

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA: CIÊNCIAS MÉDICAS

**ESTUDO ABRANGENTE SOBRE OS DISTÚRBIOS DO CICLO DA URÉIA
(UCDs) NO BRASIL**

MARIANA LOPES DOS SANTOS

Porto Alegre

2024

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA: CIÊNCIAS MÉDICAS

**ESTUDO ABRANGENTE SOBRE OS DISTÚRBIOS DO CICLO DA URÉIA
(UCDs) NO BRASIL**

MARIANA LOPES DOS SANTOS

Orientador: Profa. Dra. Ida Vanessa Doederlein
Schwartz

Dissertação apresentada como requisito parcial
para obtenção de Mestre em Medicina: Ciências
Médicas, da Universidade Federal do Rio Grande
do Sul, Programa de Pós- Graduação em
Medicina: Ciências Médicas.

Porto Alegre

2024

CIP - Catalogação na Publicação

Lopes dos Santos, Mariana
ESTUDO ABRANGENTE SOBRE OS DISTÚRBIOS DO CICLO DA
URÉIA (UCDs) NO BRASIL / Mariana Lopes dos Santos. --
2024.
51 f.
Orientadora: Ida Vanessa Doederlein Schwartz.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do
Rio Grande do Sul, Faculdade de Medicina, Programa de
Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas, Porto
Alegre, BR-RS, 2024.

1. Genética Humana. 2. Epidemiologia. 3. Doenças
Raras. 4. Erros Inatos do Metabolismo. 5. Distúrbios
do Ciclo da Uréia. I. Doederlein Schwartz, Ida
Vanessa, orient. II. Título.

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da UFRGS com os
dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Epígrafe:

*“Os espíritos inquietos são os únicos responsáveis
pela evolução da humanidade.” (Jackson Oliveira)*

Agradecimentos

Na jornada da vida ninguém caminha sozinho e ao longo da minha trajetória sempre tive pessoas especiais ao meu lado.

Gostaria de agradecer primeiramente aos meus pais, meu irmão, minha família e amigos, meus principais apoiadores e incentivadores. Àqueles que estiveram dando todo o suporte necessário durante as turbulências do processo.

À minha orientadora Profa. Dra. Ida Vanessa Doederlein Schwartz, que me acompanha desde a graduação durante a iniciação científica, fomenta a educação e gera oportunidades. Agradeço por acreditar no meu potencial e confiar na minha capacidade de guiar este projeto com autonomia.

Um agradecimento especial também às minhas tutoras nesta jornada Dra. Fernanda Hedges de Bitencourt e Dra. Fernanda Sperb-Ludwig, sou grata por toda paciência e ensinamentos dedicados a mim neste processo do mestrado. Ao grupo de pesquisa Avaliação de Tecnologias de Saúde em Genética Clínica (ATGC) e laboratório BRAIN, em especial à minha colega e amiga Dévora Randon, que esteve presente desde o início da minha caminhada.

Agradeço também aos profissionais da saúde que auxiliaram e dedicaram do seu tempo para enviar os dados, aos pacientes e familiares por aceitarem participar do estudo. Aos colaboradores do Serviço de Genética Médica do Hospital de Clínicas de Porto Alegre e ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas (PPGCM) da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) por viabilizar a realização deste trabalho.

Muito Obrigada!

RESUMO

Introdução: Os distúrbios do ciclo da uréia (UCDs) são erros inatos do metabolismo associados à via de desintoxicação do nitrogênio. Seis enzimas principais e dois transportadores estão envolvidos no ciclo: carbamoilfosfato sintetase 1 (CPS1), ornitina transcarbamilase (OTC), argininosuccinato sintetase (ASS), argininosuccinato liase (ASL) e arginase 1 (ARG1), levando às respectivas deficiências (CPS1D, OTCD, ASSD, ASLD e ARG1D). Os UCDs também incluem deficiências de N-acetilglutamato sintase (NAGS), associadas à disfunção do ativador essencial de N-acetilglutamato de CPS1 e do antiportador mitocondrial ornitina / citrulina (ORNT1). Os UCDs têm uma incidência estimada de 1:8.000-44.000 nascidos vivos. A suspeita de seu diagnóstico depende da manifestação de hiperamonemia, e sua confirmação é realizada através da quantificação de ácido orótico na urina, perfil de aminoácidos no plasma e análise genética, exames pouco acessíveis no sistema público de saúde do Brasil (Sistema Único de Saúde- SUS). Os poucos estudos brasileiros sobre UCDs nas bases de dados sugerem que, apesar de existirem tratamentos específicos para essas doenças, a maioria dos pacientes evolui desfavoravelmente devido à falta de diagnóstico e tratamento precoce. **Objetivos:** O presente trabalho visa traçar um panorama das UCDs no Brasil, e contribuir para o conhecimento do perfil clínico e de distribuição regional dos pacientes. **Métodos:** Estudo observacional retrospectivo e transversal para caracterização clínica e genotípica de pacientes com diagnóstico de UCD no Brasil, com coleta de dados de prontuários enviados pelos profissionais de saúde responsáveis pelos casos. **Resultados:** Foram incluídos 44 pacientes com UCDs com mediana (IQR) de idade de 10 (6-20.5) anos sendo 21 do sexo feminino e 23 do masculino, oriundos de todas as cinco regiões do país: 6/44 (13.6%) do Centro-Oeste, 5/44 (11.4%) do Nordeste, 1/44 (2.3%) do Norte, 17/44 (38.6%) do Sudeste e 15/44 (34.1%) do Sul. Entre as condições diagnosticadas, 23/44 (52.3%) casos foram com OTCD, seguidos por 7/44 (15.9%) com ASLD, 5/44 (11.4%) com ARG1D, 5/44 (11.4%) com ASS1D, 3/44 (6.8%) com CPS1D e 1/44 (2.2%) com intolerância à proteína lisínica (LPI). A mediana (IQR) de idade ao diagnóstico foi de 6 (0-6) anos e a média de tempo de diagnóstico a partir do início dos sintomas de 1.5 ± 2.6 anos, com mediana (IQR) de amônia sanguínea de 168 (75.5-997) $\mu\text{mol/L}$ (valor de referência de 18-72 $\mu\text{mol/L}$) e de 22.5 (6.25-152) $\mu\text{g/mg}$ de creatinina de ácido orótico urinário (valor de referência de $\leq 14 \mu\text{g/mg}$ de creatinina). 25/44 (56.8%) foram diagnosticados na descompensação metabólica e sendo essa 9/10 (90.0%) das causas de morte (10/44, 22.7%). As manifestações clínicas mais frequentemente descritas foram hiperamonemia 27/44 (61.4%), vômitos 27/44 (61.4%), convulsões 22/44 (50.0%) e

letargia 21/44 (47.7%). 31/44 (70.4%) realizaram diagnóstico genético e o tratamento mais utilizado foi à restrição da ingestão proteica em 40/44 (90.9%) dos casos. **Conclusão:** Os dados destacam o diagnóstico tardio de UCDs no país. A prevalência destas doenças pode exceder a estimativa atual devido à falta de rastreio neonatal amplamente disponível e ao subdiagnóstico de casos fatais. O estudo também mostra a importância do diagnóstico genético e da terapia nutricional como principal tratamento.

Palavras-chave: Distúrbios do Ciclo da Uréia; Doenças Raras; Erros Inatos do Metabolismo; Hiperamonemia; Perfil Epidemiológico

ABSTRACT

Background: Urea Cycle Disorders (UCDs) are inborn errors of metabolism associated with the nitrogen detoxification pathway. Six main enzymes and two transporters are involved in the cycle: carbamoylphosphate synthetase 1 (CPS1), ornithine transcarbamylase (OTC), argininosuccinate synthetase (ASS), argininosuccinate lyase (ASL) and arginase 1 (ARG1), leading to respective deficiencies (CPS1D, OTCD, ASSD, ASLD and ARG1D). The UCDs also include N-acetylglutamate synthase (NAGS) deficiencies, associated with dysfunction of the essential N-acetylglutamate activator of CPS1 and the mitochondrial antiporter ornithine/citrulline (ORNT1). They have an estimated incidence of 1:8,000-44,000 live births. The suspicion of its diagnosis depends on the manifestation of hyperammonemia, and its confirmation is carried out through the quantification of orotic acid in the urine, plasma amino acids profile and genetic analysis, tests that are not widely accessible in the public health system in Brazil (Sistema Único de Saúde -SUS). The few Brazilian studies on UCDs in the databases suggests that, despite there being specific treatments for these diseases, the majority of patients progress unfavorably due to lack of early diagnosis and treatment. **Objectives:** This study aims to provide an overview of UCDs in Brazil, and contribute to knowledge of the clinical profile and regional distribution of patients. **Methods:** Retrospective and cross-sectional observational study for clinical characterization of patients diagnosed with UCD in Brazil, with data collection from medical records sent by health professionals responsible for the cases. **Results:** 44 patients with UCDs were included with a median (IQR) age of 10 (6-20.5) years, 21 females and 23 males. From all 5 regions of the country: 6/44 (13.6%) from the Central-West, 5/44 (11.4%) from the Northeast, 1/44 (2.3%) from the North, 17/44 (38.6%) from the Southeast and 15/44 (34.1%) from the South. Among the diagnosed conditions, 23/44 (52.3%) cases was diagnosed with OTCD, followed by 7/44 (15.9%) with ASLD, 5/44 (11.4%) with ARG1D, 5/44 (11.4%) with ASS1D, 3/44 (6.8%) with CPS1D and 1/44 (2.2%) with Lysinuric protein intolerance (LPI). The median (IQR) age at diagnosis was 6 (0-6) years and the mean time of diagnosis from the onset of symptoms of 1.5 ± 2.6 years, with median (IQR) of blood ammonia levels of 168 (75.5-997) $\mu\text{mol/L}$ (reference value of 18-72 $\mu\text{mol/L}$) and 22.5 (6.25-152) $\mu\text{g/mg}$ creatinine of urinary orotic acid (reference value of $\leq 14\mu\text{g/mg}$ creatinine). 25/44 (56.8%) were diagnosed at the metabolic decompensation and that being the 9/10 (90.0%) of the causes of death (10/44, 22.7%). The most frequently described clinical manifestations were hyperammonemia 27/44 (61.4%), vomiting 27/44 (61.4%), seizures 22/44 (50.0%) and lethargy 21/44 (47.7%). 31/44 (70.4%) underwent genetic diagnosis and the most used treatment was restriction of protein

intake in 40/44 (90.9%) of cases. **Conclusions:** The data highlighted late diagnosis of UCDs in the country, the prevalence of these disorders may exceed current estimation due to the lack of widely available newborn screening and the underdiagnosis of fatal cases. The study also shows the importance of genetic diagnosis and nutritional therapy as the main treatment.

Keywords: Urea Cycle Disorders; Rare diseases; Inborn Errors of Metabolism; Hyperammonemia; Epidemiological Profile.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Ciclo hepático da uréia.....	16
Figura 2 – Fluxograma investigativo da hiperamonemia.....	21
Figura 3 –Marco conceitual do estudo.....	23
Figure 1 - Brazilian region of origin of patients included in the study (n=44)	38
Figure 2 - Clinical picture of UCDs patients before and after diagnosis.....	39

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Estratégia de busca de referências bibliográficas sobre as bases que fundamentam os objetivos deste estudo.....	14
Tabela 2- Os distúrbios do ciclo da uréia, genes, enzimas e suas incidências.....	17
Table 1 – Characteristics and inheritance pattern of UCDS.....	35
Table 2 – Characteristics of the study population (n=44)	37
Table 3 – Molecular results, family history and clinical outcomes identified in 44 patients with UCDS.....	40
Tabela 2 – Variantes patogênicas relatadas nos pacientes diagnosticados com UCDS no estudo.....	49

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- AVC – Acidente vascular cerebral
- ARG1 – Arginase 1
- ARG1D- Deficiência de Arginase 1
- ASS – Argininosuccinato sintetase
- ASSD – Deficiência de Argininosuccinato sintetase
- ASL – Argininosuccinato liase
- ASLD – Deficiência de Argininosuccinato liase
- CPS1 – Carbamoilfosfato sintetase 1
- CPS1D – Deficiência de Carbamoilfosfato sintetase 1
- CTLN2D – Deficiência de Citrina
- EIMs – Erros Inatos do Metabolismo
- HCPA – Hospital de Clínicas de Porto Alegre
- HHH – Hiperamonemia-hiperornitinemia-homocitrulinemia
- LPI – Intolerância à proteína lisinúrica (do inglês, *Lysinuric protein intolerance*)
- NAGS – N-acetilglutamato sintase
- NAGSD- Deficiência de N-acetilglutamato sintase
- ORNT1 – Antiportador mitocondrial ornitina/citrulina
- OTC – Ornitina transcarbamilase
- OTCD – Deficiência de Ornitina transcarbamilase
- SGM-HCPA – Serviço de Genética Médica do Hospital de Clínicas de Porto Alegre
- UCDC – Consórcio de Distúrbios do Ciclo da Uréia (do inglês, *Urea Cycle Disorders Consortium*)
- UCDs - Distúrbios do Ciclo da Uréia (do inglês, *Urea Cycle Disorders*)
- SUS - Sistema Único de Saúde

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	13
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	14
2.1 Estratégias para localizar e buscar informações.....	14
2.2 Erros Inatos do Metabolismo (EIMs).....	14
2.3 Distúrbios do Ciclo da Uréia (UCDs).....	16
2.3.1 Sinais e Sintomas.....	17
2.3.2 Aspectos Genéticos	18
2.3.3 Diagnóstico.....	20
2.3.4 Tratamento.....	21
3 MARCO CONCEITUAL.....	23
4 JUSTIFICATIVA.....	24
5 OBJETIVOS.....	25
5.1 Objetivos Geral.....	25
5.2 Objetivos Específicos.....	25
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	26
7 ARTIGO.....	33
8 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	48
9 PERSPECTIVAS FUTURAS.....	51
10 ANEXOS.....	52

1. INTRODUÇÃO

Os Distúrbios do Ciclo da Uréia (UCDs) são Erros Inatos do Metabolismo (EIMs) que estão associados à via da desintoxicação da amônia no organismo por consequência de defeitos nas enzimas e transportadores envolvidos no ciclo (Häberle *et al.*, 2012). Sendo assim, variantes patogênicas que levam à atividade prejudicada de uma dessas enzimas ou transportadores são responsáveis pelas doenças conhecidas como UCDs, que resultam no acúmulo de amônia e de outros metabólitos precursores (Burgard *et al.*, 2015; Summar e Ah Mew, 2018).

A suspeita do seu diagnóstico origina-se através da demonstração de ocorrência de hiperamonemia, na qual a sua duração e a gravidade correlacionam-se diretamente com o dano cerebral. A sua confirmação depende da quantificação de ácido orótico na urina, perfil de aminoácidos no plasma e urina e análise genética, exames que não são de amplo acesso no Sistema Único de Saúde (SUS) (Steiner e Cederbaum, 200; Häberle *et al.*, 2012; Summar e Ah Mew, 2018). Os poucos estudos brasileiros sobre os UCDs em bases indexadas sugerem que, apesar de existirem tratamentos específicos para estas doenças, como a restrição proteica e o uso de medicamentos para reduzir a quantidade de amônia no organismo por exemplo, a maioria dos pacientes evolui desfavoravelmente por falta de diagnóstico, análises genéticas e tratamento precoce (Machado e Pinheiro da Silva, 2014; Lopes *et al.*, 2022). Além disso, a prevalência desses distúrbios pode exceder as estimativas atuais devido à inexistência de triagem neonatal amplamente disponível no país e o subdiagnóstico de casos fatais (Häberle *et al.*, 2012).

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Estratégias para localizar e buscar informações

Este trabalho é focado nos distúrbios do ciclo da uréia (UCDs), relacionado às suas manifestações clínicas, aspectos genéticos e de tratamento. Para tal a estratégia de busca utilizada envolveu à base de dados PubMed. Também foram considerados artigos relacionados aos encontrados, além de livros e consensos nacionais e internacionais. Os termos utilizados na busca foram: “*urea cycle disorders*”, “*hyperammonemia*”, “*inborn errors of metabolism*”, “*ammonia metabolism*” e suas combinações estão representadas na Tabela 1.

Tabela 1. Estratégia de busca de referências bibliográficas sobre as bases que fundamentam os objetivos deste estudo.

Base	Busca	Query	Resultados	
			Encontrados	Utilizados
PUBMED	#1	<i>Search: Urea Cycle Disorders</i>	2.804	19
	#2	<i>Search: Hyperammonemia</i>	5.220	7
	#3	<i>Search: Inborn Errors of Metabolism</i>	174.133	7
	#4	<i>Search: Ammonia Metabolism</i>	44.524	3
	#5	<i>Search: #1 AND #2</i>	973	5
	#6	<i>Search: #1 AND #3</i>	2.333	3
	#7	<i>Search: #1 AND #4</i>	908	1
	#8	<i>Search: #2 AND #3</i>	1.434	2
	#9	<i>Search: #2 AND #4</i>	2.494	0
	#10	<i>Search: #3 AND #4</i>	1.716	0

2.2 Erros Inatos do Metabolismo (EIMs)

As Doenças Metabólicas Hereditárias ou Erros Inatos do Metabolismo (EIM), nome sugerido em 1.909 por Sir Archibald Garrod, são raras individualmente, mas em conjunto apresentam uma incidência estimada em 1:800 nascidos vivos (Mark *et al.*, 2013; Saudubray e Garcia-Cazorla, 2018; Agana *et al.*, 2018). Apesar de estarem inseridos em um único grupo de enfermidades, este contempla uma ampla, variada e heterogênea coleção de doenças genéticas

que representam uma considerável causa de morbidade e mortalidade, especialmente na infância (Pampols, 2010). Os EIM são geralmente causados por atividade deficiente de determinada enzima, onde essa diminuição gera um bloqueio total ou parcial de alguma rota metabólica. Como consequência, há o acúmulo do substrato, a falta do produto final ou desvio de substrato para uma rota alternativa. A gravidade do quadro clínico de cada paciente depende da rota metabólica afetada, assim como do metabólito acumulado ou deficiente, sendo, na sua maioria, doenças graves e capazes de levar a óbito quando não são tratadas de maneira correta e de forma precoce (Chuang e Shih, 2001; Gomes *et al.*, 2005).

Os EIM podem ser classificados em duas categorias clínicas distintas. A Categoria 1 que inclui distúrbios que envolvem apenas um sistema funcional, como o sistema endócrino por exemplo, ou apenas um órgão ou sistema anatômico onde os sintomas apresentados são uniformes, facilitando a previsão de um diagnóstico correto. Já a categoria 2 abrange doenças em que o defeito bioquímico pode afetar tanto uma via metabólica em comum até um grande número de células e órgãos, como a deficiência de energia em distúrbios mitocondriais, ou limitada a um órgão específico, mas dando origem a consequências humorais e sistêmicas. Essas doenças da segunda categoria apresentam uma diversidade de sintomas sendo dividida em três grupos. O grupo 1 inclui distúrbios do metabolismo intermediário afetando moléculas pequenas, o grupo 2 envolve distúrbios do metabolismo energético e o grupo 3 está relacionado a distúrbios de moléculas complexas (Saudubray e Garcia-Cazorla, 2018).

Os EIM são distúrbios monogênicos que apresentam, em sua maioria, herança autossômica recessiva, na qual o risco de recorrência é de 25% a cada gestação de pais heterozigotos. Atualmente são conhecidos cerca de 1.450 EIMs (Sanderson *et al.*, 2006; Saudubray e Garcia-Cazorla, 2018; Agana *et al.*, 2018, Ferreira *et al.*, 2021). Alguns EIM destacam-se por serem, ao contrário da maioria das demais doenças genéticas, passíveis de tratamento (Saudubray *et al.*, 2006; Gambello e Li, 2018). Contudo, estas condições caracterizam-se por serem complexas em relação ao diagnóstico, isto principalmente pelo fato de que o número de EIMs conhecidos parece ser tão grande quanto o número de sintomas que podem surgir em um distúrbio metabólico (Saudubray e Charpentier, 2014).

Nesse contexto, um neonato previamente saudável pode começar a apresentar sinais de uma doença metabólica oculta alguns dias ou semanas após o nascimento. Apesar do quadro clínico ser variado, neonatos e crianças com EIMs normalmente apresentam letargia, diminuição do apetite, taquipneia e convulsões. Podem surgir anormalidades em relação ao tônus (hipo ou hipertonia), postura e movimentos com o avanço da doença, além de apneia do sono (Clarke,

2002). O aumento do nível plasmático de amônia, hipoglicemia e acidose metabólica são sugestivos de EIM.

2.3 Distúrbios do Ciclo da Uréia (UCDs)

Os UCDs são erros inatos do metabolismo da via de desintoxicação da amônia. Seis enzimas principais e dois transportadores estão envolvidos no ciclo (Figura 1): carbamoilfosfato sintetase 1 (CPS1), ornitina transcarbamilase (OTC), argininosuccinato sintetase (ASS), argininosuccinato liase (ASL) e arginase 1 (ARG1), levando às respectivas deficiências primárias (abreviadamente CPS1D, OTCD, ASSD, ASLD e ARG1D). Também englobam deficiências secundárias de N-acetilglutamato sintase (NAGS), associadas à disfunção do ativador essencial de N-acetilglutamato (NAG) de CPS1 e do antiportador mitocondrial ornitina/citrulina (ORNT1), causando hiperamonemia-hiperornitinemia-homocitrulinemia (HHH) (Häberle *et al.*, 2012).

Variantes patogênicas que levam à atividade prejudicada de uma dessas oito enzimas ou transportadores são responsáveis pelas doenças conhecidas como UCDs (Burgard *et al.*, 2015).

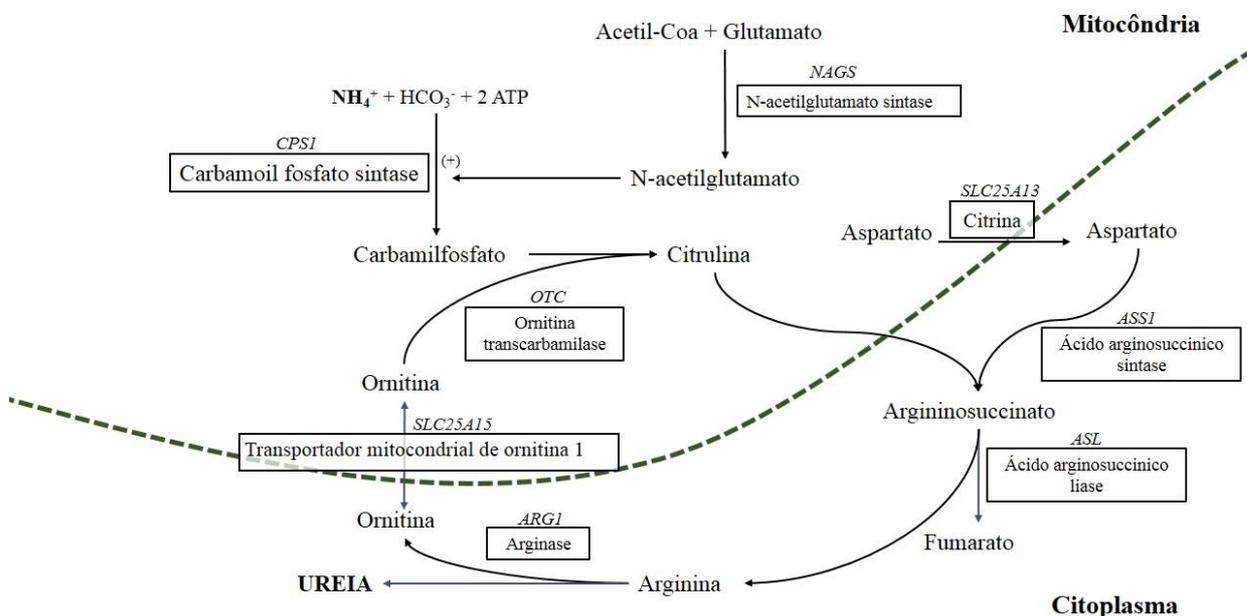


Figura 1. Ciclo hepático da uréia. Linha tracejada: membrana da mitocôndria. Boxes pretos: enzimas que participam do ciclo da ureia. Em itálico: genes codificadores das respectivas enzimas. Adaptado de Häberle e Rubio (2013) e Summar e Mew (2018).

A incidência das UCD é estimada em 1:8.000 a 1:44.000 nascimentos (Häberle *et al.*, 2012) (Tabela 1). O Consórcio de Distúrbios do Ciclo da Ureia (UCDC), composto por 14 centros nos EUA, Canadá e Europa, revisou dados de 614 pacientes destas regiões e identificou como distúrbio mais prevalente a OTCD. Observaram ainda prevalência geral dos UCDs de 1 a cada 35.000 pessoas, com 2/3 dos sintomas iniciais identificados após o período neonatal e com uma taxa de mortalidade de 24% nos casos de início neonatal e de 11% nos casos de início tardio (Batshaw *et al.*, 2014). A prevalência desses distúrbios pode exceder as estimativas atuais devido à inexistência de triagem neonatal amplamente disponível e subdiagnóstico de casos fatais (Häberle *et al.*, 2019).

Tabela 2. Os distúrbios do ciclo da uréia, genes, enzimas e suas incidências.

Doença	Gene	Locus	Enzima	Incidência Mundial
ARG1D	<i>ARG1</i>	6q23.2	Arginase 1	1:950,000
ASLD	<i>ASL</i>	7q11.21	Argininosuccinato liase	1:218,750
ASSD	<i>ASS1</i>	9q34.11	Argininosuccinato sintetase	1:250,000
CPS1D	<i>CPS1</i>	2q34	Carbamoilfosfato sintetase I	1:1,300,000
NAGSD	<i>NAGS</i>	17q21.31	N-acetilglutamato sintetase	<1:2,000,000
OTCD	<i>OTC</i>	Xp21.1	Ornitina transcarbamilase	1:14,000-77,000
ORNT1D	<i>SLC25A15</i>	13q14.11	Ornitina 1	<1:2,000,000
CTLN2D	<i>SLC25A13</i>	7q21.3	Citrina	<1:2,000,000

ARG1D: deficiência de arginase 1; ASLD: deficiência de argininosuccinato liase; ASSD: deficiência de argininosuccinato sintetase; CPS1D: deficiência de carbamoilfosfato sintetase I; NAGSD: deficiência de N-acetil glutamato sintetase; ORNT1D: deficiência de ornitina 1; CTLN2D: deficiência de citrina.

(Adaptado de Brusilow & Maestri 1996; Balasubramaniam *et al* 2010; Summar *et al*, 2013, HGMD Professional 2023.1).

2.3.1 Sinais e Sintomas

Os pacientes apresentam hiperamonemia logo após o nascimento em aproximadamente 50% dos casos ou, mais tarde em qualquer idade, levando à morte ou à deficiência neurológica grave em muitos sobreviventes (Häberle *et al.*, 2012).

Os neonatos com um UCD podem apresentar um intervalo saudável, mas rapidamente podem desenvolver edema cerebral e os sinais relacionados de letargia; anorexia; hiper ou

hipoventilação; hipotermia; convulsões e coma. Em deficiências enzimáticas mais brandas (ou parciais) do ciclo da uréia, o acúmulo de amônia pode ser desencadeado por doença ou estresse (febre, infecções, vacinas e etc) em quase qualquer momento da vida, resultando em múltiplas elevações leves a moderadamente graves da concentração plasmática de amônia. A hiperamonemia é geralmente menos grave e os sintomas mais sutis. Pacientes com ARG1D podem apresentar hiperamonemia de grau variável, mas são mais propensos a apresentar sintomas neurológicos lentamente progressivos relacionados aos níveis elevados de arginina plasmática (Häberle *et al.*, 2012; Burgard *et al.*, 2015, Sawad *et al.*, 2022).

Mesmo em deficiências parciais, que possuem apresentações clínicas mais variáveis e início tardio (qualquer idade), há risco aumentado de morte prematura. A duração e a gravidade da hiperamonemia correlacionam-se fortemente com o dano cerebral; diagnóstico imediato e tratamento do UCD é essencial para otimizar o resultado. No entanto, a raridade dos UCDs impede que centros únicos ou até países tenham toda a expertise para o gerenciamento baseado em evidências (Häberle *et al.*, 2019).

Os UCDs devem ser imediatamente suspeitados em neonatos se houver algum sintoma neurológico ou, em qualquer idade, se houver uma encefalopatia aguda. As manifestações não específicas gastrointestinais e psiquiátricas são as segundas em frequência. Os sintomas podem ser sutis, particularmente após o período neonatal e, em alguns pacientes, episódios sintomáticos podem ser resolvidos com intervenções inespecíficas. As mulheres podem manifestar inicialmente um UCD por meio de sintomas neurológicos agudos inexplicados no período pós-parto (relatados para CPS1D, OTCD e ASSD). A variabilidade na gravidade da doença é característica de mulheres heterozigotas com OTC devido à lionização. Insuficiência hepática aguda tem sido relatada como o sinal de apresentação em pacientes com síndrome de TCD, ASSD e HHH. Embora menos frequentes, várias outras apresentações foram relatadas em UCD, incluindo episódios de acidente vascular cerebral (AVC) metabólicos, que podem se resolver com tratamento, coreia, paralisia cerebral, perdas visuais, sintomas semelhantes aos do transtorno do espectro autista, problemas comportamentais durante a infância e em pacientes pós-púberes e outros sintomas psiquiátricos episódicos que podem ser a única manifestação da doença (Burgard *et al.*, 2015; Häberle *et al.*, 2012).

2.3.2 Aspectos Genéticos

Todas as doenças são autossômicas recessivas, exceto a mais prevalente, OTCD, que é ligada ao X (Maestri *et al.*, 1996; Häberle *et al.*, 2012; Choi *et al.*, 2015). A OTCD é causada

por variantes patogênicas no gene *OTC*, que está localizado no cromossomo Xp21.1 e contém 10 éxons, abrangendo 73kb (Horwich *et al.*, 1984; Lindgren *et al.*, 1984). A maioria dos pacientes com OTCD são hemizigotos masculinos e cerca de 20% das mulheres portadoras de variantes patogênicas no gene *OTC* apresentam sintomas (Maestri *et al.*, 1996; Häberle *et al.*, 2012). Existem aproximadamente 650 variantes descritas para esse gene, sendo a maioria privada (HGMD Professional, 2023.1). A variante mais relatada na literatura, c.118C>T (p.Arg40Cys), possui frequência alélica global de 0,00001563 (GnomAD). Aproximadamente 84% das variantes são substituição de base única, pequenas deleções ou inserções e grandes deleções ou inserções abrangem uma proporção menor de variantes, 12% e 4% respectivamente (Tuchman *et al.*, 2002).

Para as doenças autossômicas recessivas temos a ARG1D, que é causada por variantes patogênicas no gene *ARG1*, localizado no cromossomo 6q23.2, com 8 éxons e 15kb (Sparkes *et al.*, 1986; Yokoi *et al.*, 2021). Cerca de 90 variantes foram descritas, sendo a variante c.401C>T (p.Thr134Ile), a mais frequentemente relatada no Brasil, tendo uma frequência alélica global de 0,000004773 (Carvalho *et al.*, 2012; Diez-Fernandez *et al.*, 2018).

A ASLD, causada por variantes no gene *ASL*, no cromossomo 7q11.21, com 16 éxons e 23 kb (Naylor *et al.*, 1978; Wen *et al.*, 2016, Wang *et al.*, 2019). Em torno de 205 variantes foram descritas, tendo as variantes c.35G>A (p.Arg12Gln) e c.532G>A (p.Val178Met) como as mais relatadas nas bases de dados, com frequência alélica global de 0,001832 e 0,004023 respectivamente. A variante c.35G>A (p.Arg12Gln) tem frequência alélica relatada de 0,001281 no banco de dados Brasileiro ABraOM. As variantes patogênicas no gene *ASS1* está associada a ASS1D, localizado no cromossomo 9q34.11, 16 éxons e 56kb. Com 207 variantes descritas, a c.1168G>A (p.Gly390Arg) a mais comum, tendo frequência alélica global e no Brasil de 0,0003161 e 0,000427, respectivamente (Engel *et al.*, 2009; Woo *et al.*, 2013).

A CPS1D é causada por variantes no gene *CPS1*, localizado no cromossomo 2q34, com 43 éxons, com tamanho de >120kb (Summar *et al.*, 2003). Aproximadamente 400 variantes foram descritas, onde as c.2339G>A (p.Arg780His) e c.1529del (p.Gly510FS) sendo as mais relatadas, com frequência alélica global de 0,00001427 e 0,00001412 respectivamente. Para a NAGSD, causada por variantes no gene *NAGS*, localizado no cromossomo 17q21.1, 7 éxons e cerca de 4kb (Caldovic *et al.*, 2002). Ao todo são 59 variantes descritas, onde as variantes c.1292C>T (p.Thr431Ile) e c.622C>T (p.Arg208Ter) possuem frequência alélica global de 0,00002736 e 0,00002185.

Por fim, temos as deficiências relacionadas aos transportadores de ornitina e citrina, causadas por variantes em seus respectivos genes, *SLC25A15* e *SLC25A13*. O gene *SLC25A15*,

localizado no cromossomo 13q14.11, com 7 éxons, possui 45 variantes descritas, sendo as mais comuns c.553TTC[3] (p.Phe188del) e c.535C>T (p.Arg179Ter), com frequências alélicas globais de 0,00003841 e 0,00001611 (Indiveri *et al.*, 1992; Martinelli *et al.*, 2015). O gene *SLC25A13*, no cromossomo 7q21.3, com 7 éxons, apresenta mais de 160 variantes descritas (Lu *et al.*, 2005; Tabata *et al.*, 2008). As três mais comuns são c.852_855del (p.Met285FS), c.117+1G>A e c.550C>T (p.Arg148Ter). Suas frequências alélicas globais são em torno de 0,0001146; 0,00006319 e 0,00004523.

Como observado acima, poucas das variantes mais frequentes são descritas no Arquivo Brasileiro de Mutações (ABraOM). Destacando a necessidade de mais estudos brasileiros que caracterizem molecularmente os pacientes com UCDs, visando a identificação do perfil genético desses indivíduos e sobretudo a indicação do melhor tratamento para estes casos.

2.3.3 Diagnóstico

É essencial que os profissionais de saúde tenham consciência dessas doenças. Perguntas-chave devem ser feitas e uma história familiar detalhada é etapa essencial do diagnóstico (Häberle *et al.*, 2012).

A hiperamonemia, um marcador inespecífico de desintoxicação inadequada de nitrogênio, é a marca registrada da maioria dos UCD. A ausência de hiperamonemia em pacientes recém-nascidos sintomáticos torna o diagnóstico de UCD altamente improvável. A medição rápida da amônia em um cenário de emergência é crucial, uma vez que o resultado do paciente se correlaciona com a duração e o nível de pico da hiperamonemia. Na Figura 2 observa-se o fluxograma diagnóstico dos defeitos primários ou secundários do Ciclo da Uréia a partir da identificação da hiperamonemia (Sarafoglou, Hoffmann e Roth, 2017; Häberle *et al.*, 2012).

O teste genético é o método de primeira escolha para confirmar o diagnóstico dos UCDs. Em pacientes falecidos com suspeita de UCD, amostra de sangue, fibroblastos e/ou tecido hepático devem ser preservados congelados para possibilitar diagnóstico adequado e aconselhamento genético.

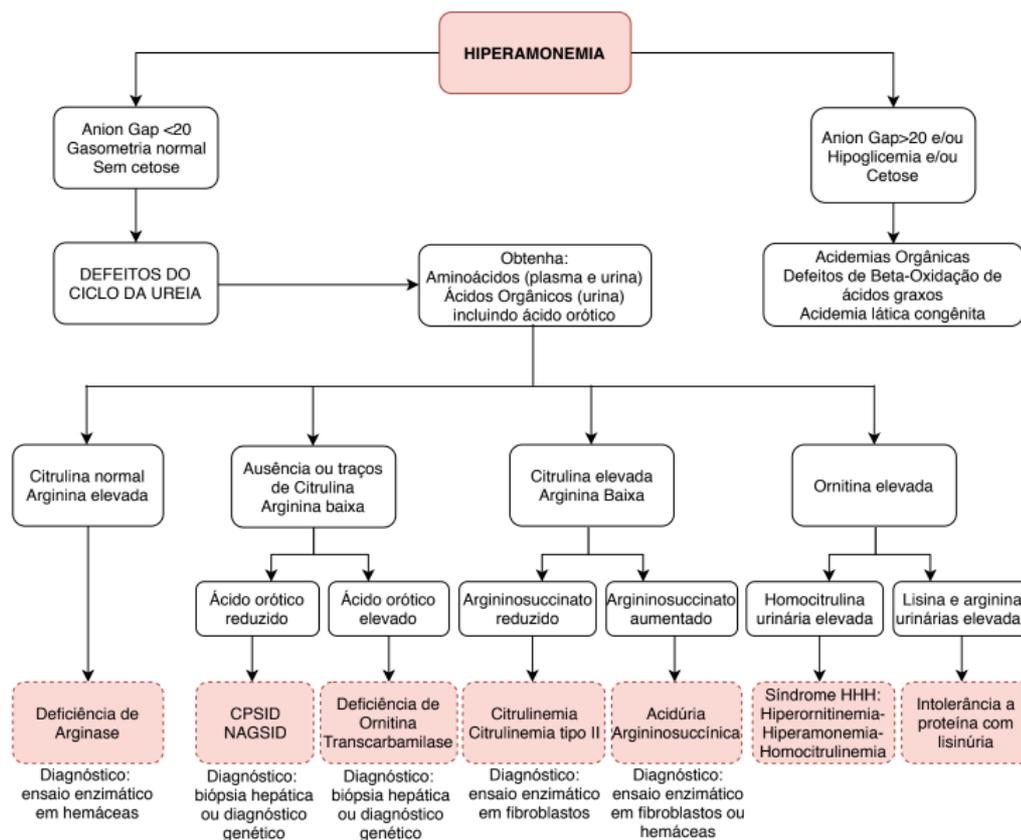


Figura 2. Fluxograma investigativo da hiperamonemia. NAGSID: Deficiência de N-acetilglutamina sintase; CPSID: Deficiência de Carbamoilfosfato sintase I. Adaptado de: Sarafoglou, Hoffmann e Roth (2017).

2.3.4 Tratamento

Apesar da existência de tratamento eficaz com terapia de via alternativa e transplante de fígado, os resultados permanecem pobres. Isso pode estar relacionado ao não reconhecimento e ao atraso no diagnóstico, devido à apresentação clínica inespecífica e à falta de conhecimento dos profissionais de saúde devido à raridade da doença (Häberle *et al.*, 2012).

O manejo destes distúrbios durante episódios hiperamonêmicos agudos consiste em restrição proteica, uso de removedores de amônia, como fenilbutirato de sódio ou benzoato de sódio, e aumento da anaplerose do ciclo da ureia com arginina ou citrulina. Episódios graves podem necessitar hemofiltração renal ou diálise (Häberle *et al.*, 2012). Já para pacientes diagnosticados com NAGSD primária é recomendado o uso de ácido carglúmico, um análogo do N-acetilglutamato (NAG) que atua como ativador da CPS1. Quando utilizado não é necessário medicamentos adicionais ou restrição proteica, apenas quando há uma descompensação metabólica e na fase aguda da doença, sendo recomendado tanto como terapia durante a hiperamonemia aguda quando como tratamento ao longo prazo (Häberle, 2011).

Os cuidados crônicos consistem em restrição proteica associada a aminoácidos essenciais e suplementação vitamínica, arginina ou citrulina e removedores, dependendo da gravidade do defeito enzimático. O transplante de fígado é por vezes necessário. Embora anteriormente consideradas doenças pediátricas, formas atípicas podem ocorrer ao longo da vida, incluindo a apresentação adulta tardia (Rüegger *et al.*, 2014).

Com o avanço da medicina, novas perspectivas terapêuticas para este grupo de doenças estão sendo estudadas (Soria *et al.*, 2019). Segundo o estudo de Meyburg *et al.* de 2017, o transplante de células hepáticas tem sido proposto como terapia alternativa até a ocorrência do transplante de fígado para crianças com maiores riscos e complicações. Ensaios clínicos sobre a suplementação de óxido nítrico em pacientes com ASLD também estão em andamento, já que essa doença está associada a deficiência de óxido nítrico que pode estar parcialmente envolvido na disfunção vascular e no atraso intelectual desses indivíduos (Erez *et al.*, 2011). A terapia de reposição enzimática vem sendo estudada em ratos para ARG1D, onde a normalização dos níveis plasmáticos de arginina é o objetivo principal do tratamento (Burrage *et al.*, 2015). Outra alternativa em estudo é a terapia de gênica como meio de reposição enzimática intracelular, sendo uma potencial opção de tratamento em desenvolvimento para pacientes com UCDs (Prieve *et al.*, 2018; Arsani *et al.*, 2018). Por fim, os UCDs têm sido consideradas como bons alvos para a terapia genética por dois motivos: pela sua gravidade e à necessidade de ofertar o gene terapêutico somente ao fígado com a finalidade de atingir os níveis plasmáticos normais de amônia no organismo. Para OTCD há um certo entusiasmo em relação a este tipo de tratamento por ser direcionado ao fígado, porém para outros UCDs como CPS1D e ASLD o desafio é maior pelo grande tamanho do gene e a necessidade da transferência genética para mais tecidos além do fígado para que haja uma correção fenotípica mais eficaz (Soria *et al.*, 2019; Duff *et al.*, 2023).

Originalmente, o prognóstico global deste grupo de doenças era considerado grave, com altas taxas de mortalidade, morbidade e comprometimento neurológico (Saudubray *et al.*, 1999). No entanto, a recente melhora nos cuidados aumentou a expectativa de vida e permitiu o envelhecimento da população com UCD, e complicações anteriormente desconhecidas, como a insuficiência renal na acidúria argininosuccínica estão sendo relatados (Kölker *et al.*, 2015).

3. MARCO CONCEITUAL

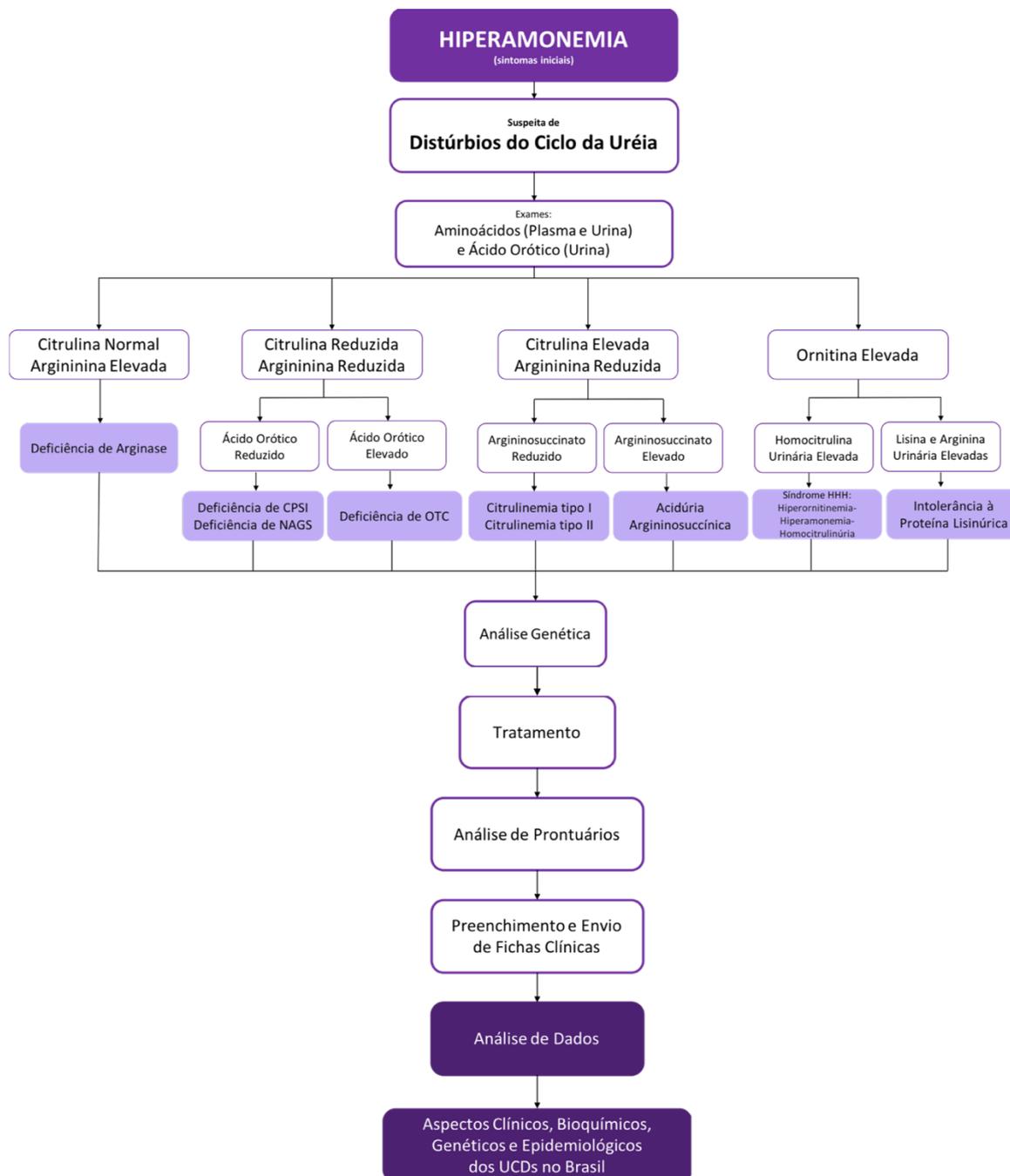


Figura 3. Marco conceitual do estudo. Descrição da relação das informações apresentadas no esquema: a partir dos sintomas iniciais, sendo a hiperamonemia o principal deles, inicia-se a jornada diagnóstica através de exames bioquímicos (perfil de aminoácidos no plasma e na urina e ácido orótico na urina) e genéticos (confirmatórios), a partir disso o tratamento é realizado. Através da análise dos prontuários dos casos as fichas clínicas foram preenchidas e enviadas pelos profissionais de saúde responsáveis, permitindo a análise dos dados e a caracterização dos casos de UCDs no Brasil. (Figura Original)

4. JUSTIFICATIVA

Existem poucos estudos brasileiros dedicados aos UCDs sobre a caracterização clínica, epidemiológica e de frequência para entender a realidade nacional, em termos de diagnóstico precoce, acesso a serviços e profissionais especializados e adesão ao tratamento, etapas essenciais para evitar descompensações metabólicas e a progressão dos danos neurológicos associados às doenças. Um estudo realizado em 2022 por Lopes *et al.* investigou pacientes com UCDs com a finalidade de caracterizar clinicamente e bioquimicamente estes indivíduos. Ademais, não se conhece o perfil genético da população brasileira, visto que exames genéticos não são amplamente ofertados no sistema de saúde público. A necessidade de início dos mesmos é premente, haja vista indícios que os UCDs são subdiagnosticados no país.

Como exemplo, citamos o número de pacientes com Fenilcetonúria (erro inato do metabolismo dos aminoácidos que tem incidência estimada em 1:12.000RNs) atualmente acompanhados no Serviço de Genética Médica do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (SGM/HCPA-UFRGS), que é referência em erros inatos do metabolismo: 80. No caso dos UCDs, o mesmo Serviço acompanha atualmente 6 pacientes: esse número deveria ser de aproximadamente 40, considerando a média de incidência estimada para os UCDs: 1:35.000 RNs. Além disso, estudos sobre esse grupo de doenças e a caracterização do perfil dos pacientes brasileiros são uma importante ferramenta para a tomada de decisões em saúde pública, bem como para auxiliar e informar a futura expansão do programa nacional de triagem neonatal, na qual os UCDs poderão ser incluídos, que foi aprovada em 2021 conforme previsto na lei nº 14.154, de 26 de maio.

5. OBJETIVOS

5.1 Objetivo Geral

Gerar dados abrangentes que permitam a caracterização clínica e de distribuição geográfica dos pacientes Brasileiros com UCDs.

5.2 Objetivos Específicos

- a) Caracterizar a história natural dos UCDs no Brasil;
- b) Caracterizar clinicamente os pacientes brasileiros com UCDs;
- c) Caracterizar a distribuição regional dos pacientes com UCDs no Brasil;
- d) Caracterizar o perfil genético dos pacientes com UCDs no Brasil;
- e) Avaliar a média de idade ao diagnóstico e o tempo de diagnóstico dos UCDs no Brasil a partir do início dos sintomas.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGANA, M.; FRUEH, J.; KAMBOJ, M.; PATEL, D.R.; KANUNGO, S. Common metabolic disorder (inborn errors of metabolism) concerns in primary care practice. **Annals of Translational Medicine**. 2018; 6; 469.

AL-SAYED M, IMTIAZ F, ALSMADI OA. *et al.* Mutations underlying 3-Hydroxy-3-Methylglutaryl CoA Lyase deficiency in the Saudi population. **BMC Med Genet**. 2006; 7, 86.

ASRANI KH, CHENG L, CHENG CJ, SUBRAMANIAN RR. Arginase I mRNA therapy - a novel approach to rescue arginase 1 enzyme deficiency. **RNA Biol**. 2018;15(7):914-922.

BALASUBRAMANIAM S, RUDDUCK C, BENNETTS B, PETERS G, WILCKEN B, ELLAWAY C. Contiguous gene deletion syndrome in a female with ornithine transcarbamylase deficiency. **Mol Genet Metab**. 2010; 99:34–41.

BALMER C, PANDEY AV, RÜFENACHT V, NUOFFER JM, FANG P, WONG LJ, HÄBERLE J. Mutations and polymorphisms in the human argininosuccinate lyase (ASL) gene. **Hum Mutat**, 2014; 35(1), 27-35.

BATSHAW ML, TUCHMAN M, SUMMAR M *et al.* Um estudo longitudinal dos distúrbios do ciclo da ureia. **Mol Genet Metab**. 2014; 113 (1-2): 127-30.

BIJARNIA-MAHAY S, HÄBERLE J, JALAN AB *et al.* Urea cycle disorders in India: clinical course, biochemical and genetic investigations, and prenatal testing. **Orphanet J Rare Disease**. 2018 Oct 1; 13(1):174.

BRANDT A, AGARWAL N, GIRI D, YUNG Z, DIDI M, SENNIAPPAN S. Hyperinsulinism hyperammonaemia (HI/HA) syndrome due to GLUD1 mutation: phenotypic variations ranging from late presentation to spontaneous resolution. **J. Pediatr. Endocrinol. Metab**. 2020; 33(5), 675–679.

BRUSILOW SW, MAESTRI NE. Urea cycle disorders: diagnosis, pathophysiology, and therapy. **Adv Pediatr**. 1996; 43:127–170.

BURRAGE LC, SUN Q, ELSEA SH, JIANG MM, NAGAMANI SC, FRANKEL AE, STONE E, ALTERS SE, JOHNSON DE, ROWLINSON SW, GEORGIU G; MEMBERS OF UREA CYCLE DISORDERS CONSORTIUM; LEE BH. Human recombinant arginase enzyme reduces plasma arginine in mouse models of arginase deficiency. **Hum Mol Genet**. 2015 Nov 15;24(22):6417-27.

BURGARD P, KÖLKER S, HAEGE G *et al.* Neonatal mortality and outcome at the end of the first year of life in early onset urea cycle disorders—review and meta-analysis of observational studies published over more than 35 years. **J Inherit Metab Dis**, 39: 219–229.

CALDOVIC, L., MORIZONO, H., PANGLAO, M. G., GALLEGOS, R., YU, X., SHI, D., MALAMY, M. H., ALLEWALL, N. M., TUCHMAN, M. Cloning and expression of the human N-acetylglutamate synthase gene. **Biochem. Biophys. Res. Commun.** 2002; 299: 581-586.

CALDOVIC L, ABDIKARIM I, NARAIN S, TUCHMAN M, MORIZONO H. Genotype–phenotype correlations in ornithine transcarbamylase deficiency: a mutation update. **J Genet Genomics.** 2015; 42(5):181-194.

CARVALHO DR, BRAND GD, BRUM JM, TAKATA RI, SPECK-MARTINS CE, PRATESI R. Analysis of novel ARG1 mutations causing hyperargininemia and correlation with arginase I activity in erythrocytes. **Gene.** 2012; 509(1):124-30.

CHOI JH, LEE BH, KIM JH *et al.* Clinical outcomes and the mutation spectrum of the OTC gene in patients with ornithine transcarbamylase deficiency. **J Hum Genet.** 2015 Sep;60(9):501-507.

CHUANG, D.T.; SHIH, V.E. Maple Syrup Urine Disease. In SCRIVER, C.R.; BEAUDET, L.; SLY, W.S.; VALLE, D. **The metabolic and molecular bases of Inherited Disease.** 8^a ed. Nova Iorque: McGraw.Hikk Inc; 2001. p.1971-2005.

CLARKE, J.T. **A clinical guide to inherited metabolic diseases.** 2^o ed. New York: Cambridge University Press, 2002.

DIEZ-FERNANDEZ C, RÜFENACHT V, SANTRA S, LUND AM, SANTER R, LINDNER M, HÄBERLE J. Defective hepatic bicarbonate production due to carbonic anhydrase VA deficiency leads to early-onset life-threatening metabolic crisis. **Genetics in Medicine.** 2016; 18(10):991–1000.

DIEZ-FERNANDEZ C, RÜFENACHT V, HÄBERLE J. Mutations in the Human Argininosuccinate Synthetase (ASS1) Gene, Impact on Patients, Common Changes, and Structural Considerations. **Hum Mutat.** 2017 May; 38(5):471-484

DIEZ-FERNANDEZ C, RÜFENACHT V, GEMPERLE C *et al.* Mutations and common variants in the human arginase 1 (ARG1) gene: Impact on patients, diagnostics, and protein structure considerations. **Hum Mutat.** 2018 Aug;39(8):1029-1050.

DUFF C, ALEXANDER IE, BARUTEAU J. Gene therapy for urea cycle defects: An update from historical perspectives to future prospects. **J Inherit Metab Dis.** 2023.

ENGEL K, HÖHNE W, HÄBERLE J. Mutations and polymorphisms in the human argininosuccinate synthetase (ASS1) gene. **Hum Mutat.**; 2009; 30(3):300-7.

EREZ A, NAGAMANI SC, SHCHELOCHKOV OA, PREMKUMAR MH, CAMPEAU PM, CHEN Y, GARG HK, LI L, MIAN A, BERTIN TK, BLACK JO, ZENG H, TANG Y,

REDDY AK, SUMMAR M, O'BRIEN WE, HARRISON DG, MITCH WE, MARINI JC, ASCHNER JL, BRYAN NS, LEE B. Requirement of argininosuccinate lyase for systemic nitric oxide production. **Nat Med.** 2011 Nov 13;17(12):1619-26.

FERREIRA, C.R.; RAHMAN, S.; KELLER, M.; ZSCHOCKE, J. An International Classification of Inherited Metabolic Disorders (ICIMD). **Journal of Inherited Metabolic Disease.** 2021; 44(1), 164-177.

GADOURY-LEVESQUE V, DONG L, SU R, CHEN J, ZHANG K, RISMA KA *et al.* Frequency and spectrum of disease-causing variants in 1892 patients with suspected genetic HLH disorders. **Blood Adv.** 2020; 4 (12): 2578–2594.

GAMBELLO, M. J.; LI, H. Current strategies for the treatment of inborn errors of metabolism. **Journal of Genetics and Genomics,** 2018; 45(2), 61–70.

GOMES, M.; SANTOS, L.M.; VILANOVA, L.C.P. Encefalopatias Crônicas Progressivas. In: Morais, M.B et al. **Guia de Medicina Ambulatorial e Hospitalar.** 1° ed. São Paulo; 2005. p. 1291-1309.

HÄBERLE J. Role of carnitine in the treatment of acute hyperammonemia due to N-acetylglutamate synthase deficiency. **Ther Clin Risk Manag.** 2011; 7:327-32.

HÄBERLE J, BODDAERT N, BURLINA A *et al.* Suggested guidelines for the diagnosis and management of urea cycle disorders. **Orphanet J Rare Diseases.** 2012; 7: 32.

HÄBERLE J, RUBIO V. Hyperammonemias and Related Disorders. In **Physician's Guide to the Diagnosis, Treatment, and Follow-Up of Inherited Metabolic Diseases,** 47–62. Springer Berlin Heidelberg, 2013.

HGMB. Human Gene Mutation Database. [Internet]. Disponível em: www.hgmd.cf.ac.uk/. Acesso em Novembro de 2023.

HYE IN WOO, CHANG-SEOK KI, SOO-YOUN LEE, JONG-WON KIM, JUNGHAN SONG, DONG-KYU JIN, WON SOON PARK, DONG HWAN LEE, YONG-WHA LEE, HYUNG-DOO PARK. Mutation spectrum of the ASS1 gene in Korean patients with citrullinemia type I. **Clinical Biochemistr.** 2013, 46(3); 209-213.

HORWICH AL, FENTON WA, WILLIAMS KR, KALOUSEK F, KRAUS JP, DOOLITTLE RF, KONIGSBERG W, ROSENBERG LE. Structure and expression of a complementary DNA for the nuclear coded precursor of human mitochondrial ornithine transcarbamylase. **Science.** 1984 Jun 8;224(4653):1068-74.

INDIVERI C, TONAZZI A, PALMIERI F. Identification and purification of the ornithine/citrulline carrier from rat liver mitochondria. **Eur J Biochem.** 1992; 207(2):449-54.

KAPOOR RR, FLANAGAN SE, FULTON P, CHAKRAPANI A, CHADEFAX B, BEN-OMRAN T, BANERJEE I, SHIELD JP, ELLARD S, HUSSAIN K. Hyperinsulinism-hyperammonaemia syndrome: novel mutations in the GLUD1 gene and genotype-phenotype correlations. **Eur J Endocrinol**. 2009;161(5):731-5.

KÖLKER S, VALAYANNOPOULOS V, BURLINA AB *et al*. The phenotypic spectrum of organic acidurias and urea cycle disorders. Part 2: the evolving clinical phenotype. **J Inherit Metab Dis**. 2015; 38:1059–1074.

LINDGREN V, DE MARTINVILLE B, HORWICH AL, ROSENBERG LE, FRANCKE U. Human ornithine transcarbamylase locus mapped to band Xp21.1 near the Duchenne muscular dystrophy locus. **Science**. 1984 Nov 9;226(4675):698-700.

LEE B, DIAZ GA, RHEAD W *et al*. Glutamine and hyperammonemic crises in patients with urea cycle disorders. **Molecular Genetics And Metabolism**. 2016; 117(1), 27–32.

LOPES FF, SITTA A, DE MOURA COELHO D, RIBAS GS, FAVERZANI JL, DOS REIS BG, WAJNER M, VARGAS CR. Clinical findings of patients with hyperammonemia affected by urea cycle disorders with hepatic encephalopathy. **Int J Dev Neurosci**. 2022 Dec;82(8):772-788. doi: 10.1002/jdn.10229

LU YB, KOBAYASHI K, USHIKI M *et al*. Frequency and distribution in East Asia of 12 mutations identified in the SLC25A13 gene of Japanese patients with citrin deficiency. **J Hum Genet**. 2005; 50(7):338-346.

MACHADO, M.C., PINHEIRO DA SILVA, F. Hyperammonemia due to urea cycle disorders: a potentially fatal condition in the intensive care setting. **j intensive care**. 2, 22 (2014). <https://doi.org/10.1186/2052-0492-2-22>

MAESTRI NE, MCGOWAN KD, BRUSILOV SW. Plasma glutamine concentration: A guide in the management of urea cycle disorders. **The Journal of Pediatrics**. 1992; 121(2), 259–261.

MARCO-MARÍN C, ESCAMILLA-HONRUBIA JM, LLÁCER JL, SERI M, PANZA E, RUBIO V. Δ 1-Pyrroline-5-carboxylate synthetase (P5CS) deficiency: An emergent multifaceted urea cycle-related disorder. **Journal of Inherited Metabolic Disease**. 2020; 43:657–670.

MARK, C.M.; LEE, H.C.; CHAN, A.Y.; LAM, C.W. Inborn errors of metabolism and expanded newborn screening: review and update. **Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences**. 2013; 50:142-162.

MARTINELLI D, DIODATO D, PONZI E *et al*. The hyperornithinemia-hyperammonemia-homocitrullinuria syndrome. **Orphanet J Rare Dis**. 2015; 10(1):29.

MENAO S, LÓPEZ-VIÑAS E, MIR C, PUISAC B, GRATACÓS E, ARNEDO M *et al.* Ten novel HMGCL mutations in 24 patients of different origin with 3-hydroxy-3-methylglutaric aciduria. **Hum Mutat.** 2009; 30(3):E520-9.

MEYBURG J, OPLADEN T, SPIEKERKÖTTER U, SCHLUNE A, SCHENK JP, SCHMIDT J, WEITZ J, OKUN J, BÜRGER F, OMRAN TB, ABDOH G, AL RIFAI H, MONAVARI A, KONSTANTOPOULOU V, KÖLKER S, YUDKOFF M, HOFFMANN GF. Human heterologous liver cells transiently improve hyperammonemia and ureagenesis in individuals with severe urea cycle disorders. **J Inherit Metab Dis.** 2018 Jan;41(1):81-90.

MONTIOLI R, BELLEZZA I, DESBATS MA, BORRI VOLTATTORNI C, SALVIATI L, CELLINI B. Deficit of human ornithine aminotransferase in gyrate atrophy: Molecular, cellular, and clinical aspects. **Biochim Biophys Acta Proteins Proteom.** 2021;1869(1):140555.

NAYLOR SL, KLEBE RJ, SHOWS TB. Argininosuccinic aciduria: assignment of the argininosuccinate lyase gene to the pter to q22 region of human chromosome 7 by bioautography. **Proc Natl Acad Sci U S A.** 1978; 75:6159–6162.

NCBI. National Center for Biotechnology Information. [Internet]. Disponível em <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>. Acesso em Dezembro de 2023.

PAMPOLS, T. Inherited metabolic rare disease. **Advances in Experimental Medicine and Biology.** 2010; 686:397-431.

PRIEVE MG, HARVIE P, MONAHAN SD, ROY D, LI AG, BLEVINS TL, PASCHAL AE, WALDHEIM M, BELL EC, GALPERIN A, ELLA-MENYE JR, HOUSTON ME. Targeted mRNA Therapy for Ornithine Transcarbamylase Deficiency. **Mol Ther.** 2018 Mar 7;26(3):801-813.

RÜEGGER CM, LINDNER M, BALLHAUSEN D, *et al.* Cross-sectional observational study of 208 patients with non-classical urea cycle disorders. **J Inherit Metab Dis,** 37: 21–30, 2014.

SANDERSON, S.; GREEN, A.; PREECE, M.A.; BURTON, H. The incidence of inherited metabolic disorders in the West Midlands, UK. **Archives of Disease Childhood.** 2006; 91(11)m:896-899.

SANCHO-VAELLO E, MARCO-MARÍN C, GOUGEARD N *et al.* Understanding N-Acetyl-L-Glutamate Synthase Deficiency: Mutational Spectrum, Impact of Clinical Mutations on Enzyme Functionality, and Structural Considerations. **Hum Mutat.** 2016 Jul; 37(7):679-694.

SARAFI GLOU K, HOFFMANN GF, ROTH KS (Eds): **Pediatric endocrinology and inborn errors of metabolism.** Second edition: McGraw Hill education, 2017.

SAUDUBRAY JM, TOUATI G, DELONLAY P *et al.* Liver transplantation in urea cycle disorders. **Eur J Pediatr.** 1999 Dec; 158 Suppl 2: S55-59.

SAUDUBRAY, J.M.; CHARPENTIER, C. Clinical phenotypes: Diagnosis/algorithms. In: SCRIVER, C.R., et al. **The Online Metabolic and Molecular Bases of Inherited Diseases**, 2014.

SAUDUBRAY JM, GARCIA-CAZORLA A. Inborn errors of metabolism overview: pathophysiology, manifestations, evaluation, and management. **Pediatr Clin North Am.** 2018; 65(2):179-208.

SAWAD AB, JACKIMIEC J, BECHTER M, TRUCILLO A, LINDSLEY K, BHAGAT A, UYEI J, DIAZ GA. Epidemiology, methods of diagnosis, and clinical management of patients with arginase 1 deficiency (ARG1-D): A systematic review, **Mol Genet and Metab**, 2022; 137 (1–2).

SORIA, L. R., MEW, N. A., & BRUNETTI-PIERRI, N. Progress and challenges in development of new therapies for urea cycle disorders. **Human Molecular Genetics.** 2019,

SPARKES, RS. et al. The gene for human liver arginase (ARG1) is assigned to chromosome band 6q23. **Am. J. Hum. Genet.** 1986; 39, 186–193.

SPERANDEO, MP, ANDRIA G, SEBASTIO, G. Lysinuric protein intolerance: update and extended mutation analysis of theSLC7A7 gene. **Hum Mutat.** 2007; 29(1), 14–21.

SPODENKIEWICZ M, DIEZ-FERNANDEZ C, RÜFENACHT V, GEMPERLE-BRITSCHGI C, HÄBERLE J. Minireview on Glutamine Synthetase Deficiency, an Ultra-Rare Inborn Error of Amino Acid Biosynthesis. **Biology (Basel).** 2016; 19;5(4):40.

STEINER RD, CEDERBAUM SD. Laboratory evaluation of urea cycle disorders. **J Pediatr.** 2001;138(1 Suppl):S21-9.

SUMMAR ML, HALL LD, EEDS AM, HUTCHESON HB, KUO AN, WILLIS AS, RUBIO V, ARVIN MK, SCHOFIELD JP, DAWSON EP. Characterization of genomic structure and polymorphisms in the human carbamyl phosphate synthetase I gene. **Gene.** 2003; 5;311:51-7.

SUMMAR ML, KOELKER S, FREEDENBERG D, LE MONS C, HABERLE J, LEE HS, KIRMSE B; EUROPEAN REGISTRY AND NETWORK FOR INTOXICATION TYPE METABOLIC DISEASES (E-IMD); MEMBERS OF THE UREA CYCLE DISORDERS CONSORTIUM (UCDC). The incidence of urea cycle disorders. **Mol Genet Metab.** 2013; 110(1-2):179-80.

SUMMAR ML, MEW NA. Inborn errors of metabolism with hyperammonemia: Urea Cycle Defects and Related Disorders. **Pediatr Clin North Am.** 2018 Apr;65(2):231-246.

TABATA A, SHENG JS, USHIKI M *et al.* Identification of 13 novel mutations including a retrotransposal insertion in SLC25A13 gene and frequency of 30 mutations found in patients with citrin deficiency. **J Hum Genet.** 2008; 53(6):534-545.

TUCHMAN M, JALEEL N, MORIZONO H, SHEEHY L, LYNCH MG. Mutations and polymorphisms in the human ornithine transcarbamylase gene. **Hum Mutat.** 2002 Feb;19(2):93-107.

VAN KARNEBEEK CD, SLY WS, ROSS CJ, *et al.* Mitochondrial carbonic anhydrase VA deficiency resulting from CA5A alterations presents with hyperammonemia in early childhood. **Am J Hum Genet.** 2014; 94:453–461.

WANG Y, SUN Y, LIU M, ZHANG X AND JIANG T. Functional Characterization of Argininosuccinate Lyase Gene Variants by Mini-Gene Splicing Assay. **Front. Genet;** 2019; 10:436.

WEN, W., YIN, D., HUANG, F., GUO, M., TIAN, T., ZHU, H., *et al.* NGS in argininosuccinic aciduria detects a mutation (D145G) which drives alternative splicing of ASL: a case report study. **BMC Med. Genet.** 2016; 17:9.

WORTMANN SB, CHEN MA, COLOMBO R, PONTOGLIO A, ALHADDAD B, BOTTO LD *et al.* Mild orotic aciduria in UMPS heterozygotes: a metabolic finding without clinical consequences. **J Inherit Metab Dis.** 2017;40(3):423-431.

YOKOI, K., NAKAJIMA, Y., YASUI, T. *et al.* Novel *ARG1* variants identified in a patient with arginase 1 deficiency. **Hum Genome.** 2021; 8, 8.

ZHANG G, CHEN Y, JU H *et al.* Carbamoyl phosphate synthetase 1 deficiency diagnosed by whole exome sequencing. **J Clin Lab Anal.** 2018 Feb; 32(2).

8. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente estudo caracterizou os pacientes com UCDs no Brasil e destacou o diagnóstico tardio para esse grupo de doenças raras. A prevalência destas doenças pode exceder a estimativa atual devido à falta de rastreio neonatal e exames necessários ao diagnóstico amplamente disponíveis no sistema público de saúde e também ao subdiagnóstico de casos fatais. Além disso, o estudo mostrou a diferença em relação as regiões do país, sugerindo um maior diagnóstico nas regiões que possuem um maior número de profissionais especializados e de serviços de referência.

Os dados apresentados também relatam a importância do diagnóstico genético a fim de caracterizar o perfil das variantes patogênicas encontradas no país para um melhor manejo das condições e para a possibilidade de novas perspectivas terapêuticas. A terapia nutricional é utilizada como tratamento inicial tanto para a fase aguda da doença, durante a descompensação metabólica, quanto para o manejo a longo prazo. O uso de medicamentos que auxiliam na diminuição da concentração de amônia plasmática são os grandes aliados para a diminuição da progressão dos danos neurológicos.

Com isso uma equipe multidisciplinar no acompanhamento e manejo dos casos é o grande diferencial para um bom prognóstico. Os resultados deste estudo são particularmente relevantes no contexto da necessidade de diagnóstico precoce, da importância de profissionais e serviços especializados disponíveis e da expansão da investigação de EIMs no Brasil, principalmente a partir da expansão do programa nacional de triagem neonatal previsto na lei nº 14.154, de 26 de maio de 2021.

Conclusões de acordo com os objetivos específicos:

a) Caracterizar a história natural dos UCDs no Brasil;

A partir de variantes patogênicas nos genes associados aos UCDs (*ARG1*, *ASL*, *ASS1*, *CPS1*, *OTC*, *NAGS*, *SLC25A15* e *SLC25A13*), o indivíduo começa a apresentar sinais e sintomas de acordo com a deficiência da enzima, podendo ser desencadeado por estresse, febre e infecções. A primeira suspeita ocorre a partir do surgimento de hiperamonemia associada aos danos neurológicos relacionados ao acúmulo de amônia no organismo. Se não tratado, os sintomas podem agravar podendo levar ao estado de coma, convulsões e até mesmo a morte. A primeira linha de tratamento é com o intuito da diminuição da amônia plasmática, com base em

dietas com restrição de proteína e medicamentos, a partir daí avalia-se a necessidade de reposição de aminoácidos e as demais terapias, como a hemodiálise nos casos mais graves.

b) Caracterizar clinicamente os pacientes brasileiros com UCDs;

Os UCDs caracterizam-se clinicamente por danos neurológicos associados à hiperamonemia. Esses sinais podem ser apresentados com a presença de letargia/hipoatividade, deficiência intelectual, distúrbios psiquiátricos, vômitos, irritabilidade, edema cerebral, atraso de desenvolvimento motor, espasticidade e aversão às proteínas. Quando não tratados durante a fase aguda da doença o paciente pode desenvolver convulsões, coma e inclusive a morte.

c) Caracterizar a distribuição regional dos pacientes com UCDs no Brasil;

Os dados do nosso estudo mostram a diferença no número de casos diagnosticados por região no país. Que pode estar relacionado ao acesso aos profissionais especializados e pelo número de serviços de referência estarem concentrados no Sudeste e no Sul do país. Com isso as regiões Centro-Oeste, Nordeste e Norte são as que possuem menos casos relatados.

d) Caracterizar o perfil genético dos pacientes com UCDs no Brasil;

Foi possível determinar as variantes patogênicas associadas aos casos que realizaram análise genética diagnosticados no país. Dados que costumam estar em falta pelo difícil acesso a esses exames que não estão amplamente disponíveis no sistema público de saúde brasileiro.

Tabela 2. Variantes patogênicas relatadas nos pacientes diagnosticados com UCDs no estudo.

UCDs	Gene	Variantes relatadas
OTCD	<i>OTC</i>	c.386G>A (p.Arg129His) c.77G>T (p.Arg26Leu) c.803T>C (p.Met268Thr) c.(408_709)(421_489)del c.421C>T (p.Arg141*) c.1028C>A (p.Thr343Lys) c.342-343del (p.Q114FS) c.158T>C (p.Ile53Thr) c.134T>G (p.Leu45Arg) c.387-2A>C c.245T>C (p.Leu82Ser) c.929_931delAAG (p.Glu310del) c.535C>T (p.Leu179Phe)

		c.116G>C(p.Gly39Ala) c.867G>A; p.(Lys289=)
ASS1D	<i>ASS1</i>	c.365G>T (p.Gly122Val) c.241G>A (p.Ala81Thr) c.970G>A (p.Gly324Ser) c.584T>C (p.Leu195Pro)
ASLD	<i>ASL</i>	c.857A>G (p.Gln286Arg) c.551_552del (p.Asp183_Ser184insTer) c.1193C>A (p.Ala398Asp) c.446+1G>A c.949C>T (p.Leu317Phe) c.209T>C (p.Val70Ala) c.1135C>T (p.Arg379Cys) c.35G>A (p.Arg12Gln) c.337C>T (p.Arg113Trp) p.Leu419Valfs*52) c.284G>A (p.Arg95His) c.524+2T>G (p.E150_S175del)
ARG1D	<i>ARG1</i>	c.61C>T(p.Arg21Ter) c.407C>T c.404C>T (p.Thr135Ile)
CPS1D	<i>CPS1</i>	c.1424delG (p.Gly475Alafs*2) c.3413A>G c.4364A>T
LPI	<i>SLC7A7</i>	c.1109_11333del p.(Leu370Serfs*141)

e) Avaliar a média de idade ao diagnóstico e o tempo de diagnóstico dos UCDs no Brasil a partir do início dos sintomas.

Foi possível avaliar a média de idade em anos \pm desvio padrão ao diagnóstico, de 4.8 \pm 9.1 anos, e o tempo de diagnóstico a partir do início dos sintomas de 1.5 \pm 2.6 anos, destacando o diagnóstico tardio e a dificuldade de fechar o diagnóstico para esses casos.

9. PERSPECTIVAS FUTURAS

A partir dos resultados desse estudo, planejamos desenvolver novos trabalhos que auxiliem no diagnóstico dos casos de suspeita clínica dessas doenças, através do Sequenciamento de Nova Geração (NGS). Dessa forma contribuir para:

- Estruturar dentro da perspectiva do Sistema Único de Saúde (SUS), uma rede nacional organizada de referência e contra referência para a investigação, o diagnóstico e o manejo dos UCD (Rede UCD).

- Estabelecer um Registro Nacional de Informações sobre UCD, de modo a subsidiar políticas públicas para o cuidado e o desenvolvimento de terapias inovadoras para essas doenças.

- Colaborar para uma melhora no acesso ao diagnóstico e tratamento das UCD em nosso país.