

Investigação Bioquímica e Molecular na Morte Súbita do Lactente (SIDS)

M. L. Cardoso¹, J. Pinheiro², C. Pereira¹, C. Sousa¹, C. Nogueira¹, A. Tesa³, A. Ramos¹, A. Balreira¹, C. Lima¹, C. Valongo¹, D. Couto¹, D. Quelhas¹, H. Fonseca¹, H. Rocha¹, L. Almeida¹, R. Rodrigues¹, R. Santos¹, F. M. Santorelli³, L. Vilarinho¹

RESUMO

SIDS (*Sudden Infant Death Syndrome*) é a designação utilizada para definir a morte súbita do lactente, que permanece inexplicada após uma cuidadosa investigação do caso, a qual incluí a realização de autópsia, o exame do local da morte e a análise da história clínica.

Devido à rápida deterioração que provocam, as doenças metabólicas constituem potenciais causas de morte súbita, quer pelas crises que ocasionam com intoxicação e comprometimento da sobrevivência do indivíduo, quer por provocarem alterações que aumentam o risco de falência de determinados órgãos.

Objectivos: Com este trabalho pretendemos avaliar o contributo relativo das doenças metabólicas e dos défices energéticos nas situações de morte súbita e inexplicada do lactente, na população portuguesa.

Pacientes e Métodos: Foram disponibilizadas para investigação amostras biológicas congeladas de 51 lactentes cuja causa de morte era desconhecida. Os produtos foram colhidos durante a autópsia e incluíram: soro, urina, humor vítreo, músculo e fígado. Nos fluidos biológicos fez-se o estudo dos aminoácidos e dos ácidos orgânicos e nos tecidos sólidos o doseamento da actividade dos vários complexos da cadeia respiratória mitocondrial e do teor em glicogénio. Foi ainda efectuada a extracção de DNA total a partir dos tecidos sólidos acima referidos o qual foi utilizado para estudos moleculares.

Resultados: Foi possível identificar através dos estudos moleculares um caso de intolerância hereditária à frutose -HFI (homozigotia para a mutação A149P no gene ALDOB). Nos estudos bioquímicos foi encontrado um caso positivo de *very long-chain acyl-CoA dehydrogenase* - VLCAD e na maioria das determinações efectuadas, desvios em relação aos controlos normais inerentes ao catabolismo e aos processos de cadaverização, sendo de salientar: valores muito elevados dos aminoácidos séricos e a presença sistemática de grande quantidade de ácido láctico na urina.

Conclusões: Nas doenças metabólicas o risco de recorrência existe e a identificação de um caso classificado como SIDS, como sendo na realidade um erro inato do metabolismo, é importante para a família, quer em termos de instituição de tratamento adequado e adopção de medidas preventivas, quer em termos de aconselhamento genético.

Palavras-Chave: SIDS, doenças metabólicas, LCHAD, MCAD, doenças da cadeia respiratória mitocondrial.

Nascer e Crescer 2004; 13 (3): 195-200

INTRODUÇÃO

O Síndrome da morte súbita do lactente (SMSL), *Sudden Infant Death Syndrome* (SIDS) é diagnosticado quando um lactente morre inesperadamente e após exame do local da morte, avaliação da história clínica e realização de uma autópsia completa, permanece sem explicação⁽¹⁾.

Epidemiologicamente importante nos países desenvolvidos onde se tornou um problema de saúde pública pelo facto

de constituir uma das principais causas de morte infantil do primeiro ano de vida, esteve praticamente ignorado antes da revolução industrial, devido às degradadas condições da época e à elevadíssima mortalidade infantil⁽²⁾. Apesar de a morte súbita não ser um apanágio do lactente, já que a morte inesperada e brutal de um indivíduo aparentemente saudável pode surgir em qualquer idade, no lactente coloca um problema específico dadas as alterações que ocorrem neste período de vida: nos ciclos de vigília e de sono, alimentação, relações psico-afectivas com o ambiente, mecanismos de defesa contra a infecção e múltiplas outras funções que regulam a homeostase do organismo.

Com toda esta envolvimento, ao longo do século XX foram sendo propostas e investigadas várias causas possíveis de SIDS incluindo as de natureza tóxica⁽³⁾, infecciosa⁽⁴⁾, imunológica, refluxo⁽⁵⁾, stress oxidativo⁽⁶⁾, alterações do sono⁽⁷⁾ e mais recentemente alterações da condução a nível cardíaco⁽⁸⁾. Apesar de todas elas terem contribuído para o esclarecimento da causa de morte de alguns casos pontuais, todas falharam como responsáveis maioritários pelo evento não tendo sido possível estabelecer uma causa única ou principal para o síndrome. Actualmente pensa-se que existirão vários factores predisponentes⁽⁹⁾, alguns dos quais se manifestam ainda na vida intra-uterina, e outros mais tardiamente, os quais interagem entre si conduzindo a uma morte súbita precoce. Em 1994 foi proposto o denominado modelo do "triplo-risco", segundo o qual factores congénitos ou adquiridos interagem com factores ambientais desencadeantes, num período crítico do desenvolvimento do

¹ Unidade de Biologia Clínica - Instituto de Genética Médica Jacinto Magalhães - Porto

² Instituto de Medicina Legal - Faculdade de Medicina de Coimbra

³ Hospital Bambino Gesù - Division Molecular - Roma

Quadro I

Amostras disponíveis e estudos bioquímicos e enzimáticos realizados

	Soro	Urina	HV	Músculo	Fígado
Número de amostras	41	9	20	32	29
Análises efectuadas: (métodos utilizados)					
Aminoácidos (cromatografia líquida)	38	4	5	-	-
Ácidos Orgânicos (GC-MS)	6	3	10	-	-
Glicogénio (Espectrofotométrico)	-	-	-	-	19
Estudo da CRM (Espectrofotométrico)	-	-	-	30	-

Legenda: HV – humor vítreo; GC-MS – cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa; CRM – cadeia respiratória mitocondrial.

lactente, no qual a maioria dos casos de SIDS ocorre⁽¹⁰⁾. Efectivamente, têm sido identificados vários factores de risco entre os quais se salientam a posição em que se deita o lactente, a partilha do leito com adultos ou outras crianças mais velhas, o sobreaquecimento, prematuridade e / ou baixo peso, mãe fumadora, ausência de cuidados pré-natais e pertencer ao sexo masculino⁽¹¹⁾. Além disso aparece uma maior incidência do síndrome nas áreas urbanas, nos meses frios, durante o sono e nos grupos socio-económicos mais desfavorecidos⁽²⁾.

É possível que este síndrome incluía numerosas condições e várias circunstâncias de morte e ainda que, certas patologias (teoricamente diferentes do SIDS) possam ser virtualmente indistinguíveis. As doenças hereditárias do metabolismo constituem potenciais causas de morte súbita, quer pelas crises que ocasionam com intoxicação e comprometimento da sobrevivência do indivíduo, quer por provocarem alterações que aumentam o risco de falência de determinados órgãos.

A primeira referência à associação entre uma doença metabólica (hiperplasia das supra-renais congénita) e a morte súbita do lactente data de 1962⁽¹²⁾, no entanto, só em meados dos anos 80 surgiram numerosos estudos dando especial atenção à associação entre erros inatos do metabolismo e SIDS^(13,14,15,16) os quais se focalizaram pre-

dominantemente nas alterações da β -oxidação mitocondrial dos ácidos gordos e mais concretamente no défice em *medium chain acyl-CoA dehydrogenase* -MCAD^(15,16). Alguns estudos da literatura sugeriam inclusivamente, que um elevado número de casos de morte súbita (15-20%) poderia ser atribuído a doenças metabólicas^(17,18), no entanto publicações mais recentes propõem números bastante inferiores^(19,20).

Neste trabalho procedemos a estudos quer retrospectivos quer prospectivos, no sentido de averiguar da importância relativa das doenças metabólicas e dos défices energéticos nas situações de SIDS e contribuir para com o esclarecimento da causa de morte em alguns dos casos.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram disponibilizadas para investigação, amostras biológicas de 51 lactentes cuja causa de morte era desconhecida. Os produtos foram colhidos durante a autópsia e incluíram: soro, urina, humor vítreo, músculo e fígado (Quadro I). Foram também analisadas amostras biológicas de quatro casos de *apparent life threatening event* - ALTE, colhidas imediatamente após a crise.

Estudos efectuados

• **Estudo bioquímico:** A cromatografia líquida de troca-iónica dos aminoá-

cidos livres, bem como a cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa (GC-MS) dos ácidos orgânicos existentes foram efectuados a todos os líquidos biológicos disponíveis⁽²¹⁾. As metodologias cromatográficas utilizadas são idênticas às normalmente disponíveis para os estudos metabólicos de rotina, dada a sua versatilidade no diagnóstico de défices da β -oxidação, acidúrias orgânicas⁽²¹⁾, aminoacidopatias e patologias do ciclo da ureia⁽²²⁾. Foi ainda efectuado o doseamento do glicogénio hepático.

• **Estudo enzimático:** Foram efectuadas as determinações espectrofotométricas das actividades enzimáticas dos complexos I, II, III, IV e II+III da cadeia respiratória mitocondrial (CRM) nas amostras de músculo e de fígado, pelos métodos utilizados no diagnóstico enzimático de défices da CRM⁽²³⁾ em doentes clinicamente pré-seleccionados.

• **Estudo molecular:** Foi efectuada a extracção do DNA genómico total dos tecidos disponíveis (pelo método clássico do fenol clorofórmio) e realizadas seguidamente várias pesquisas:

1. No **DNA nuclear** pesquisaram-se as mutações mais comuns associadas aos défices da β -oxidação mitocondrial dos ácidos gordos (MCAD - G985A e *long-chain 3-hydroxyacyl-CoA dehydrogenase* - LCHAD - G1528C), à glicogenose tipo Ia (R83C e Q347X), à intolerância hereditária à frutose - HFI (A149P) e à acidúria 3-hidroxi-3-metilglutárica (E37X) (24) (Quadro II).

2. No **DNA mitocondrial** também foram investigadas várias mutações já descritas em casos de SIDS [T8993G (25), A10044G (26) e C3303T (27)] e a mutação A3243G (28), por ser a mutação mais frequentemente detectada no mtDNA (Quadro III).

Nos casos com idade inferior a 3 meses foram ainda efectuados doseamentos de galactose total sanguínea uma vez que as galactosemias são patologias bastante frequentes na zona Centro, de onde a maioria dos casos investigados eram provenientes.

Quadro II
 Mutações pesquisadas no DNA nuclear

Patologias	Gene	Mutação	Nº de casos testados
Défice da β -oxidação dos ácidos gordos	ACADM	A985G	32
	HADHA	G1528C	32
Intolerância hereditária à frutose	ALDOB	A149P	32
Acidúria 3-hidroxi-3-metilglutárica	HL	E37X	32
Glicogenose tipo Ia	G6PC	R83C	21
		Q347X	25

Quadro III
 Mutações pesquisadas no DNA mitocondrial

Gene	Mutação	Nº de casos testados
tRNA ^{Leu}	A3243G	32
ATPase6	T8993G	32
tRNA ^{Gly}	A10044G	19
tRNA ^{Leu}	C3303T	17

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A realização deste trabalho implicou, numa primeira fase ultrapassar algumas dificuldades de natureza prática, que condicionavam a realização do estudo, nomeadamente o facto de os produtos para análise bioquímica ou enzimática deverem ser colhidos e congelados a -70°C , o mais rapidamente possível, para minorar os efeitos do catabolismo *post-mortem*, constatando-se que, nem a neve-carbónica nem o azoto líquido, necessários para o efeito, estão facilmente disponíveis nas comarcas onde grande parte das autópsias são realizadas. Outro obstáculo com o qual nos deparamos foi a inexistência de valores de referência para os parâmetros determinados, em cadáveres. A comparação dos valores encontrados nestas amostras com as tabelas de valores normais para a mesma idade só nos permitiam concluir que se tratava de indivíduos falecidos e pressupor um processo catabólico inerente à lise e morte celular. Foi portanto, necessário estudar também amostras de alguns indivíduos com causa de morte bem estabelecida (acidente) as quais foram colhidas após um intervalo de tempo variável entre a morte e a autópsia (12-40h) de modo a poder interpretar e validar

os resultados encontrados no grupo de crianças com SIDS.

Na maioria das determinações bioquímicas efectuadas foi encontrada uma grande variação nos valores, inerente ao catabolismo e aos processos de cadaverização, sendo de salientar os valores muito aumentados nos aminoácidos séricos e a presença sistemática de ácido láctico na urina.

Um dos componentes analisados foram os aminoácidos livres quer no soro quer no humor vítreo. O humor vítreo foi considerada a amostra de eleição para este estudo pois mantém a sua integridade não sendo alterado durante o catabolismo que ocorre nas primeiras horas após a morte contrariamente ao plasma/soro que rapidamente se altera devido à libertação de líquido do compartimento intracelular onde a sua concentração é muito superior. Não foi identificada nenhuma aminoacidopatia, no entanto em dois casos verificaram-se níveis muito aumentados de cistationina que nos fizeram suspeitar de um tumor ou de uma carência em vitamina B6. Na autópsia não foi possível identificar nenhuma neoplasia, pelo que a má nutrição será a explicação mais provável para este achado. Efectivamente, há várias referências na biblio-

grafia a carências alimentares⁽⁹⁾ nomeadamente ao nível das vitaminas⁽²⁹⁾ como factores que podem contribuir para a morte súbita.

Efectuamos também o estudo cromatográfico dos ácidos orgânicos num pequeno grupo de amostras ($n = 19$). Num caso foram identificados corpos cetónicos o que faz pressupor uma hipoglicemia anterior à morte e noutra (S. Pedro do Sul) o perfil dos ácidos orgânicos (Figura 1) é compatível com um défice da β -oxidação mitocondrial afectando as acil-CoA desidrogenases dos ácidos gordos de cadeia muito longa (VLCAD).

Só em 9/51 casos foi possível obtermos a amostra de urina por punção vesical, o que dificultou o estudo dos ácidos orgânicos. Esta circunstância levou-nos a implementar especialmente para esta investigação os métodos de diagnóstico de défices em MCAD e LCHAD por estudo molecular por serem duas das doenças metabólicas mais frequentemente associadas à morte súbita^(14,16,18).

Estudos efectuados num centro em *Sheffield* sugerem que a contribuição do défice em MCAD para o SIDS deverá andar na ordem de 1%⁽¹⁹⁾. Não encontramos contudo nos 32 casos testados nenhum défice em MCAD. Este resultado está em concordância com a nossa experiência no diagnóstico de doenças metabólicas que nos vem já há alguns anos a sugerir que o défice em MCAD é uma patologia bastante rara em Portugal e que comparativamente existe uma maior prevalência do défice em LCHAD no nosso país.

Outra patologia pesquisada foi a acidúria 3-hidroxi-3-metilglutárica, que cursa com hipoglicemias graves sem uma concomitante produção de corpos cetónicos, o que leva a que muitas vezes (20%) seja menosprezada ou não diagnosticada tendo por conseguinte uma evolução fatal. Em Espanha esta patologia foi diagnosticada numa criança que morreu durante o sono, sem sintomatologia prévia e sem que a autópsia revelasse sinais de infecção, lesões cardíacas ou hepáticas⁽³⁰⁾. No nosso estudo foi pesquisada a mutação E37X

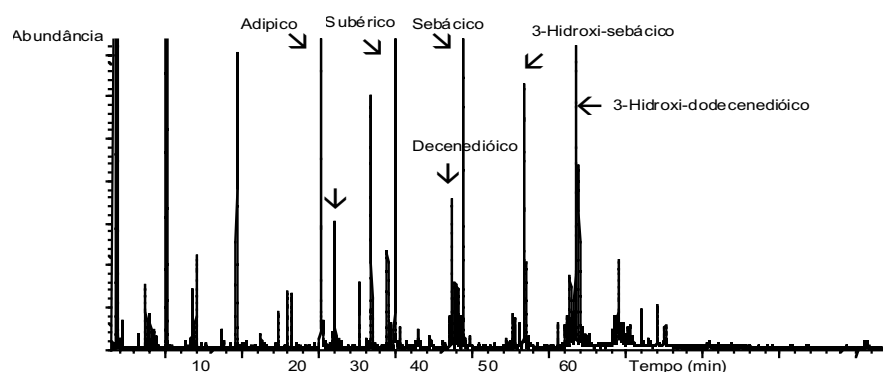


Figura 1 - Perfil cromatográfico compatível com défice da β -oxidação mitocondrial (VLCAD).

Quadro IV

Resultados positivos encontrados neste estudo

Indivíduo	Apresentação bioquímica e/ou molecular	Causa / Diagnóstico
Casos A e B	Aumento da cistationina plasmática	Possível má nutrição
Casos C	Presença dos ácidos: adípico; 2-hexenediólico; subérico; decenediólico; sebácico; 3-hidroxi sebácico; 3-hidroxi-dodecenediólico	Défice VLCAD
Casos D	Presença da mutação A149P em homozigotia no gene ALDO B	HFI
Casos E e F	Aumento da concentração de glicogénio hepático	Desidratação
Casos G	Défice parcial dos complexos I (24%) e IV (13%) da CRM	Défice do
Casos H	Défice parcial do complexo IV (26%) da CRM	metabolismo
Casos I	Défice parcial do complexo IV (31%) da CRM	energético

localizada no gene HL, que é a mutação mais frequente da população portuguesa (31), sem ter sido encontrado nenhum caso positivo.

Num dos casos de ALTE, foi possível durante a segunda crise de descompensação aguda (aos 4 meses de vida) diagnosticar uma situação de HFI. Esta foi confirmada por estudo molecular que revelou homozigotia para a mutação A149P no gene ALDOB. Nos indivíduos afectados por esta metabolopatia de natureza autossómica recessiva, a ingestão de frutose, sacarose ou sorbitol induz crises de acidose e hipoglicemia grave potencialmente fatais na ausência de tratamento rápido adequado. Normalmente as primeiras crises surgem por volta do 4º mês de vida, no início da diversificação alimentar quando da introdução das papas de fruta

na dieta do lactente, (embora possam ser antecipadas pela administração de água açucarada, ou da chupeta “doce”). Este período coincide com o grupo etário de maior risco para SIDS o que nos levou a considerar esta patologia como uma forte candidata para alguns dos casos observados. É por conseguinte, quanto a nós relevante, tentar saber junto dos pais se houve uma adaptação pacífica à fruta e às papas lácteas contendo fruta ou se pelo contrário havia uma história de rejeição, vómitos ou palidez após a ingestão destes alimentos. Na impossibilidade de pesquisar frutose na urina dos SIDS, testamos o DNA de todas as crianças para a mutação mais frequente do gene ALDOB (A149P) e não foi encontrado nenhum caso positivo. Esta abordagem é contudo insuficiente na exclusão da patologia uma vez que

existem muitas outras mutações descritas neste gene, e na nossa população já foram identificadas quatro mutações para além da A149P em doentes com HFI. No futuro o estudo molecular poderá e deverá ser mais alargado nos casos de SIDS em que a história do caso assim o justifique.

Em dois casos foram encontrados níveis anormais de glicogénio no fígado, superiores aos máximos do intervalo de valores referência determinados. Estes resultados encontram-se em concordância com a coloração histológica por PAS. Em nenhum deles a investigação molecular permitiu identificar uma glicogenose tipo I, e igualmente não foi reconhecida hepatomegalia no decorrer da autópsia. Este achado traduzirá provavelmente uma proximidade entre a última refeição e a morte, não tendo ocorrido utilização do glicogénio como fonte de glicose, e uma desidratação devida a sobreaquecimento (um dos factores associados ao SIDS), causa infecciosa, ou a uma desidratação do cadáver nas horas subsequentes à morte.

Foi ainda possível identificar três défices parciais da cadeia respiratória mitocondrial que podem ser considerados responsáveis pela morte se integrados num contexto multi-causal⁽⁹⁾. Na nossa opinião os défices da cadeia respiratória têm sido subvalorizados enquanto causa de SIDS pois grande parte das investigações têm sido dirigidas para os défices da β -oxidação⁽¹³⁾ e pouco se sabe da relação entre SIDS, défices da cadeia respiratória e mutações do mtDNA.

No quadro IV, apresenta-se de forma resumida os resultados positivos encontrados neste estudo.

CONCLUSÃO

Do estudo efectuado conclui-se que a abordagem metabólica aos casos de SIDS pode contribuir para o esclarecimento de algumas das situações diminuindo a ansiedade familiar e permitindo uma abordagem e acompanhamento clínico orientado nas gestações seguintes⁽³²⁾.

É de salientar que nas doenças metabólicas o risco de recorrência existe e que a identificação de um caso de SIDS, como sendo na realidade um erro inato do metabolismo, é importante para a família, quer em termos de instituição de tratamento adequado aos outros descendentes quer na adopção de medidas preventivas.

Este estudo permitiu também verificar a necessidade de reajustar o protocolo de investigação utilizado. Assim, a análise dos aminoácidos e acilcarnitinas, destinados ao diagnóstico de aminoacidopatias, acidúrias orgânicas e défices da β -oxidação mitocondrial dos ácidos gordos não deverá ser efectuado no sangue/soro colhidos na autópsia por se encontrarem profundamente alterados, mas sim no sangue presente na ficha de diagnóstico precoce (cartão de *Guthrie*) colhida no período neonatal para despiste da fenilcetonúria e hipotiroidismo congénito, e que é conservado durante alguns anos no IGM para eventuais estudos posteriores medicamente justificados e autorizados pelos pais. A colheita de fragmentos de órgãos nomeadamente fígado, coração, e músculo esquelético devem continuar a ser realizadas bem como a extracção de DNA para estudos posteriores que se justifiquem nomeadamente para investigação das anomalias da condução cardíaca que começam a ser apontadas como mais uma das causas que contribuem para o SIDS.

Agradecimentos

Os autores agradecem à Comissão de Fomento da Investigação em Cuidados de Saúde, que proporcionou a realização deste trabalho.

(Projecto do Ministério da Saúde Nº 89/1999).

SUDDEN INFANT DEATH SYNDROME - MOLECULAR AND BIOCHEMICAL INVESTIGATION

ABSTRACT

SIDS (*Sudden Infant Death Syndrome*) is the sudden and unexpected death of an infant which remains unexplained

after thorough case investigation, including performance of a complete autopsy, examination of death scene, and review of clinical history.

Metabolic disorders can lead to sudden death because they cause crises of intoxication and life threatening, with dysfunction of several organs, that raise the risk of general failure.

Objectives: Our main objective with this study, was to evaluate the significance of metabolic disorders and energy deficiencies in sudden infant death syndrome, in Portuguese population.

Patients and Methods: We got biological frozen samples from 51 children whose cause of death was unknown. The products were collected during autopsy and included: serum, urine, vitreous, muscle and liver. In the biological fluids samples we analysed amino acids as well as organic acids, and in referred tissues we determinate the activity of the respiratory chain complexes and the amount of glycogen. It was also possible to get total DNA from solid tissues which was used for molecular studies.

Results: Based on molecular findings, it was possible to identify one case of fructose intolerance - HFI (patient homozygous for A149P in ALDOB gene). Biochemical studies revealed one case of very long-chain acyl-CoA dehydrogenase - VLCAD deficiency. However, in the majority of the assays performed deviations from normal controls were found, due to catabolism *post-mortem* (plasmatic increase of amino acids and high excretion of lactic acid in urine).

Conclusions: In metabolic disorders the risk of recurrence exists. The misdiagnosed inherited errors of metabolism as SIDS, it is important for the family, in terms of treatment, prevention attitude and genetic counselling.

Key-words: SIDS, metabolic disorders, LCHAD, MCAD, mitochondrial respiratory chain disorders.

Nascer e Crescer 2004; 13 (3): 195-200

BIBLIOGRAFIA

- 1 - Willinger M, James L S, Catz C: Defining the sudden infant death syndrome (SIDS): deliberations of an expert panel convened by the National Institute of Child Health and Human Development. *Pediatr Pathol* 1991; 11: 677-684.
- 2 - Lobo J C: Síndrome da morte súbita do lactente. *Médico* 2000; 11: 46-47.
- 3 - Kamaras J, Murrell W G: Intestinal epithelial damage in SIDS babies and its similarity to that caused by bacterial toxins in the rabbit. *Pathology* 2001; 33(2): 197-203.
- 4 - Blackwell C C, Weir D M, Busuttill A: The need for further evidence for the proposed role of *Helicobacter pylori* in SIDS. *Arch Dis Child* 2001; 84(6): 525.
- 5 - Bradley T T: Sudden Infant Death Syndrome: Can Gastroesophageal Reflux Cause Sudden Infant Death?. *The American Journal of Medicine* 2000; 108(4A).
- 6 - Reid G M, Tervit H: Sudden infant death syndrome: oxidative stress. *Medical Hypotheses* 1999; 52(6), 577-580.
- 7 - Thach B T: Apnea and the sudden infant death syndrome. Saunders N A, Sullivan C, eds. *Sleep and Breathing (Biology of the lung series, C. Lenfant, ed)*. New York: Marcel Dekker 1994.
- 8 - Wedekind H, Smits J P, Schulze-Bahr E, et al.: De novo mutation in SCN5A gene associated with early onset of sudden infant death. *Circulation* 2001; 104 (10): 1092-3.
- 9 - Lonsdale D: Sudden infant death syndrome requires genetic predisposition, some form of stress and marginal malnutrition. *Med Hypotheses* 2001; 57(3): 382-6.
- 10 - Filiano J J, Kinney H C: A perspective on neuropathologic findings in victims of sudden infant death syndrome: the triple-risk model. *Biol Neonate* 1994; 65: 1947-1997.
- 11 - Kattwinkel J, Brooks J, Keenan M, et al.: Task Force on Infant Sleep Position and Sudden Infant Death Syndrome. *Changing Concepts of Sudden infant Death Syndrome: Implications for Infant Sleeping Environment and Sleep*

Position. *Pediatrics* 2000; 105(3): 650-656.

12 - Cleveland W W, Green O C, Wilkins L: Deaths in congenital adrenal hyperplasia. *Pediatrics* 1962; 29: 3-17.

13 - Bonham J R, Downing M: Metabolic deficiencies and SIDS. *J Clin Pathol* 1992; 45(11): 33-38.

14 - Bennett M J, Variend S, Pollitt R J: Screening siblings for inborn errors of fatty acid metabolism in families with history of sudden infant death. *Lancet* 1986; 2(8521-22):1470.

15 - Howat A J, Bennett M J, Variend S, et al.: Deficiency of medium chain fatty acylcoenzyme A dehydrogenase presenting as the sudden infant death syndrome. *Br Med J* 1984; 288(6422): 976.

16 - Roe C R, Millington D S, Maltby D A, et al.: Recognition of medium-chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency in asymptomatic siblings of children dying of sudden infant death or Reye-like syndromes. *J Pediatr* 1986; 108:13-18.

17 - Vawter G F, Mc Graw C A, Hug G, et al.: An hepatic metabolic profile in sudden infant death (SIDS). *Forensic Sci Int* 1986; 30 (2-3): 93-98.

18 - Harpey J P, Charpentier C, Paturneau-Jouas M: Sudden infant death syndrome and inherited disorders of fatty acid β -oxydation. *Biol Neonate* 1990; review 58 Suppl 1: 70-80.

19 - Penzien J M, Molz G, Wiesmann U N, et al.: Medium-chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency does not correlate with apparent life-threatening

events and sudden infant death syndrome: results from phenylpropionate loading tests and DNA analysis. *Eur J Pediatr* 1994; 153(5): 352-7.

20 - Arens R, Gozal D, Jain K, et al.: Prevalence of medium-chain acyl-coenzyme A dehydrogenase deficiency in sudden infant death syndrome. *J Pediatr* 1993; 122 (5Pt1): 715-718.

21 - Cardoso M L, Vilarinho L, Ramos A, et al.: Acidúrias orgânicas. *Rev. Port. Ped.* 1994; 25: 341-345.

22 - Brusilow S W, Maestri N E: Urea Cycle Disorders: Diagnosis, Pathology and Therapy. *Advances in Pediatrics* 1996; 43: 127-170.

23 - Vilarinho L, Cardoso M L, Coelho T, et al.: Estudo das citopatias mitocondriais - Parte I. *Arq. Med.* 1997; 11: 2:75-81.

24 - Pié J, Casals N, Casale C H, et al.: A nonsense mutation in the 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA lyase gene produces exon skipping in two patients of different origin with 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA lyase deficiency. *Biochem J* 1997; 323: 329-335.

25 - Pastores G M, Santorelli F M, Shanske S, et al.: Leigh syndrome and hypertrophic cardiomyopathy in an infant with a mitochondrial DNA point mutation (T8993G). *Am J Med Genet* 1994; 50: 265-271.

26 - Silvestri G, Santorelli F M, Shanske S, et al.: A new mtDNA mutation in the tRNA Leu^(UUR) gene associated with maternally inherited cardiomyopathy. *Hum Mutat* 1994; 3: 37-43.

27 - Santorelli F M, Schlessel J S, Slonim A, et al.: A novel mutation in mitochondrial DNA tRNA glycine gene associated with sudden unexpected death. *Ped Neurol* 1996; 15: 145-149.

28 - Vilarinho L, Cardoso M L, Coelho T, et al.: Estudo das citopatias mitocondriais-Parte II. *Arq. Med.* 1997; 11(3): 160-166.

29 - Jeffrey H E, McCleary B V, Hensley W J, et al.: Thiamine deficiency – a neglected problem of infants and mothers – possible relationships to sudden infant death syndrome. *Aust NZ J Obstet Gynaecol* 1985; 25(3): 198-202.

30 - Ribes A, Briones P, Vilaseca M A, et al.: Sudden death in an infant with 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA lyase deficiency. *J Inher Metab Dis* 1990; 13: 752-753.

31 - Cardoso M L, Rodrigues R, Leão E, et al.: The E37X is a common HMGCL mutation in Portuguese patients with 3-hydroxy-3-methylglutaric CoA lyase deficiency. *Molecular Genetics and Metabolism* 2004; 82: 334-8.

32 - Bennett M J, Rinaldo P: The metabolic autopsy comes of age. *Clin Chem* 2001; 47(7): 1145-6.

Correspondência:

Doutora Laura Vilarinho
Instituto de Genética Médica Jacinto de Magalhães
Praça Pedro Nunes, 88
4099-028 Porto
Tel: 22 6070306 Fax: 22 6070399
email: laura.vilarinho@igm.min-saude.pt