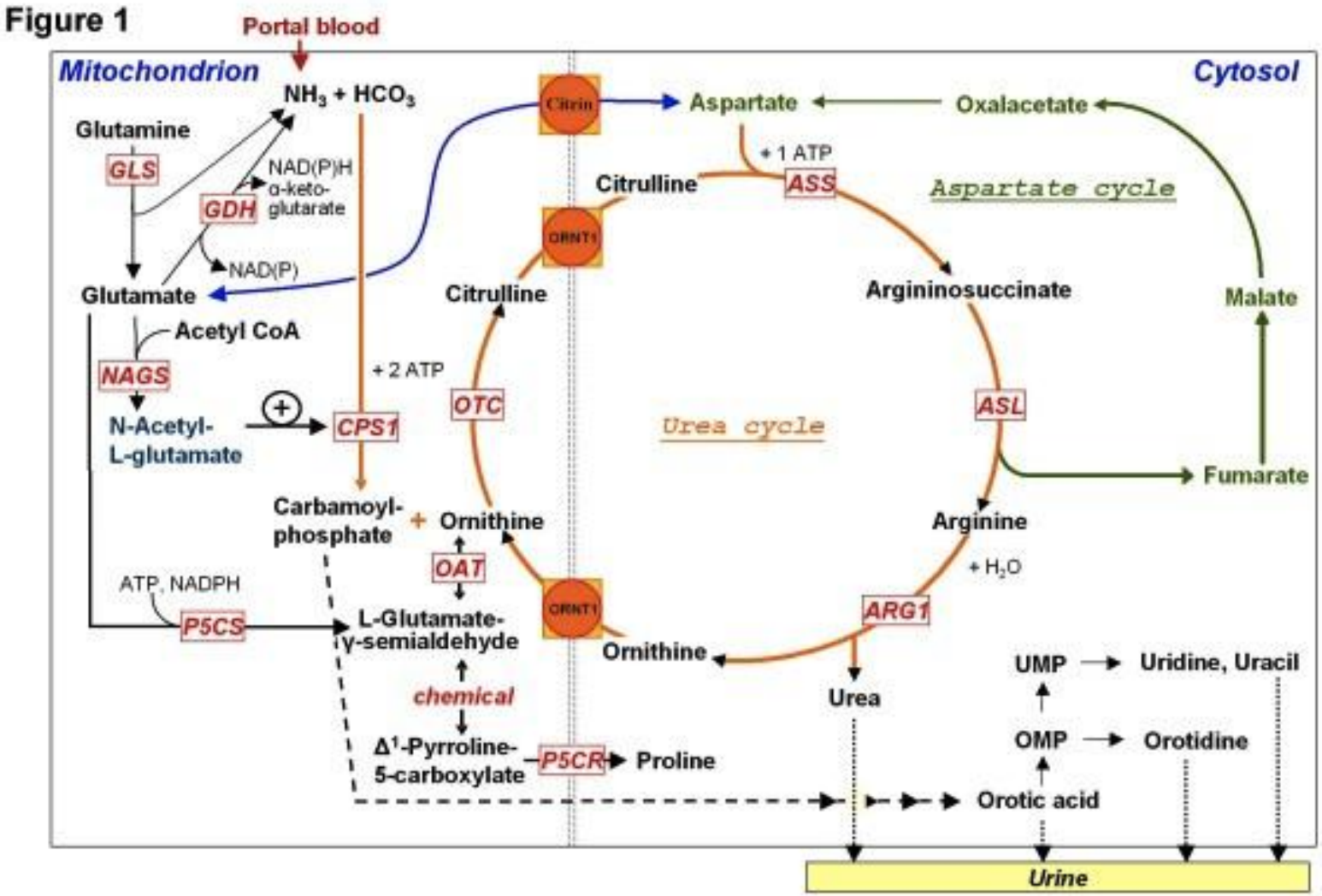
3 enzimas citoplasmaticas – ASS, ASL, ARG1

1 activador – NAGS (mitocondrial)

2 transportadores de membrana: ORNT1, Citrina

Orphanet J Rare Dis. 2012; 7: 32

Johannes Haberle et al: Suggested guidelines for the diagnosis and management of urea cycle disorders



NAGS: N acetilglutamato sintetase

CPS1: Carbamil-fosfato sintetase1

OTC: Ornitina transcarbamilase

ASS: Argininosuccinato sintetase: **Citrulinemia tipo1**

ASL: Arginosuccinato liase : **Acidúria argininosuccínica**

ARG1: Arginase 1: **Argininemia**

Doenças do Ciclo da Ureia

Incidência

DCU: 1:10 000 RN (1:8000-1:44000)

Mais frequente: ***deficiência de OCT - 1:14.000*** (1:20 000-1:40 000)

… mais raras: Def NAGS
Def. ARG1 (Portugal…)

Hereditariedade

Autossómica Recessiva: Def NAGS, CPS, ASS, ASL, ARG1

Lig. Cromossoma X: Def. OCT

Doenças do Ciclo da Ureia: clínica

Quadros "tipo intoxicação"

apresentação: neonatal → adulto

aguda,… recorrente/ crónica

- Sinais e sintomas são inespecíficos

Neurológica (mais frequente)

Suspeitar em **todos os RN com sintomatologia neurologica**

Em qualquer idade se **encefalopatia aguda**

Hepática (…insuficiência hepática) / **Gastrointestinal**

Alteração psiquiátrica inespecífica

Triade Clássica: encefalopatia
amónia ↑ ↑ ↑
alcalose respiratória

Formas de apresentação clínica

Recém nascido e pequeno lactente (forma aguda)

Idade escolar, adolescente e adulto

Lactente e criança pequena (até 3 anos idade)

RN **normal** que às poucas horas ou dias de vida: ↓ sucção, hipotonia, irritabilidade, recusa alimentar, sonolência, e/ou convulsões

AGUDA: episódios de encefalopatia aguda de diferente intensidade

encefalopatia aguda, letargia, alt. consciência, ataxia e convulsões

SUB-AGUDA/CRÓNICA: dificuldades aprendizagem, alt. comportamento, sinais cerebelosos e psiquiátricos, ep.

AGUDA: episódios de encefalopatia aguda de diferente intensidade

Progressão rápida para coma e morte!

SUB-AGUDA: MPP, vómitos recorrentes, sintomas digestivos, episódios encefalopatia aguda relacionada com a ingestão proteica, febre e/ou descoordenação, atraso psicomotor

stress

Sepsis neonatal!

Perante qq quadro encefalopatia ou alteração psiquiátrica aguda: avaliar amónia plasmática!!

Fatores desencadeantes

aumento da carga proteica - ingestão proteica (diversificação alimentar!), hemorragia digestiva/ interna

diminuição do aporte (energético/proteico) – jejum, vómitos, perda ponderal no RN

destruição tecidular - involução uterina pós parto, hemólise, exercício físico intenso ou prolongado, quimioterapia

catabolismo (degradação de proteínas) – infecções, febre, cirurgia, alta dose corticóides

fármacos – valproato de sódio , L-asparaginase, …

Particularidades

Aciduria argininosuccinica (ASLD): Trichorrhexis nodosa

Argininenemia: Diplegia espática progressiva

Def. OCT (X linked) Rapaz: forma neonatal grave (mas…)

Rapariga: sintomatologia variável

assintomática $\Rightarrow$ grave neonatal

(dependente do grau de inactivação do cromossoma X mutado)

Doenças Ciclo Ureia: diagnóstico

Antecedentes

- Consanguinidade
- Mortes neonatais inexplicadas
- Doenças neurológicas ou psiquiátricas
- Aversão proteica , vómitos,
  diversificação alimentar, fármacos …

Exame objectivo

- Hepatomegalia
- Trichorrhexis nodosa (cabelo esparso, queda)
- Exame neurológico
- Avaliação do desenvolvimento psicomotor

Laboratório

- **Hiperamoniémia**

Atenção colheita! sem garrote
conservar em gelo para transporte
análise imediata
falsos + (dificuldade colheita, choro, convulsão….)

- **Alcalose respiratória**

Presente na fase inicial em 50% dos RN com UCD,…

- **Citólise hepática/ Insuficiência hepática**

Hiperamoniémia

> 100 umol/L RN
> 50 umol/L

Primária (hereditária)

- **Defeitos Ciclo Ureia**
- Síndrome HHH, Intolerância proteínas com Lisinúria, def OAT, def de Citrina

Secundária (hereditária)

- **Acidúrias Orgânicas**
- Defeitos Cobalamina
- Def. biotinidase e holocarboxilase
- **Defeitos β-oxidação ác. Gordos**
- Metabolismo Piruvato

Outras:

H. Transitória do Prematuro

Insuficiência hepática

Fármacos (acido valproico,…)

Sind Reye

….

Mau processamento amostra!

The significance of a high plasma ammonia value

S L Chow, V Gandhi, S Krywawych, P T Clayton, J V Leonard and A A M Morris

Arch. Dis. Child. 2004;89;585-586
doi:10.1136/adc.2003.036236

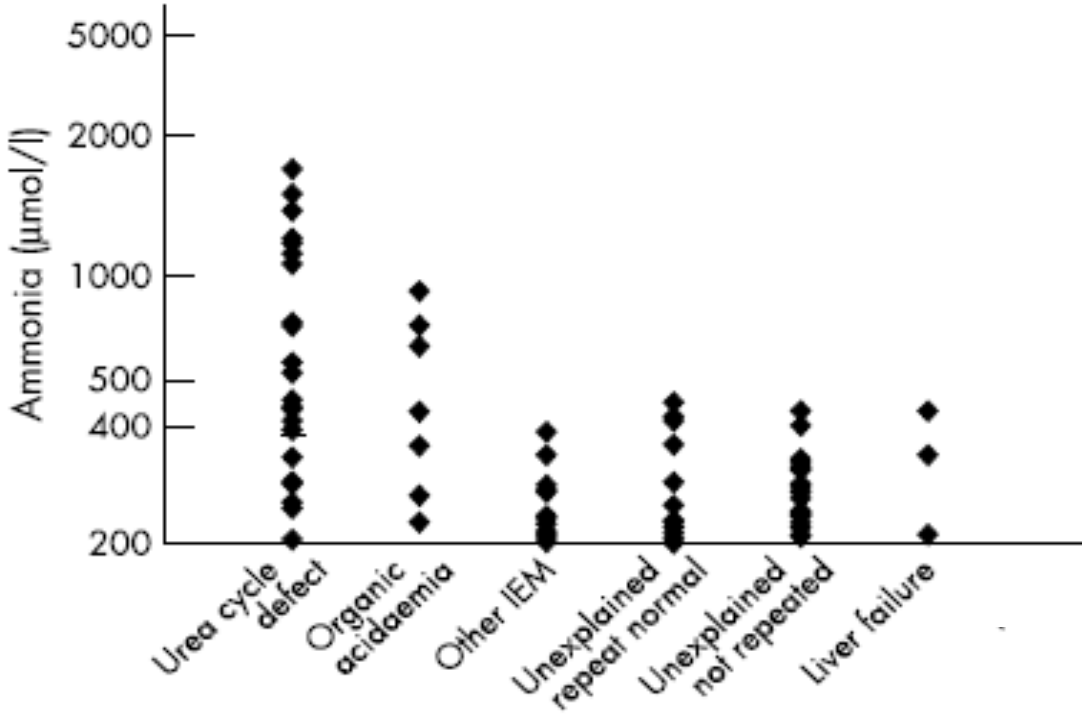


Figure 1 Plasma ammonia concentrations by diagnosis. Concentrations have been plotted on a logarithmic scale. IEM, inborn errors of metabolism;

Table 2 Bedside differential diagnosis of inborn errors of metabolism presenting with hyperammonemia

Parameter	Condition				
	UCDs	Organic acidurias	β-Oxidation defects	Hyperinsulinism-hyperammonemia syndrome	Pyruvate carboxylase deficiency [g]
Acidosis	+/–	+ [e]	+/–	–	+
Ketonuria[a]	–	+	–	–	++
Hypoglycemia[b]	–	+/–	+	+	+
↑ **Lactic acid**[c]	–	+	+/–	–	+
↑ **AST & ALT**	(+)[d]	–	+	–	+/–
↑ **CPK**	–	–	+	–	–
↑ **Uric acid**	–	+	+	–	–
↓ **WBC/RBC/Plt**	–	+	–	–	–
Weight loss	–	+[f]	–	–	+

In addition to the conditions indicated in the table, mitochondrial oxidative phosphorylation defects, citrin deficiency, lysinuric protein intolerance or ornithine aminotransferase deficiency can also cause hyperammonemia.

Orphanet J Rare Dis. 2012; 7: 32

Johannes Haberle et al: Suggested guidelines for the diagnosis and management of urea cycle disorders

Importância testes determinação rápida:

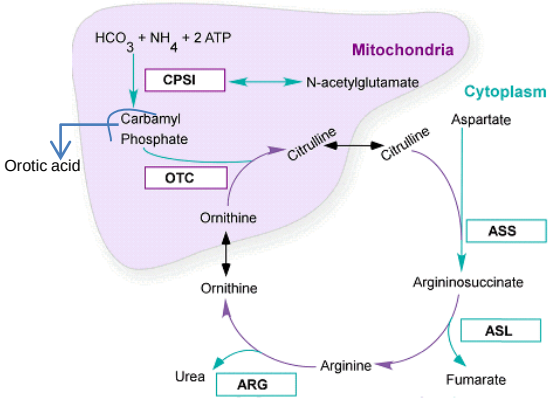
Glicemia + Equilíbrio Ácido base + Cetose

Diagnóstico bioquímico específico

- Cromatografia aminoácidos (S /U)
- Doseamento do ácido orótico (U)
  - Acilcarnitinas, ácidos orgânicos
    - ***COLHEITAS EM CRISE!*** **Sangue + urina**

(antes do inicio do tratamento)

Marcador: Glutamina↑↑↑
Orientação: Citrulina,
ácido orótico
arginina, ácido argininossuccinico,



Doença Primária Ciclo Ureia

Citrulina N/↓

Dosear Ácido Orótico

- **N / ↓** → **Deficiência NAGS ou CPS**
- **↑** → **Deficiência OCT**

Citrulina ↑

Dosear Argininosuccinato

- **Ø** → **Deficiência Arginino-succinato sintase**
- **↑** → **Deficiência Arginino-succinato liase**

Arginina ↑

Defic. Arginase

Citrulina

Confirmação de Diagnóstico

- Doseamento actividade enzima deficitária (tecido apropriado)
  - Fígado (todas) : CPS1 , NAGS, OCT
  - Fibroblastos: ASS, ASL
  - Globulos rubros: Arg 1

- **Genética** …aconselhamento familiar: dx pré-natal

Doenças Ciclo Ureia: tratamento

Inicial/ agudo

- Estabilização
- Tratamento da hiperamoniémia

Evitar a produção de metabolitos tóxicos

Suporte básico (A,B,C)

Stop! Proteinas

Reversão catabolismo

Desintoxicação específica

Referenciar Centro Doenças Hereditárias do Metabolismo

Crónico

Doenças Ciclo Ureia: Tratamento Urgência

Medidas Gerais

- **Suspender aporte proteico (24 – 48 h)**

  Não mais do que 48h para evitar desnutrição e catabolismo

  Reintrodução de proteínas (entérica ou parentérica) quando amónia <100µmol/l

- **Evitar catabolismo: anabolismo +++**

(aporte calórico elevado)

- Via oral/ SNG: polimeros glicose,

  ...formulas isentas proteinas ou modificadas em gorduras

Idade (anos)	**polimeros glicose (g/100 ml)**	**Volume diário**
0-1	10	150-200 ml/kg
1-2	15	100 ml/ kg
2-6	20	1200-1500 ml
6-10	20	1500-2000 ml
>10	25	2000 ml

Doenças Ciclo Ureia: Tratamento Urgência

Medidas Gerais

- **Evitar catabolismo: anabolismo +++**

(aporte calórico elevado)

- Via endovenosa:

Infusão de Glicose a 10-12% (Associar electrólitos à solução)

Preparação Soro composto de glicose a 10% e NaCl a 0,45%: mistura de partes iguais de glicose a 20% e NaCl a 0,9% ou mistura de 500 ml de glicose a 10% + 20 ml de NaCl a 20%

Insulina (efeito benéfico met. Lipidico, anabolismo, balanço proteico)

Lípidos

Doenças Ciclo Ureia: Tratamento Urgência

Medidas Gerais

- **Risco edema cerebral!**

  atenção correção alt equilibrio ácido base

  monitorização frequente (Glasgow + sinais vitais + **iões**)

- Se vómitos: **ondansetron** (0,15 mg/Kg ev)
- **Não usar Valproato de Sódio**
- Adequada cobertura **antibiótica**

Se amónia >250 µmol/L, acesso vascular central.

Monitorizar valor de amónia a cada 3h.

Doenças Ciclo Ureia: Tratamento Urgência

Remoção tóxico: Hiperamoniemia

Terapêutica farmacológica:

Quelantes amónia : Benzoato de Sódio, Fenilbutirato de Sódio

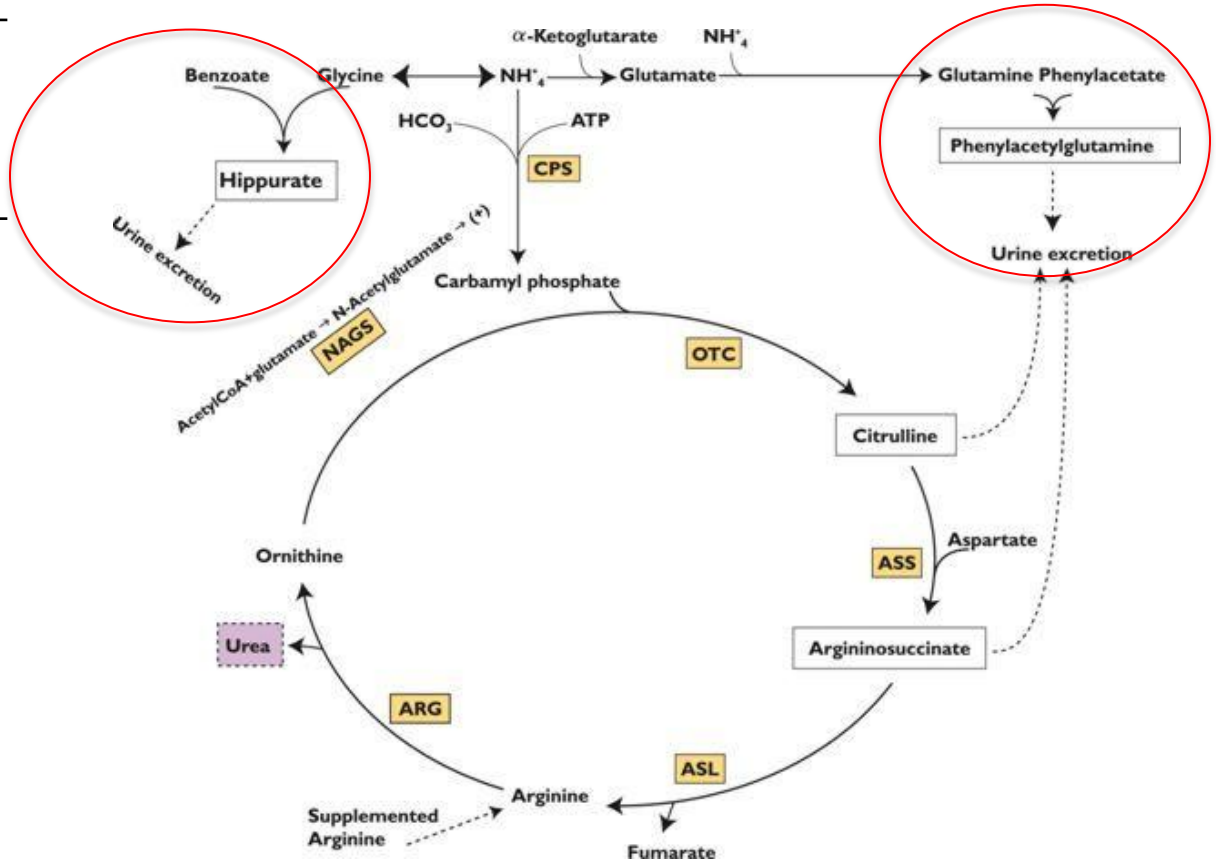
L Arginina/ L Citrulina

N-carbamilglutamato (Ácido carglumico)

Fármacos depuradores de amónia

Benzoato de sódio	Administrar 250 mg/kg (se >20kg – 5,5 g/m^2) nas primeiras 2h e 250 mg/kg/d (se >20Kg – 5,5 g/m^2) nas 22h seguintes	EV, PO
Fenilbutirato de sódio	Administrar 250 - 500 mg/kg/d (se >20kg: 25 g/m^2; dose máxima de 20g) divididos em 4 tomas (diluir com água)	PO

Mistura de fenilacetato de sódio e benzoato de sódio (EV)

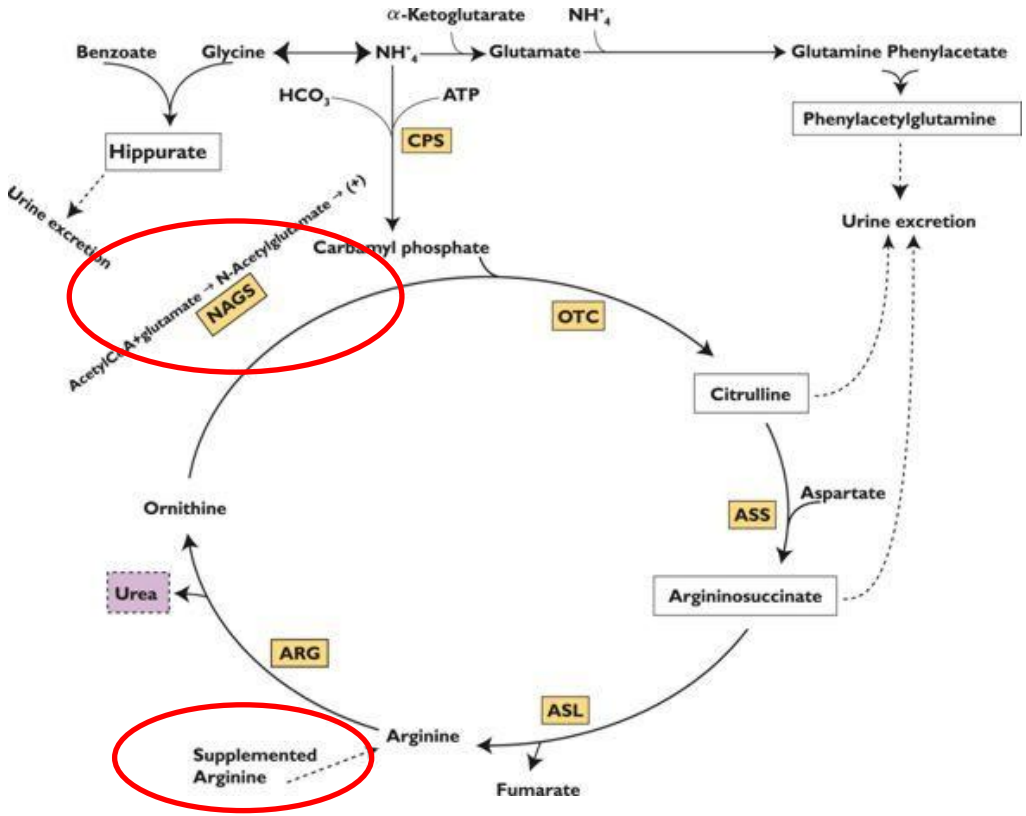


Atenção Sódio!

- **L- Arginina** (L-citrulina) promove a excreção da amónia, AA essencial cuja produção está comprometida

(ALERTA se Argininemia)

- **N-Carbamilglutamato** : análogo da N-acetilglutamato, activadora da CPS1



Doenças Ciclo Ureia: Tratamento Urgência

Remoção tóxico: Hiperamoniemia

Medidas de depuração extra renal:

- ❑ Amónia > 500 µmol/L
- ❑ Amónia não ↓ significativamente nas primeiras horas com Tx adequado
- ❑ Deterioração neurológica

  - ❑ No adulto: …amónia >200 µmol/L

Orphanet J Rare Dis. 2012; 7: 32
Johannes Haberle et al: Suggested guidelines for the diagnosis and management of urea cycle disorders

Remoção de tóxico: Depuração extra-renal

Técnica de depuração extra-renal	Remoção amónia (ml/min)	Tempo (h)	Notas
Diálise peritoneal	3-5	> 24	Muito pouco eficaz
Hemofiltração	8	12 – 20	Eficaz
Hemofiltração com diálise	20	7	Eficaz; preferível <5kg
Hemodiálise	30	1 – 4	Muito eficaz; preferível >10kg
ECMO com hemodiafiltração	220	<0,5	Útil se NH_4 > 1000 µmol/L

Protocolo de Atuação na Hiperamoniemia

Valores de amónia (µmol/L)

50 - 100 (100-150 RN)	100 - 250 (150-250 RN)	250 - 500	500 - 1000	>1000
I	II	III	IV	V
Medidas gerais	Tratar como em I + L-Arginina + Benzoato de sódio + Fenilbutirato de sódio	Tratar como em II + Preparar depuração extra-renal se: encefalopatia, valor elevado de amónia na fase inicial, início de doença em D1-2 de vida e Iniciar depuração extra-renal se não houver melhoria da amónia em 3-6h	Tratar como em III + Iniciar depuração extra-renal	Ponderar continuação de tratamento específico ou cuidados paliativos

Orphanet J Rare Dis. 2012; 7: 32
Johannes Haberle et al: Suggested guidelines for the diagnosis and management of urea cycle disorders

Doenças Ciclo Ureia: tratamento

Manutenção

Nutricional – aporte controlado proteínas: equilíbrio!

Proteínas naturais/mistura aas. Diversificação

Suplementos: aas essenciais, vitaminas e oligoelementos

Aporte calórico

Farmacológico

Benzoato de sódio/fenilbutirato/

Arginina, Ac Carglumico

Sintomático - apoio multidisciplinar alargado

Prevenção das descompensações

Regimes semi-urgência/urgência

Educação ! *instruções perante descompensação aguda/ prevenção*

Integração

Aceitação

Manutenção

- **Transplante hepático**: Tratamento curativo

NÃO reverte as sequelas neurológicas
…antes da ocorrência de sequelas neurológicas irreversíveis

Indicações:
- Apresentação neonatal grave
- Doença hepática progressiva
- Descompensações metabólicas recorrentes apesar do cumprimento da terapêutica
- Má qualidade de vida

Prognóstico

Amoniémia e estado clínico no episódio inaugural

Mau prognóstico

Amónia >1000 ao dx e não responde ao tratamento inicial

Amónia > 2000 : sequelas neurológicas graves

Duração da hiperamoniémia

… descompensações

…Def enzimático/ actividade enzimática residual

(Def NAGS: ácido carglumico tratamento eficaz)

SÃO JOÃO
HOSPITAL

CASOS CLÍNICOS

Caso clínico

- **Recém-nascido, sexo masculino (RAAFP)**

- VG IIIP, vigiada e sem intercorrências
- Pais não consanguíneos

- Parto eutócico às 39^{+6} SG,
- Apgar 9/10
- Antropometria: 3430 g; 50,9 cm; 34,8 cm (AIG)

- Alta às 48h vida com aleitamento materno exclusivo
- Diagnóstico precoce ao 6º dia de vida

Caso clínico

- **D 7- Vómitos, recusa alimentar e letargia**
- **D 8 – Médico Assistente**
- **D 10 – Serviço de Urgência → Internamento (suspeita de sépsis)**
  - Alcalose respiratória (pH 7,43 | pCO2 22 | pO2 69 | HCO3- 19,8)
  - Leucócitos 17 700/µl (46,5% N e 45,5% L); plaquetas 599 000; PCR 0,01 mg/dl; LCR – sem alterações
  - Ecografia abdominal sem evidência de EHP, sem organomegalias
  - Inicia Ampicilina + Gentamicina
  - Tensão arterial persistententemente > P_{95} → Labetalol

Caso clínico

- **D 11 – Apneia e crise convulsiva**
  - Ventilação mecânica
  - Fenobarbital
- **D 12 – Coma não reactivo**
  - Ecografia transfontanelar: edema cerebral
  - **Amónia: 1303 µmol/l**

↓

Suspeita de Doença Hereditária do Metabolismo

Transferência para a UCIN do CHSJ

Na admissão : amónia 2064 µmol/l

Caso clínico

- **UCIN:** RN termo, sexo masculino
  Coma não reactivo
  Hiperamoniémia grave
  Sem hipoglicemia, Sem cetose

Atitudes?

Colheitas em crise (plasma, urina, cartão Guthrie)

- **Aporte elevado de glicose (glicose 15 mg/ kg/ min)**

+ insulina (0,05 mg/ kg/ min)

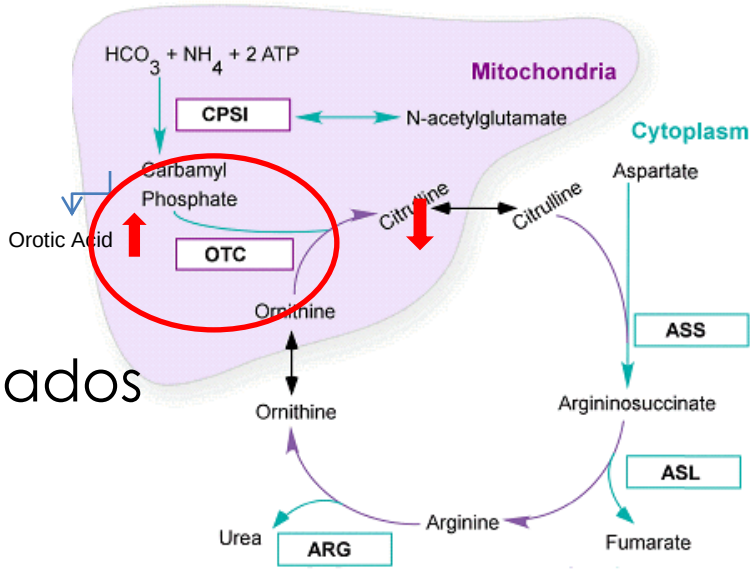
- **Depuração endógena:**

  Benzoato de sódio, fenilbutirato de sódio e L-arginina

- **Depuração exógena: Diálise**

  Suspendeu ao fim de 24 horas (amónia 89 µmol/l)

Caso clínico



- **Diagnóstico precoce: normal**
  - Citrulina e Arginina não elevados

- **Avaliação metabólica específica:**
  - …
  - **Ácido orótico – 1470 µmol/mmol creat (1,1-2,5) ↑**

- **Estudo molecular:**
  - Mutação em hemizigotia no gene OCT (I159T)

Caso clínico

- **D 13**
  - Ecografia transfontanelar: edema cerebral com colapso ventricular
  - EEG: densíssima actividade epileptiforme generalizada e multifocal
- **D 14**
  - Reinicia dieta com restrição proteica
  - Ventilação espontânea
  - Reflexos primitivos presentes
- **D 24**
  - Alimentação espontânea na totalidade
  - Hipotonia axial e hipertonia dos membros ligeiras
- **D 25 - Alta**

Caso clínico

- **Evolução:**

Terapêutica em ambulatório

  - Restrição proteica + mistura de aminoácidos
  - Benzoato de sódio + Fenilbutirato + L-arginina
  - Suplementos vitamínicos e minerais

Sem descompensações agudas
DPM: QD 73

- **Estudo familiar**
  - Mãe portadora

Caso 2

4 anos, sexo feminino, referenciada ao SU por vómitos e dor abdominal recorrentes e elevação das transamínases

Antecedentes pessoais

- Gestação de termo, vigiada, sem intercorrências.
- Parto distócico (cesariana); Apgar 9/10, AIG.
- Período neonatal sem intercorrências.
- Aleitamento materno até aos 3 meses. Diversificação alimentar aos 4 meses.
- Evolução EP: Peso - P5-25; Estatura - P25; Perímetro cefálico - P25.
- DPM: normal.
- Nunca gostou de comer! (sic)

Antecedentes familiares

- Pais consanguíneos: primos directos, saudáveis.
- Irmã falecida com 1 semana de vida: pré-termo de 27 semanas, fibrose quística? (identificada 1 mutação).
- *Linha materna*: 2 tios (♂) falecidos às 24 h de vida

  1 tia (♀) falecida aos 13 meses por suspeita de meningite.

História da doença

6 meses antes…

- Entrada para Jardim infantil
- **Vómitos pós-prandiais** e **dor abdominal recorrentes**
- Avaliação (Pediatra): **AST e ALT elevadas**; **Ecografia abdominal normal**

15 dias antes…

- **Vómitos diários** de predomínio na escola
- **Dor abdominal** supra-púbica agravada durante a noite
- **Perturbação do sono**

Avaliação no SU (Doenças Metabólicas)

No SU

Exame objectivo

- Razoável estado geral; prostração ligeira.
- Consciente, colaborante, discurso coerente.
- Palidez; mucosas hidratadas.
- Normal padrão respiratório. Auscultação cardiopulmonar normal.
- Abdómen: mole e depressível; sem sinais de irritação peritoneal, sem organomegalias.

Exames complementares

- Equilíbrio ácido-base: pH- 7,49 HCO3- 21
- Hemograma NL; Ureia: 22 mg/dl; creatinina: 0,3 mg/dl; ionograma: N
- Glicose N; **ALT: 510 U/l; AST: 150 U/l**; GGT- 68 U/l, CPK- 202 U/L
- Sedimento urinário normal
- **Amónia: 505 µmol/l**

Colheitas em crise: sangue + urina

- Rapariga de 4 anos
- História familiar de morte neonatal em ♂ na linha materna, irmã prematura falecida por quadro não esclarecido
- Recusa alimentar
- Sintomatologia aguda recorrente
- Citólise hepática
- Hiperamoniémia grave
- Sem acidose ou cetose

DOENÇA DO CICLO DA UREIA

Tratamento

- Stop proteínas

- Glicose EV 12% + electrólitos
- Perfusão de insulina
- Benzoato de sódio (perfusão EV 250 mg/kg 120 min + 250 mg/kg 22 h)
- Fenilbutirato de Sódio 225 mg/kg/d (quid)
- Arginina

Amónia: ***H12*** **230** ***µmol/L*** ***H24*** **74** ***µmol/L***

Agravamento da citólise (D2-3): **ALT- 2895 U/L** **AST- 2675 U/L**

Melhoria progressiva posterior

Diagnóstico

Deficiência de OTC: mutação ATG>ATA codão 1

Evolução

- Dificuldade inicial na aceitação da terapêutica...
- Boa adesão à dieta
- Descompensação metabólica em contexto de infecção (amónia máx: 148 µmol/l)
- Crescimento EP: P75
- QI – 98. “Quadro de honra na escola”

Estudo de familiares

Mãe: amónia 100 µmol/l

Avó e tia recusaram estudo

Comentário final

Graves!
Diversidade de apresentação clínica
+/- subtil → evolução dramática!

Prognóstico dependente do diagnóstico e tratamento atempado

√ Diagnóstico precoce identifica

Citrulinemia tipo I, Aciduria Arginino Succinica, Argininemia

….

Sintomatologia precoce! (prévia ao rastreio)

Aumentar o alerta/ Estimular diagnósticos precoces

Amónia !

RN " sépticos"
RN com alcalose
Sempre que são feitos testes de intoxicação

…

- Obrigada