



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

FACULDADE DE MEDICINA

*SUPLEMENTAÇÃO COM ÁCIDO DOCOSAHEXAENÓICO EM
CRIANÇAS COM DOENÇAS HEREDITÁRIAS DO
CATABOLISMO PROTEICO*

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM NUTRIÇÃO CLÍNICA

ANA CATARINA VAZ PINHEIRO DE FURTADO FARIA

ORIENTADORA: PROFESSORA DOUTORA LÊLITA SANTOS

CO-ORIENTADORA: DR.^a LUÍSA DIOGO

COIMBRA

2009

À minha família...

A eles devo tudo o que sou...

Agradecimentos

À Professora Lèlita Santos e à Dr.^a Luísa Diogo pela colaboração científica,

À Dr.^a Paula Garcia, por ser uma excelente crítica,

À Dr.^a Manuela Lemos e à Dr.^a Rita Ferreira, pela cooperação laboratorial,

À Dr.^a Alice Mirante, pelo apoio estatístico,

À Anabela, à Nanci e ao Sérgio pelo apoio no HP,

À Joana e ao Ricardo, pela ajuda gráfica,

À Fidjy, pelo apoio na equipa,

Aos meus doentes e famílias, pela disponibilidade,

E não menos importantes...

Aos meus amigos, alguns em especial...

À minha Família, meus Pais, irmã e sobrinho...

Ao Rui, por ser marido, amigo e apoio a tempo inteiro...

Ao que virá...

O meu muito Obrigada por terem estado lá!

ÍNDICE

RESUMO	2
ABSTRACT	4
LISTA DE ABREVIATURAS	6
INTRODUÇÃO	7
Doenças Hereditárias do Metabolismo	7
<i>Fenilcetonúria</i>	9
<i>Acidúrias Orgânicas e Cerebrais</i>	12
<i>Défices do Ciclo da Ureia</i>	12
<i>Homocistinúria</i>	13
<i>Leucínose</i>	14
<i>Tirosinémia tipo I</i>	15
Ácidos Gordos Polinsaturados	16
DHA e Doenças hereditárias do catabolismo proteico	18
OBJECTIVOS	21
METODOLOGIA.....	22
RESULTADOS.....	26
DISCUSSÃO	37
CONCLUSÃO.....	43
BIBLIOGRAFIA.....	46
ANEXOS	50

RESUMO

Os doentes submetidos a dietas restritivas em proteínas estão inevitavelmente em risco de desenvolver défices nutricionais, não só no que diz respeito a vitaminas e minerais como em relação aos ácidos gordos essenciais. Neste grupo inclui-se o ácido docosahexaenóico (DHA), ácido gordo polinsaturado da série n-3 existente habitualmente nos peixes de água fria, eliminados da dieta destes doentes.

Objectivos: com este estudo pretendeu-se determinar a concentração de DHA no plasma de indivíduos com doenças hereditárias do catabolismo proteico sujeitos a dietas restritas em proteína em comparação com um grupo controlo e avaliar a evolução após suplementação com aquele ácido gordo.

Métodos: Vinte indivíduos com doenças hereditárias do catabolismo proteico (acidúrias orgânicas, doenças do ciclo da ureia, fenilcetonúria, homocistinúria, leucínose ou tirosinémia tipo I) e idade inferior a 18 anos foram submetidos a determinação das concentrações plasmáticas de DHA, colesterol total e das fracções LDL e HDL em três momentos (T_0 , T_1 e T_2), com intervalos de 60 dias. Nesse período foram sujeitos a suplementação com DHA na quantidade de 15 mg/kg/dia, sob a forma de emulsão lipídica. Para constituição do grupo controlo foram aleatoriamente seleccionados 33 indivíduos, com idades compreendidas entre os 4 meses e os 15 anos, sob dieta normal.

Resultados: na determinação dos níveis basais (T_0), o grupo de doentes apresentou um valor médio de DHA plasmático significativamente inferior ao grupo controlo ($27,65 \pm 13,69 \mu\text{g/ml}$ vs $55,23 \pm 21,84 \mu\text{g/ml}$; $p = 0,000$). Esta concentração sofreu um aumento estatisticamente significativo entre T_0 e T_2 , apresentando-se no final dos 120 dias com um valor médio de $59,71 \pm 22,61 \mu\text{g/ml}$, próximo do valor médio do

grupo controlo. A análise por patologia revelou que as doenças do ciclo da ureia apresentaram o valor médio mais baixo (19,9 µg/ml), enquanto o superior foi apresentado pelas acidúrias orgânicas (31,55 µg/ml).

Detectou-se uma diminuição estatisticamente significativa da fracção LDL entre T₁ e T₂ (p = 0,044), assim como de triglicerídeos entre T₀ e T₁ (p = 0,025).

Conclusão: os doentes sujeitos a dietas hipoproteicas estão em risco de défices nutricionais, nomeadamente em ácidos gordos essenciais como o DHA. A suplementação diária com este nutriente permite a normalização dos seus níveis plasmáticos. Esta deve assim fazer parte da terapêutica nutricional destes indivíduos, de modo a otimizar o crescimento e o neurodesenvolvimento destes doentes.

ABSTRACT

Patients submitted to low protein diets are susceptible to develop nutritional deficits, concerning not only to vitamins and minerals but also to essential fatty acids, namely docosahexaenoic acid (DHA). This polyunsaturated fatty acid belongs to the n-3 series and is found mostly in fish, which is not available in these patients' diets.

Aim: to evaluate plasma DHA concentration in individuals submitted to low protein diets due to an inherited disorder of protein catabolism, comparing with a control group and assess their evolution after supplementation with that fatty acid.

Methods: 20 patients with inherited disorders of protein catabolism (organic aciduria, urea cycle disorders, phenylketonuria, homocystinuria, maple syrup urine disease or tyrosinemia type I), aged less than 18 years old were submitted to analytic determination of plasma DHA, total cholesterol, LDL, HDL and triglycerides in three moments (T_0 , T_1 e T_2), with 60 days intervals. In this period, patients were submitted to DHA supplementation of about 15 mg/Kg/day, in an emulsion formula. Control group was constituted by randomly assigned 33 individuals with ages between 4 months and 15 years, under normal diet.

Results: in T_0 , the patients' group presented a significantly lower value than the control group ($27,65 \pm 13,69 \mu\text{g/ml}$ vs $55,23 \pm 21,84 \mu\text{g/ml}$; $p = 0,000$). Between T_0 and T_2 , the patients' group showed a significant improvement of DHA values: the medium value at T_2 was $59,71 \pm 22,61 \mu\text{g/ml}$, similar to the control group medium plasma DHA. Patients with urea cycle disorders presented the lowest value ($19,9 \mu\text{g/ml}$) and organic acidurias, the highest ($31,55 \mu\text{g/ml}$).

LDL cholesterol showed a marked reduction between T₁ and T₂ (p = 0,044), and triglycerides decreased significantly between T₀ and T₁ (p = 0,025).

Conclusion: patients submitted to low protein diets are in risk of nutritional deficits, namely of essential fatty acids like DHA. Daily supplementation of this nutrient allows its plasma levels normalization. DHA should be included in the nutritional schedule of these patients, in order to avoid deficits and optimize their growth and neurodevelopment.

LISTA DE ABREVIATURAS

AG - ÁCIDO GORDO

CHC, E.P.E. - CENTRO HOSPITALAR DE COIMBRA, E.P.E.

DHA - ÁCIDO DOCOSAHEXAENÓICO

HPC - HOSPITAL PEDIÁTRICO DE COIMBRA

PKU - FENILCETONÚRIA

PUFA - ÁCIDOS GORDOS POLINSATURADOS

INTRODUÇÃO

Doenças Hereditárias do Metabolismo

As doenças hereditárias do metabolismo constituem um grupo de patologias causadas por defeitos enzimáticos ou por alteração de transportadores específicos (1). A modificação, nomeadamente a interrupção, das vias metabólicas envolvidas conduz a falha na síntese, na degradação ou no transporte de moléculas no organismo. O compromisso dos processos celulares em causa pode acarretar acumulação de substratos a montante (eventualmente tóxicos), ausência de um produto esperado ou reforço de vias metabólicas alternativas com excessiva produção de substâncias potencialmente deletérias (2).

Saudubray classificou-as em três grupos distintos, tendo em conta os mecanismos fisiopatológicos e implicações terapêuticas em:

- a. Doenças do tipo intoxicação (proteica - como a fenilcetonúria, a tirosinémia, a homocistinúria e os défices do ciclo da ureia; ou glicídica - como a galactosémia e a frutosemia);
- b. Doenças por défice de produção ou utilização de energia (por exemplo, as glicogenoses e os défices da oxidação dos ácidos gordos);
- c. Doenças por alteração do metabolismo de moléculas complexas (por exemplo, as doenças dos lisosomas ou os défices da glicosilação das proteínas) (1).

As doenças hereditárias do metabolismo são habitualmente de transmissão autosómica recessiva e apresentam uma baixa incidência (individualmente inferior a 1 para 2000), pelo que são consideradas doenças raras (3). O seu diagnóstico tem sido classicamente realizado por rastreio selectivo, após o aparecimento de

sintomas, com base na especificidade dos mesmos e ocasionalmente na história familiar. Requer a associação de elementos bioquímicos, enzimáticos e/ou de genética molecular, para além da clínica. Desde 1979 tem sido feito em Portugal o rastreio neonatal da fenilcetonúria no Centro Nacional de Rastreios. A partir de 2005 aquele rastreio foi alargado a um subgrupo de doenças hereditárias do metabolismo, passíveis de tratamento específico, cujo prognóstico, tal como na fenilcetonúria, é favoravelmente influenciado pela intervenção terapêutica precoce. Estas, que incluem muitas das doenças do catabolismo proteico, são rastreadas após um período de dieta normal, habitualmente entre o 3º e o 5º dias após o nascimento. São actualmente objecto da detecção precoce por espectrometria de massa em *tandem*, em geral numa fase pré-sintomática, 23 doenças hereditárias do metabolismo, 16 das quais são doenças do catabolismo proteico. Em 2008, a incidência das doenças hereditárias do metabolismo rastreadas em Portugal foi de cerca de 1 caso para 2500 nascimentos, sendo as do catabolismo proteico de 1 para 4000 (4).

Tal como os outros erros inatos do metabolismo, as doenças hereditárias do catabolismo proteico podem apresentar-se em qualquer idade, com vómitos e prostração, (podendo evoluir até ao coma, com ou sem convulsões), anorexia selectiva, atraso de crescimento, insuficiência hepática ou cardíaca, miopatia ou atraso de desenvolvimento psicomotor. Este pode surgir aparentemente isolado, pelo menos no início, tal como acontece na fenilcetonúria (1).

As doenças do catabolismo proteico fazem parte do subgrupo das doenças hereditárias do metabolismo que podem ser tratadas com manipulação nutricional, com melhoria significativa do prognóstico. O tratamento dietético visa a remoção do tóxico, garantindo tanto quanto possível um crescimento e um neurodesenvolvimento adequados (1, 3, 5).

Fenilcetonúria

A Fenilcetonúria (PKU) é o protótipo das doenças hereditárias do metabolismo tratáveis com sucesso através da intervenção dietética (3, 5). Trata-se de uma doença do catabolismo da fenilalanina, aminoácido essencial, causada na grande maioria dos doentes por défice da hidroxilase da fenilalanina e em cerca de 2% por defeitos no metabolismo do seu cofactor, a tetrahidrobiopterina (BH4) (1).

A hidroxilase da fenilalanina é responsável pela conversão hepática da fenilalanina em tirosina, verificando-se, em caso de défice, um incremento dos níveis plasmáticos de fenilalanina e da relação fenilalanina /tirosina. O bloqueio enzimático leva ainda à produção de metabolitos por vias de degradação alternativas, como os ácidos fenilpirúvico, fenil-láctico e fenilacético, excretados na urina e que lhe conferem o característico cheiro a "urina de rato" (1, 3, 6).

Sem tratamento, o compromisso neurológico surge a médio prazo e traduz-se por atraso de desenvolvimento, microcefalia, alterações motoras, epilepsia, alterações do comportamento, eczema, hipopigmentação do cabelo e pele e restrição do crescimento, entre outros (1, 3, 6).

O objectivo do tratamento da PKU é a redução da fenilalanina plasmática a níveis suficientemente adequados para a prevenção do dano neurológico (3). Desta forma, a ingestão de fenilalanina deve ser limitada ao estritamente necessário a um adequado crescimento, dado tratar-se de um aminoácido essencial. Recorre-se ao uso de dieta hipoproteica com suplementação dos outros aminoácidos essenciais (incluindo a tirosina, cuja produção endógena a partir da fenilalanina está comprometida), assim como vitaminas e minerais. Alimentos naturalmente ricos em proteínas e, conseqüentemente, fenilalanina, devem ser limitados - o leite materno, de vaca ou fórmulas de substituição - ou proscritos da dieta, como no caso da carne, peixe, ovos ou seus derivados (1, 5).

Abaixo são apresentados exemplos de dias alimentares de crianças com PKU de diferentes idades, nomeadamente, 15 meses e 7 anos de idade.

Refeição	Alimentos
Pequeno-almoço	150 ml de mistura hipoproteica ^a + bolachas / pão hipo + margarina
Meio da Manhã	Uma peça de fruta + uma bolacha hipoproteica
Almoço	Sopa de legumes Prato: uma colher de sopa de arroz ou massa hipoproteicos ou uma batata + estufado de legumes (duas partes ^b de fenilalanina) Uma peça de fruta (½ parte de fenilalanina)
1º Lanche	logurte hipoproteico com fruta ou bolacha ralada
2º Lanche	150 ml de mistura hipoproteica
Jantar	Semelhante ao almoço
Ceia	150 ml de mistura hipoproteica

Tabela 1 - Exemplo de dia alimentar de criança com PKU com 15 meses de idade

^a Mistura de leite adaptado com fórmulas isentas de fenilalanina e ricas em hidratos de carbono, lípidos, vitaminas e sais minerais.

^b Uma parte de fenilalanina corresponde a 20 mg de fenilalanina

Refeição	Alimentos
Pequeno-almoço	100 ml de leite de Vaca + 100 ml de leite hipoproteico + 3 medidas de PKU ₂ prima ^{®c} + uma colher de café de açúcar + papa hipoproteica para engrossar
Meio da Manhã	Uma peça de fruta + uma bolacha hipoproteica
Almoço	Sopa de legumes Prato: duas a três colheres de sopa de arroz ou massa hipoproteicos ou batatas + estufado de legumes ou rissóis de legumes (4 partes de fenilalanina) Uma peça de fruta (uma parte de fenilalanina) ou uma taça de gelatina de origem vegetal
1º Lanche	Um pão normal com manteiga vegetal + um pacote de néctar de fruta
2º Lanche	Semelhante ao pequeno-almoço
Jantar	Semelhante ao almoço
Ceia	200 ml de leite hipoproteico

Tabela 2 - Exemplo de dia alimentar de uma criança com PKU com 7 anos de idade

O tratamento da PKU deve ser monitorizado mediante a determinação da fenilalanina sanguínea em cartão de *Guthrie*^d. Este controlo, que deve ser feito semanalmente nos primeiros meses de vida, pode ser espaçado até uma vez por mês a partir da adolescência (1).

Os doentes com PKU submetidos a dietas relativamente restritivas são susceptíveis de apresentar défices vitamínicos e minerais, nomeadamente de vitaminas B₁₂, B₉ e D e de cálcio, ferro, selénio e zinco. A suplementação em vitaminas e minerais é, por isso, parte integrante da terapêutica dietética a que estes doentes estão sujeitos (1, 5).

^c PKU₂ prima[®] - mistura de aminoácidos isenta de fenilalanina

^d Cartão de colheita e reserva de sangue usado no teste do pezinho para a metodologia de espectrometria de massa em *tandem*

Acidúrias Orgânicas e Cerebrais

As acidúrias orgânicas clássicas são um grupo de doenças que resultam de défices no catabolismo dos aminoácidos de cadeia ramificada: isoleucina, leucina e valina. As mais comuns são a acidúria isovalérica, a acidúria propiónica e a acidúria metilmalónica (1, 3, 6).

A par das acidúrias orgânicas acima referidas, existem as acidúrias cerebrais, como a acidúria glutárica do tipo I, causada por um défice da desidrogenase do glutaril-CoA, enzima envolvida no catabolismo da lisina, hidroxilisina e do triptofano (1, 3, 6).

As acidúrias orgânicas (clássicas e cerebrais) apresentam-se, normalmente, com encefalopatia com ou sem cetoacidose acompanhada de rejeição alimentar, hipotonia, evoluindo para coma (1, 3, 6).

O tratamento das acidúrias orgânicas envolve a restrição de ingestão dos aminoácidos causadores de toxicidade e a suplementação com carnitina (como veículo de excreção urinária dos ácidos orgânicos sob a forma de acilcarnitinas) e com outros nutrientes como vitaminas e minerais que podem ser úteis na via catabólica prejudicada (1, 5, 6).

Défices do Ciclo da Ureia

Estão actualmente descritas pelo menos seis doenças hereditárias do ciclo da ureia. Estão em causa as enzimas: carbamoil-fosfato sintetase, ornitina transcarbamoilase, argininosuccinato sintetase, argininosuccinato liase, arginase e N-acetil-glutamato sintetase. A apresentação pode ser variável, manifestando-se por vezes no período neonatal por vômitos, recusa alimentar, letargia ou irritabilidade, podendo evoluir para coma e insuficiência respiratória. Na idade escolar, os sintomas podem ser mais ligeiros, sendo comuns problemas comportamentais, sintomas gastrointestinais e

hepatomegalia. Tal como acontece na generalidade das doenças do catabolismo proteico, em períodos de baixa ingestão alimentar por doença, recusa ou intolerância digestiva estes doentes ficam em risco de descompensação metabólica devido ao catabolismo proteico aumentado que no caso deste subgrupo de doenças pode ser fatal. A hiperamoniémia e alteração dos níveis de aminoácidos plasmáticos específicos, bem como a excreção urinária de ácidos orgânicos anormais e de ácido orótico permitem o diagnóstico deste grupo de doenças, bem como o seu diagnóstico diferencial (1, 3, 6).

O diagnóstico, que para um subgrupo destas doenças é fornecido precocemente no rastreio neonatal, é frequentemente realizado na sequência de um episódio de descompensação no período neonatal; ou mais tarde quando surgem complicações associadas às manifestações mais ligeiras (1, 3, 6).

No tratamento dietético a longo prazo está recomendada a restrição de ingestão de proteínas com recurso a suplementação de aminoácidos essenciais, nomeadamente de aminoácidos que permitam a metabolização rápida do excesso de azoto promovendo a síntese proteica (5).

Homocistinúria

A homocistinúria é uma doença metabólica causada por um défice da enzima cistationa- β -sintase, conduzindo à acumulação de metionina, homocisteína e seus derivados e afectando numerosos tecidos, nomeadamente o fígado, o cérebro, o pâncreas e os fibroblastos (1, 3, 6).

À semelhança do que acontece com a tirosinémia tipo I, o diagnóstico de homocistinúria clássica pode ser suspeitado no rastreio neonatal de uma forma indirecta, quando se detecta um aumento da metionina nos primeiros dias de vida. A

concomitante elevação da homocisteína (que tem de ser especificamente doseada) permite chegar ao diagnóstico. No entanto, o diagnóstico é habitualmente feito após o aparecimento das manifestações clínicas, nomeadamente as oculares (1, 3, 6).

O objectivo do tratamento é a redução dos níveis de homocisteína e metionina, dependendo de uma alimentação restrita nestes aminoácidos com suplementação nos restantes aminoácidos que poderão estar mesmo deficitários, nomeadamente a cisteína (1, 3, 6). Como nas doenças anteriormente descritas, a suplementação de vitaminas e minerais é essencial do mesmo modo que a monitorização de eventuais défices nutricionais (5).

Leucínose

A leucínose é uma doença causada por alterações no catabolismo dos aminoácidos de cadeia ramificada, levando à acumulação de leucina, isoleucina e valina e dos seus correspondentes ácidos orgânicos, bem como de aloisoleucina (1, 3, 6).

Caracteriza-se por um característico odor da urina a caramelo, podendo apresentar-se no período neonatal com coma ou mais tardiamente com letargia, convulsões e atraso de desenvolvimento e de crescimento estato-ponderal (1, 6).

À semelhança das doenças anteriormente apresentadas, no tratamento da LEU deve ser restringida a ingestão de aminoácidos tóxicos (a leucina, a isoleucina e a valina) e moderada a ingestão dos restantes aminoácidos de acordo com as necessidades (1, 6). A suplementação vitamínico-mineral assume, de igual forma, extrema importância no tratamento desta doença (5).

Tirosinémia tipo I

A tirosinémia tipo I é uma doença causada por um défice na enzima hidrolase do fumarilacetoacetato, que actua essencialmente a nível hepático e renal. O resultante bloqueio da via metabólica em questão leva a que os produtos que se encontram imediatamente acima do mesmo, maleilacetoacetato e fumarilacetoacetato, assim como os seus derivados, succinilacetona e succinilacetoacetato, se acumulem lesando os órgãos afectados (1-3, 6).

A tirosinémia tipo I pode apresentar-se precocemente e de forma grave, no período neonatal ou mais tardiamente, até mesmo na idade adulta. Os sinais com que se apresenta são extremamente variáveis, mesmo em casos da mesma família. Embora não faça parte do grupo de doenças do rastreio neonatal, pode eventualmente ser detectada de forma indirecta através do aumento da tirosina (nem sempre presente na altura do teste) e confirmada pela determinação específica da succinilacetona (1, 3, 6).

O tratamento é, inicialmente, dietético, em tudo semelhante ao que é preconizado para o tratamento dietético da PKU, sendo que é necessária a restrição da tirosina para além da fenilalanina, seu precursor (5). A par da alimentação hipoproteica, recorre-se à terapêutica farmacológica com NTBC [2-(2-nitro-4-trifluorometilbenzoil)-1,3.ciclohexanediona]. Esta, ao bloquear a degradação da tirosina num passo anterior ao da formação de metabolitos tóxicos, diminui o risco de hepatocarcinoma. O transplante hepático e/ou renal é a médio ou longo prazo uma intervenção habitual nestes doentes (1).

Também como no caso da PKU, os doentes com tirosinémia são susceptíveis de desenvolver défices nutricionais, nomeadamente de vitaminas e minerais, pelo que a suplementação e eficaz monitorização devem fazer parte integrante do tratamento destas crianças (5).

Ácidos Gordos Polinsaturados

Os ácidos gordos (AG) são os principais constituintes dos triglicerídeos, podendo ser saturados, monoinsaturados ou polinsaturados. De entre os últimos, alguns são fornecidos exclusivamente pela dieta, denominando-se por isso essenciais (7, 8).

Os AG de cadeia longa polinsaturados (PUFA) são componentes essenciais da estrutura lipídica dos tecidos, correspondendo a cerca de 10 a 15% dos constituintes membranares (8, 9). Da sua quantidade e composição nas membranas celulares depende uma diversidade de funções como a fluidez, o transporte trans-membranar e a transdução eléctrica e humoral. Em humanos e nos animais, a disponibilidade de DHA durante o desenvolvimento pré e pós-natal está relacionada com a biofuncionalidade do tecido nervoso central e com o desenvolvimento neurológico (9, 10). Destacam-se neste grupo os ácidos linoleico e α -linolénico, precursores das séries n-6 e n-3 respectivamente (8, 10).

Os AG n-3 são considerados primordiais na nutrição infantil desde o período pré-natal. Diversos estudos têm sido desenvolvidos com o intuito de identificar as funções destes AG e justificar o seu papel essencial (8, 11-15).

O ácido docosahexaenóico (DHA; C22:6) é um ácido gordo essencial da série n-3, derivado do ácido α -linolénico com, entre outras, propriedades anti-inflamatórias e de manutenção da estabilidade das membranas neuronais e da retina. Trata-se de um AG abundante no organismo, constituindo cerca de 40% e 60% dos AG polinsaturados do cérebro e da retina, respectivamente (8, 9, 11).

O DHA encontra-se habitualmente em animais de vida aquática, nomeadamente nos provenientes de água fria, ou em óleos vegetais como o óleo de linhaça (7, 9, 16). No entanto, os alimentos de origem vegetal não são fornecedores de DHA. É estimado

que a ingestão dietética média de DHA nos adultos europeus que cumprem uma alimentação omnívora seja cerca de 200 mg/dia (16).

Não estão ainda publicadas as recomendações para a ingestão diária dos AG essenciais nas diferentes idades, o que é reflectido na modesta evidência expressa na última actualização das Ingestões Dietéticas de Referência pelo *United States Department of Agriculture* em 2005. Após numerosos estudos terem demonstrado diversos benefícios dos PUFA da série n-3 para a saúde, diversas entidades emitiram as suas próprias recomendações, não havendo ao momento consenso relativamente a esta questão (17, 18).

Entre todos os PUFA, é o DHA que mais contribui para a composição fosfolipídica cerebral, sendo essencial para o crescimento e desenvolvimento funcional do cérebro das crianças (8). Numa revisão publicada no *Pharmacological Research* em 1999, Horrocks e Yeo fazem referência a diversos estudos realizados no âmbito dos benefícios do DHA na saúde humana. De acordo com estes autores, o DHA é essencial para o crescimento e desenvolvimento funcional do cérebro das crianças, assim como para a manutenção da função cerebral normal nos adultos. A inclusão de DHA biodisponível na dieta parece melhorar as capacidades de aprendizagem, ao passo que a deficiência deste AG pode conduzir a dificuldades nesse âmbito. Também a acuidade visual parece ser positivamente melhorada na presença de suplementação em DHA nas fórmulas lácteas infantis (11).

Considerando diversos estudos efectuados com crianças, a ingestão dietética limitada de PUFA parece condicionar negativamente os níveis de DHA (12, 17, 19-24). Contrariamente, em ratos Rapoport *et al* verificaram que na ausência de DHA alimentar, o conteúdo cerebral deste AG pode mesmo assim ser mantido pela conversão hepática de ácido α -linolénico, desde que ingerido em quantidade suficiente na dieta (25).

De acordo com Kris-Etherton *et al* (2009), em indivíduos sujeitos a dietas muito restritas como os vegetarianos, ou mesmo indivíduos que por qualquer outra razão não incluem estes alimentos na sua dieta, existe a clara necessidade de suplementação com DHA assim como com outros AG essenciais (17).

Já em 2003, Davis *et al* recomendaram que os vegetarianos estritos (*vegan*) tivessem uma fonte directa de DHA, idealmente entre 100 a 300 miligramas por dia (26).

DHA e Doenças hereditárias do catabolismo proteico

Assim como nos vegetarianos estritos, em indivíduos que cumprem dietas restritivas de alimentos ricos em proteína ou em gordura, como os sujeitos com algumas doenças hereditárias do metabolismo, é frequente a detecção de défice em DHA (19-24, 27, 28).

A PKU é a doença hereditária do catabolismo proteico mais frequente e tratada com dieta restritiva desde há mais tempo (Bickel, 1954) pelo que é a mais estudada também no que refere aos AG essenciais (19-24, 27, 29).

Em 2001, Agostoni *et al*, demonstraram níveis baixos de DHA nos fosfolípidos plasmáticos e nos eritrócitos em crianças com PKU. Após 12 meses de suplementação, aqueles níveis aumentaram em cerca de 100%, comparativamente com o grupo controlo (22).

Alguns estudos, como o que Beblo *et al* publicou em 2007 no *Journal of Pediatrics*, avaliaram já os efeitos positivos da suplementação com óleo de peixe rico em DHA não só nos níveis deste AG, mas igualmente nas capacidades motoras das crianças com PKU (21).

Koletzko et al (2009) publicaram igualmente um estudo em que foram avaliados os efeitos da suplementação em crianças com PKU, recorrendo ao uso de cápsulas de 500 mg de óleo de peixe providenciando diariamente DHA na quantidade de 15 miligramas por quilograma de peso. Das crianças previamente seleccionadas por bom controlo metabólico, 36 com idade média de $6,3 \pm 0,6$ anos completaram o estudo, tendo sido submetidas a avaliação laboratorial, avaliação dos potenciais visuais evocados e da motricidade fina, antes e 90 dias após o início da suplementação. Os níveis sanguíneos de DHA sofreram um aumento marcado, ao contrário do que aconteceu com os níveis de aminoácidos, que não mostraram alteração significativa. Na avaliação dos potenciais evocados visuais foi detectada uma maior rapidez de processamento de informação após os 3 meses de suplementação, o que não aconteceu no grupo controlo. Também no que respeita à motricidade fina, foram encontradas melhorias com a suplementação, em comparação com o grupo controlo (23). Assim, *Koletzko et al* consideraram essencial a suplementação com AG polinsaturados da série n-3, em especial DHA, já que α ácido -linolénico habitualmente ingerido por estas crianças, não parece ser suficiente para a conversão em quantidades adequadas para manter os níveis ideais de DHA para suportar o desenvolvimento destes indivíduos (23, 27).

Num outro estudo de *Agostoni et al*, foi também demonstrado que o uso de uma fórmula isenta de fenilalanina suplementada com AG polinsaturados influenciou positivamente os níveis de DHA destas crianças, assim como o seu neurodesenvolvimento (24).

Na PKU, para além da restrição da ingestão de DHA imposta pelo tratamento dietético, o fenilpiruvato anormalmente formado pode interferir com a produção de DHA através do seu potente efeito inibitório sobre a dioxigenase do 4-hidroxfenilpiruvato. Esta enzima está envolvida na síntese de novo de α -tocoferol-quinona, cofactor enzimático necessário à síntese mitocondrial do DHA (30, 31).

A suplementação com DHA pode assim desempenhar um papel de extrema importância na manutenção de um adequado estado nutricional no tratamento da PKU e, eventualmente, de outras doenças hereditárias do catabolismo proteico (19, 21-24, 27, 32).

OBJECTIVOS

Com este estudo, pretendeu-se:

- Determinar a concentração de DHA no plasma de indivíduos sujeitos a dietas restritas em proteína por possuírem doenças hereditárias do catabolismo proteico;
- Verificar a evolução da concentração de DHA após suplementação diária com este AG;
- Comparar os valores plasmáticos de DHA antes e após suplementação com um grupo controlo;
- Determinar a concentração dos lípidos plasmáticos antes e após a suplementação com DHA;
- Caso se comprovasse haver défice de DHA, propor a sua inclusão como suplemento no tratamento dietético das doenças hereditárias do catabolismo proteico, com o objectivo de contribuir para um crescimento e um neurodesenvolvimento adequados.

METODOLOGIA

Amostra

Grupo de doentes: indivíduos seguidos na Consulta Externa de Doenças Metabólicas do Hospital Pediátrico de Coimbra, seleccionados de forma aleatória.

De acordo com os critérios de inclusão, foram considerados indivíduos com:

- Idades compreendidas entre os 0 e os 18 anos (idade de seguimento na consulta);
- Doença hereditária do catabolismo proteico (acidúrias orgânicas, doenças do ciclo da ureia, PKU, homocistinúria, leucínose ou tirosinémia tipo I);
- Plano dietético restrito em proteínas, com cumprimento adequado;
- Ausência de descompensação metabólica recente.

Grupo controlo: 33 indivíduos sem doença hereditária do metabolismo, recrutados aleatoriamente no Serviço de Cirurgia do Hospital Pediátrico de Coimbra (internamento de curta duração para pequenas cirurgias, como extracção de adenóides ou amígdalas) e no Centro de Genética Médica Doutor Jacinto Magalhães, com idades compreendidas entre os 4 meses e os 15 anos e sem restrições dietéticas.

Métodos

- *Determinações analíticas*

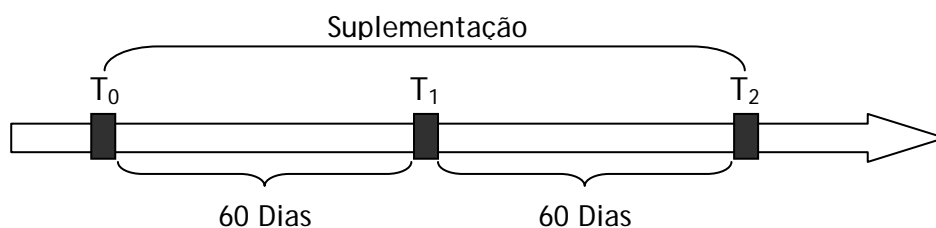
Grupo de doentes:

As concentrações plasmáticas de DHA foram determinadas no contexto do controlo analítico habitual a que os indivíduos com doenças hereditárias do catabolismo proteico são submetidos, sob declaração de consentimento informado assinado pelos pais ou responsável legal do doente.

A determinação analítica foi efectuada na Unidade de Enzimologia do Centro de Genética Médica Doutor Jacinto Magalhães (Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge), sito no Porto. O método usado para a determinação foi cromatografia gasosa segundo o procedimento descrito por Takemoto *et al* com recurso a um cromatógrafo de fase gasosa com coluna capilar PUFA (SPB-PUFA) (33).

A recolha de amostras foi efectuada em condições de jejum superior ou igual a 6 horas e decorreu em 3 momentos:

- T_0 - antes da suplementação;
- T_1 - 60 dias após início da suplementação;
- T_2 - 120 dias após início da suplementação;



A suplementação com DHA correspondeu a 15 miligramas deste AG por quilograma de peso por dia, como descrito em estudos anteriores, sob a forma de emulsão (23, 34).

Nas análises efectuadas ao grupo de doentes foram incluídos os valores plasmáticos de triglicéridos, colesterol total e fracções LDL e HDL, para os quais foram considerados os seguintes valores de referência ^e:

Parâmetro	Valores de referência (mmol/L)
Colesterol Total	2,80 - 5,20
Colesterol LDL	2,60 - 4,90
Colesterol HDL	0,90 - 1,55
Triglicéridos	0,17 - 1,70

Os doentes incluídos no estudo foram pesados nos 3 momentos correspondentes às determinações analíticas.

Grupo controlo:

O grupo controlo foi igualmente submetido a recolha de amostra para a determinação de DHA plasmático em T₀, nas mesmas condições de jejum.

Os pais ou responsáveis legais por estes indivíduos assinaram uma declaração de consentimento informado, à semelhança do que aconteceu com o grupo de doentes.

^e Valores cedidos pelo Laboratório de Bioquímica do Hospital Pediátrico de Coimbra

- *Análise estatística*

A análise estatística dos dados foi efectuada com recurso ao programa *Statistical Package for Social Sciences* SPSS versão 15.0 (35). Para verificar a normalidade da distribuição de cada variável recorreu-se ao teste de Kolmogorov-Smirnov. As comparações entre variáveis quantitativas e entre variáveis qualitativas foram efectuadas com os testes T de student e Qui-quadrado, respectivamente.

RESULTADOS

1. Grupo de doentes

Este grupo foi constituído por 20 crianças sendo 14 do sexo feminino (70,00 %) (Gráfico 1).

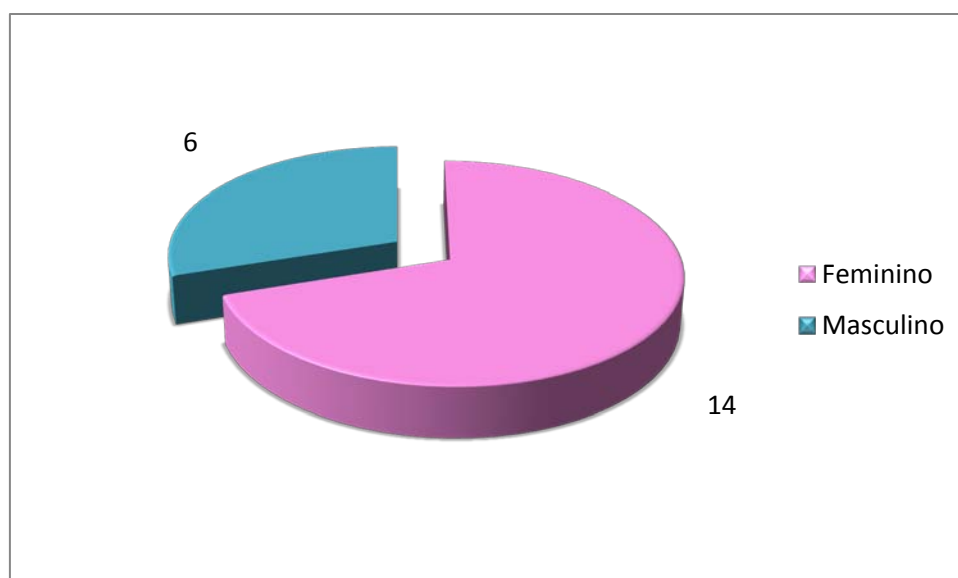


Gráfico 1. Distribuição dos doentes segundo o sexo

As idades das crianças submetidas ao estudo ficaram compreendidas entre os 4 meses e os 17 anos e 6 meses, sendo a idade média de $79,45 \pm 69,89$ meses ($6,62 \pm 5,82$ anos) e a mediana de 4 anos e 3 meses (Gráfico 2).

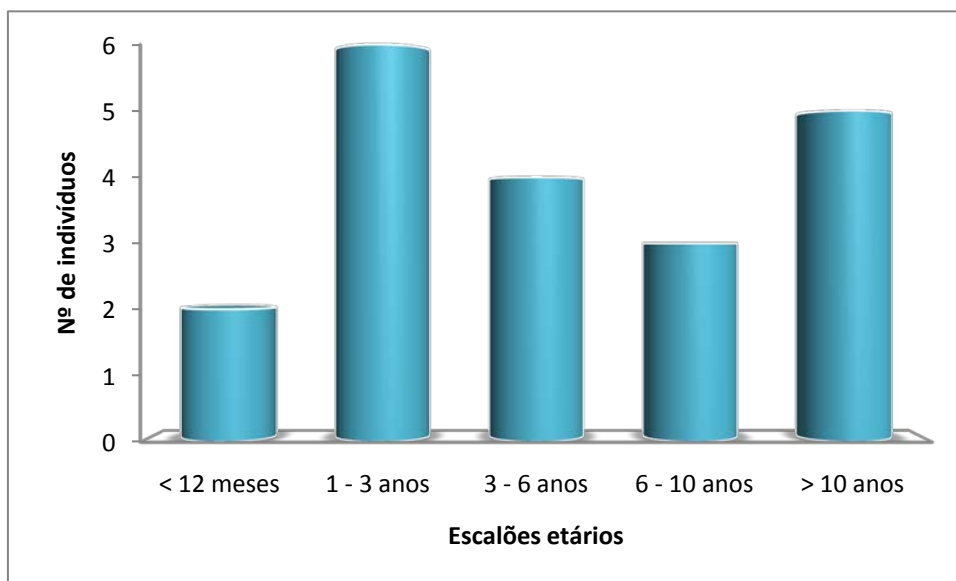


Gráfico 2. Distribuição dos doentes por escalões etários.

O peso médio inicial dos doentes foi de $23,97 \pm 15,24$ kg e a mediana de 19,95 kg (n=20). No final do estudo, o peso médio das crianças foi de $24,62 \pm 14,48$ kg sendo a mediana de 21,00 kg (n=20). O aumento de peso verificado neste período foi estatisticamente significativo ($p = 0,023$).

A distribuição dos doentes de acordo com o tipo de doença metabólica de base está representada no gráfico 3.

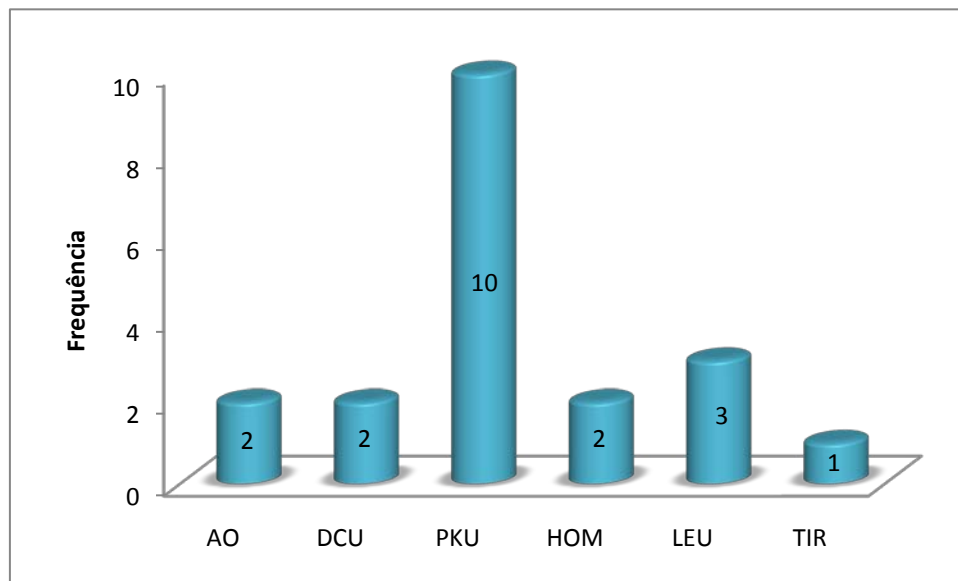


Gráfico 3. Distribuição dos doentes segundo doença metabólica

(AO - acidúria orgânica; DCU - doenças do ciclo da ureia; PKU - fenilcetonúria;

HOM - homocistinúria; LEU - leucínose; TIR - tirosinémia)

2. Grupo controlo

O grupo controlo foi constituído por 33 crianças e adolescentes recrutados aleatoriamente nas condições atrás referidas, 7 do sexo feminino, com idade média de $58,36 \pm 48,11$ meses ($4,88 \pm 4,01$ anos) e mediana de 4 anos e 3 meses (Gráfico 4).

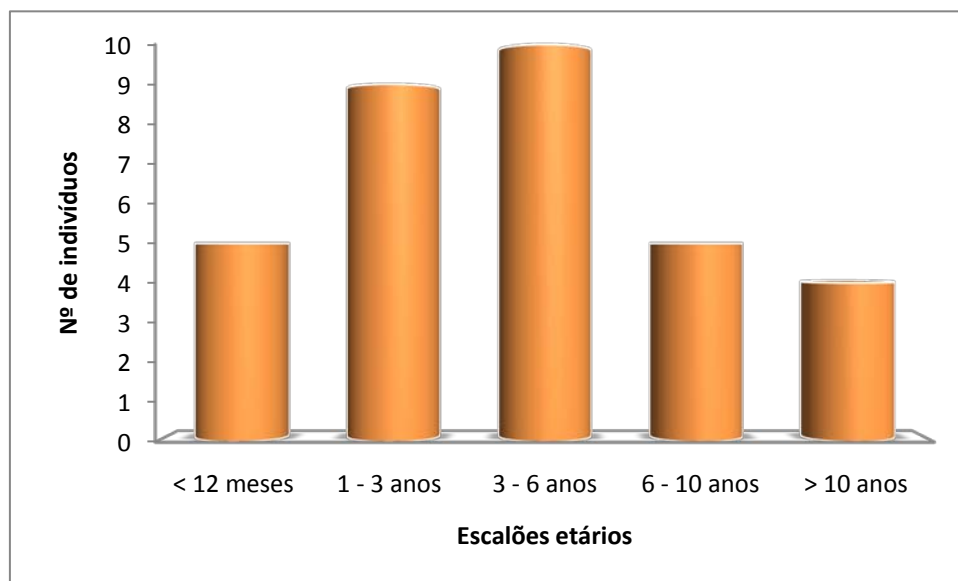


Gráfico 4. Distribuição dos indivíduos do grupo controlo por escalões etários.

Na tabela 1 são apresentadas as características do grupo controlo, incluindo os resultados analíticos da determinação da concentração de DHA plasmático neste grupo.

	Grupo controlo			Doentes	T-test (p)
	Valor mínimo	Valor máximo	Valor médio (desvio padrão)	Valor médio (desvio padrão)	
Idade (meses)	4,00	182,00	58,36 (48,11)	79,45 (69,89)	0,199
DHA plasmático (µg/ml)	23,60	139,50	55,23 (21,84)	27,65 (13,69)	0,000

Tabela 1. Perfil de DHA plasmático do grupo controlo (n = 33) vs grupo de doentes (n=20) em T₀

3. EVOLUÇÃO DOS RESULTADOS

Quantificação de DHA plasmático

Considerando os níveis plasmáticos de DHA, e de acordo com os resultados apresentados na tabela 2, verificou-se um incremento estatisticamente significativo no período total de estudo ($p = 0,000$). Entre T_0 e T_1 , foi observado um aumento estatisticamente significativo dos níveis plasmáticos ($p = 0,000$), sendo que entre T_1 e T_2 foi verificada uma ligeira diminuição dos mesmos, igualmente com significado estatístico ($p = 0,009$).

	T_0	T_1	T_2	Grupo controlo (n=33)
	Valor médio (desvio padrão) n=21			
DHA plasmático ($\mu\text{g/ml}$)	27,65 (13,69)	78,56 (33,25)	59,71 (22,61)	55,23 (21,84)

Tabela 2. Perfil de DHA plasmático dos doentes (n=21) e dos controlos (n=33).

Quando são analisados os valores apresentados na tabela anterior, comparativamente com o grupo controlo, verifica-se que apenas nas determinações em T_0 e T_1 , as diferenças entre doentes e controlos são estatisticamente significativas ($p = 0,000$ e $p = 0,003$, respectivamente). Quando é efectuada uma análise aos valores apresentados por cada doente, de acordo com a tabela apresentada em anexo (tabela a1), verifica-se que apenas 9 dos doentes (45,00 %) apresentam um valor superior ao mínimo encontrado no grupo controlo (23,60 $\mu\text{g/ml}$).

Na tabela 3 (resumo das tabelas a1, a2 e a3 - em anexo), são apresentados os valores médios correspondentes às determinações analíticas efectuadas ao longo do estudo e de acordo com a patologia associada.

Patologia						
	AO	DCU	PKU	HOM	LEU	TIR
	Valor médio (desvio padrão)	Valor médio (desvio padrão)	Valor médio (desvio padrão)	Valor médio (desvio padrão)	Valor médio (desvio padrão)	Valor médio*
DHA (µg/ml)						
T ₀	41,55 (11,10)	19,90 (12,73)	27,80 (16,70)	25,20 (5,23)	22,43 (6,92)	34,30
T ₁	125,25 (26,66)	87,05 (51,83)	75,17 (32,03)	72,20 (25,31)	66,43 (30,40)	51,20
T ₂	61,80 (25,46)	53,15 (44,05)	64,83 (21,11)	57,95 (47,59)	47,27 (3,16)	58,30
Col-T (mmol/L)						
T ₀	4,50 (0,42)	3,30*	4,16 (0,88)	3,50 (0,14)	3,85 (1,34)	3,60
T ₁	4,30 (0,14)	4,30 (0,71)	3,92 (0,48)	3,30 (0,28)	4,17 (1,42)	3,80
T ₂	4,45 (0,21)	4,48 (1,23)	4,16 (0,85)	3,58 (0,81)	3,88 (0,77)	4,00
LDL-c (mmol/L)						
T ₀	3,00*	n.d.	3,06 (0,79)	2,42*	2,60*	n.d.
T ₁	3,03 (0,11)	2,56 (0,41)	2,66 (0,64)	2,25 (0,09)	2,61 (0,78)	2,70
T ₂	3,13 (0,06)	2,40 (0,76)	2,56 (0,82)	2,16 (0,51)	2,46 (0,44)	2,20
HDL-c (mmol/L)						
T ₀	0,90*	n.d.	0,94 (0,15)	1,05 (0,07)	n.d.	0,90
T ₁	0,90 (0,14)	1,50 (0,14)	1,13 (0,26)	0,90 (0,14)	1,43 (0,67)	1,00
T ₂	0,95 (0,21)	1,49 (0,28)	1,13 (0,24)	1,12 (0,32)	1,15 (0,41)	0,90
TG (mmol/L)						
T ₀	1,79 (0,38)	0,57*	1,75 (0,61)	1,61 (1,01)	0,56 (0,35)	0,60
T ₁	1,86 (0,56)	1,20 (0,76)	0,95 (0,32)	0,80 (0,25)	0,62 (0,23)	0,50
T ₂	1,84 (0,30)	1,29 (0,42)	1,29 (0,70)	0,67 (0,04)	0,79 (0,26)	0,60

Tabela 3. Perfil lipídico plasmático dos subgrupos de doentes ao longo do estudo, por patologia associada (n.d. - não determinado; *n=1)

(AO - acidúria orgânica; DCU - doenças do ciclo da ureia; PKU - fenilcetonúria;

HOM - homocistinúria; LEU - leucínose; TIR - tirosinémia)

Analisando os resultados das determinações de DHA plasmático em T₀ por patologia, verificou-se que as doenças do ciclo da ureia (DCU) mostraram a média mais baixa (19,9 µg/ml), sendo a média correspondente aos doentes com acidúria orgânica a

mais elevada (41,55 µg/ml). No entanto, as diferenças encontradas entre as médias correspondentes a cada doença não foram estatisticamente significativas (Gráfico 5).

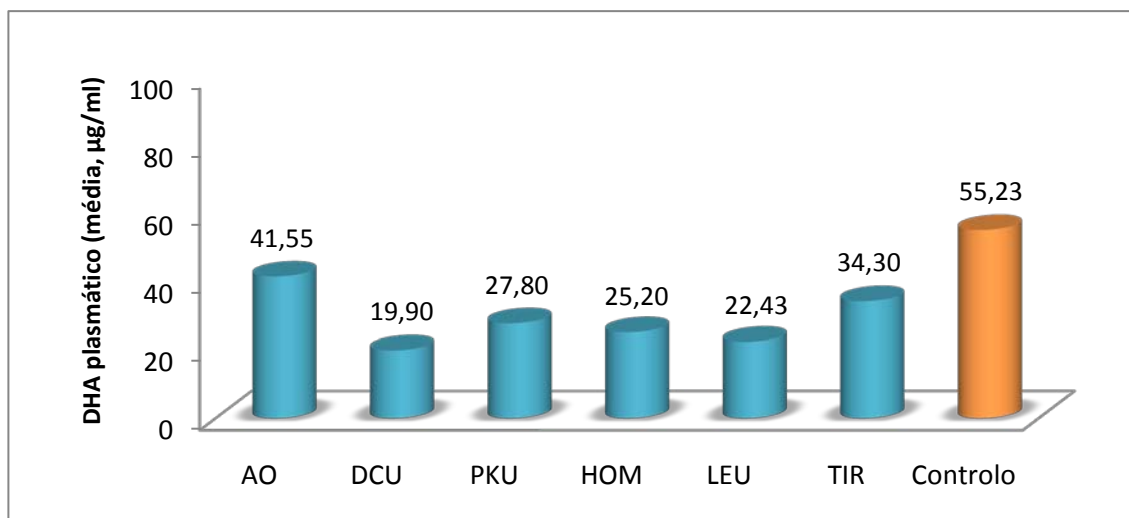


Gráfico 5. Valor médio de DHA plasmático por patologia em T₀ (µg/ml).

(AO - acidúria orgânica; DCU - doenças do ciclo da ureia; PKU - fenilcetonúria; HOM - homocistinúria; LEU - leucínose; TIR - tirosinémia)

Analisando os valores médios apresentados por cada patologia em T₀ relativamente ao grupo controlo, encontraram-se diferenças estatisticamente significativas em relação às doenças do ciclo da ureia ($p = 0,032$), PKU ($p = 0,001$) e à leucínose ($p = 0,015$).

Entre T₁ e T₂ verificou-se uma ligeira diminuição geral da concentração de DHA plasmático para valores intermédios dos apresentados em T₀ e T₁ e próximos do valor médio do grupo controlo. Em ambos os momentos, as diferenças encontradas entre os diferentes grupos de doenças mantiveram-se sem significado estatístico. No entanto, quando é efectuada a comparação entre cada doença e o grupo controlo, verificaram-se diferenças estatisticamente significativas apenas em T₁ e no caso das acidúrias orgânicas ($p = 0,000$) e da PKU ($p = 0,029$) (gráfico 6, 7 e 8).

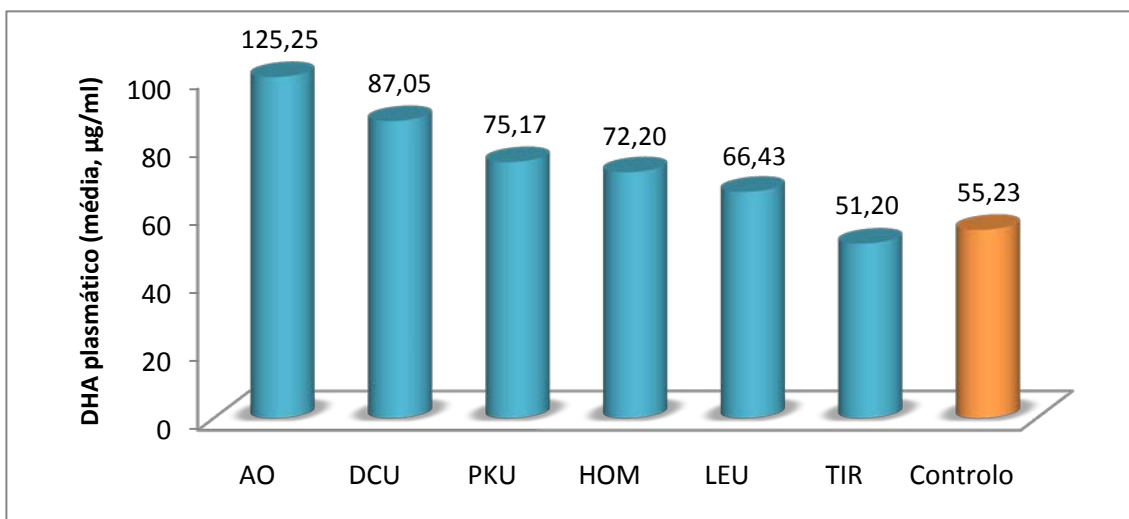


Gráfico 6. Valor médio de DHA plasmático por patologia em T₁ (µg/ml).

(AO - acidúria orgânica; DCU - doenças do ciclo da ureia; PKU - fenilcetonúria;
HOM - homocistinúria; LEU - leucínose; TIR - tirosinémia)

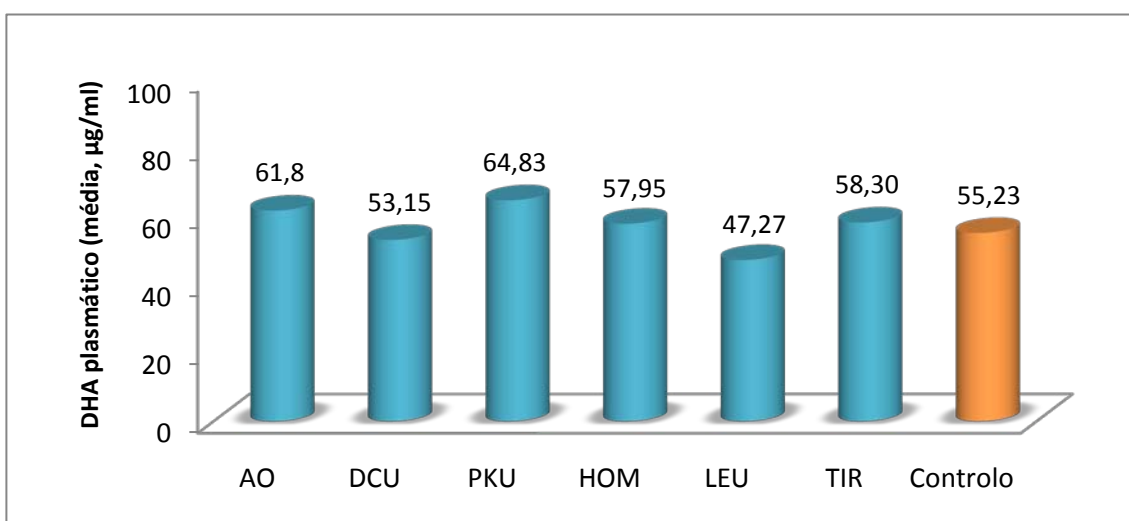


Gráfico 7. Valor médio de DHA plasmático por patologia em T₂ (µg/ml).

(AO - acidúria orgânica; DCU - doenças do ciclo da ureia; PKU - fenilcetonúria;
HOM - homocistinúria; LEU - leucínose; TIR - tirosinémia)

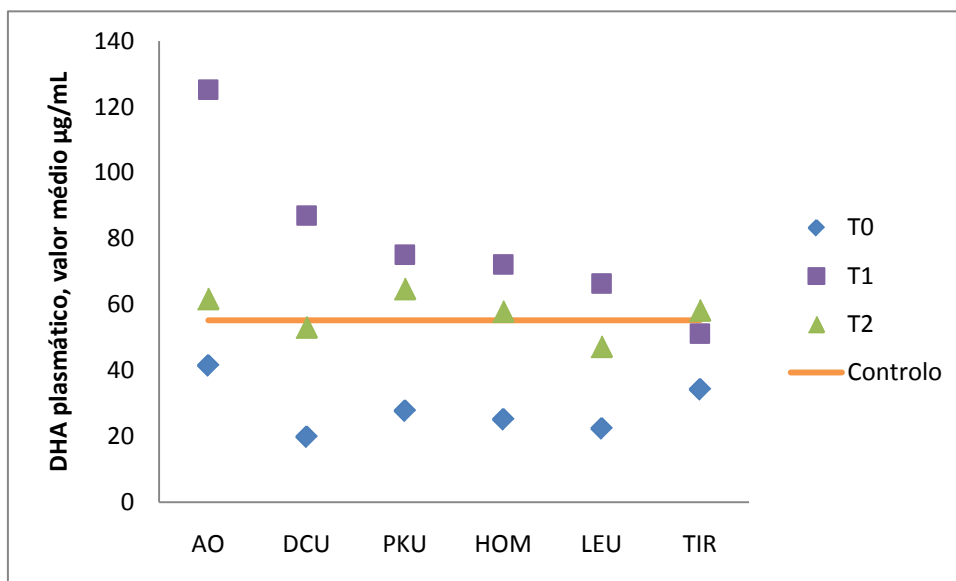


Gráfico 8. Concentração de DHA plasmático por patologia em T₀, T₁ e T₂ (resumo)

(AO - acidúria orgânica; DCU - doenças do ciclo da ureia; PKU - fenilcetonúria; HOM - homocistinúria; LEU - leucínose; TIR - tirosinémia)

Em T₀, comparando os níveis de DHA plasmático por sexo dos doentes, verificou-se que existe uma ligeira tendência para valores superiores no sexo masculino (31,98 µg/ml), no entanto, sem significado estatístico (Gráfico 9).

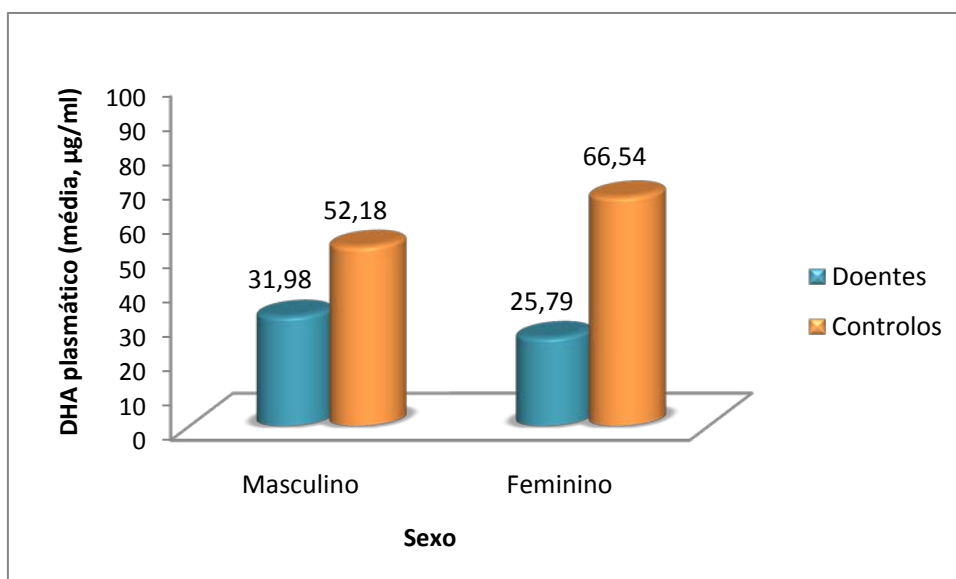


Gráfico 9. DHA plasmático por sexo em T₀ (valor médio, µg/ml)

Entre T_0 e T_2 verificou-se um aumento dos níveis de DHA com significado estatístico tanto no sexo masculino ($p=0,006$) como no feminino ($p=0,000$). Contrariamente ao que acontecia em T_0 , em T_1 e T_2 , o sexo feminino apresentou uma média de DHA plasmático superior em relação ao sexo masculino (83,29 e 59,81 $\mu\text{g/ml}$, respectivamente), diferença sem significado estatístico (Gráfico 10 e 11).

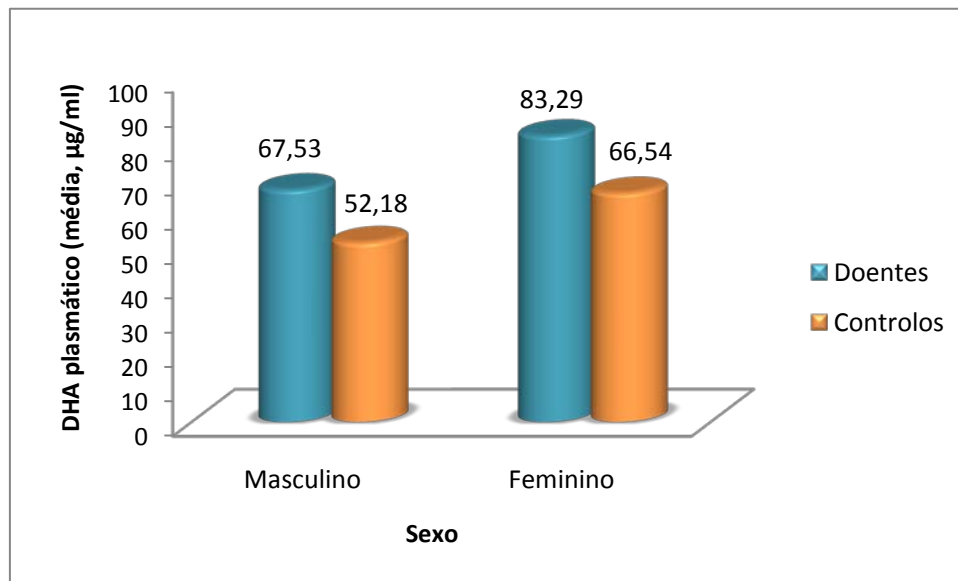


Gráfico 10. DHA plasmático por sexo em T_1 (valor médio, $\mu\text{g/ml}$)

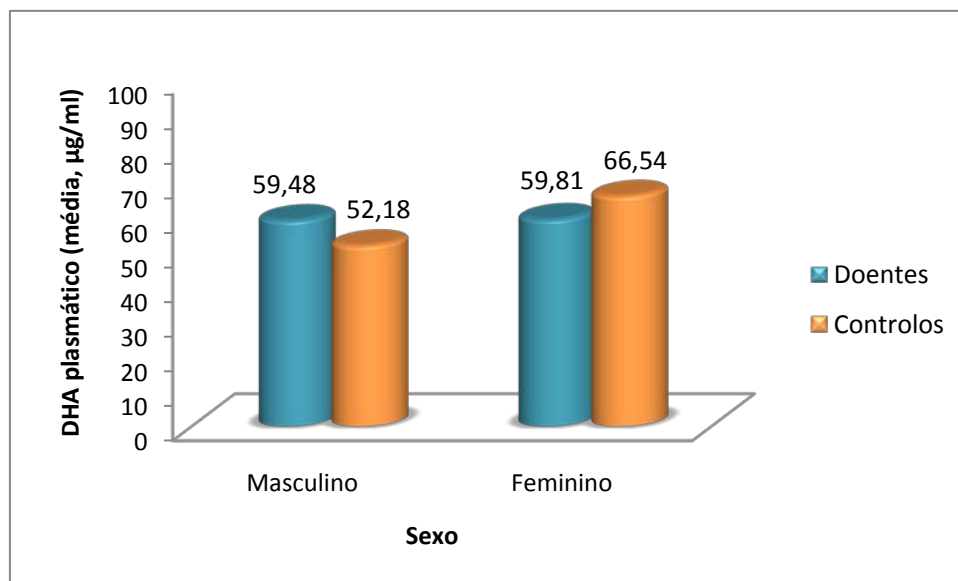


Gráfico 11. DHA plasmático por sexo em T_2 (valor médio, $\mu\text{g/ml}$)

Verificou-se não existir correlação significativa entre os níveis de DHA e o peso dos doentes ou a sua idade.

Quantificação de lípidos plasmáticos

No que respeita ao perfil lipídico observado em T₀, os valores médios de todos os parâmetros analisados encontravam-se dentro dos valores de referência previamente estabelecidos (Tabela 4).

No entanto, detectaram-se ligeiras alterações entre os níveis de colesterol plasmático total em T₀ e T₁ (aumento), entre T₁ e T₂ (diminuição) e entre T₀ e T₂ (aumento). A fracção HDL aumentou entre T₀ e T₂. Todas estas diferenças não foram estatisticamente significativas. Entre T₁ e T₂, ocorreu diminuição da fracção LDL com significado estatístico (p = 0,044).

Encontrou-se ainda uma diminuição estatisticamente significativa na determinação de triglicerídeos plasmáticos entre T₀ e T₁ (p = 0,025), seguida de um ligeiro aumento mas sem significado estatístico entre T₁ e T₂. Entre T₀ e T₂, a descida de concentração de triglicerídeos plasmáticos não demonstrou significado estatístico (Tabela 4).

	T ₀	T ₁	T ₂	Valores de referência
	Valor médio (desvio padrão)			
Colesterol Total ⁿ⁼¹³ (mmol/L)	3,95 (0,76)	4,03 (0,68)	3,98 (0,51)	2,80 - 5,20
Colesterol LDL ⁿ⁼⁷ (mmol/L)	2,90 (0,61)	2,84 (0,45)	2,53 (0,45)	2,60 - 4,90
Colesterol HDL ⁿ⁼⁹ (mmol/L)	0,96 (0,12)	0,98 (0,13)	1,02 (0,18)	0,90 - 1,55
Triglicerídeos ⁿ⁼¹³ (mmol/L)	1,37 (0,74)	0,99 (0,52)	1,17 (0,68)	0,17 - 1,70

Tabela 4. Perfil lipídico plasmático dos doentes e respectivos valores de referência.

DISCUSSÃO

Análise crítica da amostra

As doenças hereditárias do metabolismo são consideradas doenças raras devido à sua baixa incidência. A dificuldade em reunir um número razoável de indivíduos afectados em cada centro de tratamento torna os estudos com estas patologias limitados do ponto de vista epidemiológico. Inevitavelmente, esta situação pode ter contribuído para que algumas das diferenças encontradas em alguns parâmetros avaliados ao longo do estudo não tenham apresentado significado estatístico. Note-se ainda que, considerando igualmente a baixa incidência destas doenças e dado se tratar de um tema relativamente recente, houve alguma dificuldade na reunião de uma vasta bibliografia, o que impediu uma discussão mais alargada dos resultados.

O grupo de doentes analisado foi maioritariamente constituído por indivíduos do sexo feminino (70,00%). No entanto, como foi referido anteriormente este não parece ser um factor de confusão dos resultados.

A distribuição não uniforme dos indivíduos por sexo (grupo de doentes vs grupo controlo) pode do mesmo modo ter influenciado negativamente os resultados analíticos deste estudo. No entanto, considerando as dificuldades inerentes à captação de indivíduos para constituição de grupo controlo dado tratar-se de uma análise invasiva, este grupo controlo foi mesmo assim considerado válido, já que de acordo com Metherel *et al* não parece haver diferenças estatisticamente significativas dos níveis de DHA entre indivíduos de sexos diferentes (36).

A idade média dos doentes foi de cerca de 7 anos, com variação entre os 4 meses e os 17 anos e 6 meses o que demonstra uma alta variabilidade na distribuição dos doentes pelas faixas etárias. Quando comparadas as idades médias do grupo de doentes e do grupo controlo, verificou-se que existe uma diferença sem significado estatístico ($p = 0,199$) pelo que este foi considerado um grupo controlo adequado do ponto de vista etário. Aliás, a distribuição etária em ambos os grupos é sobreponível, como pode ser verificado nos gráficos 2 e 4.

O peso médio dos doentes submetidos ao estudo foi inicialmente de $23,97 \pm 15,24$ kg sendo a mediana de 19,95 kg. Entre T_0 e T_2 , verificou-se um aumento significativo do peso ($p = 0,023$) para um valor médio de $24,62 \pm 14,48$ e mediana de 21,00 kg. Não é possível inferir do ponto de vista clínico o significado do ligeiro aumento de peso que aconteceu neste período, dado o curto espaço de tempo que não permite uma avaliação ponderal adequada. Não se identificou, no entanto, um aumento desadequado em relação às curvas de percentis habituais.

A preponderância de doentes com PKU, correspondendo a 50,00 % dos doentes estudados (gráfico 3) é justificável pela maior incidência desta patologia no universo das doenças hereditárias do catabolismo proteico (1 para 10 000 recém-nascidos) (4). Este factor poderia igualmente ter condicionado os valores médios de DHA em todo o grupo de doentes. Contudo a diferença dos níveis de DHA entre os diversos grupos de patologias não demonstrou significado estatístico em qualquer um dos momentos.

Quantificação de DHA plasmático

Os indivíduos com doenças hereditárias do catabolismo proteico estão susceptíveis ao desenvolvimento de défices nutricionais inerentes às limitações dietéticas a que estão sujeitos (1, 5). A ausência ou restrição de ingestão de alimentos considerados fonte de proteína animal como a carne, o peixe, os ovos ou o leite, condiciona fortemente o estado nutricional destes doentes (1, 5). Os PUFA, nomeadamente o DHA, constituem por esse motivo um grupo de nutrientes de reconhecido défice nestes doentes (19-24, 27, 28, 30, 34). Neste estudo, foi possível verificar que os doentes estudados são deficitários nesse AG, apresentando um valor médio em T₀ de 27,65 ± 13,69 µg/ml, significativamente mais baixos que os controlos (55,23 ± 21,84 µg/ml). Note-se que apenas 9 dos 20 doentes estudados (45,00%) apresentaram valores superiores ao valor mínimo encontrado no grupo controlo (23,60 µg/ml). As diferenças encontradas entre o grupo de doentes e o grupo controlo em T₀ foram estatisticamente significativas (p = 0,000). Pode concluir-se que neste grupo de doentes existe défice plasmático de DHA, tal como tem sido descrito relativamente às doenças hereditárias do catabolismo proteico, principalmente na PKU (19-24, 27, 28, 30, 34).

Foi possível detectar um aumento significativo nos níveis de DHA em todos os doentes com a suplementação efectuada, com níveis considerados normais após os primeiros 60 dias de suplementação (p = 0,000). Nos 60 dias seguintes, entre T₁ e T₂, foi verificada uma ligeira diminuição daqueles níveis com significado estatístico (p = 0,009), mantendo-se no entanto dentro dos valores normais. A mesma conclusão foi encontrada em outros estudos que nos conduzem a uma possibilidade terapêutica a ser implementada sistematicamente no tratamento dietético destes doentes, tal como sugerido por Agostoni *et al* e Koletzko *et al* (19-24, 27).

A tendência para estabilização ou ligeira diminuição encontrada entre T_1 e T_2 foi já previamente documentada num artigo publicado por Metherel *et al*, e poderá ser igualmente explicada por alguma resistência dos doentes à manutenção a longo prazo de novas terapêuticas (36). Este pode ser um factor limitante à implementação de suplementação nestes doentes já que se trata de patologias crónicas e com recurso a fármacos na terapia habitual. A considerar seria a suplementação nas fórmulas de misturas de aminoácidos habitualmente usadas nas patologias em causa, à semelhança do que já existe para a PKU e do que foi estudado por Agostoni *et al* e mais tarde por Koletzko *et al* (24, 27). É de notar que nos doentes com PKU incluídos neste estudo não foram usadas as referidas fórmulas enriquecidas em DHA.

A quantidade de DHA nesses suplementos é matéria de discussão e com certeza alvo de estudos posteriores que permitam determinar a quantidade mínima para que se consigam obter os níveis plasmáticos desejados de DHA, com repercussão positiva ao nível do desenvolvimento infantil. Uma limitação inerente ao intervalo de tempo em que foi feita a suplementação é o facto de no curto espaço de tempo não serem previsíveis efeitos a nível do neurodesenvolvimento, pelo que não foram investigados. Um protocolo com maior duração de suplementação poderia ter permitido conclusões de outro tipo, nomeadamente efeitos observáveis a nível cognitivo ou da motricidade fina, como demonstrado em outros estudos (21, 23).

Quando é efectuada a análise da variação da concentração plasmática de DHA por patologia, verifica-se que em T_0 não existem diferenças significativas entre as diversas doenças, tal como foi referido anteriormente. No entanto, as acidúrias orgânicas apresentaram um valor médio de 41,55 $\mu\text{g/ml}$, superior aos das restantes patologias estudadas. Esta constatação não tem aparente justificação do ponto de

vista dietético dado tratar-se de um grupo de doenças cujo tratamento não permite uma grande liberdade de ingestão proteica (5).

As doenças do ciclo da ureia são as que neste estudo se configuram com um menor valor médio de DHA plasmático - 19,9 µg/ml, valor significativamente inferior ao do grupo controlo ($p = 0,032$). Este défice é, provavelmente, causado pela extrema limitação na ingestão de produtos de origem animal inerente ao tratamento destas doenças, o que não acontece de forma tão rígida nas restantes estudadas (5).

Nos doentes com leucinose foi igualmente detectado um défice de DHA plasmático em T_0 , já que o valor médio se apresentou em $22,43 \pm 6,92$ µg/ml, também significativamente inferior ao grupo controlo ($p = 0,015$).

No caso da PKU, o valor médio de DHA plasmático encontrado em T_0 foi de $27,80 \pm 16,70$ µg/ml, significativamente inferior ao grupo controlo ($p = 0,001$). A limitação dietética e a presença de fenilpiruvato em circulação terão sido determinantes da manutenção dos níveis plasmáticos de DHA adequados, como demonstrado em outros estudos (5, 30).

Foi demonstrado em crianças com PKU que um aporte suplementar de AG polinsaturados pode prevenir o declínio dos níveis de DHA associados a uma dieta restritiva em proteínas, tal como verificado no presente estudo (19, 21-24).

O número de doentes com acidúrias orgânicas, homocistinúria ou tirosinémia tipo I pode ter impedido que se encontrasse diferenças com significado estatístico no momento T_0 em relação ao grupo controlo.

Analisando a variação dos valores médios de DHA por patologia entre T_0 e T_1 e entre T_1 e T_2 , verifica-se que houve um significativo aumento nos primeiros 60 dias, retomando para valores médios mais baixos em T_2 . Estes foram mesmo assim

significativamente superiores aos valores encontrados em T₀ (p = 0,000). O perfil de valores médios por patologias em T₂ é semelhante ao encontrado em T₀ e sobreponível ao valor médio do grupo controlo, não tendo sido encontradas diferenças estatisticamente significativas entre doentes e controlos em T₂.

A diferença detectada em T₀ entre o sexo feminino e masculino (sendo a média da concentração do DHA plasmático no sexo feminino ligeiramente inferior) não teve significado estatístico. O reduzido número de doentes do sexo masculino (n=5) poderá ter limitado as conclusões a retirar deste estudo.

Tal como constatado por Metherel et al., também neste estudo se verificou um maior aumento da concentração de DHA no sexo feminino do que no masculino, diferença sem significado estatístico, parecendo haver uma maior sensibilidade do sexo feminino à suplementação em AG (36).

Lípidos plasmáticos

Os efeitos cardioprotectores do DHA, como derivado do ácido α -linolénico são bem conhecidos (7, 18). Neste estudo detectou-se um aumento não significativo dos valores de colesterol total e da fracção HDL ao longo do estudo. Entre T₁ e T₂ verificou-se uma diminuição estatisticamente significativa da fracção LDL (p = 0,044).

Num estudo com crianças com PKU, Agostoni *et al* relataram um aumento não significativo dos valores de colesterol total e da fracção HDL, à semelhança do que foi verificado no grupo de doentes aqui analisado (22).

De notar é igualmente a diminuição estatisticamente significativa dos níveis de triglicéridos plasmáticos entre T_0 e T_1) ($p = 0,025$). Este é um dos efeitos bem conhecidos do DHA, demonstrando o interesse da suplementação com este AG no controlo dos níveis plasmáticos de triglicéridos em diversas patologias, tal como demonstrado para a acidúria metilmalónica (32). O controlo dos níveis de triglicéridos pode ser um benefício adicional da suplementação com DHA no tratamento dietético das doenças hereditárias do metabolismo que implique limitação do aporte proteico e ingestão compensatória de lípidos e hidratos de carbono de absorção rápida com consequente aumento dos triglicéridos plasmáticos.

CONCLUSÃO

Os erros inatos do metabolismo constituem um grupo de patologias raras de transmissão autosómica recessiva, cujo reconhecimento é relativamente recente. Neste grupo incluem-se as doenças do catabolismo proteico, como a PKU, os defeitos do ciclo da ureia ou as acidúrias orgânicas. O tratamento destas doenças inclui a restrição da ingestão do(s) aminoácido(s) tóxico(s), pelo que os alimentos ricos em proteínas devem ser eliminados das dietas destes pacientes. Dada a necessária restrição crónica destes alimentos, há um risco significativo de défice de ácidos gordos essenciais já que muitos deles, em especial os polinsaturados da série ómega 3 como o DHA são encontrados preferencialmente nos peixes de água fria.

Após uma longa fase em que o principal objectivo da intervenção terapêutica nestes doentes era garantir a sobrevivência sem défices neurológicos major nem atraso de crescimento grosseiro, nos últimos anos outras questões têm sido equacionadas, nomeadamente a sua qualidade de vida. Actualmente muitos conseguem alcançar a idade adulta, surgindo cada vez maior sensibilidade para os problemas decorrentes da intervenção terapêutica a longo prazo e das complicações crónicas associadas à patologia de base e até agora desconhecidas. A PKU é neste grupo, a doença mais frequente, da qual se tem um conhecimento mais antigo e na qual a intervenção dietética com restrição proteica data de há mais tempo. A grande maioria dos estudos realizados neste âmbito, ainda que escassos, foram feitos em doentes com PKU, como bem se compreende.

Neste estudo, concluiu-se que no grupo de doentes avaliados existe um evidente défice de DHA plasmático. Após suplementação com 15 miligramas por quilograma de peso por dia de DHA durante um período de 120 dias, assistiu-se à normalização dos níveis, comparativamente com o grupo controlo logo após os primeiros 60 dias, com

tendência para aproximação ao valor médio do grupo controlo na determinação efectuada no final do estudo.

É bem conhecido que estes doentes estão em risco de dislipidémia pelo tipo de dieta necessária ao seu controlo metabólico. Neste estudo verificou-se um apreciável benefício em relação aos níveis de lípidos plasmáticos, com diminuição significativa dos valores de triglicérideos durante os primeiros 60 dias do estudo.

A suplementação com DHA deve assim ser considerada como parte integrante da terapêutica habitual dos pacientes com doenças hereditárias do catabolismo proteico. Com o objectivo de otimizar o crescimento e o neurodesenvolvimento destes doentes, aquela suplementação deverá ser efectuada de forma sistemática, eventualmente inserida nas fórmulas de misturas de aminoácidos habitualmente usadas.

BIBLIOGRAFIA

1. Fernandes J, Saudubray J-M, Van Den Berghe G, Walter J. Inborn metabolic diseases: diagnosis and treatment. 4th ed. Springer, editor.; 2006.
2. El Husny AS, Fernandes-Caldato MC. Erros Inatos do Metabolismo: Revisão de Literatura. Revista Paraense de Medicina. 2006;20(2):41-5.
3. The Metabolic & Molecular Bases of Inherited Disease. 8th ed. Scriver C, Beaudet A, Sly W, Valle D, editors.: The McGraw-Hill Companies, Inc.; 2001.
4. Comissão Executiva do Diagnóstico Precoce, Centro de Genética Médica Doutor Jacinto Magalhães. Programa Nacional de Diagnóstico Precoce: relatório de actividades em 2008. Porto: Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge; 2009.
5. Clinical Paediatric Dietetics. 3rd ed. Shaw V, Lawson M, editors.: Wiley-Blackwell; 2007.
6. The Metabolic & Molecular Bases of Inherited Disease. 8th ed. Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, editors.: The McGraw-Hill Companies, Inc.; 2001.
7. Russo GL. Dietary n-6 and n-3 polyunsaturated fatty acids: from biochemistry to clinical implications in cardiovascular prevention. Biochem Pharmacol. 2009;77:937-46.
8. Innis SM. Dietary omega 3 fatty acids and the developing brain. Brain Res. 2008;1237:35-43.
9. Salem Jr N, Litman B, Kim H, Gawrisch K. Mechanisms of action of docosahexaenoic acid in the nervous system Lipids. 2001;36(9):945-59.
10. Sprecher H. Metabolism of highly unsaturated n-3 and n-6 fatty acids. Biochim Biophys Acta. 2000(1486):219-31.
11. Horrocks LA, Yeo YK. Health benefits of docosahexaenoic acid (DHA). Pharmacol Res. 1999;40(3):211-25.

12. Koletzko B, Edenhofer S, Lipowsky G, Reinhardt D. Effects of a Low Birthweight Infant Formula Containing Human Milk Levels of Docosahexaenoic and Arachidonic Acids. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 1995;21(200-208).
13. Auestad N, Scott DT, Janowsky JS, Jacobsen C, Carroll RE, Montalto MB, et al. Visual, cognitive, and language assessments at 39 months: a follow-up study of children fed formulas containing long-chain polyunsaturated fatty acids to 1 year of age. *Pediatrics.* 2003;112(3):e177-e83.
14. Eilander A, Hundscheid DC, Osendarp SJ, Transler C, Zock PL. Effects of n-3 long chain polyunsaturated fatty acid supplementation on visual and cognitive development throughout childhood: A review of human studies. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids.* 2007;76:189-203.
15. Tinoco SMB, Sichieri R, Moura AS, Santos FS, Carmo MGT. Importância dos ácidos graxos essenciais e os efeitos dos ácidos graxos trans do leite materno para o desenvolvimento fetal e neonatal. *Cad Saude Publica.* 2007;23(3):525-34.
16. Astorg P, Arnault N, Czernichow S, Noisette N, Galan P, Hercberg S. Dietary intakes and food sources of n-6 and n-3 PUFA in french adult men and women *Lipids.* 2004;39(6):527-35.
17. Kris-Etherton PM, Grieger JA, Etherton TD. Dietary reference intakes for DHA and EPA. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids.* 2009;81(2-3):99-104.
18. Sadovsky R, Kris-Etherton P. Prescription omega-3-acid ethyl esters for the treatment of very high triglycerides. *Postgrad Med.* 2009;121(4):145-53.
19. Agostoni C, Verduci E, Massetto N, Fiori L, Radaelli G, Riva E, et al. Long term effects of long chain polyunsaturated fats in hyperphenylalaninemic children. *Arch Dis Child.* 2003;88:582-3.
20. Vlaardingerbroek H, Hornstra G, de Koning TJ, Smeitink JAM, Bakker HD, de Klerk HBC, et al. Essential polyunsaturated fatty acids in plasma and erythrocytes of

children with inborn errors of amino acid metabolism. *Mol Genet Metab.* 2006;88:159-65.

21. Beblo S, Reinhardt H, Demmelmair H, Muntau AC, Koletzko B. Effect of Fish Oil Supplementation on Fatty Acid Status, Coordination, and Fine Motor Skills in Children with Phenylketonuria. *J Pediatr.* 2007;150:479-84.

22. Agostoni C, Scaglioni S, Bonvissuto M, Bruzzese MG, Giovannini M, Riva E. Biochemical effects of supplemented long-chain polyunsaturated fatty acids in hyperphenylalaninemia. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential FattyAcids.* 2001;64(2):111-5.

23. Koletzko B, Beblo S, Demmelmair H, Hanebutt FL. Omega-3 LC-PUFA Supply and Neurological Outcomes in Children With Phenylketonuria (PKU). *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2009;48:S2-S7.

24. Agostoni C, Harvie A, McCulloch DL, Demellweek C, Cockburn F, Giovannini M, et al. A randomized trial of long-chain polyunsaturated fatty acid supplementation in infants with phenylketonuria. *Dev Med Child Neurol.* 2006;48:207-12.

25. Rapoport SI, Rao JS, Igarashi M. Brain metabolism of nutritionally essential polyunsaturated fatty acids depends on both the diet and the liver. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids.* 2007;77:251-61.

26. Davis BC, Kris-Etherton PM. Achieving optimal essential fatty acid status in vegetarians: current knowledge and practical implications. *Am J Clin Nutr.* 2003;78(suppl):640S-6S.

27. Koletzko B, Sauerwald T, Demmelmair H, Herzog M, von Schenck U, Böhles H, et al. Dietary long-chain polyunsaturated fatty acid supplementation in infants with phenylketonuria: a randomized controlled trial. *J Inherit Metab Dis.* 2007;30:326-32.

28. Moseley K, Koch R, Moser AB. Lipid status and long-chain polyunsaturated fatty acid concentrations in adults and adolescents with phenylketonuria on phenylalanine-restricted diet. *J Inherit Metab Dis.* 2002;25(1):56-64.

29. Bickel H, Gerrard J, Hickmans EM. The influence of phenylalanine intake on the chemistry and behaviour of a phenyl-ketonuric child. *Acta Paediatr.* 1954;43(1):64-77.
30. Infante JP, Huszagh VA. Impaired Arachidonic and Docosahexaenoic Acid Synthesis by Phenylalanine Metabolites as Etiological Factors in the Neuropathology of Phenylketonuria. *Mol Genet Metab.* 2001(72):185-98.
31. Infante JP, Huszagh VA. Secondary carnitine deficiency and impaired docosahexaenoic acid synthesis_ a common denominator in the pathophysiology of diseases of oxidative phosphorylation and beta-oxidat. *FEBS Lett.* 2000(468):1-5.
32. Aldámiz-Echevarría L, Sanjurjo P, Elorz J, Prieto JA, Pérez C, Andrade F, et al. Effect of docosahexaenoic acid administration on plasma lipid profile and metabolic parameters of children with methylmalonic acidaemia. *J Inherit Metab Dis.* 2006;29:58-63.
33. Takemoto Y, Suzuki Y, Horibe R, Shimosawa N, Wanders RJA, Kondo N. Gas chromatography/mass spectrometry analysis of very long chain fatty acids, docosahexaenoic acid, phytanic acid and plasmalogen for the screening of peroxisomal disorders. *Brain Dev.* 2003;27:481-7.
34. Koletzko B, Beblo S, Demmelmair H, Müller-Felber W, Hanebutt FL. Does dietary DHA improve neural function in children? Observations in phenylketonuria. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids.* 2009;81(2):159-64.
35. SPSS. *Statistical Package for Social Sciences.* 15.0 ed; 2006.
36. Metherel AH, Armstrong JM, Patterson AC, Stark KD. Assessment of blood measures of n-3 polyunsaturated fatty acids with acute fish oil supplementation and washout in men and women. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids.* 2009;81(1):23-9.

ANEXOS

- I. Tabela a1. Perfil de concentração de DHA plasmático dos doentes ao longo do estudo, por patologia associada
- II. Tabela a2. Perfil lipídico plasmático dos doentes ao longo do estudo, por patologia associada
- III. Tabela a3. Perfil lipídico plasmático dos doentes ao longo do estudo, por patologia associada - cont.

Doentes	DHA (µg/ml)		
	T ₀	T ₁	T ₂
AO 1	49,40	106,40	79,80
AO 2	33,70	144,10	43,80
AO (média ± desvio padrão)	41,55 ± 11,10	125,25 ± 26,66	61,80 ± 25,46
DCU 1	28,90	123,70	84,30
DCU 2	10,90	50,40	22,00
DCU (média ± desvio padrão)	19,90 ± 12,73	87,05 ± 51,83	53,15 ± 44,05
PKU 1	9,70	17,00	42,90
PKU 2	65,00	82,90	75,60
PKU 3	26,00	129,50	93,90
PKU 4	24,40	104,10	77,20
PKU 5	19,40	39,80	71,70
PKU 6	23,40	70,80	44,70
PKU 7	21,60	96,00	90,40
PKU 8	17,90	58,10	44,10
PKU 9	50,20	76,60	71,80
PKU 10	20,40	76,90	36,00
PKU (média ± desvio padrão)	27,80 ± 16,70	75,17 ± 32,03	64,83 ± 21,11
HOM 1	21,50	54,30	24,30
HOM 2	28,90	90,10	91,60
HOM (média ± desvio padrão)	25,20 ± 5,23	72,20 ± 25,31	57,95 ± 47,59
LEU 1	29,60	100,10	48,00
LEU 2	21,90	58,20	50,00
LEU 3	15,80	41,00	43,80
LEU (média ± desvio padrão)	22,43 ± 6,92	66,43 ± 30,40	47,27 ± 3,16
TIR 1	34,30	51,20	58,30
TIR (*)	34,30	51,20	58,30

Tabela a1. Perfil de concentração de DHA plasmático dos doentes ao longo do estudo, por patologia associada (n.d. - não determinado; * n=1)

(AO - acidúria orgânica; DCU - doenças do ciclo da ureia; PKU - fenilcetonúria;

HOM -homocistinúria; LEU - leucínose; TIR - tirosinémia)

Doentes	Col-T (mg/dL)			LDL-c (mg/dL)			HDL-c (mg/dL)		
	T ₀	T ₁	T ₂	T ₀	T ₁	T ₂	T ₀	T ₁	T ₂
AO 1	4,80	4,40	4,60	n.d.	2,95	3,09	n.d.	1,00	1,10
AO 2	4,20	4,20	4,30	3,00	3,11	3,17	0,90	0,80	0,80
AO (média ± desvio padrão)	4,50 ± 0,42	4,30 ± 0,14	4,45 ± 0,21	3,00*	3,03 ± 0,11	3,13 ± 0,06	0,90*	0,90 ± 0,14	0,95 ± 0,21
DCU 1	n.d.	4,80	5,35	n.d.	2,85	2,94	n.d.	1,60	1,68
DCU 2	3,30	3,80	3,61	n.d.	2,27	1,86	n.d.	1,40	1,29
DCU (média ± desvio padrão)	3,30*	4,30 ± 0,71	4,48 ± 1,23	n.d.	2,56 ± 0,41	2,40 ± 0,76	n.d.	1,50 ± 0,14	1,49 ± 0,28
PKU 1	n.d.	3,50	3,70	n.d.	n.d.	2,38	n.d.	n.d.	1,20
PKU 2	n.d.	4,60	5,10	n.d.	3,52	3,81	n.d.	0,90	1,10
PKU 3	n.d.	n.d.	6,05	n.d.	n.d.	4,11	n.d.	n.d.	1,03
PKU 4	n.d.	3,50	3,30	n.d.	2,16	1,62	n.d.	1,20	0,96
PKU 5	n.d.	3,30	3,63	n.d.	1,47	1,60	n.d.	1,70	1,75
PKU 6	3,50	4,50	3,99	n.d.	3,07	2,29	0,90	1,20	1,10
PKU 7	4,60	4,10	4,56	3,10	2,81	2,60	1,20	1,00	1,05
PKU 8	3,50	3,50	3,50	2,39	2,35	2,49	0,80	1,00	0,90
PKU 9	5,50	4,10	4,10	4,15	2,93	2,50	0,90	0,90	1,23
PKU 10	3,70	4,20	3,70	2,60	2,97	2,19	0,90	1,10	1,00
PKU (média ± desvio padrão)	4,16 ± 0,88	3,92 ± 0,48	4,16 ± 0,85	3,06 ± 0,79	2,66 ± 0,64	2,56 ± 0,82	0,94 ± 0,15	1,13 ± 0,26	1,13 ± 0,24
HOM 1	3,60	3,10	3,01	2,42	2,18	1,80	1,00	0,80	0,89
HOM 2	3,40	3,50	4,15	n.d.	2,31	2,52	1,10	1,00	1,34
HOM (média ± desvio padrão)	3,50 ± 0,14	3,30 ± 0,28	3,58 ± 0,81	2,42*	2,25 ± 0,09	2,16 ± 0,51	1,05 ± 0,07	0,90 ± 0,14	1,12 ± 0,32
LEU 1	4,80	5,80	4,77	2,64	3,50	2,93	n.d.	2,20	1,60
LEU 2	n.d.	3,30	3,40	n.d.	2,12	2,39	n.d.	1,00	0,80
LEU 3	2,90	3,40	3,48	n.d.	2,20	2,07	n.d.	1,10	1,04
LEU (média ± desvio padrão)	3,85 ± 1,34	4,17 ± 1,42	3,88 ± 0,77	2,60*	2,61 ± 0,78	2,46 ± 0,44	n.d.	1,43 ± 0,67	1,15 ± 0,41
TIR 1	3,60	3,80	4,01	n.d.	2,69	2,24	0,90	1,00	0,90
TIR (*)	3,60	3,80	4,00	n.d.	2,70	2,20	0,90	1,00	0,90

Tabela a2. Perfil lipídico plasmático dos doentes ao longo do estudo, por patologia associada (n.d. - não determinado; * n=1)

(AO - acidúria orgânica; DCU - doenças do ciclo da ureia; PKU - fenilcetonúria; HOM - homocistinúria; LEU - leucínose; TIR - tirosinémia)

Doentes	TG (mg/dL)		
	T ₀	T ₁	T ₂
AO 1	2,06	2,25	2,05
AO 2	1,52	1,46	1,63
AO (média ± desvio padrão)	1,79 ± 0,38	1,86 ± 0,56	1,84 ± 0,30
DCU 1	n.d.	1,73	1,59
DCU 2	0,57	0,66	0,99
DCU (média ± desvio padrão)	0,57*	1,20 ± 0,76	1,29 ± 0,42
PKU 1	n.d.	n.d.	0,61
PKU 2	n.d.	0,91	0,94
PKU 3	n.d.	n.d.	1,98
PKU 4	n.d.	0,68	1,57
PKU 5	n.d.	0,67	0,61
PKU 6	2,47	1,15	1,31
PKU 7	1,51	1,47	1,98
PKU 8	1,53	0,77	0,57
PKU 9	2,27	1,33	0,81
PKU 10	0,98	0,64	2,55
PKU (média ± desvio padrão)	1,75 ± 0,61	0,95 ± 0,32	1,29 ± 0,70
HOM 1	0,89	0,62	0,69
HOM 2	2,32	0,97	0,64
HOM (média ± desvio padrão)	1,61 ± 1,01	0,80 ± 0,25	0,67 ± 0,04
LEU 1	0,31	0,49	0,52
LEU 2	n.d.	0,89	1,04
LEU 3	0,80	0,49	0,80
LEU (média ± desvio padrão)	0,56 ± 0,35	0,62 ± 0,23	0,79 ± 0,26
TIR 1	0,58	0,54	0,61
TIR (*)	0,60	0,50	0,60

Tabela a3. Perfil lipídico plasmático dos doentes ao longo do estudo, por patologia associada - cont. (n.d. - não determinado; * n=1)

(AO - acidúria orgânica; DCU - doenças do ciclo da ureia; PKU - fenilcetonúria;

HOM - homocistinúria; LEU - leucínose; TIR - tirosinémia)