

**Universidade Federal do Rio Grande do Sul  
Faculdade de Medicina  
Programa de Pós Graduação em Ciências Médicas- Pediatria**

**Mucopolissacaridose tipo VI: Um Estudo Clínico e  
Radiológico Visando a Identificação de Fatores  
Associados à Gravidade da Doença**

**ANA CECÍLIA MEDEIROS MANO AZEVEDO**

**TESE DE DOUTORADO**

**Porto Alegre, Brasil, 2007**

**Universidade Federal do Rio Grande do Sul  
Faculdade de Medicina  
Programa de Pós Graduação em Ciências Médicas- Pediatria**

**Mucopolissacaridose tipo VI: Um estudo Clínico e  
Radiológico Visando a Identificação de Fatores  
Associados à Gravidade da Doença**

**ANA CECÍLIA MEDEIROS MANO AZEVEDO**

**Orientador: Roberto Giugliani**

**Co-orientador: Ida Vanessa D. Schwartz**

**A apresentação desta tese é exigência do Programa de Pós-Graduação em  
Ciências Médicas: Pediatria, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul,  
para obtenção do título de Doutor**

**Porto Alegre, Brasil, 2007**

## **Agradecimentos**

Ao professor Roberto Giugliani, orientador deste trabalho, pela confiança em mim depositada e pela orientação clara e objetiva.

À amiga Ida Schwartz, minha co-orientadora, pela sua orientação, apoio e companheirismo e especialmente paciência.

Aos médicos e profissionais da área da saúde que colaboraram diretamente com a execução deste trabalho: Maira Burin, Sandra Segal, Leonardo Vedolin, Adriana Pacheco Pires, Luis Alberto Todeschini, Fábio Maeda, Márcia Konlós.

Aos colegas do Serviço de Genética Médica, especialmente às da Sala de Apoio e Pesquisa Clínica, pelo convívio alegre e amizade.

Aos pacientes e seus familiares pela colaboração.

Ao FIPE-HCPA, CAPES, CNPQ e Rede MPS Brasil pelo financiamento e apoio logístico deste trabalho.

À minha família e amigos pelo incentivo e apoio, especialmente ao meu marido, Eduardo, pela amizade, amor e paciência, e aos meus filhos, Daniel (5 anos) e André (2 anos) por terem me garantido mais sanidade mental e menos tempo de trabalho com muita felicidade e produtividade.

## Sumário

Lista de Abreviaturas.....	6
Lista de Figuras.....	7
Lista de Quadros.....	8
Resumo.....	9
Summary.....	11
1- Introdução.....	13
2- Revisão da Literatura.....	15
Erros Inatos do Metabolismo.....	15
Doenças Lisossômicas.....	15
Mucopolissacaridoses.....	16
Mucopolissacaridose tipo VI – Síndrome de Maroteaux-Lamy.....	19
Histórico e Patogenia.....	19
Epidemiologia.....	20
Diagnóstico.....	21
Aspectos Genéticos e Moleculares.....	22
Manifestações Clínicas.....	24
<u>Aspectos Gerais:</u> .....	24
<u>Classificação Clínica:</u> .....	24
<u>Crescimento e Desenvolvimento</u> .....	27
<u>Manifestações Oculares</u> .....	28
<u>Manifestações Otológicas</u> .....	29
<u>Manifestações Em Cavidade Oral</u> .....	29
<u>Manifestações Respiratórias</u> .....	30
<u>Manifestações Cardiovasculares</u> .....	31
<u>Manifestações Ósteo-Articulares:</u> .....	31
<u>Manifestações Neurológicas</u> .....	33
<u>Manifestações Digestivas / Abdominais</u> .....	34
<u>Manifestações em Pele / Tecido Conjuntivo</u> .....	35
<u>Manifestações Hematológicas / Celulares</u> .....	35

Tratamento.....	36
<u>Manejo Geral</u> .....	36
<u>Transplante De Células Hematopoiéticas</u> .....	37
<u>Terapia de Reposição Enzimática</u> .....	39
<u>Terapia Gênica</u> .....	41
3- Objetivos.....	42
4- Métodos.....	43
Anamnese.....	43
Exame físico.....	43
Testagem de Quociente de Inteligência (QI).....	44
Raio X de mãos e coluna lombo-sacra.....	44
Ressonância Magnética (RM) de encéfalo.....	47
Dosagem de GAGs urinários.....	47
Referências.....	49
5- Considerações Finais.....	59
ANEXO I: TERMO DE CONSENTIMENTO INFORMADO.....	61
ANEXO II: FICHA CLÍNICA.....	67
ANEXO III: AVALIAÇÃO RADIOLÓGICA.....	70
ANEXO IV: AVALIAÇÃO POR RESSONÂNCIA MAGNÉTICA.....	72

## Lista de Abreviaturas

AH. Ácido Hialurônico  
ARSB. Arilsulfatase B, N-acetilgalactosamina-4-sulfatase  
CLN. Carga lesional de substância branca normalizada  
DL. Doenças Lisosômicas  
EIM. Erros Inatos do Metabolismo  
GAG. Glicosaminoglicanos  
MPS. Mucopolissacaridoses  
MPS I. Mucopolissacaridose tipo I  
MPS VI. Mucopolissacaridose tipo VI  
QI. Quociente de inteligência  
RHASB. Arilsulfatase B recombinante  
RM. Ressonância Magnética  
SC. Sulfato de Condroitin  
SD. Sulfato de Dermatan  
SH. Sulfato de Heparan  
SQ. Sulfato de Queratan  
TRE. Terapia de Reposição Enzimática  
VCN. Volume cerebral normalizado  
VLCRN. Volume de líquido céfalo-raquidiano normalizado  
VVN. Volume ventricular normalizado  
WAIS-III. Wechsler Adult Intelligence Scale  
WISC III. Wechsler Intelligence Scale for Children  
WPPSI. Wechsler Preschool and Primary Scale of Intelligence,

## Lista de Figuras

- Figura 1: Paciente com MPS VI aos 10 meses, 2 anos, 7 anos, 12 anos e 16 anos  
(em Terapia de Reposição Enzimática desde os 13 anos). ..... 26
- Figura 2: Irmãos com MPS VI. Na foto à esquerda aos 10 e 8 anos respectivamente  
e na foto à direita com 13 e 11 anos, respectivamente. .... 26
- Figura 3: Medida da angulação rádio-ulnar em RX de membro superior esquerdo  
de pacientes com MPS VI (12 anos)..... 46
- Figura 4: Medida da angulação da giba lombar em RX de coluna lombar de  
paciente com MPS VI (12 anos)..... 46

## **Lista de Quadros**

Quadro 1: Classificação das Mucopolissacaridoses (modificado de NEUFELD & MUENZER, 2001) .....	19
Quadro 2: Incidência de MPS VI por população e referência (ordem decrescente por ano de publicação).....	20



## Resumo

A Mucopolissacaridose tipo VI é uma doença genética rara caracterizada pela deficiência da atividade da enzima n-acetilgalactosamina-4-sulfatase ocasionando um acúmulo dos glicosaminoglicanos sulfato e dermatan e de condroitin em diversos órgãos e tecidos. O diagnóstico é feito a partir da excreção aumentada de sulfato de dermatan na urina e da demonstração da atividade reduzida da enzima citada. Há basicamente duas formas clínicas, mais grave e menos grave, mas não há um consenso na literatura em como classificar as formas clínicas, o que seria útil para definições sobre o manejo do paciente, assim como para monitorização de tratamento. O objetivo deste trabalho é identificar fatores associados à gravidade da Mucopolissacaridose tipo VI e, secundariamente, caracterizar o envolvimento do sistema nervoso central e alterações radiológicas em mãos e coluna lombar desses indivíduos.

Foram incluídos 25 pacientes com diagnóstico confirmado de Mucopolissacaridose tipo VI que realizaram avaliação clínica, física, testagem de quociente de inteligência, ressonância magnética de cérebro, RX de mãos e coluna lombar e dosagem de glicosaminoglicanos urinários. Foram estudadas as seguintes variáveis: idade, idade de início dos sintomas, idade de diagnóstico bioquímico, consangüinidade, primeiros sintomas, peso e déficit de peso, altura e déficit de altura, QI total, potencial cognitivo, presença de atrofia cerebral, presença de megacisterna magna, presença de espaços perivasculares dilatados, hidrocefalia, lesão de substância branca, volume cerebral, volume ventricular, volume de líquido, tamanho de metacarpos, tamanho de vértebras lombares, alterações em vértebras lombares, giba lombar, ângulo radio-ulnar e dosagem de glicosaminoglicanos urinários.

Os 25 pacientes eram oriundos de 20 famílias, das quais 4 (20%) eram consangüíneas. No momento da avaliação, a média de idade foi de  $10,6 \pm 4,5$  anos, com mediana de idade de início de sintomas de 0,5 anos sendo que o primeiro sintoma mais citado foi giba lombar. A média de idade ao diagnóstico foi de  $4,8 \pm 3$  anos. Os pacientes apresentaram uma média de déficit de peso de

39,5±18,4% e de déficit de altura de 27,5±9,7%. A média de QI total da amostra foi de 75,3 ± 16,7, sendo que 31,2% da amostra apresentam retardo mental (QI total <70). Todos os pacientes que fizeram ressonância magnética de cérebro (n=21/25) apresentavam exame alterado, sendo a alteração mais freqüente a lesão de substância branca (n=21/21). Todos os pacientes que fizeram RX de mãos e coluna lombar (n=24/25) apresentaram exame alterado, sendo as principais alterações o encurtamento de metacarpos (n=24/24) e a presença de aumento da concavidade posterior dos corpos vertebrais (n=24/24). A giba lombar esteve presente em 16/24 (66%) pacientes e o aumento da angulação rádio-ulnar em 17/23 (74%) pacientes. A média dos níveis de glicosaminoglicanos urinários foi de 343,5 ± 200,1 µg/mg de creatinina. Encontramos correlação positiva entre idade e: idade de aparecimento dos sintomas, déficit de peso, déficit de altura, volume cerebral normalizado e lesão de substância branca normalizada. Não houve correlação entre excreção de glicosaminoglicanos na urina e as demais variáveis, nem diferença entre as variáveis considerando os grupos com (n=10/25) e sem (n=15/25) Terapia de Reposição Enzimática.

A partir dos nossos dados concluímos que esta é uma amostra de pacientes possivelmente com a forma mais grave da doença já que tem idade precoce de aparecimento dos sintomas, elevada excreção de glicosaminoglicanos na urina e alta freqüência de alterações relacionadas com formas graves (encurtamento de metacarpos, giba lombar). É possível que devido a este motivo e pelo tamanho da amostra, não tenha sido encontrada correlação das variáveis estudadas com os níveis de glicosaminoglicanos na urina. Apesar disto, acreditamos que, para a construção de um possível escore de gravidade, esta variável deva ser considerada, assim como os déficits de altura e peso, idade de início, idade, se possível a realização de ressonância magnética, considerar também o volume cerebral normalizado e a lesão de substância branca normalizada.

## Summary

Mucopolysaccharidosis type VI is a rare genetic disease characterized by the deficiency of the activity of the n-acetylgalactosamine-4-sulfatase enzyme causing an accumulation of glycosaminoglycans as well as of dermatan and chondroitin sulfate in several organs and tissues. Diagnosis is established based both on the increased excretion of dermatan sulfate in the urine and on the decreased enzyme activity. There are essentially two clinical forms: the most severe and the less severe form; however, there is no consensus in the literature as to how to classify clinical forms, which would be useful to define patient management and to monitor treatment. The main objectives of the present work were to identify factors associated to the severity of Mucopolysaccharidosis (MPS) type VI and to characterize the involvement of central nervous system and radiological alterations in hands and lumbar spine of MPS VI patients.

Study participants were 25 patients with a confirmed diagnosis of MPS type VI who underwent a clinical and physical evaluation, as well as intelligence quotient testing, brain magnetic resonance, X-ray of hands and lumbar spine, and dosage of urinary glycosaminoglycans. The following variables were studied: age, age at onset of symptoms, age at biochemical diagnosis, consanguinity, early symptoms, weight, weight deficit, height, height deficit, total IQ, cognitive potential, presence of cerebral atrophy, presence of megacisterna magna, presence of dilated perivascular spaces, hydrocephaly, white matter lesion, cerebral volume, ventricular volume, liquor volume, size of metacarpi, size of lumbar vertebrae, alterations in lumbar vertebrae, lumbar gibbus, radius-ulnar angle, and dosage of urinary glycosaminoglycans.

The 25 patients came from 20 families; 4 (20%) of whom were consanguineous. At evaluation, mean age was  $10.6 \pm 4.5$  years, and median age of onset of symptoms was 0.5 years; the most frequent early symptom was lumbar gibbus. Mean age at diagnosis was  $4.8 \pm 3$  years. Mean weight deficit was  $39.5 \pm 18.4\%$ , and height deficit was  $27.5 \pm 9.7\%$ . Mean total IQ of the sample was

75.3 ± 16.7; 31.2% had mental retardation (total IQ <70). All the patients who underwent brain magnetic resonance (n=21/25) had altered exams, and the most frequent alteration was white matter lesion (n=21/21). All the patients who performed X-ray of hands and lumbar spine (n=24/25) had altered exams; the most frequent alterations were shortening of metacarpal (n=24/24) and the presence of increased posterior concavity of the vertebral bodies (n=24/24). Lumbar gibbus was found in 16/24 (66%) patients, and increased radius-ulnar angle was found in 17/23 (74%) patients. Mean level of urinary glycosaminoglycans was 343.5 ± 200.1 µg/mg of creatinine. Positive correlations were found between age and the following: age at onset of symptoms; weight deficit; height deficit; normalized cerebral volume and normalized white substance lesion. No correlation was found between the excretion of urine glycosaminoglycans and the remaining variables; no difference was found between variables considering groups receiving (n=10/25) or not (n=15/25) enzyme replacement therapy.

From the data collected we concluded that the present sample included patients with possibly the most severe form of the disease, who showed early age of onset of symptoms, high excretion of glycosaminoglycans in the urine, and high frequency of alterations related to the severe forms of the disease (shortening of metacarpal, lumbar gibbus). It is possible that due to the above mentioned reason and the sample size, no correlation was found between the variables studied and the levels of urinary glycosaminoglycans. Nevertheless, it is our understanding that for the construction of a possible score of severity, this variable should be considered, just as height and weight deficits, age at onset, age, and if magnetic resonance is performed, normalized cerebral volume and normalized white matter lesion.

## 1- Introdução

Este trabalho foi idealizado a partir da verificação da necessidade de uma determinação mais precisa e objetiva da gravidade da Mucopolissacaridose tipo VI (MPS VI). Acredita-se que, com critérios mais objetivos, será possível prever a evolução mais provável da doença, prevenindo ou antevendo complicações importantes e auxiliando também na escolha e monitorização do tratamento mais adequado.

Sendo a MPS VI uma doença multissistêmica, tem-se uma variedade importante de sinais e sintomas associados que poderiam ser estudados de modo a propor critérios de gravidade da doença. Dentro desta premissa, este estudo vem como uma continuação de um estudo anterior de caracterização clínica de pacientes com a mesma doença (AZEVEDO et al, 2002, AZEVEDO et al, 2004), buscando complementá-lo e melhorá-lo. Para isto foram incluídos aspectos mais objetivos de avaliação centralizando o foco investigacional dentro do objetivo proposto.

Com o advento da Terapia de Reposição Enzimática (TRE), espera-se que a evolução clínica da doença torne-se mais branda. Apesar disto, ainda não dispomos de dados suficientes para saber o quanto esta nova terapia modificará a história natural da doença, a qualidade de vida e a sobrevida dos pacientes. Sabe-se, entretanto, que algumas complicações e aspectos clínicos não são modificados com a TRE, como as alterações ósseas e neurológicas (HARMATZ et al, 2001; HARMATZ et al, 2005; HARMATZ P et al, 2006). Por isso esse trabalho deu especial ênfase a estes aspectos, sendo possível incluir tanto pacientes em tratamento, quanto aqueles sem tratamento.

As alterações ósseas e as neurológicas são importantes também por causa da grande repercussão na qualidade de vida dos indivíduos afetados. Além dos aspectos radiológicos (por meio de Raio X de mãos e coluna lombar e ressonância magnética de crânio) e neurológico (por meio da ressonância magnética de crânio e de testagem de QI), buscou-se também aspectos clínicos

(idade de início dos sintomas, de diagnóstico e antropometria) e bioquímicos (GAGs urinários) para a determinação dos fatores associados com à gravidade da doença. De acordo com a literatura publicada sobre o tema, estes aspectos seriam os mais importantes para determinar a gravidade da doença (ver Item Manifestações Clínicas- Classificação Clínica).

## **2- Revisão da Literatura**

### **Erros Inatos do Metabolismo**

O termo Erro Inato do Metabolismo (EIM) designa um conjunto de doenças decorrentes de falhas nos processos de síntese, degradação, transporte e/ou armazenamento de moléculas no organismo. O termo foi proposto por Garrod, em 1908, para caracterizar quatro situações que este cientista estudava (alcaptonúria, albinismo, pentosúria e cistinúria). Inicialmente, ele relacionou a ocorrência de alcaptonúria ao acúmulo de ácido homogentísico no organismo. Mais tarde, estudando a cistinúria, o albinismo e a pentosúria, ele sugeriu que essas doenças eram ocasionadas por um bloqueio metabólico e, reunindo suas observações com o fato de os casos ocorrerem mais freqüentemente em irmãos, filhos de pais consangüíneos, estabeleceu uma ligação entre elas com as então recém descobertas Leis de Mendel (GARROD & LOND, 1908). Desde então já se descobriu muito sobre os EIM, sabendo-se que hoje englobam aproximadamente 500 enfermidades (NEUFELD & MUENZER, 2001), representando 10% de todas as doenças genéticas (GIUGLIANI, 1998). A maioria delas é herdada de forma autossômica recessiva, havendo um grupo com herança ligada ao X e raros exemplos de EIM com herança autossômica dominante.

Os EIM têm incidência individual pequena, mas em conjunto chegam a afetar até 1:1.000 recém-nascidos (GIUGLIANI,1998). APPLGARTH (2000), no Canadá, encontraram uma incidência de 40:100.000. Na América do Sul, há poucos estudos descrevendo freqüência dos EIM, sendo a maioria deles em amostras selecionadas (pacientes de alto risco). Em dois deles, com amostras mais significativas, a freqüência encontrada foi de aproximadamente 6,5% (CHAMOLES et al, 1994; COELHO et al, 1997).

### **Doenças Lisossômicas**

As Doenças Lisossômicas (DL) são EIM que têm como característica comum a deficiência de uma proteína lisossômica envolvida em uma via de

degradação metabólica intralisossomal (MATTE, 1998). Essa falha causa um acúmulo de um substrato específico, parcialmente degradado, no interior dos lisossomos, perturbando a fisiologia normal celular (MATTE, 1998). Elas são causadas por uma ou mais mutações em cerca de 40 genes diferentes que codificam proteínas envolvidas na hidrólise e transporte de componentes celulares (WENGER et al, 2002). O defeito primário da maioria das DL é a mutação em genes que codificam uma ou mais enzimas lisossomais (BECK, 2000).

As DL compreendem um grupo de cerca de 40 doenças (CAILLAND & POENARU, 2000) que podem ser classificadas de diversas formas. Uma destas classificações leva em conta a via metabólica afetada e a natureza do substrato acumulado, podendo ser subdivididas, deste modo, em esfingolipidoses, mucopolissacaridoses e glicoproteinoses (MATTE, 1998).

As DL têm uma incidência estimada de 7-14:100.000 nascimentos, variando conforme a procedência da amostra estudada: MEIKLE et al (1999), na Austrália e POORTHUIS et al (1999), na Holanda, descrevem uma incidência de cerca de 14:100.000 nascimentos; APPLGARTH et al (2000) no Canadá, descrevem uma incidência de 7,6:100.000 nascimentos; TYLKI-SZYMANSKA et al (2001), na Polônia, descrevem uma incidência de 0,5 a 2:100.000 recém nascidos vivos. No Brasil, COELHO et al (1997), encontraram uma frequência relativa de DL de 59,8% entre pacientes com EIM.

### **Mucopolissacaridoses**

As MPS (MPS) são um grupo de DL causadas pela deficiência de uma das onze enzimas lisossomais envolvidas na degradação de glicosaminoglicanos (GAG)(CAILLAND & POENARU, 2000 e NEUFELD & MUENZER, 2001) que, então, acumulam-se parcialmente degradados nos lisossomos. São doenças progressivas, que apresentam uma ampla heterogeneidade clínica, inclusive para uma mesma deficiência enzimática (NEUFELD & MUENZER, 2001).



As MPS foram descritas clinicamente pela primeira vez em 1917, por Hunter, mas as bases bioquímicas só foram elucidadas entre as décadas de 50 e 60, e só mais recentemente as bases moleculares foram descritas (WRAITH, 1996). Em 1952, Brante isolou e identificou a substância acumulada nos pacientes com “gargoilismo”, denominação dada às características faciais típicas dos pacientes com MPS como sendo mucopolissacarídeos (ou GAG) e propôs o termo mucopolissacaridose para essas doenças (MATTE, 1998). Em 1968, demonstraram que o acúmulo desses GAG é resultante da degradação ineficiente e não de uma síntese excessiva ou de uma redução na sua secreção (MATTE, 1998).

Os glicosaminoglicanos ou GAG, denominação dada a partir da década de 60 para mucopolissacarídeos, são formados de cadeias polissacarídicas ácidas, não ramificadas, compostas por repetições de dissacarídeos (MATTE, 1998). De acordo com o resíduo de açúcar, o tipo de ligação entre eles e o número e localização dos grupos sulfato, são definidos cinco grupos de GAGs: ácido hialurônico (AH), sulfato de condroitin (SC), sulfato de dermatan (SD), sulfato de heparan (SH) e sulfato de queratan (SQ). Dependendo da enzima deficiente, o catabolismo de um destes GAGs pode ser bloqueado de forma individual ou em combinação (NEUFELD & MUENZER, 2001).

Os GAG são componentes da matriz extracelular formando glicoproteínas macromoleculares (proteoglicanos) que dão elasticidade aos tecidos e os capacitam a manter sua formação característica. Existe uma contínua renovação celular destes proteoglicanos, sendo que a sua degradação inicia-se pela clivagem por proteases extracelulares e, após, pela ação seqüencial das enzimas lisossomais produzindo monossacarídeos e sulfato inorgânico (MATTE, 1998). O acúmulo intracelular de GAGs parcialmente degradados pela ineficiência de uma enzima lisossomal, interfere com a função celular normal, causando apoptose de alguns grupos celulares, o que está parcialmente relacionado com as manifestações clínicas típicas desse grupo de doenças (WRAITH, 1996). Esses GAGs em excesso no organismo são excretados na urina dos pacientes afetados (WRAITH, 1996).

Em 1957, quando foi identificada a presença de sulfatos de dermatan e de heparan na urina de pacientes com MPS I, as bases para um teste bioquímico urinário de rotina para o diagnóstico das MPS foram estabelecidas (MATTE, 1998). Há excreção aumentada na urina de tipos diferentes de GAGs, de acordo com a deficiência enzimática (NEUFELD & MUENZER, 2001). Por isso, em geral, faz-se primeiro teste de triagem na urina para orientar a escolha do ensaio enzimático a ser realizado (WRAITH, 1996; BECK, 2000; SCHWARTZ et al, 2001). Esses testes urinários baseiam-se na detecção de mucopolissacaridúria em excesso, o que pode ser obtido por testes baseados na turvação urinária (testes de agregação com sais pesados) ou na visualização de manchas metacromáticas em papel impregnado com corantes (teste do azul de toluidina) (WRAITH, 1996 e SCHWARTZ et al, 2001). Pode-se fazer ainda a dosagem de GAGs urinários para confirmar a mucopolissacaridúria em excesso. Estes testes estão sujeitos a resultados falso-positivos e falso-negativos, por isso, para complementar a investigação, faz-se testes mais específicos, qualitativos, como a cromatografia em camada delgada e a eletroforese uni ou bidimensional, que identificam os tipos de GAGs aumentados, direcionando, assim, a análise enzimática a ser realizada (BECK, 2000 e SCHWARTZ et al, 2001). O padrão ouro para o diagnóstico das MPS é a medida da atividade da enzima que se supõe deficiente, associada com os achados clínicos. É necessário sempre a correlação com a clínica, pois é descrito em indivíduos com alguns tipos de MPS (tipos I e VII) o fenômeno da pseudodeficiência, onde há atividade enzimática diminuída em indivíduo clinicamente normal (SCHWARTZ, 2000).

As MPS são classificadas em onze tipos, de acordo com a enzima com atividade deficiente (Quadro 1) (NEUFELD & MUENZER, 2001).

As MPS apresentam uma incidência que varia de 1,3-4,5:100.000 nascimentos (NELSON, 1997; MEIKLE et al, 1999; POORTHUIS et al, 1999 e APPLGARTH et al, 2000). No Brasil, as MPS correspondem a 48,7% das DL diagnosticadas, segundo demonstrado no trabalho de COELHO et al (1997).

**Quadro 1: Classificação das Mucopolissacaridoses (modificado de NEUFELD & MUENZER, 2001)**

TIPO DE MPS	EPÔNIMO	GAG ACUMULADO	ENZIMA DEFICIENTE
MPS I	Síndrome de Hurler (forma grave)	SD e SH	$\alpha$ -L-iduronidase
MPS I S	Síndrome de Scheie (forma leve)	SD e SH	$\alpha$ -L-iduronidase
MPS I HS	Síndrome de Hurler/Scheie (forma intermediária)	SD e SH	$\alpha$ -L-iduronidase
MPS II	Síndrome de Hunter	SD e SH	iduronato sulfatase
MPS III A	Síndrome de Sanfilippo A	SH	Heparan N-sulfatase
MPS III B	Síndrome de Sanfilippo B	SH	$\alpha$ -N-acetilglicosaminidase
MPS III C	Síndrome de Sanfilippo C	SH	Acetil CoA: $\alpha$ -glicosaminídio acetiltransferase
MPS III D	Síndrome de Sanfilippo D	SH	N-acetilglicosamina- 6- sulfatase
MPS IV A	Síndrome de Morquio A	SQ	galactose 6 sulfatase
MPS IV B	Síndrome de Morquio B	SQ	$\beta$ -galactosidase
MPS VI	Síndrome de Maroteaux Lamy	SD e SC	N-acetilgalactosamina-4-sulfatase
MPS VII	Síndrome de Sly	SD e SH	$\beta$ -glicuronidase
MPS IX*	Natowicks	AH	hialuronidase

\* Apenas um paciente descrito.

SD: sulfato de dermatan, SH: Sulfato de heparan, SQ: sulfato de queratan, SC: sulfato de condroitin, AH: ácido hialurônico.

## Mucopolissacaridose tipo VI – Síndrome de Maroteaux-Lamy

### Histórico e Patogenia

A Mucopolissacaridose tipo VI, ou Síndrome de Maroteaux-Lamy (MPS VI; OMIM # 253200), foi descrita pela primeira vez em 1963, por Maroteaux et al,

como uma síndrome semelhante à Síndrome de Hurler (MPS I), mas com inteligência preservada e excreção urinária de SD não acompanhada de SH (NYHAN & OZAND, 1998 e NEUFELD & MUENZER, 2001). A doença é causada pela deficiência da enzima N-acetilgalactosamina-4-sulfatase, ou arilsulfatase B (ARSB). Essa enzima é uma hidrolase lisossomal responsável pela retirada de um grupamento sulfato do SD e do SC (NEUFELD & MUENZER, 2001 e NYHAN & OZAND, 1998). Essa deficiência enzimática acarreta um acúmulo de metabólitos parcialmente degradados de SD e de SC nos tecidos, sendo responsável, entre outros problemas, por alterações articulares (NYHAN & OZAND, 1998 e AUCLAIR et al, 2003). O SC não é excretado em excesso na urina, pois é degradado pela hialuronidase, sendo apenas o SD encontrado em excesso na urina dos pacientes com a doença (NYHAN & OZAND, 1998).

### **Epidemiologia**

A MPS VI foi considerada uma das MPS mais raras por POORTHUIS et al (1999) e por MEIKLE et al (1999). NELSON (1997), na Irlanda do Norte, com dados de 25 anos (mais de 800.000 nascimentos), não encontrou casos diagnosticados de MPS VI, assim como APPLEGARTH et al (2000), no Canadá, com dados de 24 anos (mais de 1.000.000 de nascimentos). O Quadro 2 resume as referências relacionadas à incidência de MPS VI em algumas populações.

Alguns autores descrevem diferentes freqüências relativas de MPS VI dentro das demais DL: MICHELAKAKIS et al (1995), na Grécia, com dados de 13 anos, descrevem a MPS VI como sendo responsável por 8,3% de todas as DL diagnosticadas (a MPS I seria responsável por 10,5%); COELHO et al (1997), acharam dado igual a 10% (20,7% das MPS diagnosticadas), sendo nesse estudo, considerada junto com a MPS I, um dos tipos mais freqüentemente identificados nessa população; PORTHUIS et al (1999), na Holanda, descrevem como sendo esse número de 0,2% (para MPS I, a mais freqüente MPS neste estudo, seria de 0,8%). ALBANO et al (2000), em um estudo realizado em São Paulo, encontraram 47,3% de diagnóstico de MPS VI entre todos os casos de MPS diagnosticados.

**Quadro 2: Incidência de MPS VI por população e referência (ordem decrescente por ano de publicação)**

Referência	Período	Local	Incidência (por 100.000 nascidos vivos)
Baehner F et al (2005)	1980-1995	Alemanha	0,23
Pinto et al (2003)	1962-1999	Portugal	0,42
Applegath et al (2000)	1972-1996	Canadá	0,09
Poorthuis BJ et al (1999)	1970-1990	Holanda	0,16
Meikle PJ et al (1999)	1980-1996	Austrália	0,40
Nelson J (1997)	1958-1985	Irlanda do Norte	Não houveram casos registrados
Lowry RB et al (1990)	1952-1986	Canadá	0,46

### Diagnóstico

A maioria dos pacientes tem diagnóstico confirmado em torno dos dois anos de idade, quando, nas formas mais graves, já aparecem diversas alterações clínicas (AUCLAIR et al, 2003). Em um estudo de AZEVEDO et al, (2004) realizado com uma amostra de pacientes predominantemente brasileiros (26 brasileiros e 2 chilenos), a média de idade de diagnóstico foi de 48,4 meses (4 anos) mostrando um atraso diagnóstico importante nesta população em

comparação com o descrito na literatura (43% destes iniciaram sintomas com menos de 6 meses de idade). O diagnóstico é realizado através de uma clínica compatível, com a constatação da mucopolissacaridúria em excesso e confirmado pela constatação da redução da atividade da enzima ARSB em leucócitos e/ou fibroblastos cultivados a partir de biópsia de pele. É necessário sempre a correlação com a clínica para excluir o fenômeno da pseudodeficiência (SCHWARTZ, 2000), apesar deste fenômeno ainda não ter sido descrito para a ARSB. Deve-se excluir a possibilidade de Deficiência Múltipla de Sulfatases, um diagnóstico diferencial importante. Neste caso, o indivíduo afetado pode ter um quadro clínico semelhante àquele dos indivíduos com MPS VI, mas laboratorialmente tem deficiência também de outras sulfatases, como a arilsulfatase A.

A correlação entre a gravidade clínica e a atividade residual enzimática não foi realizada com exatidão ainda, mas sabe-se que em torno de 20% de atividade é compatível com fenótipo normal (NYHAN & OZAND, 1998). Os estudos clínicos realizados não confirmaram haver alguma relação entre atividade enzimática residual e gravidade clínica (WICKER et al, 1991 e AZEVEDO et al, 2004), embora dados da literatura não experimental afirmem esta correlação (LITJENS and HOPWOOD, 2001)

### **Aspectos Genéticos e Moleculares**

O gene que codifica a enzima ARSB, deficiente na Mucopolissacaridose tipo VI (MIM#253200), foi mapeado no cromossomo 5q13-14 (LITJENS et al, 1989). O gene ARSB (HGMD, 2007) possui 8 éxons e a enzima resultante possui 533 aminoácidos (PETERS et al, 1990).

É observada na MPS VI uma variabilidade de manifestações clínicas, com um espectro clínico heterogêneo, refletindo provavelmente as diferentes mutações relacionadas com a doença (PETERS et al, 1990; WICKER et al, 1991; BRADFORD et al, 2002). Estudos *in vitro* e em modelos animais mostram que as mutações causam desestabilização e conseqüente redução da atividade da

enzima (LITJENS e HOPWOOD, 2001), com redução da sua meia vida e/ou da sua forma madura ativa (WICKER et al, 1991). Sabe-se que cada mutação pode afetar a atividade enzimática de maneira diferente, podendo até não haver a síntese da enzima. Até o momento, já foram identificadas 54 mutações patogênicas nesse gene (HGMD, 2007). A maioria das mutações descritas foi identificada em um pequeno número de pacientes, sendo algumas mais comuns, dependendo da população estudada. BRADFORD et al (2002), identificou a mutação p.Y210C que foi detectada em cerca de 10% dos indivíduos com MPS VI da sua amostra de pacientes australianos e está associada com um fenótipo leve em heterozigose. Essa mutação, juntamente com as mutações p.H393P e p.R95Q representam 4% de todos os alelos mutantes presentes nos pacientes com MPS VI, todas descritas em heterozigotos no estudo de LITJENS et al (1996), também em pacientes australianos. No Brasil, foi identificada a mutação c.1533del23, encontrada em 23,1% dos alelos (6/26 alelos) (PETRY et al, 2003), relacionada a fenótipo moderado a grave tanto em homozigose quanto em heterozigose. Um trabalho mais recente (KARAGEORGOS et al, 2007), com um número maior de indivíduos, representando cerca de 10% da população mundial de indivíduos com MPS VI, identificou 62 novas mutações causadoras da doença, confirmando a grande variabilidade genotípica que explica em parte a grande variabilidade fenotípica dos indivíduos afetados. Ainda no trabalho de KARAGEORGOS et al (2007), eles correlacionam o genótipo com as alterações bioquímicas, havendo uma correlação importante com a excreção de GAG urinários, sugerindo que este fator seria um bom preditor da gravidade da doença (KARAGEORGOS et al, 2007).

Acredita-se que a análise das mutações, aliada aos estudos clínicos e sistemáticos, permitirá melhor associação entre genótipo e fenótipo (NYHAN & OZAND, 1998). Atualmente, esta associação é ainda preliminar com necessidade de melhor identificação e análise dos alelos mutantes (LITJENS T and HOPWOOD JJ, 2001). Acredita-se que para uma maior compreensão desta associação, é necessário a avaliação de um grande número de pacientes e a utilização de um protocolo uniforme de determinação da gravidade clínica da

doença (LITJENS and HOPWOOD, 2001). Esta informação pode contribuir para definir melhor a estratégia de tratamento para cada paciente e a monitorização de resposta a este tratamento (LITJENS and HOPWOOD, 2001).

## **Manifestações Clínicas**

### Aspectos Gerais:

Os pacientes com MPS VI apresentam uma variabilidade ampla de sintomas multissistêmicos, assim como a maioria das MPS. Acredita-se que quanto maior a atividade residual da enzima, menores serão os sintomas apresentados (LITJENS and HOPWOOD, 2001), mas essa correlação não é facilmente demonstrada devido ao método utilizado para mensurar a atividade enzimática, assim como a não existência de um escore de classificação de gravidade do quadro clínico apresentado pelos pacientes (AZEVEDO et al, 2004).

O acúmulo de GAG parcialmente degradados nos tecidos causa manifestações clínicas comuns à maioria das MPS, como face grosseira, espessamento cutâneo e visceromegalias. Outras manifestações clínicas, como o retardo mental (presente em outras MPS) e o retardo de crescimento, resultam da alteração da função celular (MATTE, 1998). As contraturas articulares, comuns na maioria das MPS, ocorrem devido à interferência direta na estrutura de substâncias como o colágeno (NEUFELD & MUENZER, 2001). As Figuras 1 e 2 mostram alguns aspectos clínicos dos pacientes com MPS VI.

De modo geral, em todas as MPS, assim como a MPS VI, o curso é crônico e progressivo e o envolvimento é multissistêmico, sendo acometidos principalmente o sistema esquelético e cardiopulmonar, a córnea, a pele, o fígado, o baço, o cérebro e as meninges (SCHWARTZ et al, 2001).

### Classificação Clínica:

Não há um consenso sobre a classificação clínica dos pacientes com MPS VI. Os autores que escrevem sobre o assunto concordam que existe uma variabilidade importante, as formas mais graves apresentando início mais precoce, sintomas mais graves e evolução mais rápida, e as formas menos graves



apresentam início mais tardio dos sintomas, manifestações sistêmicas em menor grau e evolução mais lenta (WICKER G et al, 1991; LITJENS T and HOPWOOD JJ, 2001; NEUFELD and MUENZER, 2001 e THOMPSON JN, 2003). Nos estudos publicados até o momento, a gravidade clínica tem sido classificada por diferentes observadores com diferentes critérios e de acordo com a experiência clínica de cada um (LITJENS and HOPWOOD, 2001). PETRY et al (2005) classifica as formas em grave (óbito com menos de 10 anos de idade e altura menor de 90 cm aos 10 anos), grave a intermediária (início dos sintomas com menos de 36 meses e altura maior de 90 cm na época da avaliação), intermediária (início dos sintomas com mais de 36 meses, altura menor de 140 cm na última avaliação e sobrevida maior que 20 anos) e leve (início dos sintomas com mais de 36 meses, altura maior que 140 cm e sobrevida maior de 20 anos). SWIEDLER et al (2005) classifica os pacientes em portadores da forma rapidamente progressiva (grave) ou lentamente progressiva (atenuada) da doença utilizando critérios clínicos (estatura, peso, comprometimento pulmonar, resistência física e mobilidade articular) e bioquímicos (excreção de GAG urinários), sugerindo um ponto de corte de 200 µg /mg de creatinina para separar as duas formas. KARAGEORGOS et al (2007), seguindo a mesma linha, utilizam a excreção de GAG urinários como critério de classificação, fazendo uma correlação com o genótipo dos pacientes, como parâmetro principal para classificar a gravidade da doença dos pacientes.



**Figura 1: Paciente com MPS VI aos 10 meses, 2 anos, 7 anos, 12 anos e 16 anos (em Terapia de Reposição Enzimática desde os 13 anos).**



**Figura 2: Irmãs com MPS VI. Na foto à esquerda aos 10 e 8 anos respectivamente e na foto à direita com 13 e 11 anos, respectivamente.**

### Crescimento e Desenvolvimento

Na MPS VI, o envolvimento somático é semelhante aos indivíduos com MPS I, mas em geral as crianças possuem inteligência normal (WICKER et al, 1991; THOMPSON, 2003; SCHWARTZ et al, 2001; THORNE et al, 2001; VOUGIOUKAS et al, 2001; KARAGEORGOS et al, 2004). As aquisições cognitivas podem ser prejudicadas pelo déficit auditivo e visual, assim como pelas outras limitações físicas que podem apresentar (NEUFELD & MUENZER, 2001). Há descritos casos na literatura de retardo mental em indivíduos com MPS VI, sendo relatado em um paciente por VESTERMARK et al (1987), em 2/9 pacientes descritos por ALBANO et al, 2000 e, possivelmente, em 1/28 pacientes descrito por AZEVEDO et al (2004).

O crescimento e desenvolvimento físicos podem ser normais nos primeiros anos de vida, estagnando-se ao redor dos seis ou oito anos (NEUFELD & MUENZER, 2001 e NYHAN & OZAND, 1998). A altura final em geral, é afetada ficando entre 110 e 140 cm (NYHAN & OZAND, 1998 e NEUFELD & MUENZER, 2001), mas já foi descrito um indivíduo de 15 anos com 174cm (SAUL et al, 1984). Os pacientes têm, em geral, o tronco curto e, com a evolução da doença, vão apresentando contraturas articulares e ocorre aparecimento ou aumento de gibosidade toracolombar. Há descrito nestes pacientes, casos de síndrome da sela vazia com disfunção hipofisária grave (VON MUHLENDAHL AND BRADAC et al, 1975; BUYUKGEBIZ et al, 1995), achado que talvez ocorra em outros pacientes com MPS VI, contribuindo para a baixa estatura relacionada à doença.

A maioria dos indivíduos com a doença evoluem para óbito na segunda ou terceira década de vida, mas já foi relatado um caso de um indivíduo de 40 anos com a forma leve da doença (PILZ et al, 1979). A principal causa de óbito é a falência cardíaca, muitas vezes secundária à obstrução respiratória crônica (NEUFELD AND MUENZER, 2001).

### Manifestações Oculares

As manifestações oculares incluem: opacificação de córnea, glaucoma e papiledema com atrofia óptica em estágios mais avançados (CASANOVA et al, 2002 e COLLINS et al, 1990). Alguns autores descrevem ainda pigmentação distrófica da retina (COLLINS et al, 1990).

A opacificação de córnea se dá pelo acúmulo de sulfato de dermatan em queratócitos corneanos ocasionando diminuição da sua transparência, podendo resultar em déficit visual importante (NYHAN & OZAND, 1998, NEUFELD & MUENZER, 2001 e CASANOVA et al, 2002). Os GAG são componentes da córnea normal (4 a 4,5%) sendo que 50% destes são queratan sulfato, 25% condroitin-6 sulfato e 25% condroitin-4 sulfato (CASANOVA et al, 2002). O dermatan sulfato, GAG que se acumula na MPS VI, estaria presente apenas em cicatrizes corneanas ou enxertos corneanos mal sucedidos (CASANOVA et al, 2002). Acredita-se, entretanto que exista uma quantidade não mensurável (pequena) de dermatan sulfato na córnea normal que é aumentada em situações de agressão a esta (CASANOVA et al, 2002). Apesar da demonstração que há novo acúmulo de GAGs em córneas transplantadas cerca de um ano pós procedimento, os pacientes com MPS VI mantêm, apesar disto, acuidade visual bem melhor que pré-transplante (VARSSANO et al, 1997) mostrando que possivelmente havia uma lesão corneana prévia à opacificação propriamente dita que prejudica a visão dos indivíduos afetados. Alguns autores acreditam que há um comprometimento irreversível da córnea ainda durante a vida fetal de pacientes com MPS (HERSKHOVITZ et al, 1999).

O glaucoma pode ocorrer quando o depósito de SD obstrui o sistema trabecular. Um “pseudo-glaucoma” pode ocorrer, pois o depósito de SD na córnea, pode deixá-la mais rígida, causando uma falsa medida aumentada da pressão intra-ocular aferida por tonômetro comum (CASANOVA et al, 2002).

A atrofia óptica é, em geral, uma evolução do edema da cabeça do nervo óptico. Em um estudo realizado por COLLINS et al (1990) foi concluído que os pacientes com MPS, especialmente MPS I-H (Hurler), MPS I-HS (Hurler-Scheie), MPS VI e MPS VII (Sly) têm uma chance maior que 40% de desenvolver edema

de cabeça de nervo. Neste mesmo estudo encontrou-se edema de cabeça de nervo em 41,7% dos pacientes com MPS VI. A origem dessa alteração ainda não é um consenso, mas acredita-se que está envolvida com o acúmulo de GAGs causando aumento da pressão intracraniana e compressão da via de saída dos axônios do nervo óptico (COLLINS et al,1990).

Portanto, a diminuição da acuidade visual dos pacientes com MPS VI ocorre não só pela opacificação corneana, mas, também, pela atrofia do nervo óptico, pelo glaucoma e pelas alterações retinianas.

### Manifestações Otológicas

A hipoacusia é freqüente, geralmente mista com componente condutivo (secundário a otite média e a deformidades dos ossículos) e neurosensorial (SCHWARTZ et al, 2001). Otite média com efusão é um problema recorrente na maioria dos pacientes com MPS. O seu manejo inclui colocação de tubos de ventilação, de preferência de longa duração, a fim de minimizar os riscos anestésicos de outra possível intervenção para o mesmo fim (MOTAMED et al, 2000).

### Manifestações em Cavidade Oral

Na cavidade oral, com freqüência, ocorre macroglossia com protrusão da língua. A erupção dentária pode ser em atraso, os dentes podem ser displásicos e a altura da mandíbula reduzida (NYHAN & OZAND, 1998). Cistos dentígeros, problemas de oclusão dentária, alterações condilares e hiperplasia gengival também são achados comuns (ALPOZ et al, 2006). É importante uma orientação adequada quanto à prevenção de cáries dentárias, levando em conta os riscos anestésicos e a dificuldade de manipulação intra-oral devido às alterações já citadas e à limitação da abertura bucal.

### Manifestações Respiratórias

Há diversas causas para as alterações respiratórias que ocorrem em pacientes com MPS VI.

Inicialmente, podemos citar as alterações intrínsecas às vias aéreas que incluem pescoço curto, epiglote elevada, fossa cervical profunda, mandíbula hipoplásica e traqueobroncomalácea (LEIGHTON et al, 2001). Também em vias aéreas pode-se citar a ocorrência de depósito progressivo de GAGs em nasofaringe, orofaringe, hipofaringe e laringe, macroglossia e a hipertrofia de amígdalas e adenóides (LEIGHTON et al, 2001). SHIH et al (2002), fazendo avaliação de 13 pacientes com MPS de diversos tipos através de tomografia computadorizada, encontraram ainda modificações na forma da traquéia (forma de U), em cordas vocais e na aérea de superfície traqueal, sendo essa significativamente menor que as dos pacientes controle sem MPS (SHIH et al, 2002). Os GAG também se depositam no interstício pulmonar, o que pode ocasionar alterações na difusão pulmonar (LEIGHTON et al, 2001).

Como alterações extrínsecas às vias aéreas e que contribuem para o quadro, pode haver cifoescoliose e hepatoesplenomegalia, que podem limitar as incursões diafragmáticas (LEIGHTON et al, 2001). Há ainda abundante e espessa secreção em vias aéreas com predisposição a infecções de repetição (LEIGHTON et al, 2001 e SCHWARTZ et al, 2001).

Outra complicação respiratória é a apnéia obstrutiva durante o sono (NYHAN & OZAND, 1998 e LEIGHTON et al, 2001). Segundo FRASER et al (2002) a apnéia obstrutiva do sono pode acometer 71% dos indivíduos com MPS de um modo geral. Na MPS VI, 82,1% dos pacientes de uma amostra de 28 indivíduos com MPS VI apresentavam apnéia obstrutiva do sono (AZEVEDO et al, 2004).

Algumas das alterações citadas acima podem levar à hipoxemia crônica ocasionando, entre outros, hipertensão pulmonar, cor pulmonale e falência cardiopulmonar, que muitas vezes é a causa de óbito destes pacientes (LEIGHTON et al, 2001).

### Manifestações Cardiovasculares

O envolvimento cardíaco é um componente importante nessa doença, sendo responsável por parte importante da morbimortalidade associada (NYHAN & OZAND, 1998). As válvulas aórtica e mitral podem ficar espessadas, calcificadas ou estenóticas, podendo apresentar regurgitação em diversos graus (NYHAN & OZAND, 1998). Segundo DANGEL (1998), cerca de 72% dos pacientes com MPS, avaliados por ecocardiograma, têm valvulopatias e/ou cardiomiopatia. MABE et al (2003) descrevem como sendo a valvulopatia aórtica a mais freqüentemente observada neste tipo de MPS. AZEVEDO et al (2004) descrevem a valvulopatia mitral como a mais comum em uma população de 28 indivíduos com MPS VI, onde 100% apresentavam algum tipo de alteração ecocardiográfica.

Pode haver ainda cardiomiopatia com falência cardíaca (NEUFELD e MUENZER, 2001), fibroelastose endocárdica, hipertensão sistêmica e pulmonar, estreitamento arterial disseminado, inclusive de coronárias (SCHWARTZ et al, 2001).

A TRE mostrou ser capaz de melhorar várias alterações clínicas associadas às alterações cardiovasculares (HARMATZ et al, 2006) provavelmente por mecanismo indireto de diminuição de depósito vascular, diminuição do tamanho hepático e esplênico e melhora na performance respiratória.

### Manifestações Osteo-Articulares:

Apesar de a MPS VI ser uma doença multissistêmica, há sistemas ou órgãos mais gravemente afetados comprometendo a qualidade de vida dos indivíduos de maneira importante. Entre eles, o sistema esquelético é particularmente afetado.

As alterações esqueléticas associadas recebem a denominação genérica de disostose múltipla (NYHAN & OZAND, 1998; NEUFELD & MUENZER, 2001; SCHWARTZ et al, 2001) e afetam todo o esqueleto. Essas alterações incluem dolicocefalia (secundária à craniossinostose da sutura sagital), sela túrcica

alargada com formato de J ou ômega, hipoplasia de odontóide, giba toracolumbar, hipoplasia da porção ântero-superior das vértebras (principalmente de L1 e L2), aumento da concavidade posterior dos corpos vertebrais com pedículos relativamente longos, platispondilia, costelas em forma de remo, clavículas pequenas e espessas, escápula espessa e elevada (SCHWARTZ et al, 2001). As alterações pélvicas são particularmente graves com acetábulo com teto oblíquo ou hipoplasia acetabular, displasia de epífise femoral com subluxação da cabeça do fêmur, asas do íliaco pequenas, ísquio e púbis espessos e incompletamente formados (SCHWARTZ et al, 2001 e NEUFELD & MUENZER, 2001). Nos membros pode-se observar coxa valga, espessamento das diáfises, falanges pequenas e alargadas, metacarpos com bases cônicas, ossos do carpo pequenos e irregulares, modificação da angulação radio-ulnar (SCHWARTZ et al, 2001). A função articular anormal é geralmente secundária ao envolvimento metafisário e ao espessamento e fibrose da cápsula articular (SCHWARTZ et al, 2001). As alterações articulares são progressivas, tornando os movimentos limitados (NYHAN & OZAND, 1998). Em algumas articulações, especialmente joelhos, quadris e cotovelos, os movimentos podem ser limitados já nos primeiros anos de vida, fazendo com que a criança assuma uma postura curvada (NEUFELD & MUENZER, 2001 e NYHAN & OZAND, 1998). Contraturas flexionais nos dedos das mãos fazem com que essa fique com aspecto de garra (NEUFELD & MUENZER, 2001). Os movimentos das mãos ainda podem ser mais prejudicados pela ocorrência da síndrome do túnel do carpo e/ou por contraturas tipo Dupuytren (contratura em flexão dos dedos secundária à fibrose da fáscia palmar) (NYHAN & OZAND, 1998). Acredita-se que as alterações radiológicas em mãos sejam boas preditoras da gravidade da doença (WHITLEY, 1993), podendo, juntamente com a baixa estatura ser a única manifestação encontrada nas formas leves (TAYBI e LLACHMAN, 1996).

Essas alterações em conjunto contribuem para uma limitação importante de movimentos simples, necessários à vida cotidiana, como vestir-se, banhar-se, pegar lápis e outros objetos.



### Manifestações Neurológicas

Embora não costumem apresentar retardo mental, os indivíduos com MPS VI podem ter diversas alterações neurológicas, em geral secundárias ao depósito de GAG em locais específicos.

Pode haver hidrocefalia comunicante, secundária ao espessamento meníngeo (NYHAN & OZAND, 1998) e/ou a disfunção do vilo aracnoídeo (SCHWARTZ et al, 2001). O aumento da pressão intracraniana, secundária à hidrocefalia, pode acarretar papiledema com progressiva perda visual (NYHAN & OZAND, 1998) somando-se àquele já existente pelas alterações oftalmológicas específicas.

Pode ocorrer mielopatia cervical ou toracolombar, secundária a uma ou várias alterações, como ao espessamento das meninges e tecidos adjacentes, instabilidade atlanto-axial, estreitamento ósseo do canal craniovertebral e hipertrofia do ligamento longitudinal posterior (BOOR et al, 2000, SCHWARTZ et al, 2001; THORNE et al, 2001). A mielopatia pode levar à tetraparesia, podendo ainda, estar associada à cifoescoliose ou deformidades toracolombares (NEUFELD & MUENZER, 2001; NYHAN & OZAND, 1998). A mielopatia cervical é particularmente comum na MPS VI, já tendo sido descrito um caso deiringomielia associado à deposição de GAGS na dura-máter ao nível da junção crânio-cervical (HITE et al, 1997). Displasia da apófise do odontóide é comum, e, com o aumento da idade, a hiperplasia do ligamento posterior longitudinal e a estenose do canal espinhal começam a ficar mais importantes. Instabilidade franca é um achado incomum na MPS VI (THORNE et al, 2001).

Para o diagnóstico dessas alterações neurológicas é utilizado, principalmente, a ressonância magnética. Alguns autores citam a medida do potencial evocado somatosensorial de grupos específicos de nervos (mediano e tibial posterior) como medida mais sensível para a detecção de alterações (BOOR et al, 2000). A Ressonância Magnética (RM) tem assumido um papel importante no diagnóstico de alterações relacionadas a doenças metabólicas (CHEON et al, 2002 e FAERBER et al, 2002). Além disto, a avaliação quantitativa das lesões cerebrais está se tornando importante na monitorização das lesões e resposta

terapêutica, principalmente em ensaios clínicos (GABRIELLI et al, 2004; MATHEUS et al, 2004; VEDOLIN et al, 2007). Avanços consideráveis na RM têm permitido a quantificação de varias lesões, entre elas, a atrofia cerebral, carga lesional na substância branca e a ventriculomegalia. O resultado combinado dos exames de imagem e da genética molecular tem o potencial de permitir um melhor entendimento da patofisiologia da doença.

Síndromes de compressão nervosa são comuns, especialmente a síndrome do túnel do carpo (NEUFELD & MUENZER, 2001), que ocorre pela compressão do nervo mediano, secundária ao acúmulo de GAGs no retináculo dos flexores e à presença de alterações anatômicas nos ossos do carpo (SCHWARTZ, 2000). Diferente do que ocorre com outros pacientes, os sintomas secundários a Síndrome do Túnel do Carpo, podem muitas vezes passar despercebidos pelo paciente com MPS.

O sistema nervoso autonômico também pode ser afetado, causando alterações exageradas de temperatura e cor dos membros e, talvez, episódios de diarreia (SCHWARTZ et al, 2001).

Pode haver comprometimento da hipófise anterior, ocasionando um atraso no aparecimento dos caracteres sexuais secundários (NYHAN & OZAND, 1998).

#### Manifestações Digestivas / Abdominais

O abdome habitualmente é protuberante e hepatoesplenomegalia costuma estar presente após os seis anos de idade em cerca de 50% dos pacientes (NYHAN & OZAND, 1998). A hepatoesplenomegalia é geralmente assintomática e associada com hérnia umbilical e/ou inguinal (NYHAN & OZAND, 1998 e SCHWARTZ et al, 2001). Há relato de rompimento de hérnias umbilicais mais volumosas (BY et al, 2004).

Alguns pacientes podem apresentar episódios de diarreia (NYHAN & OZAND, 1998), alternada com evacuações normais ou constipação. Essas

alterações parecem ser secundárias ao depósito de GAG intestinal e à disfunção do sistema nervoso autonômico já citada.

Muitos pacientes referem intolerâncias específicas, como ao leite ou à carne, mas não se tem conhecimento de trabalhos nesta área que esclareçam o assunto.

#### Manifestações em Pele / Tecido Conjuntivo

A pele costuma ser espessa e com hipertricose moderada (NYHAN & OZAND, 1998; NEUFELD & MUENZER, 2001 e SCHWARTZ et al, 2001). Há infiltração generalizada em tecido conjuntivo, podendo poupar os membros inferiores, que podem ficar com um aspecto emagrecido. Devido a essa infiltração é que as crianças ficam com características faciais grosseiras. Mãos, principalmente, e às vezes pés ficam infiltrados, o que dificulta mais ainda a movimentação normal, já prejudicada pelas alterações ósteo-articulares.

#### Manifestações Hematológicas / Celulares

Podemos observar, nas MPS, inclusões citoplasmáticas lisossomais, vistas como granulações metacromáticas e que ocorrem com mais freqüência na MPS VI (NYHAN & OZAND, 1998). Essas granulações ocorrem em 90 a 100% dos granulócitos e em 50% dos leucócitos. Inclusões lisossomais também ocorrem em células de Kupffer, hepatócitos, plaquetas, células da conjuntiva, córnea e pele. Os fibroblastos podem conter inclusões abundantes, justanucleares, de cor clara (NYHAN & OZAND, 1998). Há outras alterações vistas nos pacientes, como alteração de provas de coagulação, tendência à leucopenia e alteração em provas de função hepática que precisam ser melhor estudadas.

## **Tratamento**

### Manejo Geral

O atendimento de pacientes com MPS VI, assim como das demais MPS, deve ser realizado por equipe multidisciplinar, já que é uma doença multissistêmica.

Na área otorrinolaringológica, devem ser realizados de rotina exames de triagem para verificação da acuidade auditiva. Também deve ser realizado controle das otites de repetição. Muitas vezes, são necessárias cirurgias como tonsilectomias, adenoidectomias e traqueostomia como recursos para o controle das infecções respiratórias de repetição e/ou obstrução de vias aéreas. A fisioterapia respiratória também é um recurso importante neste controle (SCHWARTZ et al, 2001).

Na área oftalmológica, a tonometria ocular e a medida da acuidade visual também devem ser realizadas de rotina. Podem ser necessárias outras cirurgias, como transplante de córnea, mesmo com a possibilidade de recorrência de depósito de GAGs na córnea pós-transplante (CASANOVA et al, 2002).

No aspecto osteo-articular, pode ser realizada fisioterapia motora e cirurgias corretivas específicas. Embora alguns autores não estejam certos do benefício da fisioterapia (NEUFELD & MUENZER, 2001), outros mostram evidências de que promove auxílio na manutenção da função articular (SCHWARTZ et al, 2001). Nessa área, outros procedimentos cirúrgicos podem ser usados para correção da síndrome do túnel do carpo, valgismo e outras alterações (NYHAN & OZAND, 1998).

Outras cirurgias podem ser necessárias, como para a correção das hérnias, derivação ventrículo-peritoneal, valvuloplastias (WRAITH, 1996; SCHWARTZ et al, 2001), laminectomia ou fusão cervical (NYHAN & OZAND, 1998). Sempre deve ser considerado o risco cirúrgico relacionado à anestesia, devido, principalmente, à dificuldade de intubação endotraqueal neste grupo de pacientes. Recomenda-se que os procedimentos cirúrgicos sejam realizados em hospitais com unidades adequadas de tratamento intensivo e com anestesista

experiente em manutenção de via aérea pediátrica. A mortalidade perioperatória deste grupo de pacientes pode chegar a 20% (SCHWARTZ et al, 2001), sendo que as principais complicações associadas são: dificuldade de intubação com necessidade de traqueostomia de urgência e parada cardíaca intra-operatória (WRAITH, 1996; SCHWARTZ et al, 2001).

Com relação às cirurgias neurológicas, neurocirurgias agressivas, como manejo da compressão medular, por exemplo, podem se preconizadas, sendo necessário sempre levar em conta todos os riscos anestésicos. Alguns autores falam em traqueostomia profilática pré-cirurgia para alguns pacientes (THORNE et al, 2001). THORNE et al (2001) acompanharam nove crianças com MPS VI pós-cirurgia de descompressão cervical. Todas apresentaram melhora nos sinais e sintomas pós-cirurgia. Em pacientes assintomáticos, cirurgia profilática não é indicada, já que os riscos de um evento agudo grave relacionado a compressão medular são pequenos. Nestes pacientes, é importante levar em conta a presença de cifose toracolombar, pois há relatos de paraparesia secundária à isquemia medular, pós-cirúrgica, ao nível da cifose (THORNE et al, 2001).

### Transplante de Células Hematopoiéticas

O Transplante de Células Hematopoiéticas (TCH) é uma alternativa terapêutica utilizada como tentativa de correção de defeitos enzimáticos desde 1980 (LANGE et al, 2006). Baseia-se principalmente no fato de que a enzima produzida pelas células do transplante é liberada no plasma e pode ser absorvida por células enzimaticamente deficientes (MATTE, 1998). Pretende-se a reconstituição do sistema hematopoiético do paciente com células tronco de um doador saudável, imunocompatível, a fim de estabelecer uma duradoura fonte enzimática (CAILLAND & POENARU, 2000).

A maior parte dos trabalhos publicados relacionando TCH em MPS, envolve pacientes com MPS I e demonstram que a relação risco-benefício favorece a realização do TCH em pacientes menores de 2 anos, pois, apesar de não haver melhora das alterações esqueléticas, parece existir atenuação das

dismorfias faciais, melhora do comprometimento visceral e um efeito benéfico no desempenho intelectual (SCHWARTZ, 2000). Outros autores referem, ainda, aumento da mobilidade articular (WRAITH, 1996), melhora das alterações viscerais, função cardíaca e da obstrução das vias aéreas (CAILLAND & POENARU, 2000 e BECK, 2000).

HERSKHOVITZ et al (1999) descrevem o “follow-up” de quatro crianças com MPS VI pós TCH, realizados entre 1996 e 1998. A indicação de três dos quatro casos foi cardiomiopatia e no quarto paciente, foi presença de apnéia obstrutiva noturna, não resolvida com tonsilectomia. Os pacientes foram seguidos por uma média de 4,5 anos e tinham idades entre 3 e 9,5 anos. O acompanhamento mostrou melhora, especialmente da mobilidade articular, comprometimento cardíaco e apnéia obstrutiva do sono. Todavia, os autores admitem que a heterogeneidade clínica não permite conclusões definitivas sobre os efeitos do TCH na sobrevivência dessas crianças, o que talvez ocorra após estudos mais detalhados de análise molecular e bioquímica determinando com maior precisão os pacientes elegíveis a usar esse tratamento (HERSKHOVITZ et al, 1999).

Sabe-se que o TCH melhorou alguns aspectos clínicos relacionados à MPS VI, como as organomegalias, diminuiu a progressão das anormalidades esqueléticas e aumentou a atividade da ARSB (HITE et al, 1997), mas a aplicação dessa forma de terapia é limitada pela sua alta morbidade e mortalidade. CAILLAND & POENARU (2000) descrevem uma mortalidade de 10 a 20% e a dificuldade em encontrar doadores compatíveis (WRAITH, 1996). Além disso, é descrito um insucesso de 10 a 15% dessa forma de tratamento (CAILLAND & POENARU, 2000). No Brasil, um estudo realizado por LANGE et al (2006) mostra a experiência com pacientes com doenças de depósito onde foi encontrada uma taxa de mortalidade de 50% nos pacientes com MPS submetidos à transplante.

### Terapia de Reposição Enzimática

Outras formas de tratamento têm sido consideradas para a MPS VI. Uma delas é a reposição enzimática, que consiste em administrar por via intravenosa uma forma recombinante da enzima com a atividade deficiente semelhante à sua forma ativa. A Terapia de Reposição Enzimática (TRE.) tem sido realizada com sucesso em outras DL, como a Doença de Gaucher (CAILLAND & POENARU, 2000), Doença de Fabry, MPS I e II (WRAITH et al, 2004). Na MPS I a TRE já é uma forma de terapia estabelecida trazendo benefícios aos indivíduos tratados. Estudos iniciais mostraram normalização do tamanho hepático, da excreção de GAGs pela urina e aumento do peso e altura dos pacientes (CAILLAND & POENARU, 2000).

Os estudos para desenvolvimento da TRE em MPS VI iniciaram com estudos *in vitro*, mostrando que a enzima ativa podia ser produzida em células de ovário de hamster chinês de forma a sofrer endocitose eficiente por células em cultura (fibroblastos com receptores específicos), resultando na correção do defeito enzimático (FULLER et al, 1998). As pesquisas evoluíram para estudos *in vivo*, em modelos animais (gatos), que mostraram uma melhora importante de alguns sinais relacionados à doença (BIELICHI et al, 1999). O gato é considerado como um modelo animal adequado que se presta à pesquisa na MPS VI, não só no desenvolvimento da TRE, mas também no desenvolvimento de terapia gênica (CRAWLEY et al, 1998; YOGALINGAM, 1998; YOGALINGAM et al, 1999 e MACRI et al, 2002), já que, além de ser um modelo natural, a evolução da doença em gatos se comporta de forma semelhante à forma grave da doença em humanos (YOGALINGAM et al, 1999). A maioria das pesquisas é realizada em gatos com MPS VI de uma colônia na Austrália e a partir dela observam-se algumas diferenças em relação à doença em humanos: nessa colônia todos os gatos doentes têm mutações homogêneas, o que não ocorre na espécie humana, onde há muitas mutações descritas em um número pequeno de indivíduos. Além disso, os gatos têm, em geral, uma maior concentração de proteína mutante, o que pode alterar a evolução, no caso de TRE. Os resultados destes estudos com TRE em modelo animal mostraram diminuição do depósito de GAGs em órgãos e

aumento da mobilidade articular em gatos jovens (CRAWLEY et al, 1996). Em gatos tratados desde o nascimento houve prevenção ou lenta progressão da doença esquelética relacionada à MPS VI (AUCLAIR et al, 2003). O tratamento não foi efetivo com relação ao acúmulo de GAG em queratócitos corneanos, em leucócitos sanguíneos e em cartilagens (BIELICHI et al,1999). Outro estudo com TRE em gatos com MPS VI, demonstrou um efeito positivo no desenvolvimento ósseo dos animais jovens tratados precocemente (BYERS et al, 1997). Um problema demonstrado em alguns desses estudos é a resposta imune do organismo à terapia com a enzima, que pode levar a efeitos adversos, como reações de hipersensibilidade, podendo chegar à anafilaxia e à inativação ou degradação enzimática, prejudicando em muito a eficácia da terapia (TUNNER et al,1999). A formação desses anticorpos está relacionada a uma reação cruzada da enzima exógena com proteína mutante dos indivíduos doentes. Essa reação depende, também, de características específicas da enzima recombinante (origem, estrutura molecular), como dose e frequência de infusão e ainda a quantidade de proteína mutante no indivíduo tratado (TUNNER et al, 1999). Há estudos sobre a terapia de reposição com a alfa-iduronidase recombinante (terapia de reposição enzimática para MPS I) mostrando que, apesar de haver uma importante formação de anticorpos, isso não parece afetar a eficácia da terapia ou causar reações de hipersensibilidade importantes (KAVANAKOS et al, 2003).

O primeiro ensaio clínico em indivíduos com MPS VI utilizando a Arilsulfatase B recombinante (rhASB), mostrou que o tratamento foi bem tolerado e estabeleceu a dose de medicação a ser utilizada. Como resultado principal mostrou uma diminuição da excreção urinária de GAG (HARMATZ et al, 2001). Os estudos seguintes demonstraram, além da redução da excreção de GAG urinários, melhora da mobilidade articular (HARMATZ et al, 2005) e melhora da resistência geral do indivíduo medida através dos testes da caminhada (HARMATZ et al, 2006). Há estudos preliminares sugerindo que a TRE na MPS VI pode melhorar também a apnéia obstrutiva do sono relacionada à doença (KETTERIDGE et al, 2005).



Em maio de 2005, a rhASB foi aprovada para comercialização e uso nos Estados Unidos com o nome comercial de Naglazyme e em janeiro de 2006 recebeu a aprovação para uso e comercialização pela Comunidade Européia. Não há ainda estudos mostrando os efeitos desta terapia a longo prazo.

### Terapia Gênica

A terapia gênica para DL multissistêmicas, como as MPS, necessita que o gene se expresse em todo o organismo, produzindo a enzima necessária para todo o corpo (CAILLAND & POENARU, 2000). Trabalhos *in vitro* com terapia gênica usando vetores virais corrigiram defeitos enzimáticos em células animais e humanas com deficiência de ARSB (PETERS et al, 1991; WRAITH, 1996; BECK, 2000). Já foram realizados estudos pré-clínicos de terapia gênica para a MPS VI em gatos, usando como vetor o citomegalovírus, mas não houve a expressão do gene *in vivo*, como já havia ocorrido *in vitro*, sendo, portanto necessárias mais pesquisas nessa área (YOGALINGAM et al, 1999).

### **3- Objetivos**

#### **Principal**

Identificar fatores associados à gravidade em indivíduos com MPS VI.

#### **Secundários**

1- Caracterizar, por meio de testagem de QI e de RM de cérebro o envolvimento do sistema nervoso central em indivíduos com MPS VI;

2- Caracterizar, por meio de RX de mãos e coluna lombar, as alterações ósseas em indivíduos com MPS VI;

3- Correlacionar achados clínicos, bioquímicos, neurológicos e radiológicos em indivíduos com MPS VI.

#### **4- Métodos**

Trata-se de um estudo transversal de uma amostra de 25 pacientes com diagnóstico clínico e bioquímico confirmado de MPS VI (atividade da ARSB < 10% do limite inferior da normalidade com atividade de outras sulfatases normal e excreção urinária aumentada de sulfato de dermatan) atendidos no ambulatório de MPS do Hospital de Clínicas de Porto Alegre. Estima-se haverem cerca de 65 pacientes com MPS VI diagnosticada no Brasil, sendo, portanto a nossa correspondendo a 38,5 % deste número. Todos os pacientes, provenientes de diversos estados do Brasil, predominantemente, foram vistos regularmente, de 2004 a 2006, no ambulatório citado, centro de referência para diagnóstico e tratamento de MPS na América do Sul. Em uma das visitas a este Serviço, quando foram realizados também outras avaliações e exames de rotina, eles participaram deste trabalho. O trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, onde foi realizado. Após assinatura de Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Anexo 1), durante o período de uma semana, aproximadamente, foram realizadas as seguintes avaliações:

##### **Anamnese**

Com ênfase especial para dados relacionados às variáveis estudadas: sexo, idade, idade de diagnóstico, idade de início dos sintomas, sintoma inicial e consangüinidade. Uma revisão de prontuário também foi realizada, para confirmar dados e buscar outros importantes como colocação de derivação ventrículo-peritoneal, déficit visual e auditivo importantes, entre outros. No Anexo III ficha de coleta de dados.

##### **Exame físico**

Com ênfase especial na antropometria, com a finalidade de comparar as medidas antropométricas atuais (peso e altura), com as esperadas em uma criança da mesma idade usando as curvas do *National Center of Health Statistics percentiles*. (HAMIL et al, 1979).

Um dos sinais mais clássicos e freqüentes nos indivíduos com MPS VI é hepatoesplenomegalia. Esta variável não foi estudada por ser a sua avaliação, por exame físico simples, muito susceptível a vieses de aferição e por se modificar de modo importante com a TRE (HARMATZ et al, 2001; HARMATZ et al, 2005; HARMATZ et al, 2006)

### **Testagem de Quociente de Inteligência (QI)**

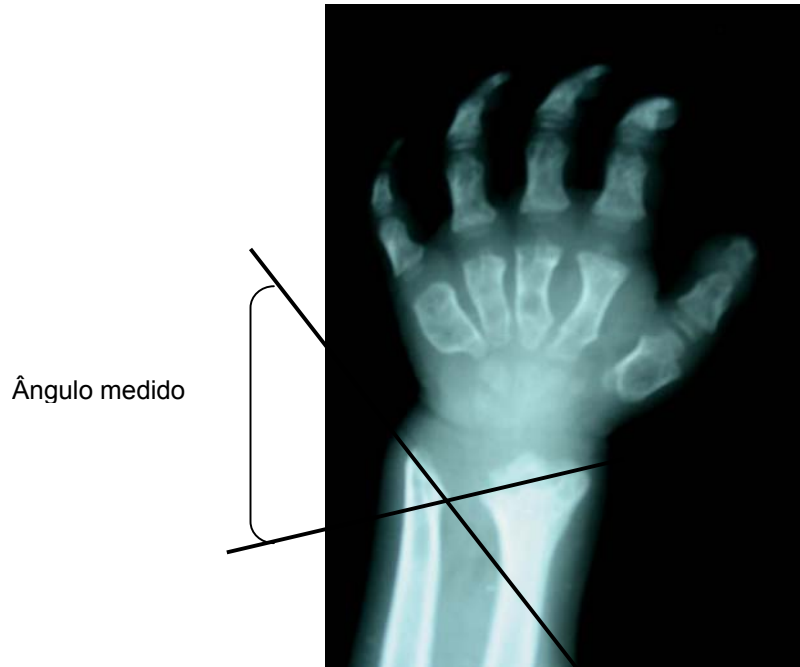
Realizada por uma única psicóloga que possui experiência em testes semelhantes em pacientes com MPS. Foram utilizadas as Escalas de Wechsler (THE PSYCHOLOGICAL CORPORATION- USA, 1994) da seguinte maneira: WPPSI (*Wechsler Preschool and Primary Scale of Intelligence*)- para crianças entre 4 e 6 anos; WISC III (*Wechsler Intelligence Scale for Children*) - para avaliar crianças entre 6 e 16 anos; WAIS-III (*Wechsler Adult Intelligence Scale*)- para maiores de 16 anos. Os instrumentos WISC-III e WAIS-III têm validação no Brasil (NASCIMENTO e FIGUEIREDO, 2002), o mesmo ainda não ocorre com o WIPPSI. Foram determinados o QI total (a partir do QI verbal e do QI de execução) e o potencial cognitivo (a partir de subtestes específicos da área verbal e de execução). O QI total foi classificado da seguinte maneira segundo WECHSLER: acima da média da população ( $\geq 120$ ); na média da população (80-119); abaixo da média da população limítrofe (70-79) e retardo mental ( $\leq 69$ ). Para quantificar o Potencial cognitivo foram considerados os seguintes valores, segundo WECHSLER: acima da média da população ( $\geq 14$ ); na média da população (6-13), abaixo da média da população limítrofe (4-5) e deficiente mental ( $\leq 3$ ).

### **Raio X de mãos e coluna lombar**

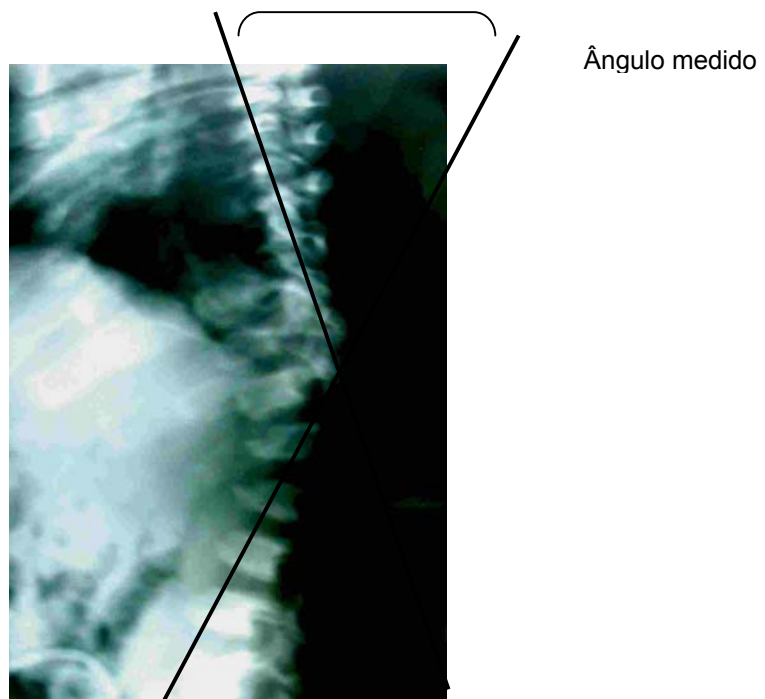
Todos os RX foram analisados de maneira cegada (idade, sexo, nome, características clínicas) pelo mesmo radiologista experiente em doença lisossômica. As variáveis analisadas foram (ficha de coleta de dados no Anexo IV):

- Alterações morfológicas em corpos vertebrais que deveriam ser citadas e especificada (s) a (s) vértebra(s) alterada(s);

- Angulação da giba lombar em graus com especificação da vértebra de vértice e alteração relacionada. O ângulo foi medido de acordo com a Figura 3. Em indivíduos sem alterações vertebrais este ângulo não existe ou é próximo de zero;
- Angulação radio-ulnar em graus. O ângulo distal do rádio em relação a ulna foi medido de acordo com a Figura 4 em ambos os membros. Em indivíduos sem alterações este ângulo não existe ou é próximo de zero;
- Tamanho dos metacarpos no seu maior eixo em milímetros em ambas as mãos;
- Tamanho das vértebras no seu eixo longitudinal e transversal em milímetros.



**Figura 3: Medida da angulação rádio-ulnar em RX de membro superior esquerdo de pacientes com MPS VI (12 anos)**



**Figura 4: Medida da angulação da giba lombar em RX de coluna lombar de paciente com MPS VI (12 anos).**

## **Ressonância Magnética (RM) de encéfalo**

Todos os pacientes foram submetidos a RM em aparelho de 1.5 Tesla (*Synphony, Siemens, Erlangen, Germany*). O protocolo de RM incluiu cortes axiais paralelos a uma linha que une as porções ântero-inferior e póstero- inferior do corpo caloso. Duas seqüências de pulso foram analisadas: FLAIR e T2. As variáveis qualitativas foram avaliadas por dois pesquisadores cegados para todas as características clínicas dos pacientes e as discrepâncias analisadas em consenso. As variáveis quantitativas foram avaliadas pelo mesmo profissional, habilitado e com experiência na realização destes exames em pacientes com MPS. Não foi realizado qualquer tipo de anestesia ou sedação para realização do exame. Foram analisadas as seguintes variáveis quantitativas: carga lesional da substância branca normalizada (CLN- medida quantitativa numérica da lesão de substância branca normalizada para o tamanho da caixa craniana), volume do líquido cefalorraquidiano normalizado (VLCRN- medida quantitativa numérica do volume do líquido céfalo-raquidiano normalizado para o tamanho da caixa craniana), volume ventricular normalizado (VVN- medida quantitativa numérica do volume ventricular normalizada para o tamanho da caixa craniana) todos medidos através de técnica de segmentação automática e ainda a variável volume cerebral normalizado (VCN medida quantitativa numérica do volume cerebral normalizada para o tamanho da caixa craniana), medido através de técnica semi-automática. As variáveis qualitativas analisadas foram: lesão de substância branca (leve, moderada ou grave), hidrocefalia (presente ou ausente), dilatação de espaços perivasculares (DEP- leve, moderada ou grave), megacisterna magna (presente ou ausente) e atrofia cerebral segundo critérios de VEDOLIN et al (2007) e MATHEUS et al (2004)

## **Dosagem de GAG urinários**

Foi realizada através da coleta de amostra de urina ocasional pelo teste espectrofotométrico do azul do 1,9 dimetilmetileno descrito por JONG et al (1992).

### **Análises Estatísticas**

Os resultados foram analisados através do SPSS V14.0 sob a orientação do Grupo de Pesquisa e Pós Graduação ligado ao Hospital de Clínicas de Porto Alegre e Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Foram considerados significativos valores de  $p < 0.05$ . Variáveis categóricas foram descritas através de freqüências simples e percentagens. As variáveis contínuas com distribuição normal foram descritas através de média com desvio padrão, valores mínimos e máximos. Variáveis contínuas com distribuição assimétrica foram descritas usando mediana com intervalo interquartil (percentis 25 e 75), valores mínimos e máximos. O teste t de Students e de Mann-Whitney foram usados para análise de variáveis contínuas com distribuição normal e assimétrica, respectivamente. As variáveis categóricas foram analisadas usando o teste de Qui-quadrado ( $\chi^2$ ) ou teste Exato de Fischer. O coeficiente de correlação de Pearson ( $r$ ) foi utilizado para correlacionar variáveis com distribuição simétrica e o coeficiente de correlação de Spermán para as demais, para um  $\alpha = 0.05$  e  $\beta = 80\%$ .



## Referências

1. Albano LM, Sugayama SS, Bertola DR, Andrade CE, Utagawa CY, Puppi F, Nader HB, Toma L, Coelho J, Leistner S, Burin M, Giugliani R, Chong AK. Clinical and laboratorial study of 19 cases of mucopolysaccharidoses. *Rev Hosp Clin Fac Med São Paulo* 2000; Nov-Dec 55: 213-8.
2. Alpoz AR, Coker M, Celen E, Ersin NK, Gokcen D, van Diggelenc OP, Huijmansc JG. The oral manifestation of Maroteaux-Lamy syndrome (mucopolysaccharidosis VI): A case report. [Miscellaneous Article]. *Oral surgery, medicine, Pathology, Radiology & Endodontics* 2006; 101 (5):632-37.
3. Applegarth DA, Toone JR, Lowry RB. Incidence of inborn errors of metabolism in British Columbia, 1969-1996. *Pediatrics*. 2000; 105: 109-205.
4. Auclair D, Hopwood JJ, Brooks DA, Lemontt JF, Crawley AC. Replacement Therapy in Mucopolisaccharidosis VI: advantages of early onset therapy. *Mol Genet Metab*. 2003 Mar;78(3): 163-74
5. Azevedo AC, Estudo Clínico e Bioquímico de 28 Pacientes com Mucopolissacaridose tipo VI. [Dissertação de Mestrado]. Porto Alegre. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2002
6. Azevedo AC, Schwartz IV, Kalakun L, Brustolin S, Burin M, Leinster S, Beheregary AP, Boy R, Mabe P, Giugliani, R. Clinical and biochemical study of 28 patients with mucopolysaccharidosis type VI. *Clinical Genetics*, 2004; 66, 208-213.
7. Baehner F, Schmiedeskamp C, Krummenauer F, Miebach E, Bajbouj M, Whybra C, et al. Cumulative Incidence Rates of the Mucopolysaccharidoses in Germany. *J Inherit Metab Dis*. 2005;28:1011-7.
8. Beck M. Mucopolysaccharidoses and oligosaccharidoses. In Fernandes J, Saudubray M, Van der Berghe G Eds. *Inborn metabolic diseases, diagnosis and treatment*. 3<sup>rd</sup> ed. New York: Springer; 2000. p. 415-21.

9. Bielicki J, Craweley AC, Davey RCA, Varnai JC. Advantages of using same species enzyme for replacement therapy in a feline model of mucopolysaccharidosis type VI. *The journal of biological chemistry* 1999; 274: 36335-43.
10. Boor R, Miebach E, Brühl K, Beck M. Abnormal somatosensory evoked potentials indicate compressive cervical myelopathy in mucopolysaccharidoses. *Neuropediatrics* 2000; 31: 122-7.
11. Bradford MT, Litjens T, Parkinson EJ, Hopwood JJ, Brooks DA. Mucopolysaccharidosis type VI (Maroteaux-Lamy syndrome) a Y210C mutation causes either altered protein handling or altered protein function of N-acetylgalactosamine-4-sulfatase at multiple points in the vacuolar network. *Biochemistry*. 2002; Apr 41: 4962-71.
12. Buyukgebitz B, Eroglu Y, Kovanlikaya I, Sen A, Buyukgebitz A. Maroteaux-Lamy syndrome associated with growth hormone deficiency. *J pediatr Endocrinol Metab* 1995; 8 (4):305-7.
13. Byers S, Nuttall JD, crawley AC, Hopwood JJ, Smith K, Fazzalari NL. Effect of enzyme replacement therapy on bone formation in a feline model of mucopolisaccharidosis type VI. *Bone* 1997 Nov;21 (5):425-31.
14. Cailland C, Poenaru L. Gene therapy in lysosomal diseases. *Biome & Pharmacother*. 2000; 54: 505-12.
15. Casanova FHC, Adan CBD, Allemann N, Freitas D. Findings in the anterior segment on ultrasound biomicroscopy in Maroteaux-Lamy syndrome. *Cornea* 2001; 20: 333-8.
16. Chamoles N, Campoy C, Jorge L, Fusca M, Menescau M, Blanco M, Schenone A, Fuertes A. Detección de enfermedades metabólicas en un período de 24 años. Abstract of 11<sup>o</sup> Latin American Congress of Genetics. Puerto Valarta. Mexico. 1994. n<sup>o</sup> 418.
17. Coelho JC, Wajner M, Burin MG, Vargas CR, Giugliani R. Selective screening of 10.000 high-risk Brazilian patients for the detection of inborn errors of metabolism. *Eur J Pediatr* 1997; 156: 650-4.

18. Collins MLZ, Traboulsi EI, Maumenee IH. Optic nerve head swelling and optic atrophy in the systemic mucopolysaccharidoses. *Ophthalmology* 1990; 97: 1445-9.
19. Crawley AC, Brooks DA, Muller VJ, Petersen BA, Isaac EL, Bielick J, et al. Enzyme Replacement Therapy in a Feline Model of Maroteaux-Lamy Syndrome. *J Clin Invest* 1996 apr 1597 (8): 1864-73.
20. Crawley AC, Yogalingam G, Muller VJ, Hopwood JJ. Two mutation within a feline mucopolisaccharidosis type VI colony cause three different clinical phenotypes. *J Clin Invest* 1998; 101: 109-19.
21. Dangel JH. Cardiovascular changes in children with mucopolysaccharide storage diseases and related disorders – clinical and echocardiographic findings in 64 patients. *Eur. J. Pediatr* 1998; 157: 534-8.
22. Fraser J, Wraith JF, Delatycki MB. Sleep disturbance in mucopolysaccharidosis Type III (Snfilippo syndrome): a survey of managing clinicians. *Cil Gent* 2002; 62: 418-21.
23. Garrod AE, Lond OFR. The incidence of alkaptonúria: a study in chemical individuality. *The Lancet*.1908;13: 1616-20. [www.ssiem.org.uk](http://www.ssiem.org.uk). 2004.
24. Giugliani R. Erros inatos do metabolismo: uma visão panorâmica. *Pediatria Moderna*. 1988; 23: 29-38.
25. Hamil PVV, Drizd TA, Johnson CL, Reed RB, Roche AF, Moore WM. Physial growth: National Center of Health Statistics percentiles. *Am J Ci Nutr* 1979; 32: 607-29.
26. Harmatz P, Giugliani R, Schwartz I, Guffon N, Teles EL, Miranda CS, Wraith E, Beck M, Arash L, Scarpa M, Yu ZF, wittes J, Berger KI, Newman MS, Lowe AM, Kakkis E, Swiedler SJ and MPS Study Group. Enzyme Replacement Therapy for Mucopolysaccharidosis VI: A Phase 3, Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled, Multinacional Study of Recombinant Human N-Acetylgalactosamine4-Sulfatase (Recombinant Human Arylsulfatse B or RhASB) and Follow-on Open-label Extension Study. *The Journal of Pediatrics*. 2006; April: 533-539.

27. Harmatz P, Ketteridge D, Giugliani R, Guffon N, Teles EL, Miranda MC, et al, Direct comparasion of measures of endurance, mobility, and joint function during enzyme-replacement therapy of Mucopolisaccharidosis VI (Maroteaux-Lamy Syndrome): results after 48 weeks in a phase 2 open-label clinical study of recombinant human N-acetylgalactosamine 4-sulfatase. *Pediatrics*. 2005; Jun:115 (6):e681-e689.
28. Harmatz P, Whitley C, Belani K, Waber L, Pais R, Steiner R, et al. A Phase I/II randomized double-blind two dose group study of recombinant human n-acetylgalactosamine-4-sulfatase (rhASB) enzyme replacement therapy in patients with Mucopolisaccharidosis (MPS) VI (Maroteaux-Lamy Syndrome). *Am J hum Genet*. 2001;69 (4):674.
29. Harmatz, Whitley, Waber, Pais, Steiner, Plecko et al. Enzyme replacement therapy in mucopolysaccharidosis VI (Maroteaux-Lamy Syndrome). *J Pediatr* 2004;144 (5), 574-580.
30. Herskhovitz E, Young E, Rainer J, Hall CM, Lidchi V, Chong K, Vellodi A. bone marrow tranplantation for Maroteaux-Lamy syndrome (MPS VI): long term follow up. *J. Innher. Metabo. Dis*. 1999; 22: 50-62.
31. Hite SH, Krivit W, Haines SJ, Whitley CB. Syringomyelia in mucopolysaccharidosis type VI (Maroteaux-Lamy syndrome): imaging findings following bone marrow transplantation. *Pediatr Radiol* 1997; 27: 736-8.
32. <http://www.uwcm.ac.uk/uwcm/mg/search/>. Human Gene Mutation Database (HGMD) 2007.
33. Jong JCN, Wevers RA, Liebrand-van Sambeek R. Measuring urinary glycosaminoglycans in the presence of protein: an improved screening procedure for mucopolysaccharidoses based on dimethylmethylene blue. *Clin Chem* 1992; 38: 803-7.
34. Karageorgos L, Harmatz P, Simon J, Pollard A, Clements PR, Brooks DA, Hopwood JJ. Mutatioin Analysis of Mucopolisaccharidosis Type VI Patients Undergoing a Trial of Enzyme replacement Therapy. *Human Mutation* 2004. 23; 229-233.

35. Kavanakos R, Turner CT, Hopwood JJ, Kakkis ED, Brooks DA. Immune tolerance after long-term enzyme-replacement therapy among patients who have mucopolysaccharidosis I. *Lancet* 2003; 361:1608-13.
36. Ketteridge D, Oates S, Kennedy D, Martin J, Simons J, Hopwood J, Lubitz I, Sillence D, Frischmann W, Harmatz P. Changes in Sleep Apnoea With Enzyme Replacement Therapy in Mucopolysaccharidosis Type VI. In: Besley GTN, Pollitt RJ, Brown GK, Hoffmann GF, Gibson KM editors. SSIEM 42st Annual Symposium, 2005. *J. Inherit. Metab. Dis.* 2005; 28 (1): 192.
37. Lange MC, Teive HAG, Troiano AR, Bitencourt M, Funke VAM, Setúbal DC, Neto JZ, Medeiros CR, Werneck LC, Pasquini R, Bonfim CMS. Boné Marow Transplantation in Patients with Storage Disease- A developing country experience. *Arq Neuropsiquiatr* 2006; 64 (1):1-4.
38. Leighton SEJ, Papsin B, Vellodi A, Dinwiddie R, Lane R. Disorders breathing during sleep in patients with mucopolysaccharidoses. *Int. J. Pediatr. Otorhinolaryngol.* 2001; 58: 127-38.
39. Litjens T, Baker EG, Beckmann KR, Morris CP, Hopwood JJ, Callen DF. Chromosomal localization of ARSB, the gene for human N-acetylgalactosamine-4-sulphatase. *Hum Genet* 1989; 82: 67-8.
40. Litjens T, Hopwood J.J. Mucopolysaccharidosis type VI: structural and clinical implications of mutation in N-acetylgalactosamine-4-sulfatase. *Hum Mutat* 2001; 18: 282-95.
41. Lowry RB, Applegarth DA, Toone JR, MacDonald E, Thunem NY. An update on the frequency of mucopolysaccharide syndromes in British Columbia. *Hum Genet.* 1990;85:389-90.
42. Mabe P, Leistner S, Schwartz I, Matte U, Giuliani R. Mucopolisacaridosis. In: Colombo M, Cornejo V, Raimann E, eds. *Errores innatos en el metabolismo del niño.* 2ª ed. Santiago de Chile. Editora Universitaria. 2003. p. 225-56.
43. Macri B, Marino F, Mazzullo G, Trusso A, De Maria F, Amedeu S, Divari S, Castagnaro M. Mucopolysaccharidosis VI in a siameses/short-haired European cat. *J. Vet. Med. A Physiol. Pathol. Clin Med.* 2002; 49: 438-42.

44. Matheus MG, Castillo M, Smith JK, Armao D, Towle D, Muenzer J. Brain MRI findings in patients with mucopolysaccharidosis types I and II and mild clinical presentation. *Neuroradiology* 2004; 46: 666-72.
45. Matte US. Caracterização molecular de pacientes com mucopolissacaridose tipo I: um estudo no Brasil [dissertação de mestrado]. Porto Alegre (RS): Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 1998.
46. Meikle PJ, Hopwood JJ, Clague AE, Carey WF. Prevalence of lysosomal storage disorders. *JAMA* 1999; 281: 249-54.
47. Michelakakis H, Dimitrou E, Tsaggaraki S, Giououroukos S, Schulpis K, Bartsocas CA. Lysosomal storage diseases in Greece. *Genetic Counseling* 1995; 6: 43-7.
48. Motamed M, Thorne S, Narula A. Treatment of otitis media with effusion in children with mucopolysaccharidoses. *Int. J. Pediatr. Otorhinolaryngol.* 2000; 53: 121-4.
49. Nascimento E, Figueiredo VLM. WISC-II e WAIS-III: alterações nas versões originais americanas decorrentes das adaptações para uso no Brasil. *Psicol.Reflex. Crit.* 2002; 15- 3-10.
50. Nellhaus G. Head circumference from birth to eighteen years: Practical composite international and interracial graphs. *Pediatr* 1968; 41:106-14.
51. Nelson J. Incidence of the mucopolysaccharidoses in Northern Ireland. *Hum Genet.* 1997; 101: 355-8.
52. Neufeld EF, Muenzer J. The mucopolisaccharidosis. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly S, Valle D, Childs B, Kinzler KW, Vogelstein B, eds. *The metabolic and molecular basis of inherited disease.* 8<sup>a</sup> ed. New York: McGraw-Hill. 2001.p.3421-52.
53. Nyhan WL, Ozand PT. Maroteux-Lamy disease/ Mucopolysaccharidosis VI (MPS VI)/ N-Acetylgalactosamine-4-sulfatase deficiency. In Nyhan WL, Ozand PT. *Atlas of Metabolic Diseases.* 1a ed. London: Chapman & Hall Medical. 1998. p 477- 81.
54. Peters C, Rommerskirk W, Modaressi S and Von Figura K. Restoration of arylsulfatase B activity in human mucopolysaccharidosis-type-VI fibroblast

- by retroviral-vector-mediated gene transfer. *Biochem J. Great Britain.* 1991  
276,499-5043
55. Peters C, Schmidt B, Rommerskirch W. Phylogenetic conservation of arylsulfatases; cDNA cloning and expression of human arylsulfatase B. *J. Biol. Chem.* 1990; 265: 3374-81.
56. Petry MGF, Dieter T, Burin M, Giugliani R, Leistner S. Identification of a novel mutation in the ARSB gene that is frequent among Brazilian MPS VI patients. *Genetic Testing* 2003 7:347-349
57. Petry MGF, Nonemacher K, Sebben JC, Schwartz IVD, Azevedo ACM, Burin MG, De Rezende RA, Kin CA, Giugliani R, Leistner-Segal S. Mucopolysaccharidosis type VI: Identification of novel mutation on the arylsulfatase B gene in South-American patients. *J Inherit Metab Dis* 2005 Sep 28 1-8.
58. Pilz H, von Figura K and Goebel H. Deficiency of arylsulfatase B in brothers aged 40 and 38 years (Maroteaux-Lamy syndrome type B). *Ann Neurol.* 1979 Oct; 6 (4): 315-25
59. Pinto R, Caseiro C, Lemos M, Lopes L, Fontes A, Ribeiro H, et al. Prevalence of lysosomal storage diseases in Portugal. *Eur J Hum Genet.* 2004; Feb;12(2):87-92.
60. Poorthuis BJHM, wevers RA, Kleijer WJ, Groener JEM, de Jong JGN, van Weely S et al. The frequency of lysosomal storage diseases in The Netherlands. *Hum Genet.* 1999; 105: 151-6.
61. Saul RA, Stevenson RE, Taylor HA. Atypical presentation with normal stature in Maroteaux-Lamy syndrome (MPS VI). *Proc Greenwood Genet Center* 1984; 3: 49-52.
62. Schwartz IVD, Matte US, Leistner S, Giugliani R. Mucopolissacaridoses. In: Carakushanski G. *Doenças Genéticas em Pediatria.* 1ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2001. p. 180-4.
63. Schwartz IVD. Mucopolissacaridose tipo I – análise da variabilidade clínica e sua associação com o genótipo em pacientes brasileiros [dissertação de

- mestrado]. Porto Alegre (RS): Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 2000.
64. Shih SL, Lee YJ, Lin SP, Sheu CY, Blickman JG. Airway changes in children with mucopolisaccharidoses – CT evaluation. *Acta Radiologica* 2002; 43: 40-3.
  65. Swiedler SJ, Beck M, Bajbouj M, Giugliani R, Schwartz I, Harmatz P, Wraith JE, Roberts J, Ketteridge D, Hopwood JJ, Guffon N, Sá Miranda MC, Teles EL, Berger KI, Pisciá-Nichols C. 2005. Threshold effect of urinary glycosaminoglycans and the walk test as indicators of disease progression in a survey of subjects with mucopolysaccharidosis VI (Maroteaux-Lamy syndrome). *Am J Med Genet A* 134:144-150.
  66. Taybi H and Llachman RS. *Radiology of Syndromes, Metabolic Disorders, and Skeletal Dysplasias*, 4<sup>a</sup> ed. St. Louis, Missouri: Mosby; 1996. p. 670-682.
  67. The Psychological Corporation. USA. Wechsler Intelligence Scale for Children. WISC III Manual. Translated and Adapted by permission. Adaptación y supervisión de la versión castellana del Equipo de Especialistas dirigido por las profesoras María Martina Casullo Y Haydee Echeverría. 1994. Editorial Paidós, Buenos Aires. P 21-30.
  68. Thompson JN. The Mucopolysaccharidoses. In Blau N, Duran M, Blaskovics ME, Gibson KM, eds. *Physician's Guide to the Laboratory Diagnosis of Metabolic Diseases*. 2a ed. New York. Springer. 2003 p 377-393.
  69. Thorne JA, Javadpour M, Hughes DG, Wraith E, Cowie RA. Craniovertebral abnormalities in type VI mucopolysaccharidosis (Maroteaux-Lamy syndrome). *Neurosurgery* 2001; 48: 849-53.
  70. Tunner CT, Hopwood JJ, Bond CS, Brooks DA. Immune response to enzyme replacement therapy: 4-sulfatase epitope reactivity of plasma antibodies from MPS VI cats. *Mol. Genet. Metab.* 1999; 67: 194-205.
  71. Tylki-Szymanska A, Czartoryska B, Lugowska A, Górská D. The prevalence and diagnosis of lysosomal storage diseases in Poland. *Eur. J. Pediatrics* 2001; 160: 261-2.



72. Varssano D, Cohen J, Nelson LB, Eagle RC. Corneal Transplantation in Maroteaux-Lamy Syndrome. *Arch Ophthalmology* 1997; 115 (3):428-31.
73. Vedollin LM, Schwartz IVD, Schuch A, Komlos M, Puga AC, Pinto LLC, Pires AP, Giugliani R. Mucopolysaccharidosis type II: are MRI and MRS findings markers of brain dysfunction?. *Am J Neuroradiology* 2007; 28:1029-1033.
74. Vestermark S, Tonnesen T, Andersen MS, Guttler F. Mental Retardation in a Patient with Maroteaux-Lamy. *Clin Genet*. 1987 Feb;31 (2):114-7.
75. Von Muhlendahl KE and Bradac GB. Empty sella syndrome in a boy with mucopolisaccharidosis type VI (Maroteaux-Lamy). *Helv Paediatr Acta* 1975; 30 (2):185-90.
76. Vougioukas VI, Berlis A, Kopp MV, Korinthenberg R, Spreer J. Neurological Interventions in Children with Maroteaux-Lamy Syndrome. *Pediatric Neurosurgery* 2001; 35: 35-38.
77. Wenger DA, Coppola S, Shu-Ling. Lysosomal storage disorders: Diagnostic dilemmas and prospect for therapy. *Genetics in Medicine* 2002; 4: 412-19.
78. Whitley CB. The Mucopolysaccharidoses. In Beighton, eds. *McKusick's Heritable Disorders of Connective Tissue*. 5<sup>a</sup> ed. St. Louis. Mosby. 1993 p 367-499.
79. Wicker G, Prill V, Brooks D, Gibson G, Hopwood J, von Figura K, Peters C. Mucopolisaccharidosis VI (maroteaux-Lamy sindrom) an intermediate clinical phenotype caused by substitution of valine for glycine at position 137 of arylsulfatase B. *J Biol Chem* 1991; 266:21386-91.
80. Wraith JE, Clarke LA, Beck M, Kolodny EH, Pastores GM, Muenzer J, et al. Enzyme Replacement Therapy for Mucopolisaccharidosis I: a randomized, double-blinded, placebo-controlled, multinational study of recombinant human alpha-L-iduronidase (laronidase). *J Pediatr* 2004 May;144 (5): 581-8.
81. Wraith JE. The mucopolisaccharidoses: a clinical review and guide to management. *Arch. Dis. Chil.* 1996; 72: 263-7.
82. Yogalingam G, Hopwood JJ, Crawley A, Anson DS. Mild feline mucopolysaccharidosis type VI. Identification of an N-acetylgalactosamine-

4-sulfatase mutation causing instability and increased specific activity. *J Biol Chem* 1998; 273: 3421-9.

83. Yogalingam G, Muller V, Hopwood JJ, Anson DS. Regulation of N-acetylgalactosamine-4-sulfatase expression in retrovirus transduced feline mucopolysaccharidosis type VI muscle cells. *DNA Cell Biol* 1999; 18: 187-95.

## Considerações Finais

Esta tese vem como uma continuação, mais aprofundada da Dissertação sob o título: Estudo Clínico e Bioquímico de 28 pacientes com Mucopolissacaridose tipo VI buscando refinar os dados obtidos em busca de critérios mais objetivos para determinar a gravidade da doença. A gravidade ou a progressão da doença? Na verdade este é um dilema ainda não esclarecido, pois existem pesquisadores que se referem a formas lentamente ou rapidamente progressiva da doença ou formas leves, moderadas ou graves da doença. Preferimos chamar de gravidade e não progressão da doença, na medida que acreditamos que um paciente pode ser grave sem ter uma doença rapidamente progressiva, que seria o seu equivalente.

A amostra de pacientes deste trabalho, em parte, fez parte do trabalho de SWIEDLER et al (2005), no qual é sugerido um ponto de corte de GAG urinário de 200  $\mu\text{g}/\text{mg}$  creat. para diferenciar pacientes com a forma rapidamente progressiva e forma mais leve, assim como eles inferem que pacientes com menos de 100  $\mu\text{g}/\text{mg}$  creat. teriam uma maior sobrevida. Sabendo disso, constatamos a gravidade de doença da nossa amostra, onde não há nenhum paciente com GAG urinário  $<100$   $\mu\text{g}/\text{mg}$  creat. e apenas 2 pacientes com GAG urinário  $<200$   $\mu\text{g}/\text{mg}$  creat. Acreditamos que por ser essa amostra homogênea (grave) e, de todo modo pequena, não tenha sido possível dividi-la em grupos leve, moderado e grave a fim de estabelecer mais claramente critérios de gravidade da doença.

Outra consideração a ser feita é sobre a causa de aparentemente termos predominantemente pacientes graves. Um possível viés de seleção explicaria pacientes com doença mais leve, já que os pacientes precisaram se deslocar de suas cidades até Porto Alegre. Sabendo da dificuldade diagnóstica e mesmo de suspeição inicial da doença, acreditamos que talvez os pacientes com doença mais leve no Brasil, não chegam a ser diagnosticados. O artigo: MPS VI: Uma revisão para Pediatras submetido à publicação na Revista da Escola Paulista de

Medicina, pretende melhorar o conhecimento do profissional a quem primeiro procura uma família com criança suspeita de MPS.

Finalmente, de acordo com a literatura e levando em conta os achados deste trabalho, acreditamos que quanto maior o déficit de peso, déficit de altura, excreção de GAG urinário, encurtamento de metacarpos e lesão de substância branca, mais grave será o paciente. Pelo já estabelecido e demonstrado neste estudo, quanto mais precoce for o início dos sintomas, mais grave é a doença.

Acreditamos que seja importante ainda levar em conta, para considerar a gravidade da doença, fatores importantes na determinação da mortalidade precoce associada a doença, como as alterações cardiológicas e pulmonares, especialmente a apnéia obstrutiva do sono que não foram estudados neste trabalho.

Com o início da TRE, é importante termos critérios de gravidade de doença, até para saber até que ponto esta terapia poderá modificar a história natural da doença de maneira positiva. Este trabalho pretende contribuir para a determinação destes critérios de gravidade.

## **ANEXO I**

### **TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE ESCLARECIDO**

**Termo de Consentimento Livre Esclarecido**  
**CONSENTIMENTO PARA SER UM PACIENTE DA**  
**PESQUISA**

**Título: Fatores Preditivos Associados a Gravidade na Mucopolissacaridose Tipo VI**

**Nome do Médico do Estudo: Dra Ana Cecília Azevedo e Dr. Roberto Giugliani**

**Telefone de Contato de Emergência: (051) 9994-6066**

**Telefone de Contato: (51) 3333-2125**

Você está sendo convidado a participar deste estudo porque você tem Mucopolissacaridose VI (MPS VI) e não produz a enzima *N*-acetilgalactosamina 4-sulfatase (arilsulfatase B ou ARSB) em quantidade ou qualidade suficiente. Por causa disto, o seu corpo acumula os glicosaminoglicanos (ou mucopolissacarídeos), substâncias que deveriam ser destruídas pela enzima ARSB. O acúmulo (depósito) de glicosaminoglicanos ou mucopolissacarídeos no seu corpo ocasiona as manifestações clínicas da MPS VI.

As pessoas que possuem MPS VI possuem diversas alterações físicas e fisiológicas relacionadas com a doença que podem ser mais atenuadas ou mais graves. Até hoje não se tem um consenso em se dizer quais alterações são características de uma forma de outra da doença. Acredita-se que uma caracterização mais precisa de gravidade seja importante por que a partir dela poderia se prever o aparecimento de alterações que prejudicam muito a qualidade de vida dos indivíduos com a doença, por exemplo, a mielopatia cervical (que pode levar a uma forma de paralisia), a hidrocefalia (que pode levar a cegueira). A partir desta classificação também se poderia fazer uma correlação mais adequada também entre as alterações clínicas e àquelas genéticas o que seria útil também no prognóstico e no planejamento e monitorização de resposta ao tratamento.

Este termo de consentimento pode conter palavras que você não entenda. Por favor, peça ao seu médico para explicar quaisquer palavras ou informações que você não entenda claramente. Não assine este formulário a menos que você tenha a chance de fazer todas as perguntas e esteja satisfeito com as respostas a todas as suas questões.

Este estudo está sendo conduzido para determinar fatores associados com a gravidade da doença em indivíduos com MPS VI e para fazer uma correlação entre as alterações clínicas, bioquímica e radiológicas de cada paciente. Foi realizado um estudo em 2002 que estudou os sinais e sintomas apresentados por pacientes com MPS VI. Os resultados deste estudo serviram de base para a elaboração deste estudo.

Para participar deste estudo você/ seu filho (a) deve ter diagnóstico clínico e bioquímico de MPS VI e consentir em participar das avaliações relacionadas.

#### PROCEDIMENTOS DO ESTUDO E DURAÇÃO

É estimada a inclusão de cerca de 30 pacientes com diagnóstico clínico e bioquímico de MPS VI. Este estudo será conduzido no Hospital de Clínicas de Porto Alegre, por tanto você e seu filho (a) deverá ficar nesta cidade por um determinado tempo (de 3 a 5 dias) para realizar as avaliações necessárias citadas abaixo.

Exame Físico: um exame físico completo padrão será realizado incluindo medidas de altura quando sentado e em pé, medida de peso, de perímetro cefálico, de pressão arterial, ausculta cardíaca e pulmonar, exame do abdome e dos membros.

História Médica: será questionada a existência de sinais e sintomas relacionados a MPS VI, bem como toda a história médica.

Raio X de mãos e coluna lombar: será realizado um exame de RX das mãos e coluna lombar para identificar alterações relacionadas a MPS VI.

Ressonância Magnética de Encéfalo: será realizado com a finalidade de identificar as alterações no encéfalo (cérebro) relacionadas a MPS, como hidrocefalia. Não será realizado qualquer tipo de anestesia ou sedação para a realização deste exame. Se esse exame já foi realizado pelo mesmo profissional em outro momento, não será necessário repeti-lo.

Coleta de urina: será coletada a primeira urina da manhã através do uso de recipiente estéril (fornecido ao pacientes) ou saco coletor (fornecido ao paciente) para a dosagem de glicosaminoglicanos na urina.

Testagem de quociente de inteligência (QI): será usado um teste aplicado por uma psicóloga com experiência em avaliação de pacientes com Mucopolissacaridose.

Todos os exames e avaliações realizados não oferecem risco ou desconforto importantes, sendo não invasivos e indolores.

Sua participação no estudo pode auxiliar os médicos do estudo a ter maiores informações sobre a doença MPS VI e seu comportamento

As informações sobre você e sobre sua saúde que estaremos coletando durante o estudo serão mantidas em formulários especiais usados para o estudo e no seu prontuário médico. É solicitado a você que nos deixe divulgar seus dados a outras pessoas também envolvidas no estudo. Caso você não esteja disposto a divulgar seus dados a outras pessoas envolvidas no estudo, você não poderá participar do estudo. Você será informado sobre os resultados obtidos nos exames através de um relatório médico que também poderá ser enviado ao seu médico, com seu consentimento.

Sua participação neste estudo é voluntária. Você pode deixar o estudo a qualquer momento e por qualquer razão. Se você decidir não participar do estudo ou sair do estudo, você continuará a ter os cuidados médicos necessários de seu médico local. Não há penalidade ou perda de benefício caso você decida em não participar do estudo ou se você desejar sair do estudo.



Caso você tenha qualquer problema médico relacionado ao estudo você deve contactar o Dr. Roberto Giugliani no telefone (051) 2101-8011, localizado no Serviço de Genética Médica do Hospital de Clínicas de Porto Alegre ou Dra. Ana Cecília Azevedo nos telefones 2101-8011 ou 9994-6066 (24 horas ao dia) para cuidados médicos apropriados.

Se você tiver alguma pergunta sobre o estudo, antes de decidir se participa do estudo ou mesmo, durante o estudo dirija suas perguntas a equipe do Dr. Roberto Giugliani no telefone (051) 2101-8011 ou ao Dra. Ana Cecília Azevedo no número 2101-8011 ou 9994-6066 (24 horas por dia).

Se você tiver dúvidas quanto aos seus direitos como paciente neste estudo e gostaria de fazer perguntas para pessoas que não estão envolvidas com este estudo, por favor contate o Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, no número (051) 2101-8304.

#### DECLARAÇÃO DO PACIENTE DO ESTUDO E ASSINATURA:

Ao assinar abaixo você está indicando que :

Eu li e entendi as informações acima, eu tive a oportunidade de fazer perguntas e estas perguntas me foram respondidas de acordo com a minha satisfação, eu voluntariamente concordo em participar ou ter meu filho participando do estudo e irei receber uma cópia deste termo de consentimento assinado.

---

Assinatura do Participante (se participante maior de 18 anos) e data

Nome do Participante: \_\_\_\_\_

---

Assinatura do Familiar/ Responsável (se participante menor de 18 anos) e data

Nome do Familiar/ Responsável: \_\_\_\_\_

## CONSENTIMENTO PARA A PARTICIPAÇÃO DE CRIANÇA

Se você receber explicações sobre este estudo, teve a oportunidade de fazer todas as perguntas que você queria e você concorda em participar, assine no local abaixo.

---

Assinatura da Criança (se participante menor de 18 anos) e a Data

Nome da Criança : \_\_\_\_\_

## DECLARAÇÃO DO INVESTIGADOR OU PESSOAL AUTORIZADO:

*Eu certifico que eu expliquei às pessoas acima citadas a natureza e proposta do estudo, benefícios potenciais e possíveis riscos associados com a participação neste estudo ao paciente e/ou pessoa autorizada a consentir para este estudo. Eu respondi quaisquer perguntas que tenham sido feitas e testemunhei as assinaturas acima. Eu expliquei o acima exposto ao paciente e/ou pessoa autorizada a consentir para este estudo na data deste termo de consentimento. Eu sou qualificado para realizar esta tarefa.*

---

Assinatura do Investigador ou Pessoa que está Obtendo o Consentimento e a Data

Nome do Investigador ou Pessoa que está Obtendo o Consentimento:

---

## **ANEXO II**

### **FICHA CLÍNICA**

#### **FORMULÁRIO PARA COLETA DE DADOS**



Cirurgia de descompressão medular (se sim, descrever o tipo de cirurgia e a idade de realização)
Cirurgia de derivação ventrículo-peritoneal (se sim, descrever o tipo de cirurgia e a idade de realização)
Outras cirurgias com descrição e idade de realização

DOSAGEM GAGs URINÁRIOS

Quantificação (em mg/mmol creat.):
Valor de referência para a idade:
% acima do limite superior da normalidade:
Veze acima do limite superior da normalidade:

EXAME FÍSICO (descrição em anexo)

ANTROPOMETRIA		
Peso (g):	Percentil p/ idade:	Idade no percentil 50 para o peso atual:
Altura (cm):	Percentil p/ idade:	Idade no percentil 50 para a altura
Per.cefálico (cm):	Percentil p/ idade:	Idade no percentil 50 para o

AVALIAÇÃO RADIOLÓGICA (descrição em anexo)

AVALIAÇÃO POR RM (descrição em anexo)

## **ANEXO III**

### **AVALIAÇÃO RADIOLÓGICA**

## AVALIAÇÃO RADIOLÓGICA DE PACIENTES COM MPS VI

Paciente: \_\_\_\_\_

### Estudo radiológico de mãos e punhos:

1) Aumento da angulação da porção distal do rádio em relação à ulna<sup>1</sup>?

( ) sim: ângulo : \_\_\_\_\_ ( ) não ( ) não foi possível a aferição

2) Metacarpos:

Metacarpos D	Eixo longitudinal(mm)
1	
2	
3	
4	
5	
Metacarpos E	Eixo longitudinal(mm)
1	
2	
3	
4	
5	

3) Observações:

---

### Estudo radiológico de coluna lombar:

1) Giba toracolombar: ( ) sim. Vértebra : \_\_\_\_\_ Angulação\_\_\_\_ ( ) não

2) Vértebras lombares:

	Normal	Alteração	Eixo longitudinal(mm)	Eixo transversal(mm)
1				
2				
3				
4				
5				

3) Observações:

---

---

<sup>1</sup> Isoladamente chamada de Deformidade de Madelung

## **ANEXO IV**

### **AVALIAÇÃO POR RESSONÂNCIA MAGNÉTICA**



## **AVALIAÇÃO POR RESSONÂNCIA MAGNÉTICA DE CRÂNIO**

Todos os pacientes foram examinados com um aparelho de RM de 1.5T (Symphony, Siemens, Erlangen, Germany).

### **Variáveis Analisadas:**

#### **Qualitativas:**

Atrofia Cerebral (presente ou ausente)

Dilatação de espaços perivasculares (leve, moderada ou grave)

Lesão de substância branca (leve, moderada ou grave)

Hidrocefalia (presente ou ausente)

Megacisterna Magna (presente ou ausente)

#### **Quantitativas:**

Volume Cerebral Normalizado (VCN):

Volume do Líquido Cefalorraquidiano Normalizado (VLCRN)

Volume Ventricular Normalizado (VVN)

Carga Lesional Normalizada (CLN) na substância branca (SB)

### **Método Empregado e Protocolo de Realização:**

Para quantificação das variáveis de RM, foi utilizado método de segmentação semi-automático e automático. Foram realizados cortes axiais paralelos a uma linha que une as porções ântero-inferior e póstero-inferior do corpo caloso e duas seqüências de pulso foram utilizadas: (1) FLAIR (tempo de repetição de 9000 msec, tempo de eco de 114msec e tempo de inversão de 2500

mseg) e (2) T2 (tempo de repetição de 4000 msec e tempo de eco de 99 msec). A espessura das imagens foi de 5 mm, o campo de visão (FOV) variou entre 180 a 230 mm e o tamanho dos pixels ficou entre 0.45 to 0.55 cm. Não foi utilizado contraste paramagnético.

A análise das imagens foi realizada em uma estação de trabalho por dois pesquisadores. Eles estavam cegados para os dados clínicos dos pacientes

As variáveis qualitativas foram analisadas em separado e as discrepâncias decididas em consenso.

### **Análise das imagens**

Para o pré-processamento, segmentação e análise quantitativa foi utilizado o Image J (<http://rsb.info.nih.gov/ij>) do National Institute of Health (NIH). Esta ferramenta utiliza técnicas automáticas e semi-automáticas de segmentação. Os volumes foram quantificados em voxels usando o programa Voxel Counter do Image J. Para normalização, a tábua externa do crânio foi definida como a margem periférica do volume estudado. Volumes normalizados corrigidos para diferentes tamanhos de crânio foram usados para análise estatística.

O VCN foi medido usando-se uma técnica semi-automática. O método consiste na definição de regiões de interesse que são mapeadas de acordo com algoritmo de crescimento (seeded region growing algorithm). As bordas do crânio e dos hemisférios cerebrais foram delimitadas com a utilização da ferramenta Multi Cell Outliner tool (<http://rsb.info.nih.gov/ij/plugins/multi-cell-outliner.html>). Nós também aplicamos a correção manual para considerar os ocasionais erros de classificação de áreas não-cerebrais. Em alguns indivíduos com maior volume craniano, as regiões mais superiores ou mais inferiores (5 a 10 mm) não foram incluídas na análise de volume. Devido à normalização, a cobertura incompleta não afeta o volume normalizado final.

O VLCRN, VVN e CLN foram medidos utilizando-se uma técnica de segmentação automática. Um algoritmo em duas etapas foi realizado.

Primeiramente, a estrutura que seria estudada foi delimitada por um pesquisador treinado, experiente no uso de técnicas de segmentação. Para o VLCRN e o VVN uma imagem axial ponderada em T2 foi usada. Para o volume de CLN uma imagem axial FLAIR foi empregada para realização das medidas. Logo após, a técnica de threshold foi usado nas estruturas para se obter o volume absoluto totais. O VVN foi medido nos ventrículos laterais de forma que o III e o IV ventrículos não foram incluídos na análise. O padrão utilizado para determinação das variáveis qualitativas segue o realizado por VEDOLIN et al (2007) e MATHEUS et al (2004).

## **ANEXO V**

### **TABELA GERAL COM RESULTADOS BRUTOS**

#	Idade cronológica (anos)	Idade início (anos/meses)	Idade diagnóstico (anos)	Consanguinidade.	Déficit visual	Déficit auditivo	Uso de CPAP	Apnéia do sono	QI Total	QI Verbal	QI Execução	Potencial Cognitivo
1	4,4	0,3/3,0	2,3						65,0	67,0	69,0	7,0
2	4,6	0,5/6,0	1,0						94	105	85	8,0
3	5,6	0,3/4,0	1,2				X	X	82,0	75,0	93,0	5,0
4	5,6	0,3/4,0	2,1	X					71	75	73	5,0
5	5,9	0,6/7,0	0,2	X				X	59,0	59,0	67,0	2,0
6	6,9	0,3/4,0	0,5					X	72	64	86	2,0
7	7,4	0,0/0,0	7,4		X			X	-	76	-	8,0
8	7,5	0,0/0,0	1,5	X			X	X	74,0	67,0	86,0	7,0
9	8,2	1,7/20	1,7					X	125,0	124,0	122,0	17,0
10	9,2	0,0/0,0	3,9	X				X	50,0	53,0	54,0	4,0
11	10,0	3,5/42	4,5					X	75,0	87,0	67,0	7,0
12	10,2	1,0/12	7,0					X	83,0	87,0	82,0	9,0
13	10,5	1,5/18	2,7		X			X	66,0	79,0	57,0	7,0
14	10,6	0,0/0,0	3,0		X			X	-	78	-	6,0
15	10,7	0,7/9	1,3					X	65,0	87,0	47,0	10,0
16	11,7	1,7/20	3,0			X			71	71	77	7,0
17	12,2	0,7/8,0	9,1					X	78,0	79,0	79,0	7,0
18	12,8	0,5/6	2,0		X			X	-	81,0	-	8,0
19	12,8	0,2/2,0	12,0		X			X	-	98	-	10,0
20	12,9	2,5/9,0	9,0					X	75,0	79,0	75,0	8,0
21	13,0	1,5/18	9,5	X	X	X		X	-	45	-	2,0
22	14,1	0,0/0,0	14,1		X	X		X	-	45	-	2,0
23	15,4	2,5/30	4,5		X	X	X	X	-	121,0	-	12,0
24	19,6	0,3/3,0	3,5	X	X		X	X	-	89	-	7,0
25	23,4	5,5/66	13,0		X	X		X	-	71	-	4,0

Os pacientes nº 7, 14, 18, 19, 21, 22, 23, 24 e 25 não conseguiram concluir todos os subtestes de execução por déficit visual e/ou auditivo importantes não sendo para estes quantificado o QI total.

#	Idade cronológica (anos)	volume cerebral normalizado (%)	Lesão substância branca normalizada(%)	Volume Liquor normalizado (%)	Hidrocefalia	Lesões Subst. Branca	Megacisterna Magna	Atrofia cortical	Espaços Perivascularares dilatados
1	4,4	-	-	-	-	-	-	-	-
2	4,6	58,07	3,57	4,72	Não	Grave	Presente	Ausente	Leve
3	5,6	54,05	1,99	6,43	Não	Moderada	Ausente	Presente	Leve
4	5,6	59,55	0,96	12,09	Sim	Leve	Presente	Presente	Moderada
5	5,9	58,42	0,00	9,24	Não	Leve	Ausente	Presente	Leve
6	6,9	57,98	3,11	2,36	Sim	Leve	Ausente	Ausente	Leve
7	7,4	60,10	0,91	2,27	Sim	Grave	Ausente	Ausente	Moderada
8	7,5	49,57	2,00	10,70	Não	Moderada	Ausente	Presente	Leve
9	8,2	55,35	0,30	5,48	Não	Não tem	Ausente	Ausente	Leve
10	9,2	-	-	-	-	-	-	-	-
11	10,0	54,49	0,06	8,14	Sim	Leve	Ausente	Ausente	Ausente
12	10,2	53,29	0,85	4,60	Sim	Não tem	Ausente	Ausente	Ausente
13	10,5	51,16	0,67	3,20	Sim	Leve	Ausente	Ausente	Moderada
14	10,6	48,49	7,95	2,64	Sim	Grave	Ausente	Ausente	Leve
15	10,7	55,04	4,68	6,5	Não	Grave	Ausente	Presente	Leve
16	11,7	-	-	-	-	-	-	-	-
17	12,2	48,70	0,52	2,81	Sim	Não tem	Ausente	Ausente	Leve
18	12,8	51,80	3,50	11,52	Sim	Leve	Ausente	Presente	Moderada
19	12,8	53,73	3,32	4,91	Sim	Grave	Ausente	Ausente	Moderada
20	12,9	51,07	1,92	6,01	Não	Leve	Presente	Presente	Grave
21	13,0	56,27	6,90	9,21	Sim	Grave	Presente	Presente	Grave
22	14,1	49,03	3,62	5,18	Sim	Grave	Presente	Presente	Leve
23	15,4	51,00	5,51	8,99	Não	Leve	Presente	Presente	Leve
24	19,6	-	-	-	-	-	-	-	-
25	23,4	51,41	5,89	10,28	Não	Grave	Presente	Ausente	Grave

Os pacientes 1, 10, 16 e 24 não colaboraram com a realização da Ressonância Magnética.

#	Idade cronológica (anos)	Gag urina (µg Gag/mg creat)	Déficit Peso	Déficit Altura	Densidade óssea	Ângulo rádio-ulnar (alterado ou não)	Ângulo rádio-ulnar (graus)	Giba lombar (presente ou não)	Ângulo giba lombar (graus)
1	4,4	710,0	42,42%	23,17%	Diminuída	2	0	Presente	29
2	4,6	615,0	38,67%	24,20%	Diminuída	1	44	Presente	34
3	5,6	751,4	16,17%	9,62%	-	-	-	-	0
4	5,6	221,0	60,95%	36,35%	Diminuída	1	23	Presente	42
5	5,9	775,0	5,44%	11,58%	Diminuída	2	0	Presente	56
6	6,9	620,0	63,77%	36,72%	Diminuída	1	61	Ausente	0
7	7,4	521,6	52,89%	36,54%	Diminuída	1	61	Ausente	0
8	7,5	189,0	0,86%	9,81%	Diminuída	1	98	Presente	58
9	8,2	285,0	21,69%	22,52%	Diminuída	1	96	Presente	14
10	9,2	689,5	25,00%	18,55%	Diminuída	1	58	Presente	27
11	10,0	238,7	19,53%	16,51%	Diminuída	2	0	Ausente	0
12	10,2	282,9	36,11%	31,80%	Diminuída	1	124	Ausente	0
13	10,5	309,4	48,47%	27,69%	Diminuída	1	119	Presente	57
14	10,6	574,6	61,14%	40,75%	Diminuída	2	0	Presente	19
15	10,7	459,7	47,60%	33,05%	Diminuída	1	81	Presente	18
16	11,7	420,0	64,56%	40,07%	Diminuída	2	0	Ausente	0
17	12,2	565,8	38,65%	26,30%	Diminuída	1	98	Presente	20
18	12,8	309,4	23,08%	19,28%	Diminuída	1	70	Presente	42
19	12,8	555,0	32,96%	28,52%	Diminuída	1	93	Presente	23
20	12,9	680,0	34,25%	26,05%	Diminuída	-	-	Presente	47
21	13,0	750,0	37,04%	29,39%	Diminuída	2	0	Ausente	0
22	14,1	620,0	60,28%	39,41%	Diminuída	1	24	Ausente	0
23	15,4	459,7	38,08%	25,51%	Diminuída	1	37	Presente	46
24	19,6	282,9	56,19%	29,61%	Diminuída	1	106	Presente	32
25	23,4	480,0	60,61%	44,21%	Diminuída	1	36	Ausente	0

O paciente nº 3 teve seus Rx extraviados, assim como o RX de mãos do paciente nº 20





## **ARTIGOS RELACIONADOS À TESE**

**Mucopolissacaridose tipo VI: Um Estudo Clínico e Radiológico Visando a Identificação de Fatores Associados à Gravidade da Doença**

## **ARTIGO Nº 1**

### **Mucopolissacaridose tipo VI- Uma Revisão para Pediatras**

## **Título: Mucopolissacaridose tipo VI (Síndrome de Maroteaux-Lamy)- Uma Revisão para Pediatras**

Autores:

Ana Cecília M. M. Azevedo<sup>1,2</sup>- MD, MSC- [aazevedo@hcpa.ufrgs.br](mailto:aazevedo@hcpa.ufrgs.br)- Autor  
Ida V. D. Schwartz<sup>2,3</sup>- MD, PhD- [ida.ez@terra.com.br](mailto:ida.ez@terra.com.br)- co-orientador  
Roberto Giugliani<sup>1,2,3</sup>- MD, PhD- [rgiugliani@hcpa.ufrgs.br](mailto:rgiugliani@hcpa.ufrgs.br)- orientador

1-Universidade Federal do Rio Grande do Sul- Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas-Pediatria, 2-Hospital de Clínicas de Porto Alegre- Serviço de Genética Médica, 3-Departamento de Genética Médica- Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Rua Ramiro Barcelos 2350, CEP: 90035-903, Porto Alegre- RS- Brasil- Telefone: 55-51-210180-11; FAX: 55-51-2101-8010

E-mail: [aazevedo@hcpa.ufrgs.br](mailto:aazevedo@hcpa.ufrgs.br)

Autor responsável pela correspondência e pelos contatos pré-publicação: Ana Cecília Azevedo com endereço, fone, fax e endereço eletrônico acima.

## Resumo

Este trabalho tem como objetivo fazer uma revisão da literatura sobre a Mucopolissacaridose tipo VI- Doença de Maroteaux-Lamy enfatizando a importância do diagnóstico precoce a fim de minimizar ou prevenir o aparecimento de complicações graves relacionadas a história natural da doença. Foram pesquisadas as fontes de dados a partir de periódicos contidos no MEDLINE e sites internacionais de relevância reconhecida (GeneClinics, HGMD). Achemos importante esta revisão para pediatras em função de ser este profissional, em geral, o primeiro a ser procurado em casos suspeitos e ser o diagnóstico precoce de muita importância para minimizar a morbimortalidade associados a doença.

A Mucopolissacaridose Tipo VI é uma doença de herança autossômica recessiva, onde há uma deficiência na atividade da enzima N-acetil-galactosamina-4-sulfatase. Há, em consequência, uma falha na degradação dos glicosaminoglicanos dermatan e condroitin sulfato que acumulam-se parcialmente degradados em diversos órgãos e tecidos causando uma doença multissistêmica e progressiva. A incidência da doença está em torno de 4,6:100.000 nascidos vivos. Não há disponível dados nacionais, mas, de acordo com algumas estimativas, parece ser mais freqüente no Brasil que no restante do mundo sendo responsável por 47% dos casos de Mucopolissacaridose diagnosticados.

Os pacientes possuem baixa estatura, fácies característica com aspecto infiltrado, hirsutismo, macroglossia, hepatoesplenomegalia, infecções respiratórias de repetição com doença restritiva e obstrutiva de vias aéreas, alterações cardiológicas, neurológicas, audiológicas e visuais, entre outros. Em geral, a inteligência é normal, mas as aquisições cognitivas podem ser prejudicadas pelas alterações físicas que apresentam. Atualmente, com o advento da Terapia de Reposição Enzimática, espera-se diminuir a morbimortalidade associada, melhorando a qualidade de vida, mas sabe-se que

quanto mais precoce for instituída a terapia específica e todas as demais medidas de apoio, menores são os prejuízos ao paciente.

Key Words: Arilsulfatase B, mucopolissacaridoses, erros inatos do metabolismo, terapia de reposição enzimática, Maroteaux-Lamy

## **Mucopolissacaridose tipo VI (Síndrome de Maroteaux-Lamy):**

### **Uma Revisão para Pediatras**

#### **Introdução:**

A Mucopolissacaridose tipo VI, também conhecida como Doença de Maroteaux-Lamy ou MPS VI, é considerada uma das mucopolissacaridoses mais raras no mundo<sup>1,2</sup>, mas no Brasil apresenta uma frequência mais elevada<sup>3,4</sup>, o que motivou a construção deste trabalho de revisão. Além deste fato soma-se o fato de ser o Pediatra, na maioria das vezes, o primeiro profissional a ser procurado em casos suspeitos, devendo estar este profissional, portanto, preparado para iniciar esta investigação a fim de instituir terapia precoce que é tão importante para estes pacientes.

#### **Histórico e Patogenia**

A MPS VI (OMIM # 253200)<sup>5</sup>, foi descrita pela primeira vez, em 1963, por Maroteaux e colaboradores, como uma síndrome semelhante à Síndrome de Hurler (MPS I), mas com inteligência preservada e excreção urinária de dermatan sulfato (DS) não acompanhada de heparan sulfato (HS)<sup>6,7</sup>. A doença é causada pela deficiência da enzima N-acetilgalactosamina-4-sulfatase, ou arilsulfatase B (ARSB). Essa enzima é uma hidrolase lisossomal responsável pela retirada de um grupamento sulfato do dermatan sulfato e do condroitin-4-sulfato<sup>6,7</sup>. Essa deficiência enzimática acarreta um acúmulo de metabólitos parcialmente degradados de dermatan sulfato e de condroitin-4-sulfato nos tecidos, sendo responsável, entre outros problemas, por alterações articulares<sup>7,8</sup>. O condroitin-4-sulfato não é excretado na urina, pois é degradado pela hialuronidase, sendo apenas o dermatan sulfato encontrado em excesso na urina dos pacientes com a doença<sup>7</sup>.

#### **Epidemiologia**

A MPS VI foi considerada uma das mucopolissacaridoses mais raras por POORTHUIS et al (1999)<sup>1</sup> e por MEIKLE et al (1999)<sup>2</sup>. NELSON (1997)<sup>9</sup>, na

Irlanda do Norte, com dados de 25 anos (mais de 800.000 nascimentos), não encontrou casos diagnosticados de MPS VI, assim como APPLEGARTH et al (2000)<sup>10</sup>, no Canadá, com dados de 24 anos (mais de 1.000.000 de nascimentos). O Quadro 1 resume as referências relacionadas a incidência de MPS VI em algumas populações.

**Quadro 3: Incidência de MPS VI por população e referência**

Incidência (por 100.000 nascidos vivos)	Local	Período	Referência
0,46	Canadá	1952-1986	Lowry RB et al, 1990 <sup>11</sup>
0,40	Austrália	1980-1996	Meikle PJ et al, 1999 <sup>2</sup>
Não houveram caso registrados	Irlanda do Norte	1958-1985	Nelson J, 1997 <sup>9</sup>
0,23	Alemanha	1980-1995	Baehner F et al, 2005 <sup>12</sup>
0,42	Portugal	1962-1999	Pinto et al, 2003 <sup>13</sup>
0,16	Holanda	1970-1990	Poorthuis BJ et al, 1999 <sup>1</sup>
0,09	Canadá	1972-1996	Applegath et al, 2000 <sup>10</sup>

Alguns autores descrevem diferentes freqüências relativas de MPS VI dentro das demais DL: MICHELAKAKIS et al (1995)<sup>14</sup>, na Grécia, com dados de 13 anos, descrevem a MPS VI como sendo responsável por 8,3% de todas as DL diagnosticadas (a MPS I, mais freqüente neste estudo, foi responsável por 10,5%); COELHO et al (1997)<sup>3</sup>, acharam dado igual a 10% (20,7% das MPS diagnosticadas), sendo nesse estudo, considerada junto com a MPS I, um dos tipos mais freqüentemente identificados nessa população; PORTHUIS et al (1999)<sup>1</sup>, na Holanda, descrevem como sendo esse número de 0,2% (para MPS I, a mais comum neste estudo, foi de 0,8%). ALBANO et al (2000)<sup>4</sup>, em um

estudo realizado em São Paulo, encontraram 47,3% de diagnóstico de MPS VI entre todos os casos de MPS diagnosticados.

## **Diagnóstico**

A maioria dos pacientes tem diagnóstico confirmado em torno dos dois anos de idade, quando, nas formas mais graves, já aparecem diversas alterações clínicas<sup>8</sup>. Em um estudo de AZEVEDO et al, 2004<sup>15</sup> realizado com uma amostra de pacientes predominantemente brasileiros (26 brasileiros e 2 xilenos), a média de idade de diagnóstico foi de 48,4 meses (4 anos) mostrando um atraso diagnóstico importante nesta população comparação com o descrito na literatura (43% destes iniciaram sintomas com menos de 6 meses de idade). O diagnóstico é realizado a partir de um quadro clínico suspeito associado com a excreção aumentada na urina de GAGs e a constatação da medida da atividade deficiente da ARSB em leucócitos (<10% do menor valor de referência) ou em fibroblastos cultivados a partir de biópsia de pele<sup>6,15</sup>. É necessário sempre a correlação com a clínica, pois é descrito em indivíduos com alguns tipos de MPS (tipos I e VII) o fenômeno da pseudodeficiência, onde há atividade enzimática diminuída em indivíduo clinicamente normal<sup>16</sup>. Este fenômeno ainda não foi descrito para a ARSB.

Deve-se excluir a possibilidade de Deficiência Múltipla de Sulfatases, um diagnóstico diferencial importante. Neste caso, o indivíduo afetado pode ter um quadro clínico semelhante àquele dos indivíduos com MPS VI, mas laboratorialmente tem deficiência também de outras sulfatases, como a arilsulfatase A<sup>17</sup>.

A correlação entre a gravidade clínica e a atividade residual enzimática não foi realizada com exatidão ainda, mas sabe-se que em torno de 20% de atividade é compatível com fenótipo normal<sup>7</sup>. Os estudos realizados não confirmaram haver alguma relação entre atividade enzimática residual e gravidade clínica<sup>15,18</sup>, embora dados da literatura não experimental afirmem esta correlação<sup>19</sup>.



## Aspectos Genéticos e Moleculares

O gene que codifica a enzima ARSB, deficiente na Mucopolissacaridose tipo VI (MIM#253200)<sup>5</sup>, foi mapeado no cromossomo 5 q13-14<sup>7,20</sup>. O gene ARSB<sup>5</sup> possui 8 éxons e a enzima resultante possui 533 aminoácidos<sup>21</sup>.

É observada na MPS VI uma variabilidade de manifestações clínicas, com um espectro clínico heterogêneo entre as formas, refletindo provavelmente as diferentes mutações relacionadas com a doença<sup>18,21,22</sup>. Estudos *in vitro* e em modelos animais mostram que as mutações, provavelmente, causam desestabilização e conseqüente redução da atividade da enzima<sup>19</sup>, com redução da sua meia vida e/ou da sua forma madura ativa<sup>18</sup>. Sabe-se que cada mutação pode afetar a atividade enzimática de maneira diferente, podendo até não haver a síntese da enzima. Até o momento, já foram identificadas 54 mutações patogênicas nesse gene<sup>5</sup>. A maioria das mutações descritas foram identificadas em um pequeno número de pacientes sendo algumas mais comuns, dependendo da população estudada. BRADFORD et al (2002)<sup>22</sup>, identificou a mutação Y210C que foi detectada em cerca de 10% dos indivíduos com MPS VI da sua amostra de pacientes australianos e está associada com um fenótipo leve em heterozigose. Essa mutação, juntamente com as mutações H393P e R95Q representam 4% de todos os alelos mutantes presentes nos pacientes com MPS VI, todas descritas em heterozigotos no estudo de LITJENS et al (1996)<sup>23</sup>, também em pacientes australianos. No Brasil foi identificada a mutação 1533del23, encontrada em 23,1% dos alelos (6/26 alelos)<sup>24</sup> relacionada a fenótipo moderado a grave tanto em homo quanto em heterozigose. Um trabalho mais recente<sup>25</sup> com um número maior de indivíduos representando cerca de 10% da população mundial de indivíduos com MPS VI, identificou 62 novas mutações causadoras da doença confirmando a grande variabilidade genotípica que explica em parte a grande variabilidade fenotípica dos indivíduos afetados.

Acredita-se que a análise das mutações, aliada aos estudos clínicos sistemáticos, permitirá melhor correlação entre genótipo e fenótipo<sup>7</sup> (sendo atualmente a associação ainda preliminar com necessidade de melhor

identificação e análise dos alelos mutantes<sup>19</sup>. Acredita-se que para uma maior compreensão desta correlação é necessário um grande número de pacientes e um protocolo uniforme de determinação da gravidade clínica da doença, para que se possa analisar melhor os efeitos das mutações e polimorfismos na atividade residual da ARSB<sup>19</sup>. Esta informação pode contribuir para definir melhor as estratégias de tratamento para cada paciente<sup>19</sup>.

## **Manifestações Clínicas**

### Aspectos Gerais:

Os pacientes com MPS VI apresentam uma variabilidade ampla de sintomas multissistêmicos, assim como a maioria das mucopolissacaridoses (MPS). Acredita-se que quanto maior a atividade residual da enzima, menores serão os sintomas apresentados<sup>19</sup>, mas essa correlação não é facilmente demonstrada devido ao método utilizado para medir a atividade enzimática que pode modificar o resultado final, assim como uma não existência de classificação dos sintomas clínicos apresentados pelos pacientes o que dificulta a realização da correlação<sup>15</sup>.

De modo geral em todas as MPS o curso é crônico e progressivo e o envolvimento é multissistêmico, sendo acometidos principalmente os sistemas esquelético e cardiopulmonar, a córnea, a pele, o fígado, o baço, o cérebro e as meninges<sup>17</sup>.

O acúmulo de GAGs parcialmente degradados nos tecidos causa manifestações clínicas comuns à maioria das MPS, como face grosseira, espessamento cutâneo e visceromegalias. Outras manifestações clínicas, como o retardo mental (presente em outras mucopolissacaridoses) e o retardo de crescimento, resultam da alteração da função celular<sup>26</sup>. As contraturas articulares, comuns na maioria das MPS, ocorrem devido à interferência direta na estrutura de substâncias como o colágeno<sup>6</sup>.

### Classificação Clínica:

Não há um consenso sobre a classificação clínica dos pacientes com MPS VI. Os autores que falam sobre o assunto concordam em uma variabilidade importante, sendo as formas mais graves com início mais precoce e sintomas mais graves e de evolução mais rápida e as formas menos graves com início dos sintomas mais tardio, manifestações sistêmicas em menor grau e evolução mais lenta<sup>6,18,19,27</sup>. Nos estudos publicados até o momento a gravidade clínica tem sido classificada por diferentes observadores com diferentes critérios e de acordo com a experiência clínica de cada observador<sup>19</sup>. PETRY et al (2005)<sup>28</sup> classifica entre formas grave (óbito com menos de 10 anos de idade e altura menor de 90 cm aos 10 anos), grave a intermediária (início dos sintomas com menos de 36 meses e altura maior de 90 cm na época da avaliação), intermediária (início dos sintomas com mais de 36 meses, altura menor de 140 cm na última avaliação e sobrevida maior que 20 anos) e leve (início dos sintomas com mais de 36 meses, altura maior que 140 cm e sobrevida maior de 20 anos). SWIEDLER et al (2005)<sup>29</sup> classifica os pacientes em possuidores da forma rapidamente progressiva ou atenuada da doença utilizando critérios clínicos (estatura, peso, comprometimento pulmonar, resistência física e mobilidade articular) e bioquímicos (excreção de GAGs urinários) sugerindo um ponto de corte de 100 µg /mg de creatinina para separar as duas formas. KARAGEORGOS et al (2007)<sup>25</sup> seguindo a mesma linha, utilizam a excreção de GAGs urinários, fazendo uma correlação com o genótipo dos pacientes, como parâmetro principal para classificar a gravidade da doença dos pacientes em forma rapidamente progressiva e forma atenuada, concluindo que este fator é um bom preditor da progressão da doença.

### Crescimento e Desenvolvimento

Na MPS VI, o envolvimento somático é semelhante aos indivíduos com MPS I, mas em geral as crianças possuem inteligência normal<sup>17,18,25,27,30,31</sup>. As aquisições cognitivas podem ser prejudicadas por déficit auditivo e visual, assim como pelas outras limitações físicas que podem apresentar<sup>6</sup>. A ocorrência de retardo mental é rara, sendo relatada, até o momento, em um paciente descrito

por VESTERMARK et al (1987)<sup>32</sup>, em 2/9 pacientes descritos por ALBANO et al (2000)<sup>4</sup> e, possivelmente, em 1/28 paciente descrito por AZEVEDO et al (2004)<sup>15</sup>. A presença de retardo mental em um paciente com MPS VI, torna obrigatórios o diagnóstico diferencial com deficiência múltipla de sulfatases e a pesquisa de outros fatores etiológicos que possam estar associados.

O crescimento e desenvolvimento físicos podem ser normais nos primeiros anos de vida, estagnando-se ao redor dos seis ou oito anos<sup>6,7</sup>. A altura final é afetada ficando entre 110 e 140 cm<sup>6,7</sup>, mas já foi descrito um indivíduo de 15 anos com 174cm<sup>33</sup>. Os pacientes têm, em geral, o tronco curto e com a evolução da doença vão apresentando contraturas articulares e o aparecimento ou aumento de gibosidade tóraco-lombar o também contribui para a baixa estatura. Há descrito nestes pacientes casos de síndrome da sela vazia com disfunção hipofisária severa<sup>34,35</sup> que provavelmente ocorra em outros pacientes com MPS VI contribuindo para a baixa estatura relacionada a doença.

A maioria dos indivíduos com a doença vem a óbito na segunda ou terceira década de vida sendo a principal causa a falência cardíaca muitas vezes secundária a obstrução respiratória crônica<sup>6</sup>, mas há relato de um caso de um indivíduo de 40 anos com a forma leve da doença<sup>36</sup>.

### Manifestações Oculares

As manifestações oculares incluem: opacificação de córnea, glaucoma e papiledema com atrofia óptica em estágios mais avançados<sup>37,38</sup>. Alguns autores descrevem ainda pigmentação distrófica da retina<sup>38</sup>.

Os GAGs são componentes da córnea normal (4 a 4,5%) sendo que 50% destes são queratan sulfato, 25% condroitin-6 sulfato e 25% condroitin-4 sulfato<sup>37</sup>. O dermatan sulfato, GAG que se acumula na MPS VI, estaria presente apenas em cicatrizes corneanas ou enxertos corneanos mal sucedidos<sup>37</sup>. Sabe-se, entretanto que é o acúmulo de dermatan sulfato em queratócitos corneanos que ocasiona diminuição da sua transparência nos indivíduos com MPS VI, podendo resultar em déficit visual importante<sup>6,7,37</sup>.

Acredita-se que exista uma quantidade não mensurável (pequena) de dermatan sulfato na córnea normal que é aumentada em situações de agressão a esta<sup>37</sup>. Alguns autores acreditam que há um comprometimento irreversível da córnea ainda durante a vida fetal<sup>39</sup>. Apesar da demonstração que há novo acúmulo de GAGs em córneas transplantadas cerca de um ano pós procedimento, os pacientes mantêm, apesar disto, acuidade visual bem melhor que pré-transplante<sup>40</sup> mostrando que possivelmente havia uma lesão corneana previa à opacificação propriamente dita que prejudica a visão dos indivíduos afetados.

O glaucoma, em geral de ângulo agudo, pode ocorrer quando o depósito de dermatan sulfato obstrui o sistema trabecular. Um “pseudo-glaucoma” pode ocorrer, pois o depósito de dermatan sulfato na córnea, pode deixá-la mais rígida, causando uma falsa medida aumentada da pressão intra-ocular aferida por tonômetro comum<sup>37</sup>.

A atrofia óptica é, em geral, uma evolução do edema da cabeça do nervo óptico. Em um estudo realizado por COLLINS et al (1990)<sup>38</sup> foi concluído que os pacientes com MPS, especialmente MPS I-H (Hurler), MPS I-HS (Hurler-Scheie), MPS VI e MPS VII (Sly) têm uma chance maior que 40% de desenvolver edema de cabeça de nervo. Neste mesmo estudo encontrou-se edema de cabeça de nervo em 41,7% dos pacientes com MPS VI. A origem dessa alteração ainda não é um consenso, mas acredita-se que está envolvida com o acúmulo de GAGs causando aumento da pressão intracraniana e compressão da via de saída dos axônios do nervo óptico<sup>38</sup>.

Portanto, a diminuição da acuidade visual dos pacientes com MPS VI ocorre não só pela opacificação corneana, mas, também, pela atrofia do nervo óptico, pelo glaucoma e pelas alterações retinianas.

### Manifestações Otológicas

A hipoacusia é freqüente, geralmente mista com componente condutivo (secundário a otite média e a deformidades dos ossículos) e neurosensorial<sup>17</sup>. Otite média com efusão é um problema recorrente na maioria dos pacientes

com MPS. O seu manejo inclui colocação de tubos de ventilação, de preferência de longa duração, a fim de minimizar os riscos anestésicos de outra possível intervenção para o mesmo fim<sup>41</sup>.

#### Manifestações Em Cavidade Oral

Na cavidade oral, com frequência, apresentam macroglossia com protrusão da língua. A erupção dentária pode ser em atraso, os dentes podem ser displásicos e a altura da mandíbula reduzida<sup>7</sup>. Cistos dentígeros, problemas de oclusão dentária, alterações condilares e hiperplasia gengival também são achados comuns<sup>42</sup>. É importante uma orientação adequada quanto à prevenção de cáries dentárias, levando em conta os riscos anestésicos e a dificuldade de manipulação intra-oral devido às alterações já citadas e à limitação da abertura bucal.

#### Manifestações Respiratórias

Há diversas causas para as alterações respiratórias que acompanham os pacientes com MPS VI.

Inicialmente, podemos citar as alterações em vias aéreas que incluem pescoço curto, epiglote elevada, fossa cervical profunda, mandíbula hipoplásica e traqueobroncomalácea<sup>43</sup>. Também em vias aéreas pode-se citar a ocorrência de depósito progressivo de GAGs em nasofaringe, orofaringe, hipofaringe e laringe, macroglossia e a hipertrofia de amígdalas e adenóides<sup>43</sup>. SHIH et al (2002)<sup>44</sup>, fazendo avaliação de 13 pacientes com MPS de diversos tipos através de CT, encontrou ainda modificações na forma da traquéia (forma de U), em cordas vocais e na aérea de superfície traqueal, sendo essa significativamente menor que as dos pacientes controle sem MPS. Os GAGs também se depositam no interstício pulmonar, o que pode ocasionar alterações na difusão pulmonar<sup>43</sup>.

Como alterações extrínsecas às vias aéreas e que contribuem para o quadro, pode haver cifoescoliose e hepatoesplenomegalia, que podem limitar

as incursões diafragmáticas<sup>43</sup> Há ainda abundante e espessa secreção em vias aéreas com predisposição a infecções de repetição<sup>17,43</sup>.

Outra complicação respiratória é a apnéia obstrutiva durante o sono<sup>7,43</sup>. Segundo FRASER et al (2002)<sup>45</sup> a apnéia obstrutiva do sono pode acometer 71% dos indivíduos com Mucopolissacaridose de um modo geral. Na MPS VI, 82,1% dos pacientes de uma amostra de 28 indivíduos com MPS VI apresentavam apnéia obstrutiva do sono<sup>15</sup>. Algumas das alterações citadas acima podem levar a hipoxemia crônica ocasionando, entre outros hipertensão pulmonar e cor pulmonale com possibilidade de levar à falência cardiopulmonar, que muitas vezes é a causa mortis nestes pacientes<sup>43</sup>.

#### Manifestações Cardiovasculares

O envolvimento cardíaco é um componente importante nessa doença, sendo responsável por parte importante da morbimortalidade associada<sup>7</sup>. As válvulas aórtica e mitral podem ficar espessadas, calcificadas ou estenóticas, nos fenótipos moderados, podendo apresentar regurgitação em diversos graus<sup>7</sup>. Nos fenótipos graves pode haver cardiomiopatia com falência cardíaca<sup>6</sup>. Segundo DANGEL (1998)<sup>46</sup>, cerca de 72% dos pacientes com MPS, avaliados por ecocardiograma, têm valvulopatias e/ou cardiomiopatia. Pode haver, ainda, fibroelastose endocárdica, hipertensão sistêmica e pulmonar, estreitamento arterial disseminado, inclusive de coronárias<sup>17</sup>. MABE et al (2003)<sup>47</sup> descrevem como sendo a valvulopatia aórtica a mais freqüentemente observada neste tipo de MPS. AZEVEDO et al (2004)<sup>15</sup> descrevem a valvulopatia mitral como a mais comum em uma população de 28 indivíduos com MPS VI, onde 100% apresentavam algum tipo de alteração ecocardiográfica.

#### Manifestações Ósteo-Articulares:

Apesar da MPS VI ser uma doença multissistêmica, há sistemas ou órgãos mais severamente afetados comprometendo não só a qualidade de vida,

mas a sobrevivência dos indivíduos afetados de maneira importante. Entre eles, o sistema esquelético é particularmente afetado.

A função articular anormal é geralmente secundária ao envolvimento metafisário e ao espessamento e fibrose da cápsula articular<sup>17</sup>. As alterações articulares são progressivas, tornando os movimentos limitados<sup>7</sup>. Sendo que, em algumas articulações, especialmente joelhos, quadris e cotovelos, pode ser limitado já nos primeiros anos de vida fazendo com que a criança assuma uma postura curvada<sup>6,7</sup>. Contraturas flexionais nos dedos das mãos fazem com que essa fique com aspecto de garra<sup>6</sup>. Os movimentos das mãos ainda podem ser mais prejudicados pela ocorrência da síndrome do túnel do carpo e/ou por contraturas tipo Dupuytren (contratura em flexão dos dedos secundária a fibrose da fáscia palmar)<sup>7</sup>. Acredita-se que as alterações radiológicas em mãos são boas preditoras da gravidade da doença<sup>48</sup>, podendo, juntamente com a baixa estatura ser a única manifestação nas formas leves<sup>49</sup>.

As alterações esqueléticas associadas recebem a denominação genérica de disostose múltipla<sup>6,7,17</sup> e afetam todo o esqueleto de diversas formas. Essas alterações incluem dolicocefalia, (secundária a craniossinostose da sutura sagital), sela túrcica alargada com formato de J ou ômega, hipoplasia de odontóide, giba tóraco-lombar, hipoplasia da porção ântero-superior das vértebras (principalmente de L1 e L2), aumento da concavidade posterior dos corpos vertebrais com pedículos relativamente longos, platispondilia, costelas em forma de remo, clavículas pequenas e espessas, escápula espessa e elevada<sup>17</sup>. As alterações pélvicas são particularmente graves com acetábulo com teto oblíquo ou hipoplasia acetabular, displasia de epífise femoral com subluxação da cabeça do fêmur, asas do íliaco pequenas, ísquio e púbis espessos e incompletamente formados<sup>6,17</sup>. Nos membros pode-se observar coxa valga, espessamento das diáfises, falanges pequenas e alargadas, metacarpos com bases cônicas, ossos do carpo pequenos e irregulares, modificação da angulação rádio-ulnar<sup>17</sup>.



Essas alterações em conjunto contribuem para uma limitação importante de movimentos simples, necessários à vida cotidiana, como se vestir, banhar-se, pegar lápis e outros objetos.

### Manifestações Neurológicas

Embora não apresentem retardo mental, os indivíduos com MPS VI podem ter diversas alterações neurológicas, em geral por depósito de GAGs em locais específicos.

Pode haver hidrocefalia comunicante, secundária ao espessamento meníngeo<sup>7</sup> e/ou a disfunção do vilo aracnoídeo<sup>17</sup>. O aumento da pressão intracraniana, secundária à hidrocefalia, pode acarretar papiledema com progressiva perda visual<sup>7</sup> somando-se à já existente pelas alterações oftalmológicas específicas.

A mielopatia cervical ou tóraco-lombar podem estar presentes, secundárias a uma ou várias alterações, como ao espessamento das meninges e tecidos adjacentes, instabilidade atlanto-axial, estreitamento ósseo do canal craniovertebral e hipertrofia do ligamento longitudinal posterior<sup>17,30,50</sup>. A mielopatia pode levar à tetraparesia, podendo ainda, estar associada a cifoescoliose ou deformidades toracolombares<sup>6,7</sup>. A mielopatia cervical é particularmente comum na MPS VI, já tendo sido descrito um caso de siringomielia associado com a deposição de GAGs na dura-máter ao nível da junção crânio-cervical<sup>51</sup>. Displasia da apófise do odontóide é comum, e, com o aumento da idade, a hiperplasia do ligamento posterior longitudinal e a estenose do canal espinhal começam a ficar mais importantes. Instabilidade franca é um achado incomum na MPS VI<sup>50</sup>.

Para o diagnóstico dessas alterações preferencialmente é necessário a realização de uma ressonância magnética. Alguns autores citam a medida do potencial evocado somatosensorial de grupos específicos de nervos (mediano e tibial posterior) como medida mais sensível a alterações ainda assintomáticas<sup>52</sup>.

Síndromes de compressão nervosa são comuns, especialmente a síndrome do túnel do carpo<sup>6</sup>, que ocorre pela compressão do nervo mediano,

secundária ao acúmulo de GAGs no retináculo dos flexores e à presença de alterações anatômicas nos ossos do carpo<sup>17</sup>. Diferente do que ocorre com outros pacientes afetados pela síndrome do túnel do carpo, os sintomas secundários a ela podem muitas vezes passar despercebidos pelo paciente, a não ser que sejam investigados especificamente.

O sistema nervoso autonômico também pode ser afetado, causando alterações exageradas de temperatura e cor dos membros e, talvez, episódios de diarreia<sup>17</sup>. Pode haver comprometimento da hipófise anterior, ocasionando um atraso no aparecimento dos caracteres sexuais secundários<sup>7</sup>.

O diagnóstico das alterações neurológicas associadas a MPS VI, deve ser feito preferencialmente por Ressonância Magnética (RM) que têm assumido um papel importante na identificação de sinais de algumas doenças metabólicas<sup>53,54,55</sup>. Além disto, a avaliação quantitativa das lesões cerebrais, realizada a partir da RM, está se tornando importante na monitorização das lesões e resposta terapêutica, principalmente em ensaios clínicos<sup>56,57,58</sup>. Acredita-se que o resultado combinado dos exames de imagem e da genética molecular tem o potencial de permitir um melhor entendimento da patofisiologia da doença.

#### Manifestações Digestivas / Abdominais

O abdome habitualmente é protuberante e hepatoesplenomegalia costuma estar presente após os 6 anos em cerca de 50% dos pacientes<sup>7</sup>. A hepatoesplenomegalia é, geralmente, assintomática e associada com hérnia umbilical e/ou inguinal<sup>7,17</sup>. Alguns pacientes podem apresentar episódios de diarreia (NYHAN & OZAND, 1998), alternando com função normal ou constipação. Essas alterações parecem ser secundárias, tanto ao depósito de GAGs intestinal, quanto à disfunção do sistema nervoso autonômico. Muitos pacientes referem intolerâncias específicas, como ao leite ou à carne, mas não se tem conhecimento de trabalhos nesta área que esclareçam o assunto.

### Manifestações Em Pele / Tecido Conjuntivo

A pele costuma ser espessa e com hirsutismo moderado<sup>6.7.17</sup>. Há infiltração generalizada em tecido conjuntivo, podendo poupar os membros inferiores, que podem ficar com um aspecto emagrecido. Devido a essa infiltração é que as crianças ficam com características faciais grosseiras. Mãos, principalmente, e às vezes pés ficam infiltrados, o que dificulta mais ainda a movimentação normal, já prejudicada pelas alterações articulares.

### Manifestações Hematológicas/ Celulares

Como já citado anteriormente, o depósito de dermatan sulfato, parcialmente degradado nos lisossomos, possui uma ação direta do próprio depósito e também interfere com a fisiologia celular normal. Devido a essa alteração na fisiologia celular, podemos observar que nas MPS, de modo geral, há inclusões citoplasmáticas lisossomais, vistas como granulações metacromáticas que ocorrem com mais freqüência na MPS VI<sup>7</sup>. Essas granulações ocorrem em 90 a 100% dos granulócitos e em 50% dos leucócitos. Inclusões lisossomais também ocorrem em células de Kupffer, hepatócitos, plaquetas, células da conjuntiva, córnea e pele. Os fibroblastos podem conter inclusões abundantes, justanucleares, de cor clara<sup>7</sup>. Há outras alterações vistas nos pacientes, como diminuição de provas de coagulação, tendência a leucopenia e alteração em provas de função hepática que precisam ser melhor estudadas.

## **Tratamento**

### Manejo Geral

O atendimento de pacientes com MPS VI, assim como das demais MPSs, deve ser realizado por equipe multidisciplinar, já que é uma doença multissistêmica, visando minimizar os efeitos da doença no organismo.

Na área otorrinolaringológica, devem ser realizados de rotina exames de triagem para verificação da acuidade auditiva que, se necessário, deve ser tratada adequadamente. Também deve ser realizado controle das otites de repetição. Muitas vezes, são necessárias cirurgias como tonsilectomias, adenoidectomias e traqueostomia como recursos para o controle das infecções respiratórias de repetição e/ou obstrução de vias aéreas. A fisioterapia respiratória também é um recurso importante neste controle<sup>17</sup>.

Na área oftalmológica, a tonometria ocular e a medida da acuidade visual também devem ser realizadas de rotina e tratadas sempre que necessário. Podem ser necessárias outras cirurgias, como transplante de córnea, mesmo sabendo-se que há relatos de recorrência de depósito de GAGs na córnea pós-transplante<sup>37</sup>.

No aspecto ósteo-articular, pode ser realizada fisioterapia motora e cirurgias corretivas específicas. Embora alguns autores não estejam certos do benefício da fisioterapia<sup>6</sup>, outros mostram evidências de que promove auxílio na manutenção da função articular<sup>17</sup>. Nessa área, outros procedimentos cirúrgicos podem ser usados para correção da síndrome do túnel do carpo, valguismo e outras alterações<sup>7</sup>.

Outras cirurgias podem ser necessárias, como para a correção das hérnias, derivação ventrículo peritoneal, valvuloplastias<sup>17,53</sup>, laminectomia ou fusão cervical<sup>7</sup>. Sempre deve ser considerado o risco cirúrgico relacionado à anestesia, devido, principalmente, à dificuldade de entubação endotraqueal neste grupo de pacientes. Recomenda-se que os procedimentos cirúrgicos sejam realizados em hospitais com unidades adequadas ao tratamento intensivo e com anestesista experiente em manutenção de via aérea pediátrica. A mortalidade perioperatória deste grupo de pacientes pode chegar a 20%<sup>17</sup>, sendo que as principais complicações associadas são: dificuldade de entubação com necessidade de traqueostomia de urgência e parada cardíaca intra-operatória<sup>17,53</sup>.

Com relação às cirurgias neurológicas: como a qualidade de vida destes pacientes pode ser boa, neurocirurgias agressivas, como manejo da compressão medular, por exemplo, podem se preconizadas, sendo necessário sempre levar em conta todos os riscos anestésicos. Alguns autores falam em traqueostomia profilática para alguns pacientes pré-cirurgia<sup>30</sup>. THORNE et al (2001)<sup>30</sup> acompanharam nove crianças com MPS VI pós cirurgia e descompressão cervical. Todas apresentaram melhora nos sinais e sintomas pós-cirurgia. Em pacientes assintomáticos, cirurgia profilática não é indicada, em geral, já que os riscos de um evento agudo grave são pequenos. Nestes pacientes, é importante levar em conta a presença de cifose tóraco-lombar, pois há relatos de paraparesia secundária à isquemia espinhal ao nível da cifose pós-cirurgia<sup>30</sup>.

#### Transplante De Células Hematopoiéticas

O Transplante de Células Hematopoiéticas (TCH) é uma alternativa terapêutica utilizada como tentativa de correção de defeitos enzimáticos, desde 1980<sup>59</sup>. Baseia-se principalmente no fato de que a enzima produzida pelas células do transplante é liberada no plasma e pode ser absorvida por células enzimaticamente deficientes<sup>26</sup>. Pretende-se a reconstituição do sistema hematopoiético do paciente com células tronco de um doador saudável, imunocompatível, a fim de estabelecer uma duradoura fonte enzimática<sup>60</sup>.

A maior parte dos trabalhos publicados relacionando TCH em MPS, envolve pacientes com MPS I e demonstram que a relação risco-benefício favorece a realização do procedimento, pois, apesar de não haver melhora das alterações esqueléticas, parece existir atenuação das dismorfias faciais, melhora do comprometimento visceral e um efeito benéfico no desempenho intelectual, para alguns grupos de pacientes<sup>16</sup>. Outros autores referem, ainda, aumento da mobilidade articular<sup>61</sup>, melhora das alterações viscerais, função cardíaca e da obstrução das vias aéreas<sup>60,62</sup>.

HERSKHOVITZ et al (1999)<sup>63</sup> descrevem o follow-up de quatro crianças com MPS VI pós TCH, realizados entre 1998 e 1996. A indicação de três dos casos foi cardiomiopatia e no quarto paciente, foi presença de apnéia obstrutiva noturna, não resolvida com tonsilectomia. Os pacientes foram seguidos por uma média de 4,5 anos e tinham idades entre 3 e 9,5 anos. O acompanhamento mostrou melhora, especialmente da mobilidade articular, comprometimento cardíaco e apnéia obstrutiva do sono. Todavia, os autores admitem que a heterogeneidade clínica não permite conclusões definitivas sobre os efeitos do TCH na sobrevivência dessas crianças, o que talvez ocorra após estudos mais detalhados de análise molecular e bioquímica determinando com maior precisão os pacientes elegíveis a usar esse tratamento<sup>63</sup>.

Sabe-se que o TCH melhorou alguns aspectos clínicos relacionados à MPS VI, como as organomegalias, diminuiu a progressão das anormalidades esqueléticas e aumentou a atividade da ARSB<sup>63</sup>, mas a aplicação dessa forma de terapia é limitada pela sua alta morbidade e mortalidade. CAILLAND & POENARU (2000)<sup>60</sup> descrevem uma mortalidade de 10 a 20%) e a dificuldade em encontrar doadores compatíveis<sup>61</sup>. Além disso, é descrito um insucesso de 10 a 15% dessa forma de tratamento (CAILLAND & POENARU, 2000). No Brasil, um estudo realizado por LANGE et al (2006)<sup>59</sup> mostra a experiência com pacientes com doenças de depósito onde foi encontrada uma taxa de mortalidade de 50% nos pacientes com MPS submetidos a transplante.

### Terapia de Reposição Enzimática

Outras formas de tratamento têm sido consideradas para a MPS VI. Uma delas é a reposição enzimática, que consiste em administrar por via intravenosa uma forma recombinante da enzima deficiente semelhante à sua forma ativa. A Terapia de Reposição Enzimática (TRE.) tem sido realizada com sucesso em outras DL, como a Doença de Gaucher<sup>60</sup>, Doença de Fabry e MPS I<sup>61</sup>.

Na MPS I a TRE. Já é uma forma de terapia estabelecida trazendo benefícios aos indivíduos tratados. Estudos iniciais mostraram normalização do tamanho hepático, da excreção de GAGs pela urina e aumento do peso e altura dos pacientes<sup>60</sup>.

Na MPS VI já foram realizados alguns ensaios clínicos com seres humanos usando a arilsulfatase B recombinante (rh ARSB). O primeiro ensaio clínico mostrou que o tratamento foi bem tolerado, estabeleceu a dose de medicação a ser utilizada, mostrou uma diminuição da excreção urinária de GAGs sugerindo algumas melhoras demonstradas em estudos seguintes ou na sua extensão<sup>64</sup>. Os estudos seguintes demonstraram além da redução da excreção de GAGs urinários, melhora da mobilidade articular<sup>65</sup> e melhora da resistência geral do indivíduo medida através dos testes da caminhada e de subir escadas<sup>66</sup>. Há estudos preliminares sugerindo que a TRE na MPS VI pode melhorar também a apnéia obstrutiva do sono relacionada a doença<sup>67</sup>.

Em maio de 2005 a rhARSB foi aprovada para comercialização e uso nos Estados Unidos com o nome comercial de Galsulfase e em janeiro de 2006 recebeu a aprovação para uso e comercialização pela Comunidade Européia. Não há ainda estudos mostrando os efeitos desta terapia a longo prazo.

### Terapia Gênica

A terapia gênica para DLs multissistêmicas, como as MPS, necessita que o gene se expresse em todo o organismo, produzindo a enzima necessária para todo o corpo<sup>60</sup>. Trabalhos *in vitro* com terapia gênica usando vetores virais corrigiram defeitos enzimáticos em células animais e humanas com deficiência de ARSB<sup>53,62,68</sup>.

Já foram realizados estudos pré-clínicos de terapia gênica para a MPS VI em gatos, usando como vetor o citomegalovírus, mas não houve a expressão do gene *in vivo*, como já havia ocorrido *in vitro*, sendo, portanto necessárias mais pesquisas nessa área<sup>69</sup> (YOGALINGAM et al, 1999).

**Conclusões:**

A MPS VI é uma doença multissistêmica progressiva grave que tem uma terapia específica, a Terapia de Reposição Enzimática, além de outras medidas de suporte que podem ajudar muito o paciente a ter menos alterações relacionadas a doença, quanto mais precoce elas forem instituídas. Para isto, o Pediatra, como profissional na linha de frente no atendimento de casos suspeitos deve estar preparado para suspeitar da doença e orientar corretamente seu paciente a fim de realizar o diagnóstico e tratamento precoces, tão importantes.



## **Agradecimentos**

Nossos agradecimentos à Pós Graduação em Ciências Médicas-Pediatria da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Serviço de Genética Médica-Ambulatório de Mucopolissacaridose do Hospital de Clínicas de Porto Alegre e CNPQ.

**Referências bibliográficas**  
(ver no fim da tese)

## **ARTIGO Nº 2**

### **Avaliação Radiológica de Pacientes com Mucopolissacaridose Tipo VI: achados de mãos e coluna lombar**

Página De Título

**Avaliação Radiológica de Pacientes com  
Mucopolissacaridose Tipo VI: achados de mãos e coluna  
lombar**

Ana Cecília Azevedo, MD, MSc <sup>1,2</sup>

Maira Graeff Burin, Bioquímica, PhD<sup>2</sup>

Luiz Alberto Todeschini, MD <sup>3</sup>

Ida Vanessa D. Schwartz, MD, PhD <sup>2,4</sup>

Roberto Giugliani, MD, PhD <sup>1,2,4</sup>

1- Universidade Federal do Rio Grande do Sul- Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas-Pediatria

2- Hospital de Clínicas de Porto Alegre- Serviço de Genética Médica

3- Hospital de Clínicas de Porto Alegre- Serviço de Radiologia

4- Universidade Federal do Rio Grande do Sul- Departamento de Genética Médica

Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Rua Ramiro Barcelos 2350, CEP: 90035-903, Porto Alegre- RS- Brasil

Telefone: 55-51-210180-11

FAX: 55-51-2101-8010

E-mail: [aazevedo@hcpa.ufrgs.br](mailto:aazevedo@hcpa.ufrgs.br)

“SPECIAL REPORT”

Contagem de Palavras: 1549

## **Avaliação Radiológica de Pacientes com Mucopolissacaridose Tipo VI: achados de mãos e coluna lombar**

“SPECIAL REPORT”

Avanços no Conhecimento;

O aumento da concavidade posterior dos corpos vertebrais foi demonstrado em todos os pacientes estudados;

O encurtamento dos metacarpos parece ser um sinal precoce da doença;

A presença de giba lombar e de alteração no ângulo da porção distal do rádio em relação a ulna são achados freqüentes, mas parecem não estar relacionados com a progressão da doença.

Implicações nos cuidados com o paciente:

Os déficits de peso e altura podem ser usados como marcadores de gravidade da doença em estudos com o objetivo de avaliar intervenções terapêuticas ou estabelecer índice de gravidade.

São necessários estudos adicionais para investigar a ocorrência de osteoporose e osteopenia nos pacientes com MPS VI.

## Resumo

Mucopolissacaridose VI é uma doença de depósito lisossomal multissistêmica e progressiva ocasionada pela deficiência de enzima N-acetilgalactosamina-4-sulfatase, que está envolvida do catabolismo dos glicosaminoglicanos. O objetivo principal deste estudo é caracterizar as alterações radiológicas a partir de RX de mãos e coluna lombar de pacientes com Mucopolissacaridose VI e correlacionar estes achados com idade, peso, altura e glicosaminoglicanos na urina.

Este estudo foi realizado no Serviço de Genética médica do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, com 24 indivíduos com MPS VI que foram avaliados nesta instituição entre 2004 e 2006 com a aprovação do Comitê de Ética local e assinatura de Consentimento Informado.

A média de idade na avaliação foi de  $10.8 \pm 4.5$  anos. Todos os pacientes apresentaram RX de mãos e coluna lombar alterado. As mais freqüentes alterações encontradas foram o encurtamento de metacarpos, metacarpos com bases cônicas e o aumento da concavidade posterior dos corpos das vértebras lombares. Também foram freqüentes a presença de giba lombar e alteração do ângulo distal do rádio em relação a ulna. A idade mostrou uma correlação positiva com o peso, déficit de peso, altura, déficit de altura e com comprimento no eixo longitudinal das vértebras lombares. Não encontramos correlação entre idade e encurtamento de metacarpos, angulação da giba lombar e angulação radio-ulnar. Peso e altura mostraram, uma correlação positiva com e medida longitudinal de metacarpos e com a medida longitudinal e transversal das vértebras lombares.

Os nossos resultados sugerem que o peso e a altura podem ser relacionados com a gravidade da doença. São necessários estudos adicionais, envolvendo um maior número de pacientes para confirmar os achados deste estudo.

## Avaliação Radiológica de Pacientes com Mucopolissacaridose Tipo VI: Achados de Mãos e Coluna Lombar

### 1. Introdução

A Mucopolissacaridose tipo VI (MPS VI) é uma Doença Lisossômica de Depósito (DLD) caracterizada pelo acúmulo dos glicosaminoglicanos (GAG) sulfato de dermatan e de condroitin em diversos órgãos e tecidos devido à deficiência de atividade de uma enzima intralisossomal, a N-acetil-galactosamina-4-sulfatase (Arilsulfatase B ou ARSB)<sup>70</sup>. A incidência da MPS VI varia de acordo com a população estudada sendo citados números entre 0,16 e 0,46 por 100.000 nascidos vivos<sup>71,72</sup>. A doença caracteriza-se por ser multissistêmica e progressiva sendo acometidos principalmente os sistemas esquelético e cardiopulmonar, a córnea, a pele, o fígado, o baço, o cérebro e as meninges<sup>73</sup>. Há excreção excessiva de GAG através da urina, fato que auxilia no diagnóstico da doença juntamente com a demonstração bioquímica da atividade reduzida (<10%) da enzima ARSB. O tratamento se dá com medidas de apoio gerais, transplante de células hematopoiéticas em casos selecionados e, mais recentemente com a Terapia de Reposição Enzimática (TRE). A TRE com Galsulfase (ARSB recombinante) é associada com a redução da excreção de GAGs urinários, melhora da mobilidade articular<sup>74</sup> e melhora da resistência geral do indivíduo<sup>75,75</sup>. Não é esperado que a TRE possa modificar significativamente a evolução da doença em ossos ou cérebro, pois estes tecidos não facilmente atingidos por administração endovenosa de medicações. Estudos realizados em animais com MPS VI sugerem que a doença óssea possa ser modificada pela TRE apenas se o tratamento for iniciado muito precocemente, no período neonatal<sup>5,6</sup>.

As alterações esqueléticas associadas à MPS VI recebem a denominação genérica de disostose múltipla<sup>73,76</sup>, e afetam o esqueleto de diversas

formas. Essas alterações incluem macrocefalia com sela túrcica alargada, configuração biconvexa das vértebras com uma deformidade tipo vértebra em gancho (*hook-shaped*) nos casos mais graves<sup>77</sup>, concavidade posterior vertebral aumentada com pedículos mais longos, hipoplasia de odontóide, giba tóraco-lombar ou lombar nas formas mais graves<sup>78</sup>, redução da espessura vertebral, costelas em forma de remo, clavículas pequenas e espessas, escápulas espessas e elevadas<sup>2</sup>, coxa valga, espessamento das diáfises, falanges pequenas e alargadas, metacarpos com bases cônicas, ossos do carpo pequenos e irregulares e modificação no ângulo distal do rádio em relação a ulna<sup>2,6</sup>. Acredita-se que as alterações radiológicas em mãos sejam boas preditoras da gravidade da doença<sup>79</sup>, podendo, juntamente com a baixa estatura podem ser os únicos sinais em indivíduos com a forma leve da doença<sup>80</sup>. Entretanto, existem poucas publicações relatando estas alterações, caracterizando-as ou mostrando a sua possível relação com a progressão da doença.

Este trabalho foi realizado com o objetivo principal de descrever aspectos radiológicos observados em RX de mãos e coluna lombar de 24 pacientes com MPS VI e com os objetivos secundários de investigar a correlação destes achados com parâmetros associados à progressão da doença (peso, altura e níveis urinários de glicosaminoglicanos).

## 2. Métodos

Trata-se de um estudo transversal de 24 pacientes com diagnóstico clínico e bioquímico de MPS VI (excreção aumentada de sulfato de dermatan pela urina, diminuição da atividade da ARSB em leucócitos com outra sulfatase normal) atendidos no ambulatório de Mucopolissacaridose do Serviço de Genética Médica do Hospital de Clínicas de Porto Alegre. Na mesma visita, foram realizados RX de mãos e coluna lombar, dosagem de GAG urinários (teste espectrofotométrico do azul do 1,9 dimetilmetileno descrito por JONG et al, 1992)<sup>81</sup>, medidas de peso e altura, anamnese e revisão de prontuário. Todos os RX foram analisados de maneira cegada pelo mesmo radiologista especialista em doença lisossômica. Os resultados foram analisados através do SPSS V14.0 sob a orientação do Grupo de



Pesquisa e Pós Graduação ligado ao Hospital de Clínicas de Porto Alegre e Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Foram considerados significativos valores de  $p < 0.05$ . Variáveis categóricas foram descritas através de freqüências simples e percentagens. As variáveis contínuas com distribuição normal foram descritas através de média com desvio padrão, valores mínimos e máximos. Variáveis contínuas com distribuição assimétrica foram descritas usando mediana com intervalo interquartil (percentis 25 e 75), valores mínimos e máximos. O teste t de Students e de Mann-Whitney foram usados para análise de variáveis contínuas com distribuição normal e assimétrica, respectivamente. As variáveis categóricas foram analisadas usando o teste de Qui-quadrado ( $\chi^2$ ) ou teste Exato de Fischer. O coeficiente de correlação de Pearson ( $r$ ) foi utilizado para correlacionar variáveis com distribuição simétrica e o coeficiente de correlação de Spearman para as demais, para um  $\alpha = 0.05$  e  $\beta = 80\%$ .

As variáveis analisadas foram:

- Vértex Lombares: presença de gibela lombar, vértebra em anzol e aumento da concavidade posterior. O ângulo da gibela lombar foi mensurado de acordo com a Figura 1. O tamanho das vértebras lombares no seu eixo longitudinal e transversal também foram medidos.
- Metacarpos: presença de encurtamento de metacarpos e de metacarpos com bases cônicas, foi medido o tamanho de metacarpos no seu eixo longitudinal e a angulação do ângulo distal do rádio em relação a ulna (Figura 2).

### 3- Resultados

A média de idade no momento da avaliação foi de  $10,8 \pm 4,5$  (variação: 4,4-23,4), sendo que 13/24 (54.2%) eram do sexo feminino. A Tabela 1

mostra as médias de peso e altura da amostra. Estavam em TRE, 10/25 pacientes que tinham, em média,  $69 \pm 33,6$  semanas de tratamento (variação: 7-96 semanas). Nenhum paciente tinha realizado qualquer tipo de cirurgia em coluna lombar.

Todos os pacientes mostraram alterações em RX de mãos e em RX de coluna lombar. As alterações mais comuns foram a presença de encurtamento de metacarpos, metacarpos com base cônicas e o aumento da concavidade posterior dos corpos vertebrais lombares (Tabela 2). Um achado ocasional, durante a avaliação dos RX foi a presença de redução da densidade óssea em todos os pacientes. O tamanho dos metacarpos e da medida da angulação radio-ulnar foi semelhante nos membros superiores direito e esquerdo ( $p > 0,05$ ), sendo então considerada a média entre ambos para as análises. O resultado da análise descritiva das variáveis é mostrado nas Tabelas 1 e 2. Não encontramos correlação entre idade e encurtamento de metacarpos e entre idade e angulação radio-ulnar ou angulação da giba lombar. Da mesma maneira, não encontramos correlação entre GAG urinário e as variáveis analisadas. A tabela 3 mostra as correlações significativas encontradas neste estudo.

Pacientes que estavam em TRE ( $n = 10/24$ ) e que não estavam ( $n = 14/24$ ) não apresentaram diferença significativa para todas as variáveis analisadas ( $p > 0,05$ ).

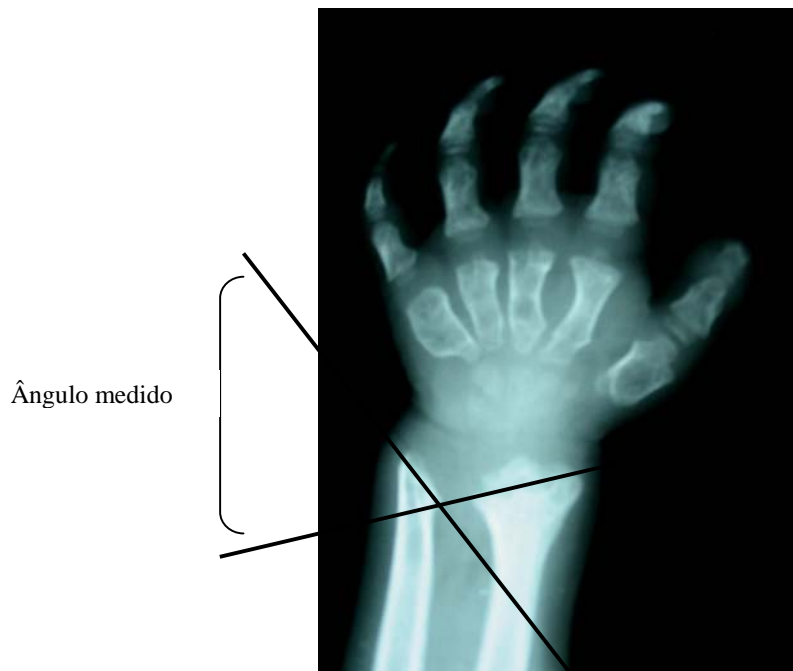


Figura 1: Medida da angulação rádio-ulnar em RX de membro superior esquerdo de paciente com MPS VI (12 anos).

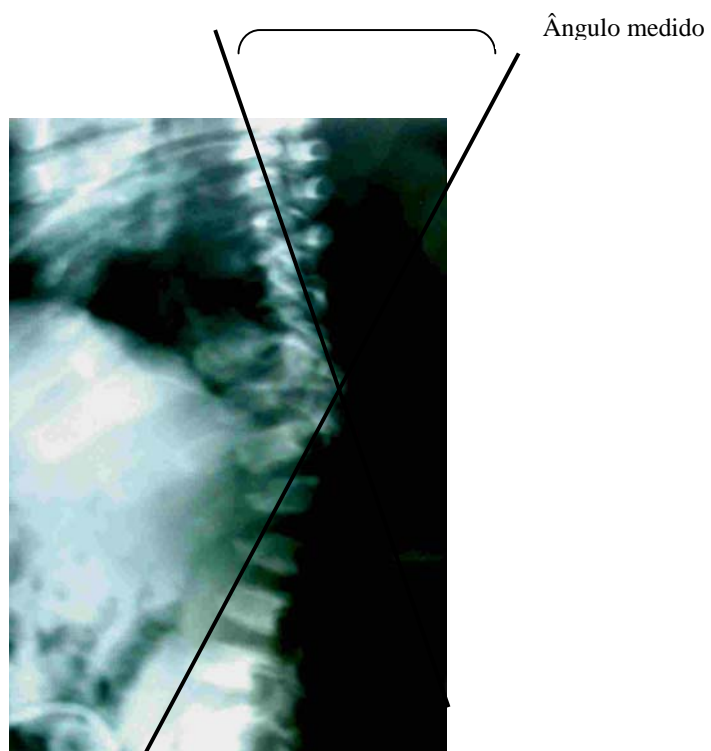


Figura 2: Medida da angulação da gibba lombar em RX de coluna lombar de paciente com MPS VI (12 anos).

**Tabela 1: Achados clínicos e radiológicos de 24 pacientes com Mucopolissacaridose tipo VI**

<b>Variável</b>	<b>Valores*</b>
Peso (kg)	19,4±5 (13,6 – 36,5)
Atura(cm)	100,0±10,0 (80,0 – 130,0)
**Déficit de peso (%)	39,5±18.4 (0,9 – 64,6)
**Déficit de altura (%)	27,5±9,7 (9,6 – 44,2)
Ângulo da giba lombar (°)	23 (0 - 42)
Ângulo radio-ulnar distal (°)	58 (11,5 - 94,5)

\*Variáveis com distribuição simétrica são descritas por média ± desvio-padrão (variação). Variáveis com distribuição assimétrica são descritas com mediana (intervalo interquartil)

\*\*Déficit de peso = diferença entre o peso atual e o peso no percentil 50 para o paciente X 100 (peso no percentil 50 baseado na curva do NCHS); déficit de altura= diferença entre a altura atual e a altura no percentil 50 para a idade X100 (altura no percentil 50 baseada na curva do NCHS)<sup>82</sup>.

**Tabela 2: Achados em RX de Mãos e Coluna Lombar de pacientes com Mucopolissacaridose tipo VI**

<b>Achado</b>	<b>N</b>
Aumento da concavidade posterior dos corpos vertebrais lombares *	24/24
Metacarpos com bases cônicas	24/24
Encurtamento de metacarpos	24/24
Aumento da angulação distal do radio em relação a ulna	17/23
Giba lombar**	16/24
Vértebra em anzol***	10/24

\* Este achado foi observado em todas as vértebras; \*\* Vértebra (s) de vértice: L1: 4/16; L2: 10/16, e L1-L2: 2/16; \*\*\* observado apenas em L2.

**Tabela 3: Correlação de Pearson significativas entre as variáveis clínicas e achados de RX de mãos e coluna lombar de 24 pacientes com Mucopolissacaridose VI.**

<b>Variáveis</b>	<b>Coefficiente de correlação (r)</b>	<b>Valor de p</b>
Idade X Déficit peso	0,77	<0,01
Idade X Déficit altura	0,75	<0,01
Idade X Peso	0,55	0,04
Idade X Altura	0,39	0,05
Idade X VLs (longitudinal)	0,62	<0,01
Peso X VLs (longitudinal)	0,56	<0,05
Peso X VLs (transversal)	0,40	<0,05
Altura X VLs (longitudinal)	0,53	<0,05
Altura X VLs- (transversal)	0,58	<0,05
Peso X Tamanho metacarpos**	0,41-0,59	<0,05
Altura X Tamanho metacarpos**	0,43-0,63	<0,05

VL: Média do tamanho de vértebras lombares

#### 4- Discussão e Conclusões

Neste estudo, nós avaliamos 24 pacientes com MPS VI através de RX de mãos e coluna lombar. Esta é a maior série de pacientes com MPS VI estudados até agora, em relação a estas variáveis. As alterações osteo-articulares constituem um componente importante da morbidade associada a MPS VI, mas há poucos estudos relatando estes achados. Por esta razão, acreditamos que os nossos resultados ajudarão a esclarecer e definir melhor estas alterações e sua relação com a progressão da doença.

Escolhemos as mãos e coluna lombar para serem estudadas devido a relatos de estudos anteriores que apontavam o encurtamento de metacarpos e a presença destes com bases cônicas, além da presença da gibba lombar, como

sinais precoces da MPS VI e possíveis marcadores da sua gravidade<sup>79,80</sup>. Utilizamos o RX simples como método de avaliação, sabendo das suas limitações, principalmente relacionadas a análise quantitativa, mas o escolhemos por ser um método de baixo custo, não invasivo e de simples realização.

Os nossos resultados confirmam a importância das alterações em mãos e coluna lombar na MPS VI sendo observadas em todos os pacientes. A alteração mais freqüente em RX de coluna lombar foi o aumento da concavidade posterior dos corpos vertebrais. A presença de gibba lombar também foi uma alteração freqüente, sendo L2 a vértebra de vértice mais comum, mas a severidade da sua angulação não apresentou correlação, como se supunha haver com os níveis de GAG na urina, angulação radio-ulnar e déficits de peso e altura dos pacientes. Da mesma maneira, não encontramos correlação entre o ângulo distal do rádio em relação a ulna e as mesmas variáveis. Estes dados mostram que, apesar da presença da gibba e da alteração em ângulo radio-ulnar serem freqüentes em pacientes com MPS VI, elas não parecem ter relação com a progressão da doença. O encurtamento de metacarpos foi observado em todos os pacientes e o seu tamanho mostrou correlação positiva com a idade, sugerindo que o crescimento de metacarpos é afetado precocemente na MPS VI. A idade mostrou correlação positiva com o tamanho, no eixo longitudinal, de vértebras lombares, como esperado em indivíduos sem MPS VI. O tamanho, nos eixos longitudinal e transversal das vértebras lombares mostraram correlação positiva com o peso e com a altura, como também é esperado em indivíduos sem a doença. Estes resultados sugerem que as vértebras lombares são afetados mais tardiamente que

os metacarpos na MPS VI. Os déficits de peso e altura mostraram correlação positiva com a idade, confirmando a sua importância como preditor da gravidade da doença.

Concluindo, este estudo quantifica e salienta a alta frequência do aumento da concavidade posterior dos corpos vertebrais lombares na MPS VI; confirma ainda a importância dos déficits de peso e altura, sugerindo uma correlação destes com gravidade da doença. Ele ainda caracteriza e quantifica a angulação da giba lombar e radio-ulnar posterior, mas não indica estes parâmetros como associados à gravidade da doença. Por fim, este estudo sugere ainda uma redução na densidade óssea nos pacientes com MPS VI

## Agradecimentos

Nossos agradecimentos ao apoio científico do Grupo de Apoio a Pesquisa e Pós Graduação do Hospital de Clínicas de Porto Alegre- Universidade Federal do Rio Grande do Sul e ao FIPE (Fundo de Incentivo a Pesquisa) do Hospital de Clínicas de Porto Alegre e ao apoio ainda do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico- CNPQ.

## Bibliografia

(ver no fim da tese)

## **ARTIGO Nº 3**

### **Achados em Ressonância Magnética de Crânio em Pacientes com Mucopolissacaridose Tipo VI**



## Página De Título

### Achados em Ressonância Magnética de Crânio em Pacientes com Mucopolissacaridose Tipo VI

Ana Cecília Azevedo<sup>1,2</sup>, MD, MSc

Leonardo Vedolin<sup>4</sup>, MD, PhD

Márcia Komlos<sup>4</sup>, MD

Fábio Kunihiro Maeda<sup>4</sup>, Físico

Maira Graeff Burin<sup>2</sup>, Bioquímica, PhD

Roberto Giugliani<sup>1,2,3</sup>, MD, PhD

Ida Schwartz<sup>2,3</sup>, MD, PhD

1- Programa de Pós- Graduação em Ciências Médica: Pediatria- Universidade do Rio Grande do Sul; 2- Serviço de Genética Médica- Hospital de Clínicas de Porto Alegre; 3- Departamento de Genética Médica- Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 4- Centro de Diagnóstico por Imagem- Mãe de Deus Center- Porto Alegre.

Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Rua Ramiro Barcelos 2350, CEP: 90035-903, Porto Alegre- RS- Brasil- Telefone: 55-51-210180-11; FAX: 55-51-2101-8010

E-mail: [aazevedo@hcpa.ufrgs.br](mailto:aazevedo@hcpa.ufrgs.br)

“SPECIAL REPORT”

Contagem de Palavras:

## **Página De Título Abreviada**

### **Achados em RM de Crânio em Pacientes com MPS VI**

“SPECIAL REPORT”

Avanços no Conhecimento;

Não houve correlação entre achados de Ressonância Magnética e medida de QI nos pacientes estudados;

Houve correlação entre idade e carga lesional normalizada de substância branca e com volume cerebral normalizado, entre carga lesional normalizada de substância branca com déficit de altura e entre o volume cerebral normalizado e os déficits de peso e altura dos pacientes.;

Apesar de os pacientes com MPS VI habitualmente apresentarem inteligência normal, os achados da testagem de QI demonstraram que podem haver pacientes com MPS VI com retardo mental acima do esperado na população.

Implicações nos cuidados com o paciente:

Este trabalho demonstra que há alterações em imagem de ressonância magnética de cérebro de pacientes com MPS VI, o que deve ser levado em conta no acompanhamento clínico dos pacientes, assim como a possível ocorrência de retardo mental que também deve ser melhor esclarecido.

## Resumo

Mucopolissacaridose tipo VI é uma rara doença de depósito lisossômico causada pela deficiência na atividade da enzima N-acetilgalactosamina-4-sulfatase. O objetivo principal é descrever achados de ressonância magnética de crânio e fazer uma correlação dos mesmos com características clínicas e bioquímicas de pacientes com MPS VI. Este trabalho foi realizado no Hospital de Clínicas de Porto Alegre, com 25 indivíduos com Mucopolissacaridose tipo VI que realizam acompanhamento ambulatorial na mesma instituição entre 2004 e 2006, mediante aprovação pelo Comitê de ética da instituição e assinatura de Termo de Consentimento Informado. Todos os pacientes realizaram avaliação clínica, testagem de QI, medida de GAG na urina e ressonância magnética (RM) de cérebro.

A média de idade na avaliação foi de  $10,6 \pm 4,52$  anos. Cinco de 16 pacientes apresentaram QI total abaixo dos valores considerados normais. A RM foi alterada na maioria dos pacientes ( $n= 19/21$ ), e a alteração mais freqüente foi a presença de espaços perivasculares dilatados e lesão em substância branca. Encontramos correlação entre a idade e a carga lesional normalizada de substância branca (CLN) ( $r=+0,46$ ;  $p=0,04$ ) e volume cerebral normalizado (VCN) ( $r=-0,56$ ;  $p=0,01$ ), entre CLN e déficit de altura ( $r=+0,48$ ;  $p=0,04$ ), e entre VCN e déficit de peso ( $r=-0,58$ ;  $p=0,01$ ) e déficit de altura ( $r=-0,55$ ;  $p=0,01$ ). Não foi encontrada correlação entre GAG urinário e as variáveis quantitativas de RM, assim como entre QI e variáveis de RM (qualitativas e quantitativas).

Apesar da MPS VI usualmente não ser associado a retardo mental, o paciente pode apresentar esta alteração que parece não ter relação com as alterações que possuem em RM, que são comuns. Outros estudos devem ser realizados para confirmar os nossos achados.

## **Achados em RM de Crânio em Pacientes com Mucopolissacaridose Tipo VI:**

### **1. Introdução**

A Mucopolissacaridose tipo VI (MPS VI) é uma Doença Lisossômica (DL) caracterizada pelo acúmulo de Glicosaminoglicanos (GAG) em diversos órgãos e tecidos devido à deficiência de atividade de uma enzima intralisossomal, a N-acetil-galactosamina-4-sulfatase (Arilsulfatase B ou ARSB)<sup>83</sup>. A incidência está em torno de 0,16 a 0,46 of 100,000 nascidos vivos<sup>84,85</sup>. A doença caracteriza-se por ser multissistêmica e progressiva sendo acometidos principalmente os sistemas esquelético e cardiopulmonar, a córnea, a pele, o fígado, o baço, o cérebro e as meninges<sup>86</sup>. O tratamento se dá com medidas de apoio gerais, transplante de células hematopoiéticas em casos selecionados e, mais recentemente, com a Terapia de Reposição Enzimática (TRE). A TRE com a Galsulfase (ARSB recombinante) surgiu como uma alternativa importante de tratamento havendo comprovadamente redução da excreção de GAG urinários, melhora da mobilidade articular<sup>87</sup> e melhora da resistência geral do indivíduo<sup>88</sup>. Estes estudos não estudaram modificações nas alterações relacionadas à MPS VI no sistema nervoso com a TRE<sup>5,6</sup>.

Especialmente sobre as alterações neurológicas relacionadas a MPS VI, em geral os indivíduos possuem inteligência normal<sup>4,89,90,91,92,93</sup>, mas as aquisições cognitivas podem ser prejudicadas por déficit auditivo e visual, assim como pelas outras limitações físicas que podem apresentar<sup>83</sup>. Há descritos casos na literatura de retardo mental em indivíduos com MPS VI segundo relatado em um paciente descrito por Vestermark et al (1987)<sup>94</sup>, 2/9 pacientes descritos por Albano et al (2000)<sup>95</sup> e, possivelmente em 1/28 paciente descrito por Azevedo et al (2004)<sup>96</sup>, mas não foi realizada testagem de QI em nenhum destes pacientes. Com relação a Ressonância Magnética de Crânio, os resultados de diversos estudos

tem demonstrado que a atrofia cerebral, lesão de substância branca e hidrocefalia são achados freqüentes em pacientes com MPS, mas, não há estudo específicos em pacientes com MPS VI<sup>97,98,99</sup>.

Este trabalho foi realizado com o objetivo principal de descrever achados de RM de crânio e fazer uma correlação dos mesmos com características clínicas e bioquímicas de pacientes com MPS VI.

## 2. Métodos

Trata-se de um estudo transversal de uma amostra de conveniência de 25 pacientes com diagnóstico clínico e bioquímico confirmado de MPS VI (atividade da ARSB < 10% do limite inferior da normalidade com atividade de outras sulfatases normal e excreção urinária aumentada de sulfato de dermatan) atendidos no ambulatório de MPS do Hospital de Clínicas de Porto Alegre entre 2004 e 2006. Todos os pacientes são vistos regularmente no ambulatório citado, centro de referência para diagnóstico e tratamento das MPS na América do Sul. O trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, onde foi realizado. Pós assinatura de Termo de Consentimento Informado, durante o período de uma semana, aproximadamente, foram realizadas as seguintes avaliações:

Dosagem de GAG urinário: amostra de urina ocasional pelo teste espectrofotométrico do azul do 1,9 dimetilmetileno descrito por JONG et al, 1992<sup>100</sup>. A variável foi analisada na sua unidade original (ug/mg de creatinina) e em vezes acima o maior limite considerado para a idade. Quando o paciente se encontrava em TRE, foi considerado o valor anterior ao início da terapia (amostra coletada antes da primeira infusão).

Avaliação clínica/física: realizada pelo mesmo pesquisador com as seguintes variáveis: peso e déficit de peso (medida em porcentagem do peso do indivíduo considerando o ideal o percentil 50, a partir das curvas do NCHS<sup>101</sup>, para sua idade), estatura e déficit estatural (medida em porcentagem

da altura do indivíduo considerando o ideal o percentil 50, a partir das curvas do NCHS<sup>82</sup>, para sua idade);

RM de crânio: todos os pacientes foram submetidos à RM em aparelho de 1.5T (*Synphony, Siemens, Erlangen, Germany*). Para quantificação das variáveis de RM, foi utilizado método de segmentação semi-automático e automático. Foram realizados cortes axiais paralelos a uma linha que une as porções ântero-inferior e pósterio-inferior do corpo caloso e duas seqüências de pulso foram utilizadas: (1) FLAIR (tempo de repetição de 9000 msec, tempo de eco de 114msec e tempo de inversão de 2500 msec) e (2) T2 (tempo de repetição de 4000 msec e tempo de eco de 99 msec). A espessura das imagens foi de 5 mm, o campo de visão (FOV) variou entre 180 a 230 mm e o tamanho dos pixels ficou entre 0.45 to 0.55 cm. Não foi utilizado contraste paramagnético. A análise das imagens foi realizada em uma estação de trabalho por dois pesquisadores. Eles estavam cegados para os dados clínicos dos pacientes. Não foi realizado qualquer tipo de anestesia ou sedação para realização do exame.

As variáveis qualitativas foram analisadas em separado e as discrepâncias decididas em consenso. Foram analisadas as seguintes variáveis quantitativas: carga lesional normalizada da substância branca (CLN- medida quantitativa numérica da lesão de substância branca normalizada para o tamanho da caixa craniana), volume do líquido cefalorraquidiano normalizado (VLCRN- medida quantitativa numérica do volume do líquido céfalo-raquidiano normalizado para o tamanho da caixa craniana), volume ventricular normalizado (VVN- medida quantitativa numérica do volume ventricular normalizada para o tamanho da caixa craniana) todos medidos através de técnica de segmentação automática e ainda a variável volume cerebral normalizado (VCN medida quantitativa numérica do volume cerebral normalizada para o tamanho da caixa craniana), medido através de técnica semi-automática. As variáveis qualitativas analisadas foram: lesão de substância branca (leve, moderada ou grave), hidrocefalia (presente ou ausente), dilatação de espaços perivasculares (DEP- leve, moderada ou grave), megacisterna magna (presente ou ausente) e atrofia cerebral segundo critérios de Vedolin et al (*Neuroradilogy, 2007*)<sup>102</sup> e Vedolin et al (*Neurology, 2007*)<sup>103</sup>.

Avaliação do QI: realizada por uma psicóloga única com experiência em testes semelhantes em pacientes com MPS. Foram utilizadas as Escalas de Wechsler<sup>104,105</sup>: WPPSI (Wechsler Preschool and Primary Scale of Intelligence)- para crianças entre 4 e 6,5 anos; WISC III (Wechsler Intelligence Scale for Children)- para avaliar crianças entre 6 e 16 anos; WAIS-III (Wechsler Adult Intelligence Scale)- para maiores de 16 anos. O instrumento WISC-III e WAIS-III tem validação no Brasil<sup>106</sup>, o mesmo ainda não ocorre com o WIPPSI. Foram determinados o QI total, QI verbal, QI de execução e o potencial cognitivo. O QI foi classificado da seguinte maneira segundo Wechsler<sup>104</sup>: acima da média da população ( $\geq 120$ ); na média da população (80-119); abaixo da média da população limítrofe (70-79) e deficiente mental ( $\leq 69$ ). Para quantificar o Potencial cognitivo foi utilizada a tabela abaixo segundo Wechsler<sup>105</sup>: acima da média da população ( $\geq 14$ ); na média da população (6-13), abaixo da média da população limítrofe (4-5) e deficiente mental ( $\leq 3$ ).

Os resultados foram analisados através do SPSS V14.0 sob a orientação do Grupo de Pesquisa e Pós Graduação ligado ao Hospital de Clínicas de Porto Alegre e Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Foram considerados significativos valores de  $p < 0.05$ . Variáveis categóricas foram descritas através de freqüências simples e percentagens. As variáveis contínuas com distribuição normal foram descritas através de média com desvio padrão, valores mínimos e máximos. Variáveis contínuas com distribuição assimétrica foram descritas usando mediana com intervalo interquartil (percentis 25 e 75), valores mínimos e máximos. O teste t de Students e de Mann-Whitney foram usados para análise de variáveis contínuas com distribuição normal e assimétrica, respectivamente. As variáveis categóricas foram analisadas usando o teste de Qui-quadrado ( $\chi^2$ ) ou teste Exato de Fischer. O coeficiente de correlação de Pearson ( $r$ ) foi utilizado para correlacionar variáveis com distribuição simétrica e o coeficiente de correlação de Spearman para as demais, para um  $\alpha = 0.05$  e  $\beta = 80\%$ .

### 3. Resultados

Foram avaliados 25 pacientes com média de idade de  $10,6 \pm 4,52$  anos (variação: 4,4-23,4 anos), sendo 14 (56%) do sexo feminino. Estavam em TRE 10/25 pacientes que tinham, em média,  $69 \pm 33,6$  semanas de tratamento (variação: 7-96 semanas).

Todos fizeram a testagem de QI, mas houveram dificuldades importantes pois 9 (36%) apresentavam déficit visual importante dificultando a aplicação da escala de execução, e destes, 2 (8%) apresentavam além disto, déficit auditivo importante dificultando a aplicação da escala verbal. A média de QI total, nos 16 pacientes que completaram todos os subtestes foi de  $75,3 \pm 16,7$  (variação: 50-125). De acordo com este parâmetro, 5/16 (31,2%) pacientes apresentaram teste alterado ( $QI \leq 69$ ). A média do potencial cognitivo nos 25 pacientes foi de  $6,8 \pm 3,4$  (variação: 2-17) De acordo com este parâmetro, 4/25 (16%) pacientes apresentaram teste alterado ( $\leq 3$ ). Excluindo da amostra os pacientes com déficit visual e/ou auditivo mais importante, o número de pacientes com potencial cognitivo alterado cai para 2/25 (9,5%).

Não conseguiram realizar a RM, em função de não cooperação para o exame, 4/25 pacientes (16%). Com relação aos resultados dos exames de RM, apenas 2/21 (9,5%) pacientes apresentaram RM normal considerando as variáveis qualitativas. As tabelas 1 e 2 mostram os resultados completos dos resultados obtidos em RM. A Figura 1 mostra um exemplo de lesão de substância branca e hidrocefalia em um paciente de 10,6 anos com MPS VI e a Figura 2 mostra um exemplo de lesão de substância branca e dilatação de espaços perivasculares em um paciente de 23,4 anos com MPS VI.

Encontramos correlação entre: CLN e idade ( $r=+0,46$ ,  $p=0,04$ ); CLN e déficit de altura ( $r=+0,48$ ,  $p=0,04$ ); VCN e idade ( $r=-0,56$ ,  $p=0,01$ ); VCN e déficit de peso ( $r=-0,58$ ,  $p=0,01$ ), e entre VCN e déficit de altura ( $r=-0,55$ ,  $p=0,01$ ). Não encontramos correlação entre GAG urinário e variáveis quantitativas de RM e entre QI e variáveis de RM quantitativas (Scatterplots 1-4).



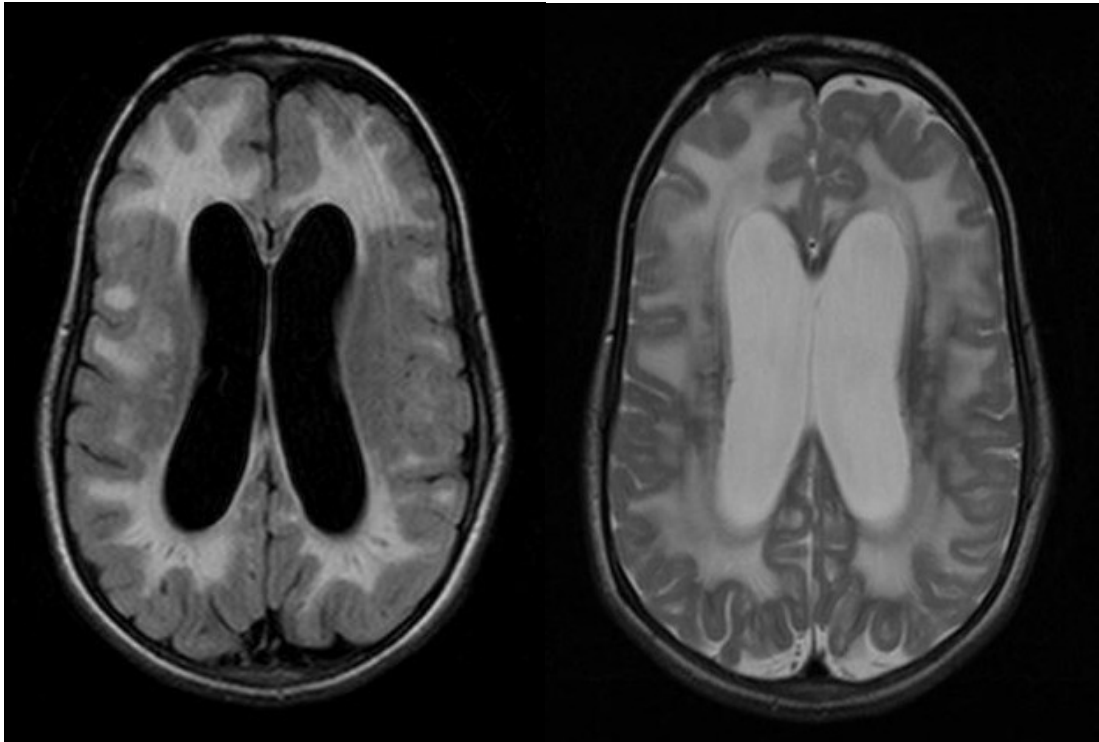


Figura 1: Imagens de RM em Axial FLAIR (a) e T2 (b). Exemplos de lesão de substância branca e hidrocefalia em um pacientes com Mucopolissacaridose tipo VI (10,6anos).

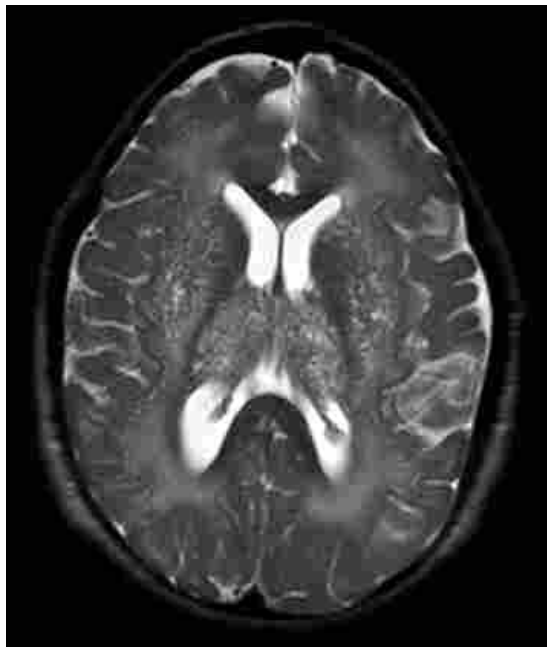


Figura 2: Imagem de RM em Axial T2WI mostrando lesão de substância branca e dilatação de espaços perivasculares em um paciente com Mucopolissacaridose VI (23 anos).

Pacientes com QI normal ou alterado não apresentaram diferença significativa quanto as variáveis analisadas, assim como os pacientes com e sem TRE.

**Tabela 1: Frequência das variáveis categóricas quanto ao resultado RM de 21/25 pacientes com MPS VI**

Variável	Frequência
<b>Lesão Substância Branca</b>	<b>16/21 (76,2%)</b>
Leve	7/16 (43,7%)
Moderada	1/16 (6,3%)
Grave	8/16 (50%)
<b>Espaços perivasculares dilatados</b>	<b>19/21 (90,5%)</b>
Leve	11/19 (57,9%)
Moderada	5/19 (26,3%)
Grave	3/19 (15,8%)
<b>Atrofia Cerebral</b>	10/21 (47,6%)
<b>Hidrocefalia</b>	14/21* (66,6%)
<b>Megacisterna Magna</b>	4/21 (19%)

\*3/21 pacientes tinham derivação ventrículo-peritoneal (DVP).

**Tabela 2: Medidas descritivas resultado RM em 21 pacientes com MPS VI**

Variáveis	Valores (em %)
VCN	53,74±3,65
CLN	2,55 (0,86 a 4,41)
VLCRN	6,53±3,23
VVN	2,41 (0,89 a 2,93)

VCN (Volume cerebral normalizado), CLN (Carga Lesional Normalizada em substância branca), VL (Volume LCR normalizado), VVN (Volume Ventricular Normalizado)

Variáveis com distribuição simétrica são descritas pela media ± desvio padrão

Variáveis com distribuição assimétrica são descritas pela mediana (intervalo interquartil)

#### 4. Discussão e Conclusões

Neste estudo foram estudados 25 pacientes com MPS VI através de RM de cérebro com uma análise qualitativa e quantitativa das variáveis. Esta é a maior série de pacientes com MPS no qual estas variáveis foram estudadas. A presença

de espaços perivasculares dilatados foi a alteração mais freqüente (19/21). A presença de lesão de substância branca também foi um achado freqüente (16/21), mas não houve correlação entre CLN e o QI dos pacientes. Sá et al (2006)<sup>107</sup> acharam uma fraca correlação entre alteração de sinal e substância branca e retardo mental em pacientes com MPS I, II e III. Matheus et al (2004)<sup>108</sup> não acharam correlação entre imagens de RM e manifestação clínica em pacientes com MPS I e II sem retardo mental. Já, em um estudo com 19 pacientes com MPS I, Vedolin et al (2007)<sup>163</sup> acharam mais lesões em pacientes com comprometimento neurológico. Nós também encontramos uma correlação positiva entre CLN e idade e entre CLN e déficit de altura, o que sugere que a lesão de substância branca é progressiva com a doença na MPS VI. A atrofia cerebral foi observada em 47,6% dos pacientes e o VCN mostrou correlação negativa com a idade e com os déficits de peso e altura, o que sugere que o volume cerebral é progressivo também. A hidrocefalia também é freqüente, mas o VLNRN e o VVN não mostraram correlação com a idade, déficits de peso ou altura. Não encontramos correlação entre GAG urinário e variáveis quantitativas de RM e nem entre QI e variáveis quantitativas de RM.

Em relação à testagem de QI, aproximadamente 30% da amostra apresentou QI total  $\leq 69$ . Considerando-se uma taxa de prevalência estimada de retardo mental em países em desenvolvimento em torno de 3%<sup>109,110</sup>, os nossos resultados mostram que parece haver comprometimento cognitivo nos indivíduos com MPS VI. Sabe-se, entretanto, que o QI total é determinado a partir dos subtestes que avaliam o QI verbal e o QI de execução e diferenças significativas entre estes, assim como a presença de variáveis como fadiga ou privação cultural, entre outros, diminuem a importância do QI total com um

índice do nível de inteligência geral da criança<sup>111</sup>. Por este motivo levamos em conta na nossa análise o Potencial cognitivo obtendo como resultado uma média já dentro dos limites intermediários da população com uma proporção menor de indivíduos com valores dentro dos limites considerados como retardo mental (16%) e excluindo os indivíduos com déficit importante, seja visual, auditivo ou ambos, este número cai para 8%. Não houve correlação entre resultados de QI total ou Potencial cognitivo e as outras variáveis analisadas e entre os grupos com e sem testagem de QI alterada, o que pode indicar que o desempenho deste grupo de pacientes nos testes utilizados não tem relação com a gravidade da doença ou com as alterações em RM que eles apresentam.

Concluindo: este estudo mostrou as alterações em RM de cérebro de pacientes com MSP VI são freqüentes e que há correlação entre CLN e idade, assim como entre VCN e idade. É possível que pacientes com MPS VI possam apresentar retardo mental, mas sabe-se que os testes de QI podem ser influenciados por privação cultural e por limitações físicas associadas à doença. Estudos adicionais são necessários pra confirmar nossos achados, talvez usando outros testes para avaliação do QI..

## **5. Agradecimentos**

Nossos agradecimentos ao apoio científico do Grupo de Apoio a Pesquisa e Pós Graduação do Hospital de Clínicas de Porto Alegre- Universidade Federal do Rio Grande do Sul e ao FIPE (Fundo de Incentivo a Pesquisa) do Hospital de Clínicas de Porto Alegre e ao apoio ainda do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico- CNPQ.

## **6. Bibliografia**

(ver no fim da tese)

## **ARTIGO Nº 4**

### **Estudo Clínico para Investigação de Fatores Associados com a Gravidade na Mucopolissacaridose tipo VI**

## Página de Título

### **Estudo Clínico para Investigação de Fatores Associados com a Gravidade na Mucopolissacaridose tipo VI**

Ana Cecília Azevedo<sup>1,2</sup>, MD, Msc

Leonardo Vedolin<sup>3</sup>, MD, PhD

Fábio Kunihiro Maeda<sup>3</sup>, Físico

Márcia Konlos<sup>3</sup>- MD

Adriana Pacheco Pires<sup>2</sup>- Psicóloga

Luiz Alberto Todeschini<sup>4</sup>- MD

Maira Graeff Burin<sup>2</sup>, Bioquímica, PhD

Roberto Giugliani<sup>1,2,5</sup>, MD, PhD

Ida Schwartz<sup>2,5</sup>, MD, PhD

1- Programa de Pós- Graduação em Ciências Médica: Pediatria- Universidade do Rio Grande do Sul; 2- Serviço de Genética Médica- Hospital de Clínicas de Porto Alegre; 3- Centro de Diagnóstico por Imagem- Mãe de Deus Center- Porto Alegre; 4- Serviço de Radiologia- Hospital de Clínicas de Porto Alegre; 5- Departamento de Genética Médica- Universidade Federal do Rio Grande do Sul;

Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Rua Ramiro Barcelos 2350, CEP: 90035-903, Porto Alegre- RS- Brasil; Telefone: 55-51-210180-11; FAX: 55-51-2101-8010

E-mail: [aazevedo@hcpa.ufrgs.br](mailto:aazevedo@hcpa.ufrgs.br)

## Resumo

A Mucopolissacaridose VI é uma doença lisossômica de depósito de glicosaminoglicanos causado pela deficiência de atividade da enzima N-acetilgalactosamina-4-sulfatase.

O objetivo deste estudo é analisar 25 pacientes brasileiros com MPS VI a fim de identificar os fatores associados com a gravidade da doença.

Todos os pacientes realizaram dosagem de GAG urinário, avaliação clínica e física, ressonância magnética de cérebro e RX de mãos e coluna lombosacra

A média de idade foi de  $10,6 \pm 4,5$  anos e a mediana da idade de início dos sintomas foi de 0,5 anos. Foram encontradas correlações entre a idade e a idade do início dos sintomas, entre idade e carga lesional normalizada de substância branca, idade e volume cerebral normalizado, idade e déficit de peso e idade e déficit de altura. Nenhuma correlação foi encontrada entre níveis de GAG na urina e as variáveis estudadas, nem entre os pacientes que recebem ou não Terapia da Reposição Enzimática.

A partir dos dados coletados, concluímos que a amostra parece ter a forma mais grave da doença sendo esta a forma mais freqüente de Mucopolissacaridose VI no Brasil. A construção de um escore de gravidade da doença deve incluir: idade do início dos sintomas, carga lesional normalizada de substância branca, volume cerebral normalizado, déficit de peso, déficit de altura e de níveis de GAG na urina.

Palavras Chave: Mucopolissacaridose tipo VI, Gravidade, Arilsulfatase B, Doenças Lisossômicas de Depósito

## **Estudo Clínico para Investigação de Fatores Associados com a Gravidade na Mucopolissacaridose tipo VI**

### *1. Introdução*

A Mucopolissacaridose tipo VI (MPS VI) é uma Doença Lisossômica de Depósito (DLD) caracterizada pelo acúmulo de Glicosaminoglicanos (GAG) em diversos órgãos e tecidos devido à deficiência de atividade de uma enzima lisossomal, a N-acetil-galactosamina-4-sulfatase (Arlsulfatase B ou ARSB)<sup>112</sup>. A incidência da MPS VI varia de acordo com a população estudada sendo citados números entre 0,16 e 0,46 por 100.000 nascidos vivos<sup>113,114</sup>. A doença caracteriza-se por ser multissistêmica e progressiva com envolvimento principalmente dos sistemas esquelético e cardiopulmonar, a córnea, a pele, o fígado, o baço, o cérebro e as meninges<sup>115</sup>. O tratamento se dá com medidas de apoio gerais, transplante de células hematopoiéticas em casos selecionados e, mais recentemente com a Terapia de Reposição Enzimática (TRE) com Galsulfase (ARSB recombinante). A TRE surgiu como uma alternativa importante de tratamento com redução da excreção de GAG urinários, melhora da mobilidade articular<sup>116</sup> e melhora da resistência geral do indivíduo medida através de teste da caminhada<sup>117</sup>. Não foram estudadas nestes trabalhos modificação na doença óssea ou neurológica relacionada a TRE<sup>74,75</sup>. Não se espera que a TRE modifique significativamente a doença óssea ou neurológica pois estes tecidos não são facilmente acessados por medicações endovenosas.

A maioria das MPS apresentam uma ampla variabilidade clínica devido a influencia da mutação causadora da doença e seu efeitos sobre a atividade enzimática. Usualmente se subdividem as formas clínicas em dois fenótipos (formas graves ou atenuadas) de acordo com a presença ou não de retardo mental. Os indivíduos com MPS VI tem em geral inteligência normal<sup>86,118,119,120,121,122</sup>, não podendo ser esse critério a ser usado para classificar as formas clínicas da doença. Não há consenso sobre este assunto, sendo que a maioria dos autores classifica de acordo com sua própria experiência<sup>1</sup>. Petry et al (2005)<sup>123</sup>, classificam os pacientes entre formas grave ou atenuada de acordo com a idade de início dos sintomas,



peso, altura e idade de óbito. Swiedler et al (2005)<sup>124</sup> and Karageorgos et al (2007)<sup>125</sup>, por sua vez, classificam os pacientes em forma rapidamente progressiva e atenuada, baseando-se nos níveis de GAG na urina, sugerindo um posto de corte de 200 µg /mg creatinina. Com relação a doença óssea, Whitley (1993)<sup>126</sup> e Levin et al (1997)<sup>127</sup> afirmam, respectivamente, que as alterações radiológicas em mãos e a presença de giba lombar ao Rx são sinais preditores da gravidade da doença.

O objetivo principal deste trabalho é identificar os fatores associados com a gravidade da MPS VI.

## *2. Material e Métodos*

Trata-se de um estudo observacional de uma amostra de 25 pacientes com diagnóstico clínico e bioquímico confirmado de MPS VI (atividade da ARSB < 10% do limite inferior da normalidade com atividade de outras sulfatases normal e excreção urinária aumentada de sulfato de dermatan) atendidos no ambulatório de MPS do Hospital de Clínicas de Porto Alegre entre 2004 e 2006. Todos os pacientes são vistos regularmente no ambulatório citados, centro de referência para diagnóstico e tratamento das MPS na América do Sul. O trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, onde foi realizado. Após assinatura de Termo de Consentimento Informado, durante o período de uma semana, aproximadamente, foram realizadas as seguintes avaliações:

Avaliação clínica/física: realizada pelo mesmo pesquisador coletando as seguintes variáveis: consangüinidade, idade de início dos sintomas, tipo de sintoma inicial, idade de diagnóstico, peso e déficit de peso (diferença entre o peso a atual e o peso no percentil 50 para a idade do paciente X 100- peso no percentil 50 baseado na curva do NCHS<sup>128</sup>), altura e déficit de altura (diferença entre a altura atual e a altura no percentil 50 para a idade do paciente X 100- peso no percentil 50 baseado na curva do NCHS<sup>128</sup>).

;

Dosagem de GAG urinário: amostra de urina ocasional pelo teste espectrofotométrico do azul do 1,9 dimetilmetileno descrito por JONG et al, 1992)<sup>129</sup>. A variável foi analisada na sua unidade original (ug/mg de creatinina) e em vezes acima o maior limite considerado para a idade. Quando o paciente se encontrava em TRE, foi considerado o valor anterior ao início da terapia.

RM de cérebro: todos os pacientes foram submetidos à RM. Achados na íntegra desta avaliação foram relatados por Azevedo et al (2007), sendo demonstrada correlação positiva entre idade e carga lesional normalizada de substância branca e entre idade e volume cerebral normalizado. Estas variáveis foram usadas no presente estudo para comparação com as demais variáveis.

RX de mãos e de coluna lombar: todos os pacientes realizaram RX de mãos e coluna lombar e a descrição completa desta avaliação foi relatado por Azevedo et al (2007), sendo demonstrada a existência de correlação positiva entre a idade e tamanho de ve'rtebra lombar no seu eixo longitudinal. Tal variável foi utilizada, portanto, no presente estudo para comparação com as demais variáveis.

Os resultados foram analisados através do SPSS V14.0 sob a orientação do Grupo de Pesquisa e Pós Graduação ligado ao Hospital de Clínicas de Porto Alegre e Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Foram considerados significativos valores de  $p < 0.05$ . Variáveis categóricas foram descritas através de freqüências simples e percentagens. As variáveis contínuas com distribuição normal foram descritas através de média com desvio padrão, valores mínimos e máximos. Variáveis contínuas com distribuição assimétrica foram descritas usando mediana com intervalo interquartil (percentis 25 e 75), valores mínimos e máximos. O teste t de Students e de Mann-Whitney foram usados para análise de variáveis contínuas com distribuição normal e assimétrica, respectivamente. As variáveis categóricas foram analisadas usando o teste de Qui-quadrado ( $\chi^2$ ) ou teste Exato de Fischer. O coeficiente de correlação de Pearson ( $r$ ) foi utilizado para correlacionar variáveis com distribuição simétrica e o coeficiente de correlação de Spearman para as demais, para um  $\alpha = 0.05$  e  $\beta = 80\%$ .

### 3- Resultados

#### 3. – Caracterização geral da amostra:

Foram avaliados 25 pacientes (14 do sexo feminino) provindos de 20 famílias não relacionadas, das quais 4 (20%) eram consangüíneas. A média de idade na avaliação foi de  $10,6 \pm 4,5$  anos. Ao diagnóstico, todos os pacientes apresentavam redução significativa na atividade da ARSB em leucócitos com atividade normal de outra sulfatase, assim como altos níveis de excreção de GAG na urina. Nenhum paciente havia sido submetido a transplante de células hematopoiéticas. No momento da avaliação, 10/25 pacientes estavam em TRE com um tempo de tratamento médio de  $69 \pm 33,6$  semanas. A média de idade ao diagnóstico bioquímico foi de  $4,8 \pm 3,0$  anos. A mediana de idade de manifestação do primeiro (s) sintoma (s) foi de 0,5 anos ( $p_{25}=0,2$ ,  $p_{75}=1,58$ ). O sintoma inicial mais freqüentemente citado foi a presença de giba lombar (Tabela 1).

**Tabela 1: Resultados Caracterização do sintoma inicial apresentado pelos pacientes da amostra.**

Sinal/Sintoma	Freqüência (n=25)
Alteração esqueléticas-coluna	7 (28,0%)
Mãos em garra	4 (16,0%)
Pectus carinatum	2 (8,0%)
Alterações esqueléticas-crânio	2 (8,0%)
Atraso crescimento	2 (8,0%)
Facies característica	2 (8,0%)
Atraso marcos desenvolvimento físico	2 (8,0%)
Contraturas articulares	2 (8,0%)
Pectus escavatum	1 (4,0%)
Alterações em marcha	1 (4,0%)

#### 4. – Com relação aos níveis de GAG na urina:

A média de GAG na urina foi de  $343,5 \pm 200,1$   $\mu\text{g}/\text{mg}$  de creatinina ( $5,3 \pm 2,3$  vezes acima do limite normal para a idade); nenhum dos pacientes ( $n=25$ ) apresentava níveis inferiores a  $100$   $\mu\text{g}/\text{mg}$  de creatinina e somente dois pacientes apresentavam níveis entre  $100$  e  $200$   $\mu\text{g}/\text{mg}$  of creatinina. Considerando as

dosagens de GAG urinários no momento da realização deste trabalho, os pacientes em TRE apresentavam média de  $186,1 \pm 54,8$   $\mu\text{g}/\text{mg}$  de creat. (variação: 130-270) e os pacientes sem TRE apresentavam média de  $575,6 \pm 165,9$   $\mu\text{g}/\text{mg}$  creat (n=15/25).

Os pacientes foram separados em grupos de acordo com os níveis de GAG na urina, inicialmente usando como ponto de corte 200  $\mu\text{g}/\text{mg}$  creatinina (acima: 23/25 pacientes; abaixo: 2/25 pacientes), não havendo diferença entre os grupos em relação às variáveis analisadas, achado que se repetiu quando o ponto de corte foi elevado para 250  $\mu\text{g}/\text{mg}$  creatinina (acima: 21/25 pacientes; abaixo: 4/25 pacientes). Esta análise foi repetida considerando somente os pacientes que não estavam em TRE (n=15/25), e tomando como ponto de corte a média dos GAG urinários ( $575,6 \pm 165,9$   $\mu\text{g}/\text{mg}$  creatinina), também não sendo achada diferença estatisticamente significativa entre os grupos.

### 3.3- Com relação aos déficits de peso e altura

Os pacientes apresentaram uma média de peso de  $19,4 \pm 5\text{kg}$  (variação de 13,6-36,5) e de déficit de peso de  $39,5 \pm 18,4\%$  (variação: 0,9-64,6). A média de altura foi de  $99,4 \pm 9,5\text{cm}$  (variação: 83-130) e de déficit de altura de  $27,5 \pm 9,7\%$  (variação: 9,6-44,2). Nós encontramos correlação entre idade e déficit de peso ( $r=0,78$ ;  $p<0,01$ ), déficit de altura ( $r=0,5$ ;  $p<0,01$ ) e entre idade e idade de início dos sintomas ( $r=0,56$ ;  $p<0,01$ ) Os pacientes que estavam e não estavam em TRE não diferiram quanto às variáveis analisadas acima.

A amostra foi dividida em dois grupos utilizando como ponto de corte as médias dos déficits de peso (39.5%) (acima: 11/25 pacientes; abaixo: 14/25 pacientes) e altura (27.5%) (acima: 13/25 pacientes; abaixo: 12/25 pacientes), não havendo diferença entre os grupos em relação às variáveis analisadas.

## *5. Discussão e Conclusões*

Os dados da nossa população mostram uma diferença significativa entre a consangüinidade da amostra em comparação com a relatada para a população brasileira (1.6%)<sup>130</sup>. Este é um resultado esperado, sabendo-se que a MPS VI é

uma doença de herança autossômica recessiva. A giba lombar mostrou ser o mais freqüente sintoma inicial relatado, confirmando a sua importância, já mencionada na literatura<sup>1,17</sup>. A idade de início dos sintomas (mediana= 0,5 anos) contrasta com a idade de diagnóstico (media= 4,8 anos), mostrando portanto um considerável atraso no diagnóstico, como já mostrado em outros estudos com população predominantemente brasileira<sup>131</sup>. Sabe-se que a idade de início dos sintomas e a idade de diagnóstico são fatores relacionados à gravidade da doença<sup>1,2,8,17</sup>, mas a nossa amostra não mostrou correlação entre estas duas variáveis. Acreditamos que isto ocorreu devido a um viés na idade de diagnóstico, já que muitos pacientes apresentam dificuldade de diagnóstico bioquímico da doença, que pode ser diagnosticada tardiamente apesar do início precoce dos sintomas. Todavia encontramos uma correlação positiva entre idade cronológica e idade dos primeiros sintomas, indicando que talvez os pacientes mais velhos apresentem forma mais branda da doença, como mencionado na literatura<sup>1,8,17</sup>. O tamanho da amostra também pode ter influenciado neste resultado. A idade também apresentou uma correlação positiva, já esperada, com os déficits de peso e altura, indicando que o impacto que a doença tem no crescimento físico dos pacientes. Os níveis de GAG urinários da população mostram que ela é constituída predominantemente por pacientes com a forma grave da doença, Segundo o critério sugerido por Swiedler et al (2005)<sup>124</sup> sem, entretanto, apresentar correlação com outras possíveis variáveis preditoras de gravidade, como déficits de peso e altura. Nós acreditamos que este fato ocorreu por ser esta amostra constituída de indivíduos com a forma grave da doença, não aparecendo matematicamente esta esperada correlação.

Concluindo: os nossos dados sugerem que a amostra estudada é composta por pacientes que apresentam a forma mais grave da doença, e que esta é a forma mais freqüente da MPS VI no Brasil. Um escore de classificação de gravidade pode ser estabelecido para os pacientes com MPS VI que inclua as seguintes variáveis: idade de início de sintomas, carga lesional normalizada de substância branca, volume cerebral normalizado, déficits de peso e altura.

## *1. Agradecimentos*

Nossos agradecimentos ao apoio científico do Grupo de Apoio a Pesquisa e Pós Graduação do Hospital de Clínicas de Porto Alegre- Universidade Federal do Rio Grande do Sul e ao FIPE (Fundo de Incentivo a Pesquisa) do Hospital de Clínicas de Porto Alegre e ao apoio ainda do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico- CNPQ.

## *2. Referências*

(ver no fim da tese)

VERSÕES EM INGLÊS E/OU PDF

## Title Page

# Radiological Evaluation of Patients with Mucopolysaccharidosis VI: hand and lumbar spine findings

Ana Cecília Azevedo, MD, MSc <sup>1,2</sup>

Maira Graeff Burin, Biochemist, PhD<sup>2</sup>,

Luiz Alberto Todeschini, MD <sup>4</sup>

Roberto Giugliani, MD, PhD <sup>1,2,3</sup>

Ida Vanessa D. Schwartz, MD, PhD <sup>2,3</sup>

1- Post-Graduation Program in Medical Sciences – Pediatrics- Universidade

Federal do Rio Grande do Sul, Brazil

2- Serviço de Genética Médica (Medical Genetic Service)- Hospital de Clínicas de

Porto Alegre; RS- Brazil

3- Departamento de Genética Médica (Medical Genetic Department)- Universidade

Federal do Rio Grande do Sul, Brazil

4- Serviço de Radiologia (Radiology Service)- Hospital de Clínicas de Porto

Alegre- RS, Brazil

Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Rua Ramiro Barcelos 2350, 90035-903,

Porto Alegre- RS- Brasil; Telephone: 55-51-210180-11; FAX: 55-51-2101-8010

E-mail: [aazevedo@hcpa.ufrgs.br](mailto:aazevedo@hcpa.ufrgs.br)

“SPECIAL REPORT”

Word count: 1549



## Abbreviated Title Page

# Radiological Evaluation of Patients with Mucopolysaccharidosis VI: hand and lumbar spine findings

“SPECIAL REPORT”

### **Advances in Knowledge:**

Increased concavity of posterior vertebral bodies was found in all patients;

Shortening of metacarpals seems to be an early frequent sign of the disease;

The presence of lumbar gibbus and the alteration of the distal radius angle in relation to the ulna are frequent findings in MPS VI patients, but they do not seem to be related to the disease severity.

### **Implications for patient care:**

The weight and height deficits can be used as markers of the MPS VI severity in studies that aim at the evaluation of therapeutical interventions, or in a severity index for this disease.

A deeper investigation is required concerning the occurrence of osteopenia and osteoporosis in MPS VI patients.

## Abstract

Mucopolysaccharidosis VI is a multisystemic and progressive lysosomal storage disorder caused by the deficiency of the enzyme *N*-acetylgalactosamine 4-sulfatase, which is involved in the glycosaminoglycan catabolism. This study's main objective was to characterize hand and lumbar spine X-rays findings observed in patients with MPS VI and correlate these findings with age, weight, height and glycosaminoglycan levels in urine.

This study was performed at Medical Genetics Service of Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Brazil, with 24 individuals with MPS VI who received clinical care at this institution from 2004 to 2006, with approval of the local Ethics Committee and an Informed Consent signature.

The mean age at evaluation was  $10.8 \pm 4.5$  years. The hand and lumbar spine X-rays were both abnormal in all patients. The most frequently abnormalities found were short metacarpals, metacarpals with pointed bases and an increased concavity of posterior vertebral lumbar bodies. Lumbar gibbus and abnormal distal radius angle in relation to the ulna were also frequent. Age showed a positive correlation with weight, weight deficit, height deficit and with the longitudinal axis length (LLA) of lumbar vertebrae. Correlations were not found between age and shortening of metacarpals, lumbar gibbus angle and distal radius-ulna angle. Weight and height showed a positive correlation with the LLA of metacarpals and with the length of lumbar vertebrae (longitudinal and transversal).

These results suggest that weight and height deficits seem to be related to disease severity. Additional studies involving more patients are required to confirm these findings.

## Radiological Evaluation of Patients with Mucopolysaccharidosis VI: hand and lumbar spine findings

### 1- Introduction

Mucopolysaccharidosis VI (MPS VI) is a Lysosomal Storage Disorder (LSD) characterized by the accumulation of Glycosaminoglycans (GAG) dermatan and chondroitin sulfates in various organs and tissues, and that results from the deficiency of lysosomal enzyme *N*-acetylgalactosamine 4-sulfatase (arylsulfatase B or ARSB)<sup>132</sup>. The incidence of MPS VI varies according to the studied population, ranging from 0.16 to 0.46 out of 100,000 live births<sup>133,134</sup>. The disease is characterized by its multisystemic and progressive aspects, affecting mainly the skeletal and cardiopulmonary systems, cornea, skin, liver, spleen, brain and meninges<sup>135</sup>. There is excessive excretion of GAG in urine, which contributes to the disease diagnosis in conjunction with the biochemical demonstration of ARSB enzyme deficiency (<10%). The treatment includes supporting measures, transplant of hematopoietic cells in selected cases and, more recently, Enzyme Replacement Therapy (ERT). The ERT with Galsulfase (recombinant ARSB) is associated with reduced excretion of GAG in urine, improved articular mobility<sup>136</sup> and improved general resistance of the patient<sup>137</sup>. However, it is not expected that ERT could affect significantly the natural course of bone or brain disease since these tissues are not easily target by the intravenous enzyme. Studies performed

in animals with MPS VI suggest that the bone disease will be affected by ERT only if the treatment is started very early (e.g., in the newborn period) <sup>5,6</sup>.

Skeletal alterations associated with MPS VI have the generic denomination of dysostosis multiplex<sup>73,138</sup>, and affect the skeleton in many ways. Such alterations include macrocephaly with enlarged sella turcica, biconvex configuration of vertebrae with a hook-shaped deformity in more serious cases<sup>139</sup>, increased concavity of posterior vertebrae with longer pedicles, odontoid hypoplasia, thoracic and lumbar gibbus in more serious cases<sup>140</sup>, reduced vertebra thickness, oar-like ribs, small and thick clavicles, thick and raised scapulae<sup>2</sup>, coxa valga, wide diaphyses, small and wide phalanges and narrow epiphyses, metacarpals with pointed bases, small and irregular carpal bones, and alteration to the distal radius angle in relation to the ulna<sup>2,6</sup>. It is believed that radiological alterations in hands are good indicators of the disease severity<sup>141</sup>, which, combined with short stature, can be the only signs in mildly affected patients<sup>142</sup>. However, there are few publications reporting on such alterations, characterizing them or showing their possible relation with the disease progression.

This study's main objective was to describe radiological aspects observed in hand and lumbar spine X-rays of 24 patients with MPS VI, and its secondary objective was to investigate the correlation of these findings with disease progression parameters (weight, height and glycosaminoglycan levels in urine).

## 2- Methods

This is a cross-sectional study of the 24 patients with clinical and biochemical diagnosis of MPS VI (increased excretion of dermatan sulfate through urine, deficiency of ARSB enzyme in leucocytes with another normal sulfatase), who received clinical care at Mucopolysaccharidosis division of Serviço de Genética Médica at Hospital de Clínicas de Porto Alegre from 2004 to 2006. In the same visit, hand and lumbar column X-rays were performed, GAG in urine were measured (spectrophotometric method of 1.9-dimethylmethylene blue described by JONG et al, 1992)<sup>143</sup>, as well as weight and height, anamnesis and history were revised. All X-rays were analyzed through a blind system by the same radiologist specialized in lysosomal disease. The results were assessed using SPSS V14.0. Categorical variables were summarized using frequencies and percentages. Continuous variables with a normal distribution were summarized using mean, standard deviation (SD) and maximum and minimum values. Continuous variables with asymmetric distribution were summarized using median, interquartile range (25–75<sup>th</sup> percentile) and maximum and minimum values. The Student *t*-test and the Mann-Whitney U test were used for the analysis of continuous variables with normal and asymmetric distribution, respectively. Analysis of categories of variables was conducted using the  $\chi^2$  test or Fisher's exact test. Pearson's correlation coefficient (*r*) was used in correlations of symmetric distribution variables, and Spearman's correlation coefficient was used in the others.

The following variables were analysed:

- Lumbar vertebrae: presence of lumbar gibbus, hook shaped vertebrae and

increased concavity of posterior vertebrae. The angle of the lumbar gibbus was measured according to Figure 1. The sizes of the lumbar vertebrae (length of the longest longitudinal and longest transversal axis) were also determined.

- Hands: presence of shortening of metacarpals and metacarpals with pointed bases; length of metacarpals' longest longitudinal axis; measurement of the distal radius-ulna angle according to Figure 2.

### 3. Results

The mean age of the patients was  $10.8 \pm 4.5$  (4.4-23.4), being 13/24 (54.2%) female. Table 1 shows the mean weight and height of the sample. At the time of the evaluation, ten patients were in ERT and had received on average  $69 \pm 33.6$  weeks of treatment (range: 7-96 weeks). No patient had been submitted to any type of hand or lumbar spine surgeries.

Alterations in RX of hands and RX of lumbar spine were found in all patients. The most frequently abnormalities found were short metacarpals, metacarpals with pointed bases and an increased concavity of posterior vertebral lumbar bodies (Table 2). An occasional finding during the analysis of the X-rays was the presence of the reduction of bone density in all patients. The length of metacarpals and the radius-ulna angle were similar in both right and left upper limbs ( $p > 0.05$ ), so the average value between both sides were used in the analyses. The results obtained with the descriptive analysis of the variables are presented in Tables 1 and 2. Correlations were not found between age and shortening of metacarpals, between age and lumbar gibbus angle and between age and distal radius-ulna angle. GAG levels were not found to be correlated with

any of the analyzed variables. Table 3 shows the significant correlations found in the study.

Patients who were (n= 10/24) and who were not in ERT (n= 14/24) were found not differ regarding all analyzed variables ( $p>0.05$ ).

#### 4. Discussion and Conclusions

In this study, we evaluate 24 patients with MPS VI through hand and lumbar spine X-rays. This is the largest series of MPS VI patients studied until now regarding these findings. Although the osteo-articular alterations constitute an important component of morbidity associated with MPS VI, there are few specific studies on these findings. For this reason, we believe the findings of the present study will help to better define these abnormalities and their relation to the progression of the disease.

We select hand and spine lumbar regions to be studied because previous studies showed that the shortening of metacarpals and the presence of metacarpals with pointed bases, as well as the lumbar gibbus, are early signs and possible markers of the severity of MPS VI<sup>79,80</sup>. The method of evaluation that was used in this study (X-ray) has many limitations, mainly regarding the quantitative analyses, but it is of simple accomplishment, is not invasive and has a low cost.

The alterations in hand and lumbar vertebrae were confirmed as important signs of MPS VI, since they were found in all patients. The most frequently abnormality observed in lumbar X-ray was the increased concavity of posterior vertebral bodies. The presence of lumbar gibbus was also frequent, with its vertex

preferably in L2, but the severity of its angle did not show any correlation, as it was supposed to have, with age, level of GAG in urine, radius-ulna angle and weight and height deficits of the patients. Similarly, it was not found any correlation between the distal radius angle and other variables. Such data show that, although lumbar gibbus and radius-ulna angle alteration are frequent in MPS VI, they do not seem to be markers of the progression of the disease. As shortening of metacarpals was found in all patients and as the size of metacarpals show correlation with age, our data suggests that the growth of metacarpals is early affected by the disease. The age showed a positive correlation with the longitudinal axis length of lumbar vertebrae, which is expected in individuals without the disease. The length of lumbar vertebrae (longitudinal and transversal axis) showed positive correlations with weight and with height, which also are expected in individuals without the disease. These findings suggest that the lumbar bones are affect later than the metacarpals in MPS VI. Weight and height deficits showed a clearly positive correlation with age, confirming their importance as markers of the severity of the disease.

In conclusion, this study quantifies and points out the high frequency of the increased concavity of posterior vertebral bodies in MPS VI patients; it confirms the importance of weight and height deficits in MPS VI, suggesting a correlation of such parameters with the disease severity; it quantifies the lumbar gibbus angle and frequency, as well as the alteration to the distal radius angle in relation to the ulna, but it does not indicate such alterations as correlated with the disease severity; and suggests that reduction of bone density is frequent in MPS VI.



#### 4. References (and of document)

**Table 1: Clinical and radiological data on 24 patients with Mucopolysaccharidosis VI**

Variable	Values*
Weight (kg)	19.4 ± 5 (13.6 - 36.5)
Height (cm)	100.0 ± 10.0 (80.0 - 130.0)
**Weight deficit (%)	39.5 ± 18.4 (0.9 - 64.6)
**Height deficit (%)	27.5 ± 9.7 (9.6 - 44.2)
Lumbar gibbus angle (°)	23 (0 - 42)
Distal radius-ulna angle (°)	58 (11.5 - 94.5)

\*Variables with symmetric distribution are described by mean ± standard deviation (range). Variables with asymmetric distribution are described by median value (interquartile interval)

\*\*Weight deficit= difference between the present weight and weight at p50 for the patient's ageX100/weight at p50, based on the curves of NCHS; height deficit= difference between the present height and height at p50 for the patient's age X100/height at p50 based on the curves of NCHS.

**Table 2: Mucopolyssaccharidosis VI: hand and lumbar spine X-rays findings**

Findings	N
Increased concavity of posterior vertebral lumbar bodies*	24/24
Pointed metacarpals	24/24
Short metacarpals	24/24
Increased distal radius angle in relation to the ulna	17/23
Lumbar gibbus**	16/24
Hook shaped vertebrae***	10/24

\* This finding was frequent in all lumbar vertebraes; \*\* Vertebrae (s) at vertex= L1: 4/16; L2: 10/16, and L1-L2: 2/16; \*\*\* Observed only in L2.

**Table 3: Statistical significant Pearson's correlation between clinical, hand and lumbar spine findings of 24 patients with Mucopolysaccharidosis VI**

<b>Variables</b>	<b>Correlation coefficient (r)</b>	<b>P</b>
Age X Weight deficit	0.77	<0.01
Age X Height deficit	0.75	<0.01
Age X Weight	0.55	0.04
Age X Height	0.39	0.05
Age X MLV (longitudinal axis)	0.62	<0.01
Weight X MLV (longitudinal axis)	0.56	<0.05
Weight X MLV (transversal axis)	0.40	<0.05
Height X MLV (longitudinal axis)	0.53	<0.05
Height X MLV (transversal axis)	0.58	<0.05
Weight X MLM (longitudinal axis)	0.70	<0.05
Height X MLM (longitudinal axis)	0.74	<0.05

*GAG: glycosaminoglycans; MLV: Mean length of lumbar vertebraes; MLM: mean length of metacarpals (both hands were considered)*

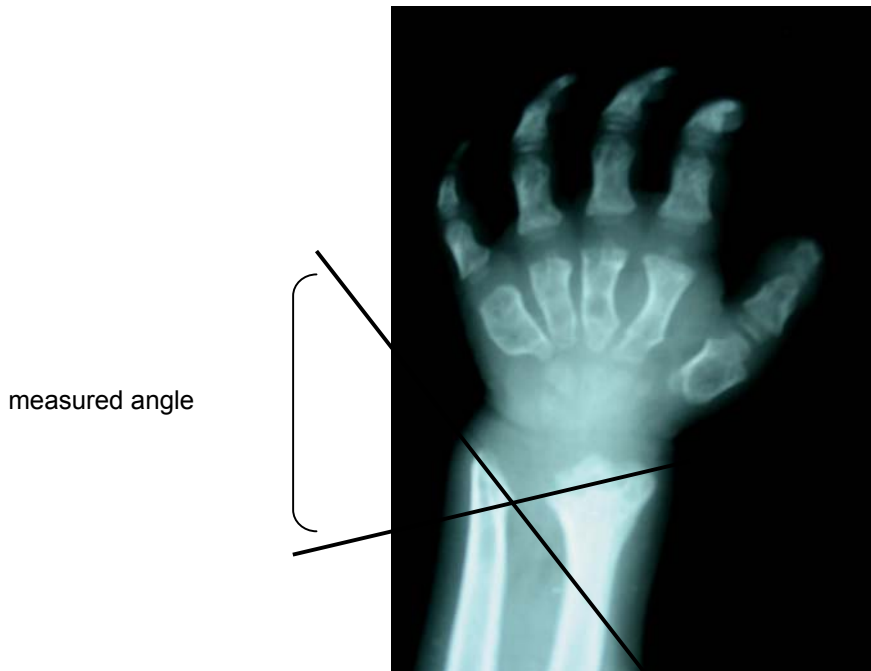


Figure 1: Radius-ulna angle determination in degrees in at the left upper limb of 12yo MPS VI patient.

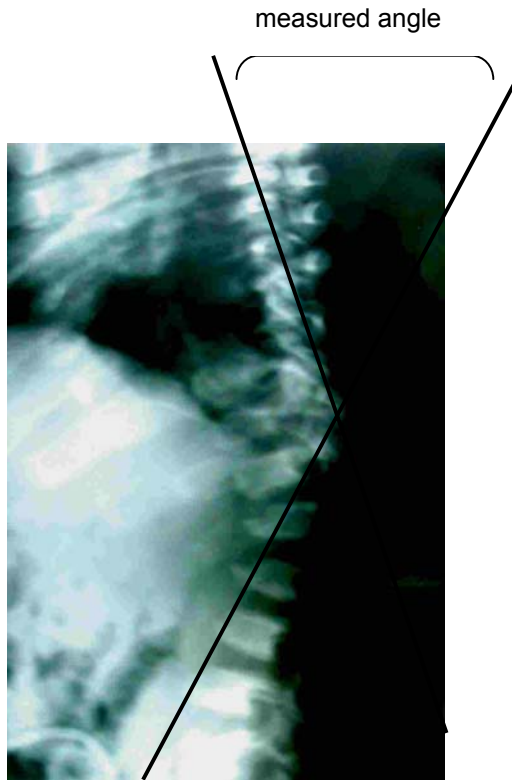


Figure 2: Lumbar gibbus angle determination in degrees of 12yo MPS VI patient

## Title Page

# Brain Magnetic Resonance Imaging findings in Patients with Mucopolysaccharidosis VI

Ana Cecília Azevedo, MD, MSc<sup>1,2</sup>

Leonardo Vedolin, MD, PhD<sup>3</sup>

Márcia Komlos, MD<sup>3</sup>

Adriana Pacheco Pires, Psychologist<sup>2</sup>

Fábio Kunihiro Maeda, Physicist<sup>3</sup>

Maira Graeff Burin, Biochemist<sup>2</sup>

Roberto Giugliani, MD, PhD<sup>1,2,4</sup>

Ida Schwartz, MD, PhD<sup>2,4</sup>

1- Postgraduate Program in Medical Sciences – Pediatrics – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brazil; 2- Medical Genetics Service, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Brazil; 3- Imaging Research Center, Mãe de Deus Center, Porto Alegre, Brazil ; 4- Medical Genetics Department, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brazil.

Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Rua Ramiro Barcelos, 2350

Porto Alegre – RS – Brasil – 90035-903

Phone: 55-51-210180-11; FAX: 55-51-2101-8010

E-mail: [aazevedo@hcpa.ufrgs.br](mailto:aazevedo@hcpa.ufrgs.br)

“SPECIAL REPORT”

Word count:

## **Abbreviated Title Page**

### **Brain MRI findings in Patients with MPS VI**

“SPECIAL REPORT”

#### **Progress in Knowledge:**

No correlation was found between the quantitative findings from the brain Magnetic Resonance Imaging (MRI) and the IQ scores in the patients studied;

Correlations were found between age and normalized white matter lesion load (NLL) and normalized cerebral volume (NCV), between NLL and height deficit, as well as between NCV and the anthropometric deficit of patients;

Although Mucopolysaccharidosis type VI (MPS VI) is usually not thought to be associated with mental retardation, some patients may present IQ below the normal range values.

#### **Impact on patient care:**

The present paper showed the occurrence of alterations in the brain MRI of MPS VI patients as well as mental retardation; this should be taken into consideration in the clinical follow-up of these patients.

## Abstract

Mucopolysaccharidosis type VI is a rare lysosomal storage disorder caused by the deficient activity of *N*-acetylgalactosamine 4-sulfatase. The main objective of the present study was to describe brain Magnetic Resonance Imaging (MRI) findings and their correlation with clinical and biochemical findings in MPS VI patients. The study was conducted at Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Brazil with 25 MPS VI patients who were seen at that institution from 2004 to 2006. All patients were evaluated through clinical evaluation, IQ tests, urinary GAG analysis, and brain MRI.

Mean age at evaluation was  $10.6 \pm 4.52$  years. Five of 16 patients presented total IQ below the normal range. Brain MRI was abnormal in the majority all patients ( $n = 19/21$ ), and the most frequent abnormalities found were the presence of dilated perivascular spaces and white matter lesions. Correlations were found between age and normalized white matter lesion load (NLL) ( $r = +0.46$ ;  $p = 0.04$ ) and normalized cerebral volume (NCV) ( $r = -0.56$ ;  $p = 0.01$ ), between NLL and height deficit ( $r = +0.48$ ;  $p = 0.04$ ), and between NCV and weight deficit ( $r = -0.58$ ;  $p = 0.01$ ) and height deficit ( $r = -0.55$ ;  $p = 0.01$ ). A correlation between urinary GAG levels and quantitative brain MRI findings was not found, neither between qualitative and quantitative brain MRI findings and IQ scores.

Although MPS VI is usually considered as not being associated with mental retardation, patients may present abnormal IQ scores without correlation with brain abnormalities on the MRI, finding very frequent in MPS VI. Additional studies are required to confirm our findings.

# Brain Magnetic Resonance Imaging findings in Patients with Mucopolysaccharidosis VI

## 1- Introduction

Mucopolysaccharidosis VI (MPS VI) is a lysosomal storage disorder (LSD) characterized by the accumulation of glycosaminoglycans (GAG) in various organs and tissues due to the deficiency of the lysosomal enzyme *N*-acetylgalactosamine 4-sulfatase (Arylsulfatase B or ARSB)<sup>144</sup>. The incidence of MPS VI ranges from 0.16 to 0.46 of 100,000 live births worldwide<sup>145,146</sup>. The disease is progressive and affects mainly the skeletal and cardiopulmonary systems, cornea, skin, liver, spleen, brain and meninges<sup>147</sup>. Treatment includes general supporting measures, transplant of hematopoietic cells in selected cases and enzyme replacement therapy (ERT) with Galsulfase (recombinant ARSB). ERT for MPS VI is associated with the reduction of levels of the urinary GAG, improvement of joint mobility<sup>148</sup> and of the general resistance of the patient, which was measured through a walk test<sup>149</sup>; although the published clinical trials have not evaluated the effects of ERT on the nervous system or bones<sup>74,75</sup>, it is not expected that ERT could significantly affect the natural course of bone or brain disease since these tissues are not easily targeted by the intravenous enzyme.

Regarding the neurological compromise, according to the literature, MPS VI patients in general have normal intelligence<sup>86,150,151,152,153,154</sup>, but cognitive

acquisition may be affected by both hearing and visual deficits as well as by other physical limitations presented by these patients<sup>144</sup>. We were able to find few descriptions of mental retardation in MPS VI in the literature: Vestermark et al (1987)<sup>155</sup> described one patient, Albano et al (2000)<sup>156</sup> described two patients and Azevedo et al (2004)<sup>157</sup> described one patient, but IQ evaluation was not performed in any of these patients. In relation to brain MRI, the results of many studies have demonstrated that cerebral atrophy, white matter lesions, and hydrocephalus are frequently observed in MPS patients, but we have not been able to find specific reports of these on MPS V patients<sup>158,159,160</sup>.

The main objective of the present study was to describe brain MRI findings and their correlations with clinical and biochemical findings in MPS VI patients.

## **2- Methods**

This was an observational and prospective study approved by the local Ethics Committee. It included the 25 patients with clinical and biochemical diagnosis of MPS VI (activity of leukocyte ARSB < 10% of the normal lower limit, normal activity of other sulfatases, and increased levels of dermatan sulfate in urine) who were seen at the MPS Clinics of the Medical Genetics Service at Hospital de Clínicas Porto Alegre, Brazil (MGS/HCPA) from 2004 to 2006. MGS/HCPA is a reference center for the diagnosis and treatment of the MPS in South America. After the Informed Consent was signed, for about a one-week period, the following evaluations were performed:



Clinical/physical evaluation: performed by the same physician. Information regarding the following variables were obtained: consanguinity, age of onset of symptoms, type of first symptom, age at diagnosis, present weight and weight deficit (difference between the present weight and weight at p50 for the patient's age  $\times 100 /$  weight at p50, based on the curves of NCHS<sup>161</sup>), height and height deficit (difference between the present and height at p50 for the patient's age  $\times 100 /$  height at p50 based on the curves of NCHS<sup>128</sup>).

Dosage of GAG in urine: a random urine sample was analyzed through the spectrophotometric test of 1.9-dimethylmethylene blue described by Jong et al, 1992)<sup>162</sup>. The values were analyzed in its original unit (ug/mg of creatinine) and in times over the highest normal limit for the age. When the patient was in ERT, the value obtained just before the onset of therapy was considered.

Brain MRI: Both qualitative and quantitative MRI were acquired with a 1.5T scanner (*Symphony, Siemens, Erlangen, Germany*). The MRI protocol included axial slices using two pulse sequences: 1) fluid-attenuated inversion recovery (FLAIR) sequence with repetition time (TR) of 9.000 msec, echo time (TE) of 114 msec, inversion time (TI) of 2.500 msec; and 2) T2-weighted images with repetition time (TR) of 4000 msec, echo time (TE) of 99 msec. The slice thickness was 5 mm, the field of view ranged from 180 to 230, and pixel size ranged from 0.45 to 0.55 cm. No anesthesia, sedation or paramagnetic agent was used.

The following qualitative MRI variables were analyzed: presence of white matter (WM) lesion (graded as mild, moderate or severe); hydrocephalus (present or absent); presence of dilatation of the perivascular spaces (DPVS – graded as

mild, moderate or severe); megacisterna magna (present or absent), and cortical atrophy (present or absent). These variables were analyzed jointly at a workstation by two of the authors (L.V. and M.K), with 5 and 2 years experience in MRI postprocessing, respectively. Discrepancies were analyzed in a consensus mode by the observers.

The following quantitative variables were analyzed by a third author (FM, with 2 years experience in segmentation and MRI postprocessing): normalized white matter lesion load (NLL- defined as white matter lesion loads corrected for different skull sizes); normalized cerebrospinal fluid (CSF) volume (NCSFV-defined as CSF volumes corrected for different skull sizes); normalized ventricular volume (NVV-defined as ventricular volumes corrected for different ventricular sizes) and normalized cerebral volume (NCV-defined as cerebral volume corrected for different skull sizes). Imaging post-processing were performed with the same methodology as previously described by Vedolin et al (AJNR, 2007)<sup>163</sup> and Vedolin et al (Neurology, 2007)<sup>164</sup>. Data acquisition and post-processing were performed with the same methodology as previously described by Vedolin (AJNR, 2007)<sup>163</sup> and Vedolin (Neurology, 2007)<sup>164</sup>. Briefly, for preprocessing, segmentation and quantitative analysis, ImageJ software<sup>165</sup> was used. This software has both semiautomated and automated segmentation tools. Volumes were counted in voxels using the Voxel Counter plug-in of ImageJ software. For normalization, the outer table of the skull was defined as the peripheral edge of the volume of interest. Normalized volumes, which are corrected for different skull sizes, were used for statistical analysis.

IQ evaluation: performed by the same psychologist with experience in the evaluation of MPS patients. The following tests were applied: WPPSI<sup>166,167</sup> (Wechsler Preschool and Primary Scale of Intelligence) – for children between 4 and 6.5 years of age; WISC III (Wechsler Intelligence Scale for Children) – to evaluate children between 6 and 16 years of age; WAIS-III (Wechsler Adult Intelligence Scale) – for individuals over 16 years of age. WISC-III and WAIS-III have been validated in Brazil<sup>168</sup>; WIPPSI has not been validated in Brazil yet. All the following scores were determined: total IQ, verbal IQ, performance IQ, and cognitive potential. IQ was classified according to WECHSLER<sup>166</sup> as follows: above average ( $\geq 120$ ); within average (80-119); below average (70-79), and mental retardation ( $\leq 69$ ). The parameters below were employed to quantify cognitive potential according to Wechsler<sup>166</sup>: above average ( $\geq 14$ ); within average (6-13), below average (4-5), and mental retardation ( $\leq 3$ ).

The results were assessed using SPSS V14.0. Categorical variables were summarized using frequencies and percentages. Continuous variables with a normal distribution were summarized using mean, standard deviation (SD) and maximum and minimum values. Continuous variables with asymmetric distribution were summarized using median, interquartile range (25–75<sup>th</sup> percentile) and maximum and minimum values. The Student *t*-test and the Mann-Whitney U test were used for the analysis of continuous variables with normal and asymmetric distribution, respectively. Analysis of categories of variables was conducted using the  $\chi^2$  test or Fisher's exact test. Pearson's correlation coefficient (*r*) was used in

correlations of symmetric distribution variables, and Spearman's correlation coefficient was used in the others, considering  $\alpha = 0.05$  and  $\beta = 80\%$ .

### 3- Results

The mean age at evaluation was  $10.6 \pm 4.52$  years ( $n = 25/25$ , range: 4.4-23.4 years); 14 patients (56%) were female. At evaluation, ten patients had been receiving ERT for  $69 \pm 33.6$  weeks (range: 7-96 weeks).

All patients had their IQ evaluated, but there were considerable difficulties since 9 (36%) patients presented severe visual deficit and 2 (8%) patients also presented severe hearing deficit. The mean total IQ for the 16 patients who completed all subtests was  $75.3 \pm 16.7$  (range: 50-125); according to this parameter, 5/16 (31.2%) patients presented mental retardation. For the 25 patients, mean cognitive potential was  $6.8 \pm 3.4$  (range: 2-17); according to this parameter, 4/25 (16%) patients presented mental retardation, but if the patients with severe visual and hearing deficit are excluded, this number decreases to 2/23 (8.7%).

Four of 25 patients did not collaborate with the performance of the brain MRI. Only 2/21 (9.5%) patients presented normal MRI in the qualitative analysis (Table 1). Quantitative analysis of the brain MRI findings are shown in Table 2. Figure 1 shows an example of white matter lesion and hydrocephalus in mucopolisaccharidosis VI patient (10.6 yo) and and Figure 2 show white matter lesions and dilated perivascular spaces in mucopolisaccharidosis VI patient (23.4 yo).

Correlations were found between: NLL and age ( $r = +0.46$ ,  $p = 0.04$ ); NLL and height deficit ( $r = +0.48$ ,  $p = 0.04$ ); NCV and age ( $r = -0.56$ ,  $p = 0.01$ ); NCV and

weight deficit ( $r=-0.58$ ,  $p=0.01$ ), and NCV and height deficit ( $r=-0.55$ ,  $p=0.01$ ). No correlations were found between the following: urinary GAG levels (measured in  $\mu\text{g}/\text{mg}$  of creatinine and in times number above the upper limit considered for the age) and the quantitative MRI variables, and between the IQ scores and the quantitative MRI variables (Scatterplots 1-4).

Patients with normal or abnormal IQ tests did not differ in the other variables analyzed, neither patients on ERT or not.

#### **4- Discussion and Conclusions**

In the present study, 25 MPS VI patients were evaluated through brain MRI, and the data obtained were analyzed both qualitatively and quantitatively. This the largest series of MPS VI patients studied until now regarding these variables. The presence of dilatation of perivascular spaces was the most frequent abnormality found (19/21). The presence of White Matter Lesion was the frequent to (16/21). However, no significant correlation between NLL and the patients' IQ was found. Sá et al (2006)<sup>169</sup> found a weak correlation between white matter signal alterations and mental retardation in patients with MPS I, II and III. Matheus et al (2004)<sup>170</sup> did not find any correlation between brain MRI and clinical manifestations in patients with MPS I and II without mental retardation. On the other hand, in a study involving 19 patients with MPS II, Vedolin et al (2007)<sup>163</sup> found more lesions in the MRI in patients with neurological compromise. We also found positive correlations both between NLL and age and between NLL and height deficit, which suggest white matter lesions are progressive in MPS Vi disease. Cerebral atrophy was observed in 47.6% patients, and NCV was showed to be negatively correlated

with age, weight deficit and height deficit, , which suggest that cerebral volume are progressive to. Hydrocephalus was also common; however, NCSFV and NVV were not found to be correlated with age, weight deficit or height deficit. No correlation was found between urinary GAG levels and the quantitative MRI variables, neither between the IQ scores and the quantitative MRI variables.

Regarding total IQ, about 30% of the sample presented total IQ  $\leq 69$ . Considering the estimated mental retardation prevalence of 3% in developing countries<sup>171,172</sup>, the present results show that there seems to be cognitive impairment on individuals with MPS VI. However, it is known that total IQ is calculated based on subtests that evaluate verbal IQ and performance IQ and that the presence of physical limitations and other factors such as fatigue or cultural privation can affect the final result<sup>173</sup>. Consequently, in our analysis we employed the cognitive potential a measurement that reduces the probabilities of emotional factors affecting productivity during test performance. Therefore, when considering cognitive potential, we found a smaller proportion of mental retardation (16%) in our sample, and when excluding individuals with severe visual and hearing deficits this value was reduced to 8.7%. No correlation was found between total IQ or cognitive potential results and other variables analyzed. Patients with and without altered IQ tests were not found to differ in relation to the other variables. This may suggest that the results of IQ tests do not have relation to disease severity or to the alterations presented in the brain MRI.

In conclusion, this study showed that brain abnormalities were frequent findings in MPS VI and that there were correlations between NLL and age, as well

as between NCV and age in this disease. Although MPS VI patients may present mental retardation, it is our understanding that the results of the IQ tests were influenced by cultural privation and by the physical limitations associated with the disease. Additional studies are required to confirm our findings, perhaps using other neurological tests and IQ evaluations.

## **5- References (and of document)**

Table 1: Brain MRI findings in Mucopolysaccharidosis type VI: qualitative analysis (n= 21/25 patients)

Findings	N
<b>Dilatation of Perivascular Spaces</b>	<b>19/21 (90.5%)</b>
Mild	11/19 (57.9%)
Moderate	5/19 (26.3%)
Severe	3/19 (15.8%)
<b>White Matter Lesion</b>	<b>16/21 (76.2%)</b>
Mild	7/16 (43.7%)
Moderate	1/16 (6.3%)
Severe	8/16 (50%)
<b>Hydrocephalus</b>	<b>14/21* (66.6%)</b>
<b>Cerebral Atrophy</b>	<b>10/21 (47.6%)</b>
<b>Megacisterna Magna</b>	<b>4/21 (19%)</b>

\*3/14 patients had Ventricular Peritoneal Derivation.

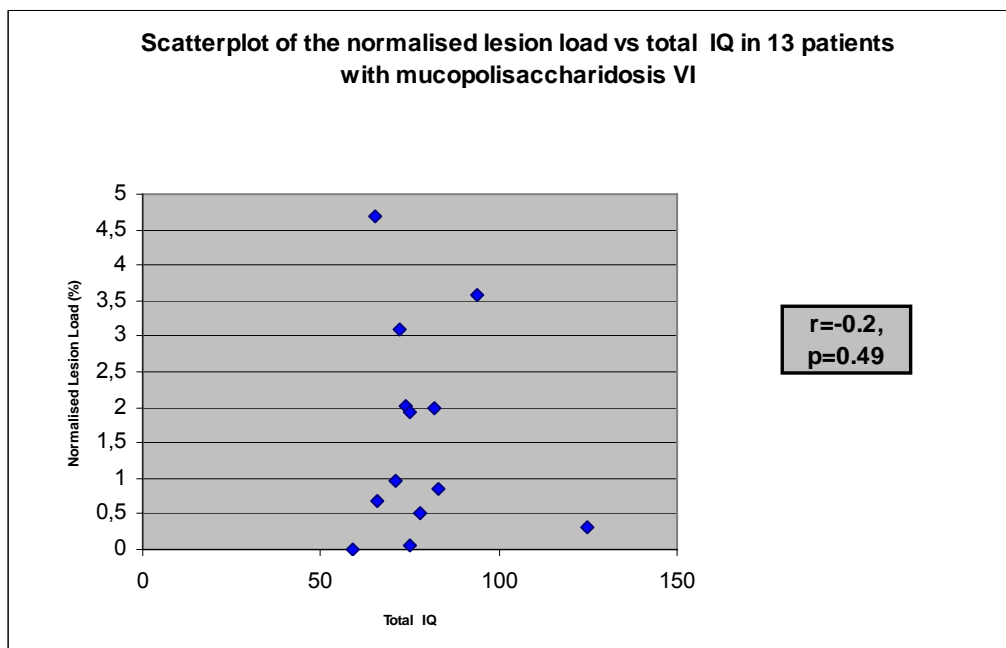
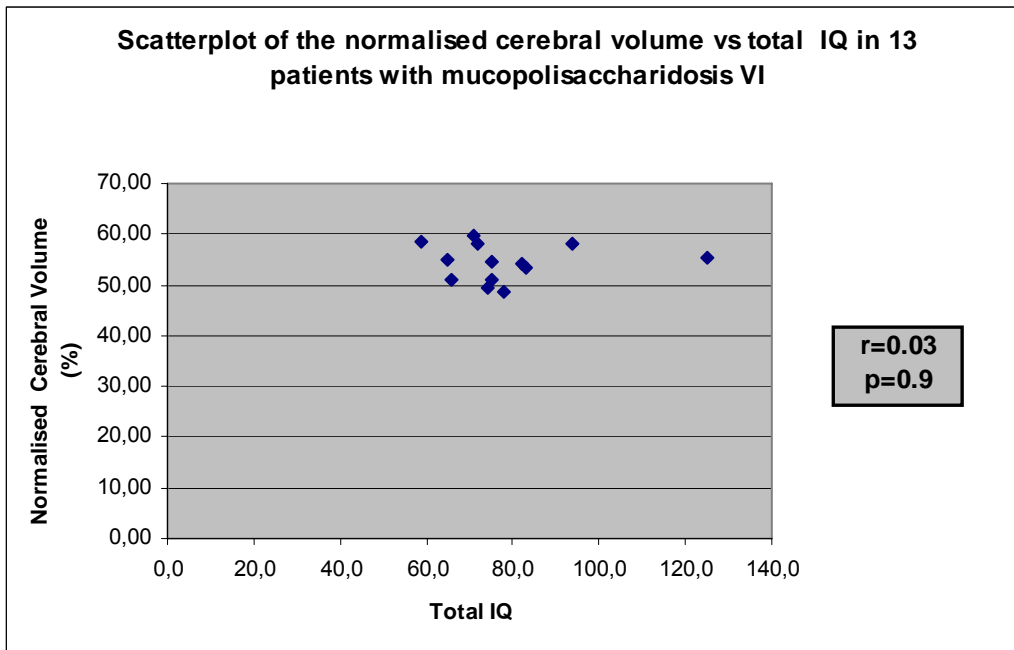
Table 2: Brain MRI findings in Mucopolysaccharidosis type VI: quantitative analysis (n= 21/25 patients)

Findings	Values (%)*
Normalized cerebral volume (NCV)	53.74±3.65
Normalized white matter lesion load (NLL)	2.55 (0.86 to 4.41)
Normalized CSF volume (NCSFV)	6.53±3.23
Normalized ventricular volume (NVV)	2.41 (0.89 to 2.93)

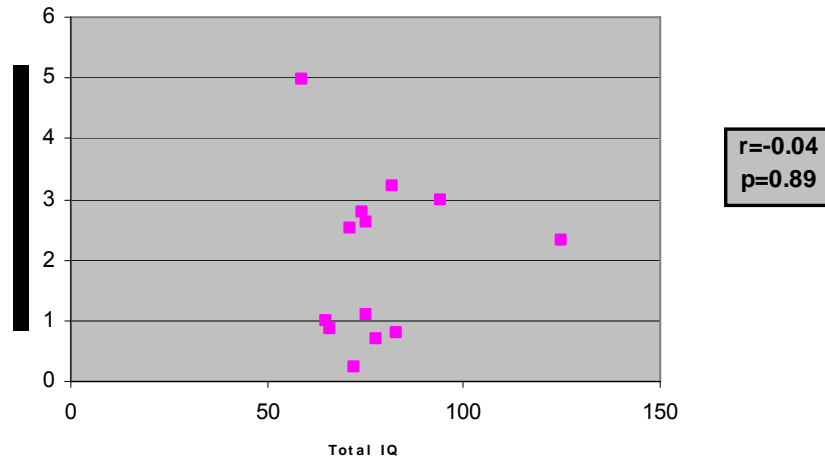
CSF: cerebral spinal fluid; NCV: normalized cerebral volume, NLL: normalized white matter lesion load, NCSFV: normalized CSF volume, NVV: normalized ventricular volume.

\*Variables with symmetric distribution are described by mean ± SD. Variables with asymmetric distribution are described by median value± interquartile range p25-75.

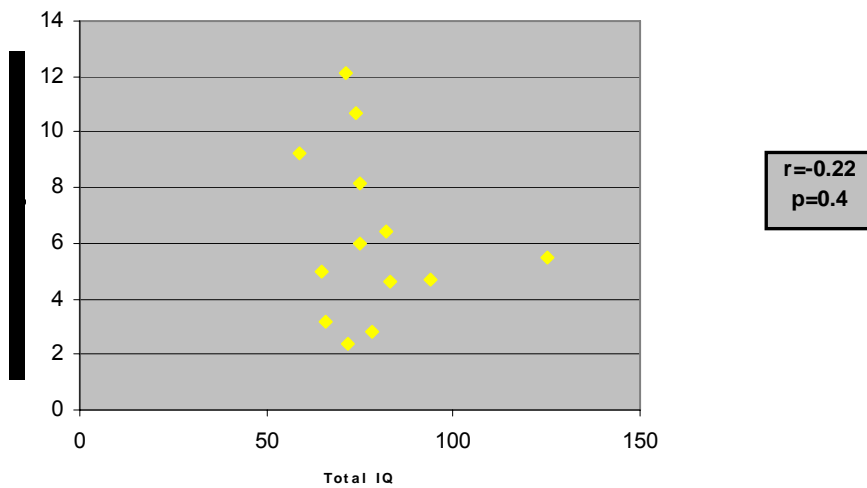




Scatterplot of the normalised ventricular volume vs total IQ in 13 patients with mucopolisaccharidosis VI



Scatterplot of the normalised cerebrospinal fluid volume vs total IQ in 13 patients with mucopolisaccharidosis VI



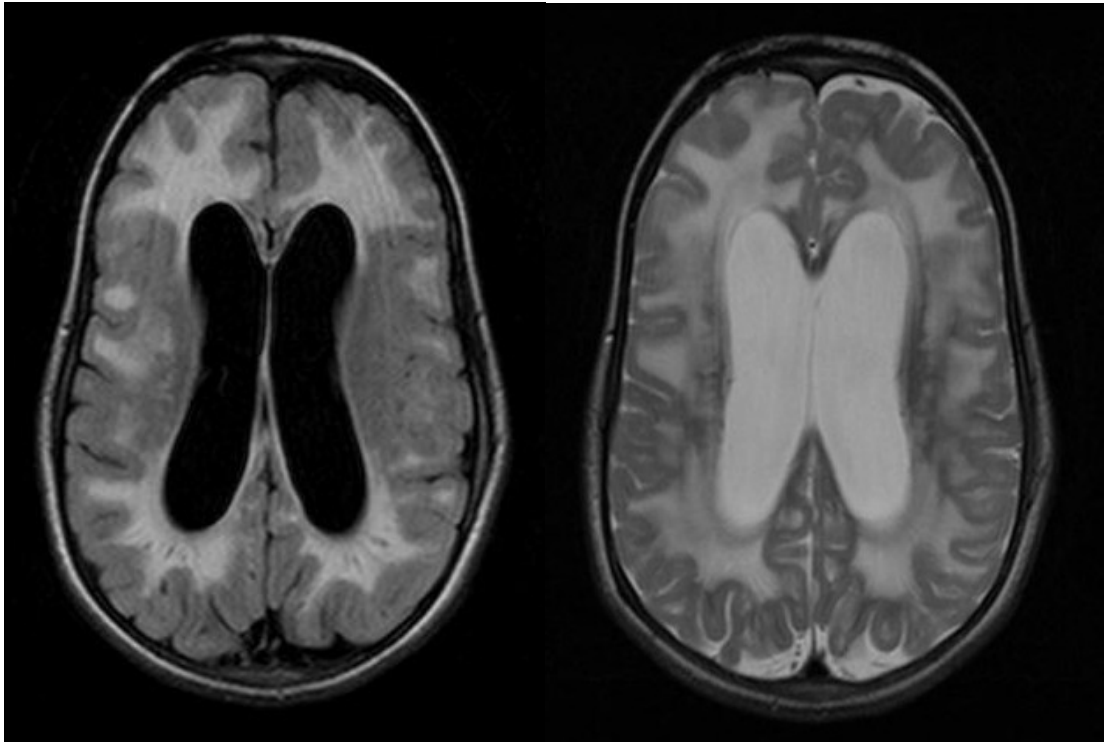


Figure 1: Axial FLAIR (a) and T2-weighted images (b). Examples of white matter lesion and hydrocephalus in mucopolisaccharidosis VI patient (10,6yo).

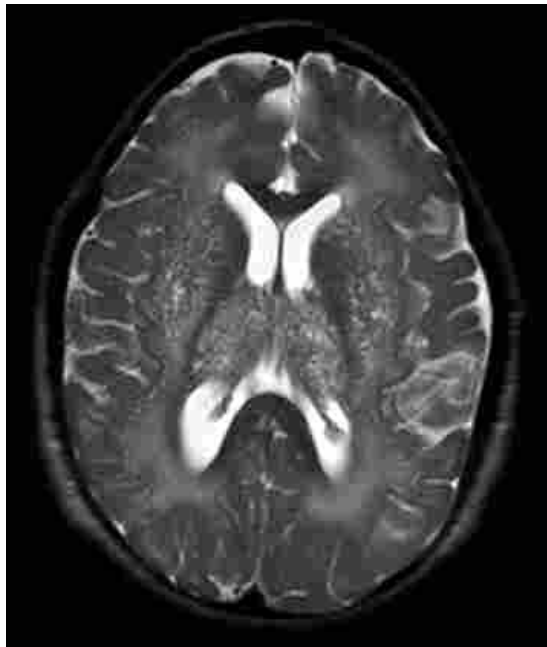


Figure 2: Axial T2WI showing white matter lesions and dilated perivascular spaces in mucopolisaccharidosis VI patient (23 yo).

## Title Page

### **A clinical study on the identification of the factors associated with the severity of Mucopolysaccharidosis type VI**

**Ana Cecília Mano Azevedo<sup>1,2</sup>**, MD, Msc

**Leonardo Vedolin<sup>3</sup>**, MD, PhD

**Fábio Kunihiro Maeda<sup>3</sup>**, Physicist

**Márcia Konlós<sup>3</sup>**, MD

**Adriana Pacheco Pires<sup>2</sup>**- Psychologist

**Luiz Alberto Todeschini<sup>4</sup>**, MD

**Ida Vanessa D. Schwartz<sup>2,5</sup>**, MD, PhD

**Roberto Giugliani<sup>1,2,5</sup>**, MD, PhD

1- Post-Graduation Program in Medical Sciences – Pediatrics- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brazil; 2- Serviço de Genética Médica (Medical Genetic Service)- Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Brazil; 3- Imaging Research Center, Mãe de Deus Center, Porto Alegre, Brazil; 4- Serviço de Radiologia (Radiology Service)- Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Brazil; 5- Departamento de Genética Médica (Medical Genetic Department)- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brazil.

Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Rua Ramiro Barcelos 2350, 90035-903,

Porto Alegre- RS- Brasil; Telephone: 55-51-210180-11;FAX: 55-51-2101-8010

E-mail: [aazevedo@hcpa.ufrgs.br](mailto:aazevedo@hcpa.ufrgs.br)

## Abstract

Mucopolysaccharidosis VI is a glycosaminoglycan lysosomal storage disorder caused by the deficiency of *N*-acetylgalactosamine 4-sulfatase.

The purpose of this study was to analyze 25 Brazilian MPS VI patients in order to identify factors associated with the severity of clinical course of the disease.

Urinary GAG analysis, brain magnetic resonance imaging, hand and lumbar spine X-rays, review of medical records, interviews with the patients/families and physical examination were performed for all patients.

The mean age was  $10.6 \pm 4.5$  yo. The median age of onset of symptoms was 0.5 yo. Correlations were found between age and age of onset of symptoms, age and normalized white matter lesion load, age and normalized cerebral volume, age and weight deficit as well as age and height deficit. No correlation was found between urinary GAG levels and the variables studied or between patients receiving or not enzyme replacement therapy.

From the data collected we concluded that the present sample included patients with the most severe form of the disease and it's the most frequent form of Mucopolisaccharidosis VI in Brazil. A severity classification score can include: age of onset of symptom, normalized white matter lesion load, normalized cerebral volume, weight deficit, height deficit and urinary GAG levels.

Key Words: Mucopolysaccharidosis VI, Severity, Arylsulfatase B, Lysosomal Storage Disorders

## **A clinical study on the identification of the factors associated with the severity of Mucopolysaccharidosis type VI**

### **1- Introduction**

Mucopolysaccharidosis VI (MPS VI) is a lysosomal storage disorder (LSD) characterized by the accumulation of Glycosaminoglycans (GAG) in various organs and tissues, and that results from the deficiency of lysosomal enzyme *N*-acetylgalactosamine 4-sulfatase (Arylsulfatase B or ARSB)<sup>174</sup>. The incidence of MPS VI varies according to the studied population, ranging from 0.16 to 0.46 out of 100,000 live births<sup>175,176</sup>. The disease is characterized by its multisystemic and progressive aspects, affecting mainly the skeletal and cardiopulmonary systems, cornea, skin, liver, spleen, brain and meninges<sup>177</sup>. The treatment includes supporting measures, transplant of hematopoietic cells in selected cases and more recently, Enzyme Replacement Therapy (ERT). The ERT with Galsulfase (recombinant ARSB) is associated with reduced excretion of GAG in urine, improved articular mobility<sup>178</sup> and improved general resistance of the patient measured through a walk test<sup>179</sup>; although the published clinical trials have not evaluated the effects of ERT on nervous system or bone<sup>74,75</sup>, it is not expected that ERT could affect significantly the natural course of bone or brain disease since these tissues are not easily target by the intravenous enzyme.

The majorities of MPS disorders show a clinical variability that seems to be under the influence of different allele combinations and their effect on the protein, and are usually subdivided in two clinical phenotypes (severe and attenuated forms) according to the presence or absence of mental retardation. As individuals with MPS VI have normal intelligence<sup>86,180,181,182,183,184</sup>, other criteria should be adopted for this classification. As there is no consensus regarding this issue, most authors classify the clinical severity of MPS VI based on their own clinical experience<sup>Erro!</sup> Indicador não definido. Petry et al (2005)<sup>185</sup>, classify patients as having the severe or milder forms according to the age of onset of symptoms, height and age of death. Swiedler et al (2005)<sup>186</sup> and Karageorgos et al (2007)<sup>187</sup>, classify the patients based on the levels of urinary GAGs, suggesting a cut-off point of 200 µg /mg creatinine to

separate both forms. Regarding bone disease, Whitley (1993) and Levin et al (1997)<sup>188</sup> state, respectively, that the hand alterations and presence of lumbar gibbus on X-rays are good predictors of the disease severity<sup>189</sup>.

The purpose of this study was to identify factors associated with the severity of MPS VI.

## 2- Material and Methods

This is an observational and prospective study approved by the local Ethics Committee. It included the 25 patients with clinical and biochemical diagnosis of MPS VI (activity of ARSB < 10% of the normal lower limit with normal activity of other sulfatases and increased excretion of dermatan sulphate in urine), who were seen at the MPS Clinics of the Medical Genetics Service - Hospital de Clínicas Porto Alegre - Brazil (MGS/HCPA) from 2004 to 2006. MGS/HCPA is a reference center for diagnosis and treatment of MPSs in South America. After having the Informed Consent signature, and for about a one-week period, the following evaluations were performed:

Clinical/physical evaluation: performed by the same researcher. Information regarding the following variables were obtained: consanguinity, age of onset of symptoms, type of first symptom, age at diagnosis, present weight and weight deficit (difference between the present weight and weight at p50 for the patient's age  $\times 100 /$  weight at p50, based on the curves of NCHS<sup>190</sup>), height and height deficit (difference between the present and height at p50 for the patient's age  $\times 100 /$  height at p50 based on the curves of NCHS<sup>128</sup>).

Dosage of GAGs in urine: a random urine sample was analyzed through the spectrophotometric test of 1.9-dimethylmethylene blue described by Jong et al, 1992)<sup>191</sup>. The values were analyzed in its original unit (ug/mg of creatinine) and in times over the highest normal limit for the age. When the patient was in ERT, the value obtained just before the onset of therapy was considered.

Brain MRI findings: all patients were submitted to brain MRI and the complete findings of this evaluation have already been reported by Azevedo et al., 2007, being demonstrated the existing positive correlation between age and normalized

white matter lesion load and normalized cerebral volume. Such variables were used in the present study to compare with the other variables.

Hand and lumbar spine X-rays: all patients were submitted to X-rays of hands and lumbar spine and the complete findings of this evaluation have already been reported by Azevedo et al., 2007, being demonstrated the existing positive correlation between age and weight, weight deficit, height deficit and with the longitudinal axis length of lumbar vertebrae. Such variable was used in the present study to compare with the other variables.

The data available were analyzed using SPSS V14.0. Values of  $p < 0.05$  were considered as significant. Categorical variables were summarized using frequencies and percentages. Continuous variables with a normal distribution were summarized using mean, standard deviation (SD) and maximum and minimum values. Continuous variables with asymmetric distribution were summarized using median, interquartile range (25–75<sup>th</sup> percentile) and maximum and minimum values. The Student *t*-test and the Mann-Whitney U test were used for the analysis of continuous variables with normal and asymmetric distribution, respectively. Analysis of categories of variables was conducted using the  $\chi^2$  test or Fisher's exact test. Pearson's correlation coefficient (*r*) was used in correlations of symmetric distribution variables, and Spearman's correlation coefficient was used in the others, for  $\alpha = 0.05$  and  $\beta = 80\%$ .

### 3- Results

#### a. – For the whole sample:

The 25 evaluated patients (female: 14) came from 20 unrelated families, where 4 (16%) were consanguineous. The mean age at inclusion in the study was  $10.6 \pm 4.5$  yo. The rate of consanguinity found was 4/20 (20%). At diagnosis, all patients presented with significantly reduced ARSB activity in leukocytes and normal activity of another sulphatase, as well as with high levels of urinary GAG. None of the patients had received bone marrow transplantation. At the time of evaluation, 10/25 patients have been in ERT for  $69 \pm 33.6$  weeks of treatment. Mean age at biochemical diagnosis was  $4.8 \pm 3.0$  years. The median age at the onset of



symptoms was 0.5 years (p25=0.2, p75=1.58). Lumbar gibbus was the most frequent reported first symptom (Table I).

**Table 1: Results of the initial symptom characterization presented by the sampled patients**

Sign/Symptom	Frequency (n=25)
Skeletal alteration - column	7 (28.0%)
Claw hand	4 (16.0%)
Pectus carinatum	2 (8.0%)
Skeletal alteration - skull	2 (8.0%)
Delayed growth	2 (8.0%)
Characteristic facies	2 (8.0%)
Physical development with delay	2 (8.0%)
Joint contraction	2 (8.0%)
Pectus escavatum	1 (4.0%)
Ongoing alterations	1 (4.0%)

b. – According to the urinary GAGs level:

The mean of level urinary GAG was  $343.5 \pm 200.1$   $\mu\text{g}/\text{mg}$  of creatinine (5.3  $\pm$  2.3 times over the normal limit to the age); none of the patients (n=25) presented creatinine level below 100  $\mu\text{g}/\text{mg}$  of and only two patients presented creatinine level between 100 e 200  $\mu\text{g}/\text{mg}$ . Considering the dosages of urinary GAGs during the present study, the patients in ERT presented mean creatinine value of  $186.1 \pm 54.8$   $\mu\text{g}/\text{mg}$  (range of 130-270) and the patients out ERT presented mean creatinine value of  $575.6 \pm 165.9$   $\mu\text{g}/\text{mg}$  (n=15/25).

The patients was divided in two groups according to the level of urinary GAG, initially the cut-off point was 200  $\mu\text{g}/\text{mg}$  creatinine (23/25 patients above this; 2/25 patients below this), and there was not any significant difference between the groups in regards the variables analyzed, the same result was found when the cut-off point was increased to 250  $\mu\text{g}/\text{mg}$  creatinine (21/25 patients above; 4/25 patients below). This analysis was repeated considering only the patients that were not in ERT (n=15/25), and using as cut-off point the mean value of urinary GAGs ( $575.6 \pm 165.9$   $\mu\text{g}/\text{mg}$  creatinine), also it was not found any significant difference between the groups.

### 3.3- According to the deficit of weight and height:

The patients presented a mean weight value of  $19.4 \pm 5$ kg (range of 13.6-36.5) and weight deficit of  $39.5 \pm 18.4\%$  (range of 0.9-64.6). The mean height value was  $99.4 \pm 9.5$ cm (range of 83-130) and height deficit of  $27.5 \pm 9.7\%$  (range of 9.6-44.2). We found correlation between age and: weight deficit ( $r=0.78$ ;  $p<0.01$ ), height deficit ( $r=0.5$ ;  $p<0.01$ ) and age of onset of symptoms ( $r=0.56$ ;  $p<0.01$ ). The patients who were and who were not in ERT did not differ in relation to the findings above.

The sample was divided in two groups using as cut-off point the mean values of weight deficit (39.5%) (11/25 patients above; 14/25 patients below) and height (27.5%) (13/25 patients above; 12/25 patients below), and no significant difference was found between the groups in regards the variables analyzed.

## 4- Discussion and Conclusions

The population data show a significant difference in increased consanguinity gender comparing to average Brazilian population (1.6%)<sup>192</sup>, which is expected, as MPS VI is an autosomal recessive disease. Column alterations were most frequent initial symptom, confirming its importance, already mentioned in literature<sup>1,17</sup>. The early start age (mean = 0.5 years of age) contrasts with the diagnosis age (mean = 4.8 years of age), which shows a considerable delay in the diagnosis, as already shown in studies with predominantly Brazilian population<sup>193</sup>. It is known that the disease start and the diagnosis ages are factors related to the disease severity<sup>1,2,8,17</sup>. Our sample did not show any correlation between the start and the diagnosis ages, as expected, which might have occurred due to a diagnosis age bias, since most patients found difficulties in obtaining the biochemical diagnosis of the diseases, which was done late even with early symptoms. However, there was a positive correlation between the age and the start and diagnosis ages, indicating that maybe the older patients present less severe forms of the disease, as mentioned in literature<sup>1,8,17</sup>. The sample size also can have influenced this result. The age also presented a clear and expected

correlation with weight and stature deficits, indicating that, the longer the disease age, the higher the physical growth impact. The level of GAG in urine shows the population with the most serious form of the disease, following the criteria suggested by SWIEDLER et al (2005)<sup>186</sup> without however presenting any correlation with any other possible severity predictor, such as weight and height deficits. We believe this fact has occurred as the sampled individuals have severer forms of the disease, not showing mathematically the expected correlation.

In conclusion: our data suggest that the sample studied is composed by patients that presented the most severe form of the disease, which is the most frequent form of MPS VI in BRAZIL. A severity classification score should be established to MPS VI patients and can include the following variables: symptom start age, normalized white matter lesion load, normalized cerebral volume, weight deficit, height deficit and length of vertebrae longitudinal.

## 5- Acknowledgements

We would like to thank for the scientific support of Grupo de Apoio a Pesquisa e Pós Graduação of Hospital de Clínicas de Porto Alegre- Universidade Federal do Rio Grande do Sul and FIPE - Fundo de Incentivo a Pesquisa (Research Incentive Fund) of Hospital de Clínicas de Porto Alegre, as well as the support from the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico- CNPQ.

## 6- References (and of document)

## Bibliografias Artigos

### Bibliografia Artigo 1: Mucopolissacaridose tipo VI (Síndrome de Maroteaux- Lamy

- 1 Poorthuis BJHM, wevers RA, Kleijer WJ, Groener JEM, de Jong JGN, van Weely S et al. The frequency of lysosomal storage diseases in The Netherlands. Hum Genet 1999; 105: 151-6.
- 2 Meikle PJ, Hopwood JJ, Clague AE, Carey WF. Prevalence of lysosomal storage disorders. JAMA 1999; 281: 249-54.
- 3 Coelho JC, Wajner M, Burin MG, Vargas CR, Giugliani R. Selective screening of 10.000 high-risk Brazilian patients for the detection of inborn errors of metabolism. Eur J Pediatr 1997; 156: 650-4.)
- 4 Albano LM, Sugayama SS, Bertola DR, Andrade CE, Utagawa CY, Puppi F, Nader HB, Toma L, Coelho J, Leistner S, Burin M, Giugliani R, Chong AK. Clinical and laboratorial study of 19 cases of mucopolysaccharidoses. Rev Hosp Clin Fac Med São Paulo 2000; Nov-Dec 55: 213-8.
- 5 <http://www.uwcm.ac.uk/uwcm/mg/search/>. Human Gene Mutation Database (HGMD) 2007.
- 6 Neufeld EF, Muenzer J. The mucopolisaccharidosis. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly S, Valle D, Childs B, Kinzler KW, Vogelstein B, eds. The metabolic and molecular basis of inherited disease. 8a ed. New York: McGraw-Hill. 2001.p.3421-52.
- 7 Nyhan WL, Ozand PT. Maroteux-Lamy disease/ Mucopolysaccharidosis VI (MPS VI)/ N-Acetylgalactosamine-4-sulfatase deficiency. In Nyhan WL, Ozand PT. Atlas of Metabolic Diseases. 1a ed. London: Chapman & Hall Medical. 1998. p 477- 81.
- 8 Auclair D, Hopwood JJ, Brooks DA, Lemontt JF, Crawley AC. Replacement Therapy in Mucopolisaccharidosis VI: advantages of early onset therapy. Mol Genet Metab 2003 Mar;78(3): 163-74
- 9 Nelson J. Incidence of the mucopolysaccharidoses in Northern Ireland. Hum Genet 1997; 101: 355-8

- 
- 10 Applegarth DA, Toone JR, Lowry RB. Incidence of inborn errors of metabolism in British Columbia, 1969-1996. *Pediatrics* 2000; 105: 109-205.
  - 11 Lowry RB, Applegarth DA, Toone JR, MacDonald E, Thunem NY. An update on the frequency of mucopolysaccharide syndromes in British Columbia. *Hum Genet* 1990;85:389-90.
  - 12 Baehner F, Schmiedeskamp C, Krummenauer F, Miebach E, Bajbouj M, Whybra C, et al. Cumulative Incidence Rates of the Mucopolysaccharidoses in Germany. *J Inherit Metab Dis* 2005;28:1011-7.
  - 13 Pinto R, Caseiro C, Lemos M, Lopes L, Fontes A, Ribeiro H, et al. Prevalence of lysosomal storage diseases in Portugal. *Eur J Hum Genet* 2004 Feb;12(2):87-92.
  - 14 Michelakakis H, Dimitrou E, Tsaggaraki S, Giouroukos S, Schulpis K, Bartsocas CA. Lysosomal storage diseases in Greece. *Genetic Counseling* 1995; 6: 43-7.
  - 15 Azevedo AC, Schwartz IV, Kalakun L, Brustolin S, Burin M, Leinster S, Beheregary AP, Boy R, Mabe P, Giugliani, R. Clinical and biochemical study of 28 patients with mucopolysaccharidosis type VI. In: *Clinical Genetics*, 2004. no, 2004, 66, 208-213.
  - 16 Schwartz IVD. Mucopolissacaridose tipo I – análise da variabilidade clínica e sua associação com o genótipo em pacientes brasileiros [dissertação de mestrado]. Porto Alegre (RS): Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 2000
  - 17 Schwartz IVD, Matte US, Leistner S, Giugliani R. Mucopolissacaridoses. In: Carakushanski G. *Doenças Genéticas em Pediatria*. 1ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2001. p. 180-4.
  - 18 Wicker G, Prill V, Brooks D, Gibson G, Hopwood J, von Figura K, Peters C. Mucopolisaccharidosis VI (maroteaux-Lamy sindrom) an intermediate clinical phenotype caused by substitution of valine for glycine at position 137 of arylsulfatase B. *J Biol Chem* 1991; 266:21386-91.
  - 19 Litjens T, Hopwood J.J. Mucopolysaccharidosis type VI: structural and clinical implications of mutation in N-acetylgalactosamine-4-sulfatase. *Hum Mutat* 2001; 18: 282-95.

- 
- 20 Litjens T, Baker EG, Beckmann KR, Morris CP, Hopwood JJ, Callen DF. Chromosomal localization of ARSB, the gene for human N-acetylgalactosamine-4-sulphatase. *Hum Genet* 1989; 82: 67-8.
- 21 Peters C, Schmidt B, Rommerskirch W. Phylogenetic conservation of arylsulfatases; cDNA cloning and expression of human arylsulfatase B. *J. Biol. Chem.* 1990; 265: 3374-81.
- 22 Bradford MT, Litjens T, Parkinson EJ, Hopwood JJ, Brooks DA. Mucopolysaccharidosis type VI (Maroteaux-Lamy syndrome) a Y210C mutation causes either altered protein handling or altered protein function of N-acetylgalactosamine-4-sulfatase at multiple points in the vacuolar network. *Biochemistry* 2002. Apr 41: 4962-71.
- 23 Litjens T, Brooks D.A, Peters C, Gibson GJ, Hopwood JJ. Identification, expression, and biochemical characterization of N-acetylgalactosamine-4-sulfatase mutation and relationship with clinical phenotype in MPS-VI patients. *Am J Hum genet* 1996; 58: 1127-34.
- 24 Petry MGF, Dieter T, Burin M, Giugliani R, Leistner S. Identification of a novel mutation in the ARSB gene that is frequent among Brazilian MPS VI patients. *Genetic Testing* 2003 7:347-349
- 25 Karageorgos L, harmatz P, simon J, Pollard A, Clements PR, Brooks DA, Hopwood JJ. Mutatioin Analysis of Mucopolisaccharidosis Type VI Patients Undergoing a Trial of Enzyme replacement Therapy. *Human Mutation* 2004. 23; 229-233.
- 26 Matte US. Caracterização molecular de pacientes com mucopolissacaridose tipo I: um estudo no Brasil [dissertação de mestrado]. Porto Alegre (RS): Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 1998.
- 27 Thompson JN. The Mucopolysaccharidoses. In Blau N, Duran M, Blaskovics ME, Gibson KM, eds. *Physician's Guide to the Laboratory Diagnosis of Metabolic Diseases*. 2a ed. New York. Springer. 2003 p 377-393.
- 28 Petry MGF, Nonemacher K, Sebben JC, Schwartz IVD, Azevedo ACM, Burin MG, De Rezende RA, Kin CA, Giugliani R, Leistner-Segal S. Mucopolysaccharidosis type VI: Identification of novel mutation on the

- 
- arylsulfatase B gene in South-American patients. *J Inherit Metab Dis* 2005 Sep 28 1-8.
- 29 Swiedler SJ, Beck M, Bajbouj M, Giugliani R, Schwartz I, Harmatz P, Wraith JE, Roberts J, Ketteridge D, Hopwood JJ, Guffon N, Sá Miranda MC, Teles EL, Berger KI, Pisciá-Nichols C. 2005. Threshold effect of urinary glycosaminoglycans and the walk test as indicators of disease progression in a survey of subjects with mucopolysaccharidosis VI (Maroteaux-Lamy syndrome) 8595.
- 30 Thorne JA, Javadpour M, Hughes DG, Wraith E, Cowie RA. Craniovertebral abnormalities in type VI mucopolysaccharidosis (Maroteaux-Lamy syndrome). *Neurosurgery* 2001; 48: 849-53.
- 31 Vougioukas VI, Berlis A, Kopp MV, Korinthenberg R, Spreer J. Neurological Interventions in Children with Maroteaux-Lamy Syndrome. *Pediatric Neurosurgery* 2001; 35: 35-38.
- 32 Vestermark S, Tonnesen T, Andersen MS, Guttler F. Mental Retardation in a Patient with Maoteaux-Lamy. *Clin Genet.* 1987 Feb; 31 (2):114-7
- 33 Saul RA, Stevenson RE, Taylor HA. Atypical presentation with normal stature in Marotaux-lamy syndrome (MPS VI). *Proc Greenwood Genet Center* 1984; 3: 49-52.
- 34 Von Muhlendahl KE and Bradac GB. Empty sella syndrome in a boy with mucopolisaccaridois type VI (Maroteaux-Lamy). *Helv Paediatr Acta* 1975; 30 (2):185-90.
- 35 Buyukgebitz B, Eroglu Y, Kovanlikaya I, Sen A, Buyukgebitz A. Maroteaux-Lamy syndrome associated with growth hormone deficiency. *J pediatr Endocrinol Metab* 1995; 8 (4):305-7.
- 36 Pilz H, von Figura K and Goebel H. Deficiency of arylsulafatase B IN BROTHERS AGED 40 AND 38 YEARS (Maroteaux-Lamy syndrome type B). *Ann Neurol.* 1979 Oct; 6 (4): 315-25
- 37 Casanova FHC, Adan CBD, Allemann N, Freitas D. Findings in the anterior segment on ultrasound biomicroscopy in Maroteaux-Lamy syndrome. *Cornea* 2001; 20: 333-8.

- 
- 38 Collins MLZ, Traboulsi EI, Maumenee IH. Optic nerve head swelling and optic atrophy in the systemic mucopolysaccharidoses. *Ophthalmology* 1990; 97: 1445-9.
- 39 Herskhovitz E, Young E, Rainer J, Hall CM, Lidchi V, Chong K, Vellodi A. bone marrow transplantation for Maroteaux-Lamy syndrome (MPS VI): long term follow up. *J. Inher. Metab. Dis.* 1999; 22: 50-62.
- 40 Varssano D, Cohen J, Nelson LB, Eagle RC. Corneal Transplantation in Maroteaux-Lamy Syndrome. *Arch Ophthalmology* 1997; 115 (3):428-31.
- 41 Motamed M, Thorne S, Narula A. Treatment of otitis media with effusion in children with mucopolysaccharidoses. *Int. J. Pediatr. Otorhinolaryngol.* 2000; 53: 121-4.
- 42 Alpoz AR, Coker M, Celen E, Ersin NK, Gokcen D, van Diggelenc OP, Huijmansc JG. The oral manifestation of Maroteaux-Lamy syndrome (mucopolysaccharidosis VI): A case report. [Miscellaneous Article]. *Oral surgery, medicine, Pathology, Radiology & Endodontics* 2006; 101 (5):632-37.
- 43 Leighton SEJ, Papsin B, Vellodi A, Dinwiddie R, Lane R. Disorders breathing during sleep in patients with mucopolysaccharidoses. *Int. J. Pediatr. Otorhinolaryngol.* 2001; 58: 127-38.
- 44 Shih SL, Lee YJ, Lin SP, Sheu CY, Blickman JG. Airway changes in children with mucopolysaccharidoses – CT evaluation. *Acta Radiologica* 2002; 43: 40-3.
- 45 Fraser J, Wraith JF, Delatycki MB. Sleep disturbance in mucopolysaccharidosis Type III (Sfilippo syndrome): a survey of managing clinicians. *Cil Gent* 2002; 62: 418-21.
- 46 Dangel JH. Cardiovascular changes in children with mucopolysaccharide storage diseases and related disorders – clinical and echocardiographic findings in 64 patients. *Eur. J. Pediatr* 1998; 157: 534-8.
- 47 Mabe P, Leistner S, Schwartz I, Matte U, Giuliani R. Mucopolisacaridosis. In: Colombo M, Cornejo V, Raimann E, eds. *Errores innatos en el metabolismo del niño*. 2ª ed. Santiago de Chile. Editora Universitaria. 2003. p. 225-56.



- 
- 48 Whitley CB. The Mucopolysaccharidoses. In Beighton, eds. McKusick's Heritable Disorders of Connective Tissue. 5a ed. St. Louis. Mosby. 1993 p 367-499.
- 49 Taybi H and Llachman RS. Radiology of Syndromes, Metabolic Disorders, and Skeletal Dysplasias, 4a ed. St. Louis, Missouri: Mosby; 1996. p. 670-682.
- 50 Thorne JA, Javadpour M, Hughes DG, Wraith E, Cowie RA. Craniovertebral abnormalities in type VI mucopolysaccharidosis (Maroteaux-Lamy syndrome). *Neurosurgery* 2001; 48: 849-53.
- 51 Hite SH, Krivit W, Haines SJ, Whitley CB. Syringomyelia in mucopolysaccharidosis type VI (Maroteaux-Lamy syndrome): imaging findings following bone marrow transplantation. *Pediatr Radiol* 1997; 27: 736-8.
- 52 Boor R, Miebach E, Brühl K, Beck M. Abnormal somatosensory evoked potentials indicate compressive cervical myelopathy in mucopolysaccharidoses. *Neuropediatrics* 2000; 31: 122-7.
- 53- Wraith, J.E., Lysosomal disorders. *Semin Neonatol*, 2002. 7(1): p. 75-83.
- 54- Cheon, J.E., et al., Leukodystrophy in children: a pictorial review of MR imaging features. *Radiographics*, 2002. 22(3): p. 461-76.
- 55- Faerber, E.N. and T.Y. Poussaint, Magnetic resonance of metabolic and degenerative diseases in children. *Top Magn Reson Imaging*, 2002. 13(1): p. 3-21.
- 56 Gabrielli O, Gabriele P, Regnicolo L, Petroni V, Scarabino VC and salvolini U. correlation Between Cerebral MRI abnormalities and retardation in patients with mucopolisaccharidoses. *American Journal of Medical Genetics* 2004; 125A: 224-31.
- 57 Matheus MG, Castillo M, Smith JK, Armao D, Towle D, Muenzer J. Brain MRI findings in patients wit mucopolysaccharidosis types I and II and mild clinical presentation. *Neuroradiology* 2004; 46: 666-72.
- 58 Vedollin LM, Schwartz IVD, Schuch A, Komlos M, Puga AC, Pinto LLC, Pires AP, Giugliani R. Mucopolysaccharidosis type II: are MRI and MRS findings markers of brain dysfunction?. *Am J Neuroradiology* 2007; 28:1029-1033

- 
- 59 Lange MC, Teive HAG, Troiano AR, Bitencourt M, Funke VAM, Setúbal DC, Neto JZ, Medeiros CR, Werneck LC, Pasquini R, Bonfim CMS. Boné M Arrow Transplantation in Patients with Storage Disease- A developing country experience. *Arq Neuropsiquiatr* 2006; 64 (1):1-4.
- 60 Cailland C, Poenaru L. Gene therapy in lysosomal diseases. *Biome & Pharmacother* 2000; 54: 505-12.
- 61 Wraith JE. The mucopolisaccharidoses: a clinical review and guide to manegement. *Arch. Dis. Chil.* 1996; 72: 263-7.
- 62 Beck M. Mucopolysaccharidoses and oligosaccharidoses. In Fernandes J, Saudubray M, Van der Berghe G Eds. *Inborn metabolic diseases, diagnosis and treatment*. 3rd ed. New York: Springer; 2000. p. 415-21.
- 63 Herskhovitz E, Young E, Rainer J, Hall CM, Lidchi V, Chong K, Vellodi A. bone marrow tranplantation for Maroteaux-Lamy syndrome (MPS VI): long term follow up. *J. Innher. Metabo. Dis.* 1999; 22: 50-62.
- 64 Harmatz P, Whitley C, Belani K, Waber L, Pais R, Steiner R, et al. A Phase I/II randomized double-blind two dose group stududy of recombinant human n-acetylgalactosamine-4-sulfatase (rhASB) enzyme replacement tharapy in patients with Mucopolisaccharidosis (MPS) VI (Maroteaux-Lamy Syndrome). *Am J hum Genet* 2001;69 (4):674.
- 65 Harmatz P, Ketteridge D, Giugliani R, Guffon N, Teles EL, Miranda MC, et al, Direct comparasion of measures of endurance, mobility, and joint function during enzyme-replacement therapy of Mucopolisaccharidosis VI (Maroteaux-Lamy Syndrome): results after 48 weeks in a phase 2 open-labem clinical study of recombinant human N-acetylgalactosamine 4-sulfatase. *Pediatrics* 2005 Jun;115 (6):e681-e689.
- 66 Harmatz P, Giugliani R, Schwartz I, Guffon N, Teles EL, Miranda CS, Wraith E, Beck M, Arash L, Scarpa M, Yu ZF, wittes J, Berger KI, Newman MS, Lowe AM, Kakkis E, Swiedler SJ and MPS Study Group. Enzyme Replacement Therapy for Mucopolysaccharidosis VI: A Phase 3, Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled, Multinacional Study of Recombinant Human N-Acetylgalactosamine4-Sulfatase (Recombinant Human Arylsulfatse B or

---

RhASB) and Follow-on Open-label Extension Study. The Journal of Pediatrics. April 2006. Pags 533-539.

- 67 Ketteridge D, Oates S, Kennedy D, Martin J, Simons J, Hopwood J, Lubitz I, Sillence D, Frischmann W, Harmatz P. Changes in Sleep Apnoea With Enzyme Replacement Therapy in Mucopolysaccharidosis Type VI. In: Besley GTN, Pollitt RJ, Brown GK, Hoffmann GF, Gibson KM editors. SSIEM 42st Annual Symposium, 2005. J. Inherit. Metab. Dis. 2005; 28 (1): 192.
- 68 Peters C, Schmidt B, Rommerskirch W. Phylogenetic conservation of arylsulfatases; cDNA cloning and expression of human arylsulfatase B. J. Biol. Chem. 1990; 265: 3374-81.
- 69 Yogalingam G, Muller V, Hopwood JJ, Anson DS. Regulation of N-acetylgalactosamine-4-sulfatase expression in retrovirus transduced feline mucopolysaccharidosis type VI muscle cells. DNA Cell Biol 1999; 18: 187-95.

Bibliografia Artigo 2: Avaliação Radiológica de Pacientes com Mucopolissacaridose tipo VI: achados de mão e coluna lombar

- 70- Neufeld EF, Muenzer J. The mucopolisaccharidosis. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly S, Valle D, Childs B, Kinzler KW, Vogelstein B, eds. The metabolic and molecular basis of inherited disease. 8a ed. New York: McGraw-Hill. 2001.p.3421-52.
- 71- Meikle PJ, Hopwood JJ, Clague AE, Carey WF. Prevalence of lysosomal storage disorders. JAMA 1999; 281: 249-54.
- 72- Poorthuis BJHM, wevers RA, Kleijer WJ, Groener JEM, de Jong JGN, van Weely S et al. The frequency of lysosomal storage diseases in The Netherlands. Hum Genet 1999; 105: 151-6.
- 73- Schwartz IVD, Matte US, Leistner S, Giugliani R. Mucopolissacaridoses. In: Carakushanski G. Doenças Genéticas em Pediatria. 1ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2001. p. 180-4.

- 
- 74- Harmatz P, Ketteridge D, Giugliani R, Guffon N, Teles EL, Miranda MC, et al, Direct comparasion of measures of endurance, mobility, and joint function during enzyme-replacement therapy of Mucopolisaccharidosis VI (Maroteaux-Lamy Syndrome): results after 48 weeks in a phase 2 open-labem clinical study of recombinant human N-acetylgalactosamine 4-sulfatase. *Pediatrics* 2005 Jun;115 (6):e681-e689.
- 75- Harmatz P, Giugliani R, Schwartz I, Guffon N, Teles EL, Miranda CS, Wraith E, Beck M, Arash L, Scarpa M, Yu ZF, wittes J, Berger KI, Newman MS, Lowe AM, Kakkis E, Swiedler SJ and MPS Study Group. Enzyme Replacement Therapy for Mucopolysaccharidosis VI: A Phase 3, Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled, Multinacional Study of Recombinant Human N-Acetylgalactosamine4-Sulfatase (Recombinant Human Arylsulfatse B or RhASB) and Follow-on Open-label Extension Study. *The Journal of Pediatrics*. April 2006.Pags 533-539.
- 76- Nyhan WL, Ozand PT. Maroteux-Lamy disease/ Mucopolysaccharidosis VI (MPS VI)/ N-Acetylgalactosamine-4-sulfatase deficiency. In Nyhan WL, Ozand PT. *Atlas of Metabolic Diseases*. 1a ed. London: Chapman & Hall Medical. 1998. p 477- 81.
- 77- Spranger JW, Brill PW, Poznanski AK. Dysostosis Multiplex: Complex Carbohydrate Storage Diseases- Mucopolysaccharidosis VI. In *Bone Dysplasias- An Atlas of Genetic Disorders of Skeletal Development*. 2a ed. 2002 p287-291.
- 78- Levin TL, Berdon WE, Lachman RS, Anyane-Yeboa K, Ruzal-Shapiro C, Roye Jr. DP. Lumbar gibbus in storage diseases and bone dysplasias. *Pediatr Radiology* 1997;27;289-294.
- 79- Whitley CB. The Mucopolysaccharidoses. In *McKusick's Heritable Disorders of Connective Tissue*. Edited by Beighton P.Fifth Edition. Mosby. USA St Louis1993. Pag 367-499.
- 80- Taybi H and Lllachman RS. *Radiology of Syndromes, Metabolic Disorders, and Skeletal Dysplasias*, 4<sup>a</sup> ed. St. Louis, Missouri: Mosby; 1996. p. 670-682.

- 
- 81- Jong JCN, Wevers RA, Liebrand-van Sambeek R. Measuring urinary glycosaminoglycans in the presence of protein: an improved screening procedure for mucopolysaccharidoses based on dimethylmethylene blue. Clin Chem 1992; 38: 803-7.
- 82- Hamil PVV, Drizd TA, Johnson CL, Reed RB, Roche AF, Moore WM. Physical growth: National Center of Health Statistics percentiles. Am J Cl Nutr 1979; 32: 607-29.

Bibliografia Artigo 3: Achados em Ressonância Magnética de Crânio em Pacientes com Mucopolissacaridose tipo VI

- 83- Neufeld EF, Muenzer J. The mucopolisaccharidosis. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly S, Valle D, Childs B, Kinzler KW, Vogelstein B, eds. The metabolic and molecular basis of inherited disease. 8a ed. New York: McGraw-Hill. 2001.p.3421-52.
- 84- Meikle PJ, Hopwood JJ, Clague AE, Carey WF. Prevalence of lysosomal storage disorders. JAMA 1999; 281: 249-54.
- 85- Poorthuis BJHM, Wevers RA, Kleijer WJ, Groener JEM, de Jong JGN, van Weely S et al. The frequency of lysosomal storage diseases in The Netherlands. Hum Genet 1999; 105: 151-6.
- 86- Schwartz IVD, Matte US, Leistner S, Giugliani R. Mucopolissacaridoses. In: Carakushanski G. Doenças Genéticas em Pediatria. 1ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2001. p. 180-4.
- 87- Harmatz P, Ketteridge D, Giugliani R, Guffon N, Teles EL, Miranda MC, et al, Direct comparasion of measures of endurance, mobility, and joint function during enzyme-replacement therapy of Mucopolisaccharidosis VI (Maroteaux-Lamy Syndrome): results after 48 weeks in a phase 2 open-labem clinical study of recombinant human N-acetylgalactosamine 4-sulfatase. Pediatrics 2005 Jun;115 (6):e681-e689.
- 88- Harmatz P, Giugliani R, Schwartz I, Guffon N, Teles EL, Miranda CS, Wraith E, Beck M, Arash L, Scarpa M, Yu ZF, wittes J, Berger KI, Newman MS, Lowe

- 
- AM, Kakkis E, Swiedler SJ and MPS Study Group. Enzyme Replacement Therapy for Mucopolysaccharidosis VI: A Phase 3, Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled, Multinational Study of Recombinant Human N-Acetylgalactosamine4-Sulfatase (Recombinant Human Arylsulfatase B or RhASB) and Follow-on Open-label Extension Study. *The Journal of Pediatrics*. April 2006. Pags 533-539.
- 89- Wicker G, Prill V, Brooks D, Gibson G, Hopwood J, von Figura K, Peters C. Mucopolisaccharidosis VI (maroteaux-Lamy sindrom) an intermediate clinical phenotype caused by substitution of valine for glycine at position 137 of arylsulfatase B. *J Biol Chem* 1991; 266:21386-91.
- 90- Thompson JN. The Mucopolysaccharidoses. In Blau N, Duran M, Blaskovics ME, Gibson KM, eds. *Physician's Guide to the Laboratory Diagnosis of Metabolic Diseases*. 2a ed. New York. Springer. 2003 p 377-393.
- 91- Thorne JA, Javadpour M, Hughes DG, Wraith E, Cowie RA. Craniovertebral abnormalities in type VI mucopolysaccharidosis (Maroteaux-Lamy syndrome). *Neurosurgery* 2001; 48: 849-53.
- 92- Vougioukas VI, Berlis A, Kopp MV, Korinthenberg R, Spreer J. Neurological Interventions in Children with Maroteaux-Lamy Syndrome. *Pediatric Neurosurgery* 2001; 35: 35-38.
- 93- Karageorgos L, harmatz P, simon J, Pollard A, Clements PR, Brooks DA, Hopwood JJ. Mutatioin Analysis of Mucopolisaccharidosis Type VI Patients Undergoing a Trial of Enzyme replacement Therapy. *Human Mutation* 2004. 23; 229-233.
- 94- Vestermark S, Tonnesen T, Andersen MS, Guttler F. Mental Retardation in a Patient with Maoteaux-Lamy. *Clin Genet*.1987 Feb;31 (2):114-7.
- 95- Albano LM, Sugayama SS, Bertola DR, Andrade CE, Utagawa CY, Puppi F, Nader HB, Toma L, Coelho J, Leistner S, Burin M, Giugliani R, Chong AK. Clinical and laboratorial study of 19 cases of mucopolysaccharidoses. *Rev Hosp Clin Fac Med São Paulo* 2000; Nov-Dec 55: 213-8.
- 96- Azevedo AC, Schwartz IV, Kalakun L, Brustolin S, Burin M, Leinster S, Beheregary AP, Boy R, Mabe P, Giugliani, R. Clinical and biochemical study of

- 
- 28 patients with mucopolysaccharidosis type VI. In: *Clinical Genetics*, 2004. no, 2004, 66, 208-213.
- 97- Zafeiriou D.I, Savvopoulou-Augoustidou PA, Sewell A, et al., Serial magnetic resonance imaging findings in mucopolysaccharidosis IIIB (Sanfilippo's syndrome B). *Brain Dev* 2001; 23(6): 385-389.
- 98- Lee C, Dineen TE, Brack M, Kirsch JE, Runge VM. The mucopolysaccharidoses: characterization by cranial MR imaging. *Am J Neuroradiol*, 1993. 14(6): 1285-92.
- 99- Seto T, Kono K, Morimoto L, et al., Brain magnetic resonance imaging in 23 patients with mucopolysaccharidoses and the effect of bone marrow transplantation. *Ann Neurol*, 2001. 50(1): 79-92.
- 100- Jong JCN, Wevers RA, Liebrand-van Sambeek R. Measuring urinary glycosaminoglycans in the presence of protein: an improved screening procedure for mucopolysaccharidoses based on dimethylmethylene blue. *Clin Chem* 1992; 38: 803-7.
- 101- Hamil PVV, Drizd TA, Johnson CL, Reed RB, Roche AF, Moore WM. Physial growth: National Center of Health Statistics percentiles. *Am J Cl Nutr* 1979; 32: 607-29.
- 102 Vedollin LM, Schwartz IVD, Schuch A, Komlos M, Puga AC, Pinto LLC, Pires AP, Giugliani R. Mucopolysaccharidosis type II: are MRI and MRS findings markers of brain dysfunction?. *Am J Neuroradiology* 2007; 28:1029-1033.
- 103 Vedollin LM, Schwartz IVD, Komlos M, Schuch A, Azevedo AC, Vieira T, Maeda FK, Marques da Silva AM, Giugliani R. Brain MRI in mucopolysaccharidosis: Effect of aging and correlation with biochemical findings. *Neurology* 2007; in press.
- 104- The Psychological Corporation.USA. Wechsler Intelligence Scale for Children. WISC III Manual. Traslated and Adapted by permission. Adaptacion y supervision de la version catellana del Equipo de Especilaists dirigido por las profesoras María Martina Casullo Y Haydee Echeverría. 1994. Editorial Paidós, Buenos Aires. P 21-30.

- 
- 105- Wechsler D. Wechsler Intelligence Escale for Children (WISC). New York, Psychological. Citado por Maia ACB e Fonseca ML. Quociente de Inteligência e Aquisição de Leitura: Um estudo correlacional. *Psicologia: Reflexão e Crítica*, 2002,15(2) p261-270.
- 106- Nascimento E, Figueiredo VLM. WISC-II e WAIS-III: Alterações nas versões originais americanas decorrentes das adaptações para uso no Brasil. *Psicol.Reflex. Crit.* 2002;vol 15- 3.
- 107- Sá G, Teixeira JF, Cruz R, Barbot C, Martins E. Aspectos neuroimagiológicos em lãs mucopolisacaridosis: correlación com el atraso mental. *Ver neurol* 2006; 43 (12).
- 108- Matheus MG, Castillo M, Smith JK, Armao D, Towle D, Muenzer J. Brain MRI findings in patients with mucopolysaccharidosis types I and II and mild clinical presentation. *Neuroradiology* 2004; 46: 666-72.
- 109- Fobe JL, Rizzo AMPP, Silva IM, Silva SPM, Teixeira CE, Souza AM, Fernandes A. QI em Pacientes com Hidrocefalia e Mielomeningocele- Implicações no Tratamento Cirúrgico. *Arq Neuri-Psiquiatr.* Vol.57 n1 São Paulo Mar 1999.
- 110- Rocha AF, Leite CC, Rocha FT, Massad E, Cerri GG, Angelotti ASO, Gomes EHGG, Oliveira CCM. Mental Retardation- A MRI Study of Brazilian Children. *Arq. Neuropsiquiatria* 2006;64 (2-A):186-192.
- 111- Cunha JA. Escalas Wechsler. Em Cunha JA. *Psicodiagnóstico V.* 2000, 5ª ed. Artmed. Págs 529-603.

Bibliografia Artigo 4: Estudo Clínico para Investigação de Fatores Associados com a Gravidade na Mucopolissacaridose tipo VI

- 112- Neufeld EF, Muenzer J. The mucopolisaccharidosis. In: Scriver CR, Beandet AL, Sly S, Valle D, Childs B, Kinzler KW, Vogelstein B, eds. *The metabolic and molecular basis of inherited disease.* 8a ed. New York: McGraw-Hill. 2001.p.3421-52.



- 
- 113- Meikle PJ, Hopwood JJ, Clague AE, Carey WF. Prevalence of lysosomal storage disorders. *JAMA* 1999; 281: 249-54.
- 114- Poorthuis BJHM, wevers RA, Kleijer WJ, Groener JEM, de Jong JGN, van Weely S et al. The frequency of lysosomal storage diseases in The Netherlands. *Hum Genet* 1999; 105: 151-6.
- 115- Schwartz IVD, Matte US, Leistner S, Giugliani R. Mucopolissacaridoses. In: Carakushanski G. *Doenças Genéticas em Pediatria*. 1ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2001. p. 180-4.
- 116- Harmatz P, Ketteridge D, Giugliani R, Guffon N, Teles EL, Miranda MC, et al, Direct comparasion of measures of endurance, mobility, and joint function during enzyme-replacement therapy of Mucopolisaccharidosis VI (Maroteaux-Lamy Syndrome): results after 48 weeks in a phase 2 open-label clinical study of recombinant human N-acetylgalactosamine 4-sulfatase. *Pediatrics* 2005 Jun;115 (6):e681-e689.
- 117- Harmatz P, Giugliani R, Schwartz I, Guffon N, Teles EL, Miranda CS, Wraith E, Beck M, Arash L, Scarpa M, Yu ZF, Wittes J, Berger KI, Newman MS, Lowe AM, Kakkis E, Swiedler SJ and MPS Study Group. Enzyme Replacement Therapy for Mucopolysaccharidosis VI: A Phase 3, Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled, Multinacional Study of Recombinant Human N-Acetylgalactosamine4-Sulfatase (Recombinant Human Arylsulfatase B or RhASB) and Follow-on Open-label Extension Study. *The Journal of Pediatrics*. April 2006. Pags 533-539.
- 118- Wicker G, Prill V, Brooks D, Gibson G, Hopwood J, von Figura K, Peters C. Mucopolysaccharidosis VI (maroteaux-Lamy sindrom) an intermediate clinical phenotype caused by substitution of valine for glycine at position 137 of arylsulfatase B. *J Biol Chem* 1991; 266:21386-91.
- 119- Thompson JN. The Mucopolysaccharidoses. In Blau N, Duran M, Blaskovics ME, Gibson KM, eds. *Physician's Guide to the Laboratory Diagnosis of Metabolic Diseases*. 2a ed. New York. Springer. 2003 p 377-393.

- 
- 120- Thorne JA, Javadpour M, Hughes DG, Wraith E, Cowie RA. Craniovertebral abnormalities in type VI mucopolysaccharidosis (Maroteaux-Lamy syndrome). *Neurosurgery* 2001; 48: 849-53.
- 121- Vougioukas VI, Berlis A, Kopp MV, Korinthenberg R, Spreer J. Neurological Interventions in Children with Maroteaux-Lamy Syndrome. *Pediatric Neurosurgery* 2001; 35: 35-38.
- 122- Vestermark S, Tonnesen T, Andersen MS, Guttler F. Mental Retardation in a Patient with Maoteaux-Lamy. *Clin Genet.*1987 Feb;31 (2):114-7.
- 123- Petry MGF, Nonemacher K, Sebben JC, Schwartz IVD, Azevedo ACM, Burin MG, De Rezende RA, Kin CA, Giugliani R, Leistner-Segal S. Mucopolysaccharidosis type VI: Identification of novel mutation on the arylsulfatase B gene in South-American patients. *J Inherit Metab Dis* 2005 Sep 28 1-8.
- 124- Swiedler SJ, Beck M, Bajbouj M, Giugliani R, Schwartz I, Harmatz P, Wraith JE, Roberts J Ketteridge D, Hopwood JJ, Guffon N, Sá Miranda MC, Teles EL, Berger KI, Piscia-Nichols C. 2005. Threshold effect of urinary glycosaminoglycans and the walk test as indicators of disease progression in a survey of subjects with mucopolysaccharidosis VI (Maroteaux-Lamy syndrome). *Am J Med Genet A* 134:144-150.
- 125- Karageorgos L, Harmatz P, Simon J, Pollard A, Clements PR, Brooks DA, Hopwood JJ. Mutation Analysis of Mucopolysaccharidosis Type VI Patients Undergoing a Trial of Enzyme replacement Therapy. *Human Mutation* 2004. 23; 229-233
- 126- Whitley CB. The Mucopolysaccharidoses. In McKusick's Heritable Disorders of Connective Tissue. Edited by Beighton P.Fifth Edition. Mosby. USA St Louis 1993. Pages 367-499.
- 127- Levin TL, Berdon WE, Lachman RS, Anyane-Yeboah K, Ruzal-Shapiro C, Roye Jr. DP. Lumbar gibbus in storage diseases and bone dysplasias. *Pediatr Radiology* 1997;27;289-294.

- 
- 128- Hamil PVV, Drizd TA, Johnson CL, Reed RB, Roche AF, Moore WM. Physical growth: National Center of Health Statistics percentiles. *Am J Cl Nutr* 1979; 32: 607-629.
- 129- Jong JCN, Wevers RA, Liebrand-van Sambeek R. Measuring urinary glycosaminoglycans in the presence of protein: an improved screening procedure for mucopolysaccharidoses based on dimethylmethylene blue. *Clin Chem* 1992; 38: 803-7.
- 130- Liascovich R, Rittler M, Castilla EE. Consanguinity in South America: demographic aspects. *Hum Hered* 2001; 151: 27-34
- 131- Azevedo AC, Schwartz IV, Kalakun L, Brustolin S, Burin M, Leinster S, Beheregary AP, Boy R, Mabe P, Giugliani, R. Clinical and biochemical study of 28 patients with mucopolysaccharidosis type VI. In: *Clinical Genetics*, 2004. no, 2004, 66, 208-213.

Bibliografia Artigo: Radiological Evaluation with Mucopolissacaridosis VI: hand and lumbar spine findings

- 132- Neufeld EF, Muenzer J. The Mucopolysaccharidosis. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly S, Valle D, Childs B, Kinzler KW, Vogelstein B, eds. *The metabolic and molecular basis of inherited disease*. 8a ed. New York: McGraw-Hill. 2001.p.3421-52.
- 133- Meikle PJ, Hopwood JJ, Clague AE, Carey WF. Prevalence of lysosomal storage disorders. *JAMA* 1999; 281: 249-54.
- 134- Poorthuis BJHM, wevers RA, Kleijer WJ, Groener JEM, de Jong JGN, van Weely S et al. The frequency of lysosomal storage diseases in The Netherlands. *Hum Genet* 1999; 105: 151-6.
- 135- Schwartz IVD, Matte US, Leistner S, Giugliani R. Mucopolysaccharidoses. In: Carakushanski G. *Doenças Genéticas em Pediatria*. 1ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2001. p. 180-4.
- 136- Harmatz P, Ketteridge D, Giugliani R, Guffon N, Teles EL, Miranda MC, et al, Direct comparison of measures of endurance, mobility, and joint function during

- 
- enzyme-replacement therapy of Mucopolysaccharidosis VI (Maroteaux-Lamy Syndrome): results after 48 weeks in a phase 2 open-label clinical study of recombinant human N-acetylgalactosamine 4-sulfatase. *Pediatrics* 2005 Jun; 115 (6):e681-e689.
- 137- Harmatz P, Giugliani R, Schwartz I, Guffon N, Teles EL, Miranda CS, Wraith E, Beck M, Arash L, Scarpa M, Yu ZF, Wittes J, Berger KI, Newman MS, Lowe AM, Kakkis E, Swiedler SJ and MPS Study Group. Enzyme Replacement Therapy for Mucopolysaccharidosis VI: A Phase 3, Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled, Multinational Study of Recombinant Human N-Acetylgalactosamine 4-Sulfatase (Recombinant Human Arylsulfatase B or RhASB) and Follow-on Open-label Extension Study. *The Journal of Pediatrics*. April 2006. Pages 533-539.
- 138- Nyhan WL, Ozand PT. Maroteaux-Lamy disease/ Mucopolysaccharidosis VI (MPS VI)/ N-Acetylgalactosamine-4-sulfatase deficiency. In Nyhan WL, Ozand PT. *Atlas of Metabolic Diseases*. 1a ed. London: Chapman & Hall Medical. 1998. p 477- 81.
- 139- Spranger JW, Brill PW, Poznanski AK. Dysostosis Multiplex: Complex Carbohydrate Storage Diseases- Mucopolysaccharidosis VI. In *Bone Dysplasias- An Atlas of Genetic Disorders of Skeletal Development*. 2a ed. 2002 p287-291.
- 140- Levin TL, Berdon WE, Lachman RS, Anyane-Yeboah K, Ruzal-Shapiro C, Roye Jr. DP. Lumbar gibbus in storage diseases and bone dysplasias. *Pediatr Radiology* 1997;27;289-294.
- 141- Whitley CB. The Mucopolysaccharidoses. In *McKusick's Heritable Disorders of Connective Tissue*. Edited by Beighton P. Fifth Edition. Mosby. USA St Louis 1993. Pages 367-499.
- 142- Taybi H and Llachman RS. *Radiology of Syndromes, Metabolic Disorders, and Skeletal Dysplasias*, 4<sup>a</sup> ed. St. Louis, Missouri: Mosby; 1996. p. 670-682.
- 143- Jong JCN, Wevers RA, Liebrand-van Sambeek R. Measuring urinary glycosaminoglycans in the presence of protein: an improved screening

---

procedure for mucopolysaccharidoses based on dimethylmethylene blue. Clin Chem 1992; 38: 803-7.

Bibliografia Artigo: Brain Magnetic Resonance Imaging findings in Patients with Mucopolysaccharidosis VI

- 144- Neufeld EF, Muenzer J. The Mucopolysaccharidosis VI. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly S, Valle D, Childs B, Kinzler KW, Vogelstein B, eds. The metabolic and molecular basis of inherited disease. 8th ed. New York: McGraw-Hill. 2001.p.3421-52.
- 145- Meikle PJ, Hopwood JJ, Clague AE, Carey WF. Prevalence of lysosomal storage disorders. JAMA 1999; 281: 249-54.
- 146- Poorthuis BJHM, Wevers RA, Kleijer WJ, Groener JEM, de Jong JGN, van Weely S et al. The frequency of lysosomal storage diseases in The Netherlands. Hum Genet 1999; 105: 151-6.
- 147- Schwartz IVD, Matte US, Leistner S, Giugliani R. Mucopolissacaridoses. In: Carakushanski G. Doenças Genéticas em Pediatria. First ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2001. p. 180-184.
- 148- Harmatz P, Ketteridge D, Giugliani R, Guffon N, Teles EL, Miranda MC, et al, Direct comparison of measures of endurance, mobility, and joint function during enzyme-replacement therapy of Mucopolysaccharidosis VI (Maroteaux-Lamy Syndrome): results after 48 weeks in a phase 2 open-label clinical study of recombinant human N-acetylgalactosamine 4-sulfatase. Pediatrics 2005 Jun; 115 (6):681-689.
- 149- Harmatz P, Giugliani R, Schwartz I, Guffon N, Teles EL, Miranda CS, Wraith E, Beck M, Arash L, Scarpa M, Yu ZF, Wittes J, Berger KI, Newman MS, Lowe AM, Kakkis E, Swiedler SJ and MPS Study Group. Enzyme Replacement Therapy for Mucopolysaccharidosis VI: A Phase 3, Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled, Multinational Study of Recombinant Human N-Acetylgalactosamine 4-Sulfatase (Recombinant Human Arylsulfatase B or

- 
- RhASB) and Follow-on Open-label Extension Study. *The Journal of Pediatrics*. 2006; April: 533-539.
- 150- Wicker G, Prill V, Brooks D, Gibson G, Hopwood J, von Figura K, Peters C. Mucopolysaccharidosis VI (maroteaux-Lamy sindrom) an intermediate clinical phenotype caused by substitution of valine for glycine at position 137 of arylsulfatase B. *J Biol Chem* 1991; 266: 21386-213891.
- 151- Thompson JN. The Mucopolysaccharidoses. In Blau N, Duran M, Blaskovics ME, Gibson KM, eds. *Physician's Guide to the Laboratory Diagnosis of Metabolic Diseases*. 2a ed. New York. Springer. 2003. p 377-393.
- 152- Thorne JA, Javadpour M, Hughes DG, Wraith E, Cowie RA. Craniovertebral abnormalities in type VI mucopolysaccharidosis (Maroteaux-Lamy syndrome). *Neurosurgery* 2001; 48: 849-53.
- 153- Vougioukas VI, Berlis A, Kopp MV, Korinthenberg R, Spreer J. Neurological Interventions in Children with Maroteaux-Lamy Syndrome. *Pediatric Neurosurgery* 2001; 35: 35-38.
- 154- Karageorgos L, Harmatz P, Simon J, Pollard A, Clements PR, Brooks DA, Hopwood JJ. Mutation Analysis of Mucopolysaccharidosis Type VI Patients Undergoing a Trial of Enzyme replacement Therapy. *Human Mutation* 2004. 23; 229-233.
- 155- Vestermark S, Tonnesen T, Andersen MS, Guttler F. Mental Retardation in a Patient with Maroteaux-Lamy. *Clin Genet*.1987; Feb 31 (2):114-117.
- 156- Albano LM, Sugayama SS, Bertola DR, Andrade CE, Utagawa CY, Puppi F, Nader HB, Toma L, Coelho J, Leistner S, Burin M, Giugliani R, Chong AK. Clinical and laboratorial study of 19 cases of mucopolysaccharidoses. *Rev Hosp Clin Fac Med São Paulo* 2000; Nov-Dec 55: 213-218.
- 157- Azevedo AC, Schwartz IV, Kalakun L, Brustolin S, Burin M, Leinster S, Beheregary AP, Boy R, Mabe P, Giugliani, R. Clinical and biochemical study of 28 patients with mucopolysaccharidosis type VI. In: *Clinical Genetics*, 2004; 66: 208-213.

- 
- 158- Zafeiriou D.I, Savvopoulou-Augoustidou PA, Sewell A, et al., Serial magnetic resonance imaging findings in mucopolysaccharidosis IIIB (Sanfilippo's syndrome B). *Brain Dev* 2001; 23(6): 385-389.
- 159- Lee C, Dineen TE, Brack M, Kirsch JE, Runge VM. The mucopolysaccharidoses: characterization by cranial MR imaging. *Am J Neuroradiol*, 1993. 14(6): 1285-92.
- 160- Seto T, Kono K, Morimoto L, et al., Brain magnetic resonance imaging in 23 patients with mucopolysaccharidoses and the effect of bone marrow transplantation. *Ann Neurol*, 2001. 50(1): 79-92.
- 161- Hamil PVV, Drizd TA, Johnson CL, Reed RB, Roche AF, Moore WM. Physical growth: National Center of Health Statistics percentiles. *Am J Cl Nutr* 1979; 32: 607-629.
- 162- Jong JCN, Wevers RA, Liebrand-van Sambeek R. Measuring urinary glycosaminoglycans in the presence of protein: an improved screening procedure for mucopolysaccharidoses based on dimethylmethylene blue. *Clin Chem* 1992; 38: 803-807.
- 163- Vedollin LM, Schwartz IVD, Schuch A, Komlos M, Puga AC, Pinto LLC, Pires AP, Giugliani R. Mucopolysaccharidosis type II: are MRI and MRS findings markers of brain dysfunction?. *Am J Neuroradiology* 2007; 28:1029-1033.
- 164- Vedollin LM, Schwartz IVD, Komlos M, Schuch A, Azevedo AC, Vieira T, Maeda FK, Marques da Silva AM, Giugliani R. Brain MRI in mucopolysaccharidosis: Effect of aging and correlation with biochemical findings. *Neurology* 2007; in press.
- 165- <http://rsb.info.nih.gov/ij/>- 2007
- 166- The Psychological Corporation.USA. Wechsler Intelligence Scale for Children. WISC III Manual. Translated and Adapted by permission. Adaptacion y supervision de la version catellana del Equipo de Especilaists dirigido por las profesoras María Martina Casullo Y Haydee Echeverría. Editorial Paidós, Buenos Aires 1994. p 21-30.
- 167- Wechsler D. Wechsler Intelligence Escale for Children (WISC). New York, Psicological. Citado por Maia ACB e Fonseca ML. Quociente de Inteligência e

- 
- Aquisição de Leitura: Um estudo correlacional. *Psicologia: Reflexão e Crítica* 2002;15(2): 261-270
- 168- Nascimento E, Figueiredo VLM. WISC-II e WAIS-III: Alterações nas versões originais americanas decorrentes das adaptações para uso no Brasil. *Psicol.Reflex. Crit.* 2002; 15: 3-10.
- 169- Sá G, Teixeira JF, Cruz R, barbot C, Martins E. Aspectos neuroimagiológicos em lãs mucopolisacaridosis: correación com el atraso mental. *Ver neurol* 2006; 43 (12).
- 170- Matheus MG, Castillo M, Smith JK, Armao D, Towle D, Muenzer J. Brain MRI findings in patients wit mucopolysaccharidosis types I and II and mild clinical presentation. *Neuradiology* 2004; 46: 666-72.
- 171- Fobe JL, Rizzo AMPP, Silva IM, Silva SPM, Teixeira CE, Souza AM, Fernandes A. QI em Pacientes com Hidrocefalia e Mielomeningocele- Implicações no Tratamento Cirúrgico. *Arq Neuro-Psiquiatria.* 1999; 57(1):120-130
- 172- Rocha AF, Leite CC, Rocha FT, Massad E, Cerri GG, Angelotti ASO, Gomes EHGG, Oliveira CCM. Mental Retardation- A MRI Study of Brazilian Children. *Arq. Neuropsiquiatria* 2006;64 (2-A):186-192.
- 173- Cunha JA. Escalas Wechsler. In Cunha JA. *Psicodiagnóstico V.* 2000, 5th ed. Artmed. p 529-603.

**Bibliografia artigo: A clinical study on the identification of the factors associated with the severity of Mucopolysaccharidosis type VI**

- 174- Neufeld EF, Muenzer J. The Mucopolysaccharidosis VI. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly S, Valle D, Childs B, Kinzler KW, Vogelstein B, eds. *The metabolic and molecular basis of inherited disease.* 8a ed. New York: McGraw-Hill. 2001.p.3421-52.
- 175- Meikle PJ, Hopwood JJ, Clague AE, Carey WF. Prevalence of lysosomal storage disorders. *JAMA* 1999; 281: 249-54.



- 
- 176- Poorthuis BJHM, wevers RA, Kleijer WJ, Groener JEM, de Jong JGN, van Weely S et al. The frequency of lysosomal storage diseases in The Netherlands. *Hum Genet* 1999; 105: 151-6.
- 177- Schwartz IVD, Matte US, Leistner S, Giugliani R. Mucopolissacaridoses. In: Carakushanski G. *Doenças Genéticas em Pediatria*. 1ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2001. p. 180-4.
- 178- Harmatz P, Ketteridge D, Giugliani R, Guffon N, Teles EL, Miranda MC, et al, Direct comparison of measures of endurance, mobility, and joint function during enzyme-replacement therapy of Mucopolysaccharidosis VI (Maroteaux-Lamy Syndrome): results after 48 weeks in a phase 2 open-label clinical study of recombinant human N-acetylgalactosamine 4-sulfatase. *Pediatrics* 2005 Jun; 115 (6):e681-e689.
- 179- Harmatz P, Giugliani R, Schwartz I, Guffon N, Teles EL, Miranda CS, Wraith E, Beck M, Arash L, Scarpa M, Yu ZF, Wittes J, Berger KI, Newman MS, Lowe AM, Kakkis E, Swiedler SJ and MPS Study Group. Enzyme Replacement Therapy for Mucopolysaccharidosis VI: A Phase 3, Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled, Multinational Study of Recombinant Human N-Acetylgalactosamine 4-Sulfatase (Recombinant Human Arylsulfatase B or RhASB) and Follow-on Open-label Extension Study. *The Journal of Pediatrics*. April 2006. Pages 533-539.
- 180- Wicker G, Prill V, Brooks D, Gibson G, Hopwood J, von Figura K, Peters C. Mucopolysaccharidosis VI (maroteaux-Lamy syndrome) an intermediate clinical phenotype caused by substitution of valine for glycine at position 137 of arylsulfatase B. *J Biol Chem* 1991; 266:21386-91.
- 181- Thompson JN. The Mucopolysaccharidoses. In Blau N, Duran M, Blaskovics ME, Gibson KM, eds. *Physician's Guide to the Laboratory Diagnosis of Metabolic Diseases*. 2a ed. New York. Springer. 2003 p 377-393.
- 182- Thorne JA, Javadpour M, Hughes DG, Wraith E, Cowie RA. Craniovertebral abnormalities in type VI mucopolysaccharidosis (Maroteaux-Lamy syndrome). *Neurosurgery* 2001; 48: 849-53.

- 
- 183- Vougioukas VI, Berlis A, Kopp MV, Korinthenberg R, Spreer J. Neurological Interventions in Children with Maroteaux-Lamy Syndrome. *Pediatric Neurosurgery* 2001; 35: 35-38.
- 184- Vestermark S, Tonnesen T, Andersen MS, Guttler F. Mental Retardation in a Patient with Maoteaux-Lamy. *Clin Genet.*1987 Feb;31 (2):114-7.
- 185- Petry MGF, Nonemacher K, Sebben JC, Schwartz IVD, Azevedo ACM, Burin MG, De Rezende RA, Kin CA, Giugliani R, Leistner-Segal S. Mucopolysaccharidosis type VI: Identification of novel mutation on the arylsulfatase B gene in South-American patients. *J Inherit Metab Dis* 2005 Sep 28 1-8.
- 186- Swiedler SJ, Beck M, Bajbouj M, Giugliani R, Schwartz I, Harmatz P, Wraith JE, Roberts J Ketteridge D, Hopwood JJ, Guffon N, Sá Miranda MC, Teles EL, Berger KI, Piscia-Nichols C. 2005. Threshold effect of urinary glycosaminoglycans and the walk test as indicators of disease progression in a survey of subjects with mucopolysaccharidosis VI (Maroteaux-Lamy syndrome). *Am J Med Genet A* 134:144-150.
- 187- Karageorgos L, Harmatz P, Simon J, Pollard A, Clements PR, Brooks DA, Hopwood JJ. Mutation Analysis of Mucopolysaccharidosis Type VI Patients Undergoing a Trial of Enzyme replacement Therapy. *Human Mutation* 2004. 23; 229-233
- 188- Levin TL, Berdon WE, Lachman RS, Anyane-Yeboah K, Ruzal-Shapiro C, Roye Jr. DP. Lumbar gibbus in storage diseases and bone dysplasias. *Pediatr Radiology* 1997;27;289-294.
- 189- Whitley CB. The Mucopolysaccharidoses. In McKusick's Heritable Disorders of Connective Tissue. Edited by Beighton P. Fifth Edition. Mosby. USA St Louis 1993. Pages 367-499.
- 190- Hamil PVV, Drizd TA, Johnson CL, Reed RB, Roche AF, Moore WM. Physical growth: National Center of Health Statistics percentiles. *Am J Cl Nutr* 1979; 32: 607-629.
- 191- Jong JCN, Wevers RA, Liebrand-van Sambeek R. Measuring urinary glycosaminoglycans in the presence of protein: an improved screening

---

procedure for mucopolysaccharidoses based on dimethylmethylene blue. Clin Chem 1992; 38: 803-7.

192- Liascovich R, Rittler M, Castilla EE. Consanguinity in South America: demographic aspects. Hum Hered 2001; 151: 27-34

193- Azevedo AC, Schwartz IV, Kalakun L, Brustolin S, Burin M, Leinster S, Beheregary AP, Boy R, Mabe P, Giugliani, R. Clinical and biochemical study of 28 patients with mucopolysaccharidosis type VI. In: Clinical Genetics, 2004. 4; 66: 208-213.