

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

**ESTUDO CLÍNICO E BIOQUÍMICO
DE 28 PACIENTES COM
MUCOPOLISSACARIDOSE TIPO VI**

ANA CECÍLIA MEDEIROS MANO AZEVEDO

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Porto Alegre, Brasil 2004

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

ESTUDO CLÍNICO E BIOQUÍMICO DE 28 PACIENTES COM MUCOPOLISSACARIDOSE TIPO VI

ANA CECÍLIA MEDEIROS MANO AZEVEDO

Orientador: Dr. Roberto Giugliani

A apresentação desta dissertação é exigência do Programa de Pós-Graduação em Medicina: Pediatria, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul para obtenção do título de Mestre

Porto Alegre, Brasil 2004

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.

Aos médicos e profissionais da área da saúde que colaboraram de alguma maneira com este estudo: Luciane Kalakun, Sílvia Brustolin, Maira Burin, Ana Paula Beheregaray, Sandra Segal, Camila Giugliani, Maria Rosa, Patrícia Barrios, Diane Marinho, Patrícia Esteves, Simone Canani, Ângela John, Eugênia Valadares, Raquel Boy, Dafne Horovitz, Paulina Mabe, Luís Carlos Santana da Silva, Márcia Ribeiro, Ana Maria Martins, Durval Palhares, Chong A Kim.

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

Aos pacientes e seus familiares pela colaboração.

À BioMarin Pharmaceutical, CAPES, CNPQ e NORD pelo financiamento deste trabalho.

À minha família e amigos pelo incentivo e apoio, especialmente ao meu marido, Eduardo, pela amizade e amor, e ao meu filho, Daniel por ter sido, entre outras coisas, um limitante importante do meu tempo de trabalho possibilitando a melhor utilização deste com muita felicidade e produtividade.

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS

LISTA DE TABELAS

RESUMO

SUMMARY

1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DA LITERATURA	2
2.1. ERROS INATOS DO METABOLISMO	2
2.2. DOENÇAS LISSÔMICAS DE DEPÓSITO.....	2
2.3. MUCOPOLISSACARIDOSES	3
2.4. MUCOPOLISSACARIDOSE TIPO VI – SÍNDROME DE MAROTEAUX-LAMY	4
2.4.1. EPIDEMIOLOGIA.....	16
2.4.2. DIAGNÓSTICO	7
2.4.3. ASPECTOS GENÉTICOS E MOLECULARES	9
2.4.4. MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS	10
2.4.5. TRATAMENTO.....	19
3. OBJETIVOS.....	25
3.1. OBJETIVO GERAL	25
3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	25
4. MÉTODOS	26
4.1. DELINEAMENTO	26
4.2. AMOSTRA ESTUDADA.....	26
4.3. PROCEDIMENTOS DO ESTUDO	27
4.5. VARIÁVEIS ESTUDADAS	27
4.6. ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	30
4.7. CONSIDERAÇÕES ÉTICAS	30
5. RESULTADOS.....	31
5.1. CARACTERIZAÇÃO GERAL DA AMOSTRA	31
TAMANHO DA AMOSTRA.....	31
SEXO	31
ETNIA REFERIDA	31
IDADE	32
IDADE DE INÍCIO DOS SINTOMAS.....	32
IDADE AO DIAGNÓSTICO	32
NACIONALIDADE / NATURALIDADE	32
CONSANGÜINIDADE PARENTAL	33
5.2. CARACTERIZAÇÃO CLÍNICA DA AMOSTRA	34
DADOS ANTROPOMÉTRICOS AO NASCIMENTO E NO MOMENTO DA AVALIAÇÃO.....	34

<i>TIPO DE PARTO</i>	34
<i>MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS DA MPS VI</i>	34
<i>ALTERAÇÕES CARDÍACAS</i>	36
<i>ALTERAÇÕES OFTALMOLÓGICAS</i>	36
5.3. CARACTERIZAÇÃO BIOQUÍMICA DA AMOSTRA	38
5.4. CORRELAÇÃO IDADE X NÚMERO DE SINTOMAS RELATADOS PELOS PACIENTES	38
5.5. CORRELAÇÃO ALTERAÇÕES BIOQUÍMICAS X NÚMERO DE SINTOMAS RELATADOS PELOS PACIENTES	38
6. DISCUSSÃO	42
6.1. EM RELAÇÃO AO DELINEAMENTO DO ESTUDO	42
6.2. EM RELAÇÃO À CARACTERIZAÇÃO GERAL DA MOSTRA	42
6.3. EM RELAÇÃO À CARACTERIZAÇÃO CLÍNICA DA MOSTRA	44
6.4. EM RELAÇÃO À CARACTERIZAÇÃO BIOQUÍMICA DA MOSTRA	45
7. CONCLUSÕES	47
8. REFERÊNCIAS	49
9. ARTIGO SUBMETIDO Á PUBLICAÇÃO (VERSÃO EM PORTUGUÊS)	54
9. PAPER FOR PUBLICATION (ENGLISH VERSION)	69
10. CONSIDERAÇÕES FINAIS	83
11. ANEXOS	84
ANEXO 1.A: TERMO DE CONSENTIMENTO INFORMADO	85
ANEXO 1.B: INFORMAÇÕES PARA PACIENTES, PAIS, REPRESENTANTES LEGAIS	87
ANEXO 2: CARACTERIZAÇÃO GERAL DA AMOSTRA	91
ANEXO 3: DADOS ANTROPOMÉTRICOS AO NASCIMENTO E NO MOMENTO DA AVALIAÇÃO	92
ANEXO 4: FREQUÊNCIA DAS ALTERAÇÕES OFTALMOLÓGICAS NA AMOSTRA	93
ANEXO 5: CARACTERIZAÇÃO BIOQUÍMICA DA AMOSTRA	94

LISTA DE ABREVIATURAS

1. AH: Ácido hialurônico.
2. ARSB: arilsulfatase B ou N-acetilgalactosamina-4-sulfatase.
3. CS: Condroitin sulfato.
4. DLD: Doenças Lisossômicas de Depósito.
5. DS: Dermatan sulfato.
6. EIM: Erros Inatos do Metabolismo.
7. GAGs: Glicosaminoglicanos
8. GPPG-HCPA: Grupo de Pesquisa e Pós-Graduação do Hospital de Clínicas de Porto Alegre.
9. HS: heparan sulfato.
10. LREIM-HCPA: Laboratório Regional de Erros Inatos do Metabolismo do Hospital de Clínicas de Porto Alegre.
11. MPS I- S: Mucopolissacaridose tipo I- forma Scheie.
12. MPS I: Mucopolissacaridose tipo I
13. MPS I-H: Mucopolissacaridose tipo I- forma Hurler
14. MPS I-HS- Mucopolissacaridose tipo I- forma Hurler-Scheie.
15. MPS II; Mucopolissacaridose tipo II ou Síndrome de Hunter.
16. MPS III: Mucopolissacaridose tipo III ou Síndrome de Sanfilippo.
17. MPS IV: Mucopolissacaridose tipo IV ou Síndrome de Mórquio.
18. MPS VI: Mucopolissacaridose tipo VI ou Síndrome de Maroteaux-Lamy
19. MPS VII: Mucopolissacaridose tipo VII ou Síndrome de Sly.
20. MPS IX: Mucopolissacaridose tipo IX.
21. MPS: Mucopolissacaridose
22. QS: Queratan sulfato.
23. REM: "Rapid eye movement".
24. TC: Tomografia Computadorizada.
25. TMO: Transplante de medula óssea.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Metabolismo do Dermatan Sulfato e do Condroitin Sulfato (NYHAN & OZAND, 1998) – pag. 6.

Figura 2: Nacionalidade em % dos 28 pacientes estudados – pág. 32.

Figura 3: Naturalidade em % dos 26 pacientes brasileiros estudados – pág. 32.

Figura 4: Comparação peso no momento da avaliação e peso no percentil 5 para a idade – pág. 34.

Figura 5: Comparação altura no momento da avaliação e altura no percentil 5 para a idade – pág.34.

Figura 6: Comparação perímetro cefálico no momento da avaliação e perímetro cefálico no percentil 5, 50 e 95 para a idade – pág. 35.

Figura 7: Correlação de Pearson entre idade e número de manifestações clínicas citadas (r de Pearson de 0,017) – pág. 38.

Figura 8: Correlação de Pearson entre medida de GAGs urinários (em vezes acima do máximo normal p/ idade) e número de sintomas citados (r de Pearson de -0,2) – pág. 39.

Figura 9: Correlação de Pearson entre medida da atividade da ARSB em leucócitos e número de sintomas citados (r de Pearson de 0,2) – pág. 39.

Figura 10: Correlação de Pearson entre medida de GAGs urinários (em vezes acima do máximo normal p/ idade) e entre medida da atividade da ARSB em leucócitos (r de Pearson de -0,2) – pág. 40.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Classificação da Mucopolissacaridoses (modificado de NEUFELD E MUENZER, 2001) – pág. 5.

Tabela 2: Valores de referência da dosagem de GAGS urinários em maiores de 4 anos (JONG ET AL, 1992) – pág. 28.

Tabela 3: Freqüência de consagüinidade por região de origem no Brasil – pág. 32.

Tabela 4: Freqüência do número de manifestações clínicas relatadas – pág. 36.

Tabela 5: Freqüência de alterações eletrocardiográficas na amostra – pág. 37.

Tabela 6: Freqüência de alterações ecocardiográficas na amostra – pág. 38.

RESUMO

Realizamos um estudo observacional de pacientes com mucopolissacaridose tipo VI, com o objetivo de determinar o perfil epidemiológico, clínico e bioquímico de um grupo de pacientes sul-americanos a fim de contribuir em estudos futuros de correlação genótipo-fenótipo e de avaliação de protocolos clínicos. Os critérios de inclusão foram: ter 4 anos ou mais e confirmação bioquímica da doença (níveis reduzidos da atividade da ARSB, aumento de GAGs urinários e atividade normal de outra sulfatase). Os critérios de exclusão foram: terapia com reposição enzimática atual ou prévia ou ter realizado transplante de medula óssea. Foram avaliados 28 pacientes por anamnese, exame físico, acardiograma, eletrocardiograma, avaliação oftalmológica, medidas de glicosaminoglicanos urinários e da atividade da N-acetilgalactosamina-4-sulfatase em leucócitos. A amostra estudada tinha 92,9% de brasileiros, sendo 53,8% da região sudeste. No momento da avaliação, a média de idade foi de 97,1 meses e a média de idade ao diagnóstico foram de 48,4 meses. Em 88% da amostra os sintomas iniciaram com menos de 36 meses e em 27% das famílias houve relato de consangüinidade entre os pais. A média de peso e estatura ao nascimento foi de 3481 gramas e 51,3 centímetros, respectivamente. Da amostra, 57,1% nasceram de parto vaginal. Todos apresentavam alguma alteração ecocardiográfica, bem como opacificação corneana. As manifestações clínicas mais freqüentes foram: baixa estatura, opacificação corneana, facies grosseira, contraturas articulares e mãos em garra. A média da atividade enzimática em leucócitos foi de 5,4 nmoles/h x mg proteína e a excreção urinária de glicosaminoglicanos foi, em média, 7,9 vezes superior ao normal. O número de manifestações clínicas citadas não apresentou correlação significativa com a idade, com a excreção urinária de GAGs ou com a atividade enzimática em leucócitos. Também não houve correlação significativa entre a excreção urinária de GAGs e a atividade enzimática. Concluimos que a MPS VI é uma patologia com alta morbidade e que, comparados com a literatura, os pacientes da nossa amostra têm um diagnóstico tardio e maior freqüência de alterações cardiológicas.

SUMMARY

An observational study of South-American patients with mucopolysaccharidosis type VI was carried out, aiming at determining their epidemiological, clinical and biochemical profile, and, to evaluate the correlation of signs/ symptoms reported with present age and biochemical findings (urinary excretion of GAGs and ARSB activity in leukocytes), so that it can serve as basis for future studies of the genotype-phenotype correlation and for protocols of future clinical studies. Each individual needed to meet the inclusion criteria: the signing of an informed term consent; age of four years or older; biochemical confirmation of the disease (reduction in level of ARSB activity and the increase in the levels of GAGs in urine, and a normal activity of another sulfatase). The exclusion criteria were: previous bone marrow transplant; previous or present enzyme replacement therapy. Twenty-eight patients were evaluated through anamnesis, physical examination, echocardiogram, electrocardiogram, ophthalmologic evaluation, and measurements of glycosaminoglycan levels in urine and of the activity of N-acetylgalactosamine-4-sulfatase (ARSB) in leukocytes. Of the sample studied, 92.9% were Brazilian, being 53.8% from the Brazil's Southeast region. Mean age at evaluation was 97.1 months and at diagnosis 48.4 months. For 88% of patients, the onset of symptoms was before the age of 36 months, and in 27% of cases parental consanguinity was reported. Mean weight and height at birth were 3481 g and 51.3 cm, respectively. Birth was through vaginal delivery in 57.1% of cases. All patients presented some echocardiographic finding, as well as corneal clouding. The most frequently reported signs and symptoms were: short stature, corneal clouding, coarse facial features, joint contractures, and claw hands. Mean ARSB activity in leukocytes was 5,4 mmoles/h/mg prot. (rv: 72–174), and urinary excretion of glycosaminoglycans was, on average, 7.9 times higher than normal. The number of signs and symptoms reported has not shown a significant correlation with the age with the excretion of glycosaminoglycans nor with the level of enzyme activity in leukocytes. Also, no significant correlation was found between the excretion of glycosaminoglycans and the level of enzyme activity. It was concluded that MPS VI has high morbidity and that, when compared with data published in the literature, patients in our study had a later diagnosis and a higher frequency of cardiologic findings.

ESTUDO CLÍNICO E BIOQUÍMICO DE 28 PACIENTES SUL-AMERICANOS COM MUCOPOLISSACARIDOSE TIPO VI

1. INTRODUÇÃO

Este trabalho procurou tirar proveito do grande número de diagnósticos de MPS VI realizados pelo Laboratório Regional de Erros Inatos do Metabolismo do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (LREIM-HCPA) e da existência de um grupo de pesquisa multidisciplinar em MPS. O LREIM-HCPA realiza, provavelmente, o maior número de diagnósticos dessa doença na América Latina, onde estudos sobre mucopolissacaridose (MPS) são ainda escassos. O Brasil, em especial, concentra um número importante de pacientes, proporcionalmente superior ao de outros países (mais dados no tópico sobre epidemiologia), não sendo encontrados estudos prévios específicos sobre o assunto.

De acordo com as condições acima citadas, vimos a oportunidade e a importância de caracterizar clinicamente um grupo de pacientes com MPS VI. Essa caracterização deve contribuir para um melhor entendimento da evolução natural da doença. Desta forma pretendemos otimizar o manejo dos pacientes, antever e prevenir complicações que podem comprometer seu desenvolvimento, qualidade de vida e longevidade. Além disso, estudos desse tipo devem servir de base para estudos futuros de relação genótipo-fenótipo na nossa população assim como para estudos sobre a eficácia de protocolos terapêuticos.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1. 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 inicialmente por Garrod, em 1908, para caracterizar quatro situações que 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 esse grupo de 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 com as então recém descobertas Leis de Mendel (GARROD & LOND, 1908).

Os EIM são compostos por quase 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 sexo e raros exemplos de EIM com herança autossômica dominante.

2.2. DOENÇAS LISOSSÔMICAS DE DEPÓSITO

As Doenças Lisossômicas de Depósito (DLD) são EIM que têm como característica comum à deficiência de uma proteína lisossômica de uma via de degradação metabólica (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)

As DLD compreendem um grupo de mais de 50 doenças diferentes (CAILLAND & POENARU, 2000) que podem ser classificadas de acordo com a via afetada e a natureza do substrato acumulado em esfingolipidoses, mucopolissacaridoses, glicoproteinoses e outras (MATTE, 1998).

2.3. MUCOPOLISSACARIDOSES

As Mucopolissacaridoses (MPS) são um grupo de DLD causadas pela deficiência de uma das onze enzimas lisossomais envolvidas na degradação de glicosaminoglicanos (GAGs) (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 e os subtipos foram descritos (WRAITH, 1996). Em 1952 Brante isolou e identificou a substância acumulada nos pacientes com gargoilismo, denominação dada aos indivíduos com as características faciais típicas dos pacientes com MPS, como sendo mucopolissacarídeos (ou GAGs) e propôs o termo mucopolissacaridose para essas doenças (MATTE, 1998). Em 1968, demonstraram que o acúmulo desses GAGS é resultante da degradação ineficiente e não de uma síntese excessiva ou de uma redução na sua secreção (MATTE, 1998).

Os glicosaminoglicanos ou GAGs, denominação 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, condroitin sulfato, dermatan sulfato, heparan sulfato e

queratan sulfato. Dependendo da enzima deficiente, o catabolismo de um destes GAGs pode ser bloqueado de forma individual ou em combinação (NEUFELD & MUENZER, 2001).

Os GAGs são componentes da matriz extracelular formando glicoproteínas macromoleculares (proteoglicanos) que dão elasticidade aos tecidos e capacita-os a manter sua formação característica. Existe uma contínua renovação celular de 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 interfere com a função celular normal (WRAITH, 1996), causando apoptose de alguns grupos celulares, o que está parcialmente relacionado com as manifestações clínicas típicas desse grupo de doenças. Esses GAGs também são excretados em excesso na urina dos pacientes afetados (WRAITH, 1996).

As MPS são classificadas, de acordo com a enzima deficiente e quanto ao substrato que se acumula, em sete principais tipos (Tabela 1) (NEUFELD & MUENZER, 2001).

2.4. MUCOPOLISSACARIDOSE TIPO VI – SÍNDROME DE MAROTEAUX-LAMY

A Mucopolissacaridose tipo VI, ou Síndrome de Maroteaux-Lamy (MPS VI; OMIM # 253200), 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) (NEUFELD & MUENZER, 1997 e NYHAN & OZAND, 1998). 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 (NEUFELD & MUENZER, 2001 e NYHAN & OZAND, 1998). 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 (NYHAN & OZAND, 1998 e AUCLAIR et al,2003). 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 portadores (NYHAN & OZAND, 1998).

Tabela 1: Classificação da Mucopolissacaridoses (modificado de NEUFELD & MUENZER, 2001).

TIPO DE MPS	EPÔNIMO	GAG ACUMULADO	ENZIMA DEFICIENTE
MPS I H	Síndrome de Hurler	DS e HS	α -L-iduronidase
MPS I S	Síndrome de Scheie	DS e HS	α -L-iduronidase
MPS I HS	Síndrome de Hurler/Scheie	DS e HS	α -L-iduronidase
MPS II	Síndrome de Hunter	DS e HS	iduronato sulfatase
MPS III A	Síndrome de Sanfilippo A	HS	Heparan N-sulfatase
MPS III B	Síndrome de Sanfilippo B	HS	α -N-acetilglicosaminidase
MPS III C	Síndrome de Sanfilippo C	HS	Acetil CoA: α -glicosaminídeo acetiltransferase
MPS III D	Síndrome de Sanfilippo D	HS	N-acetilglicosamina 6 sulfatase
MPS IV A	Síndrome de Mórquio A	QS	galactose 6 sulfatase
MPS IV B	Síndrome de Mórquio B	QS	β -galactosidase
MPS VI	Síndrome de Maroteaux	DS e CS	N-acetilgalactosamina-4-sulfatase
MPS VII	Síndrome de Sly	DS e HS	β -glicuronidase
MPS IX	-	AH	hialuronidase

DS: dermatan sulfato, HS: heparan sulfato, QS: queratan sulfato, CS: condroitin sulfato, AH: ácido hialurônico.

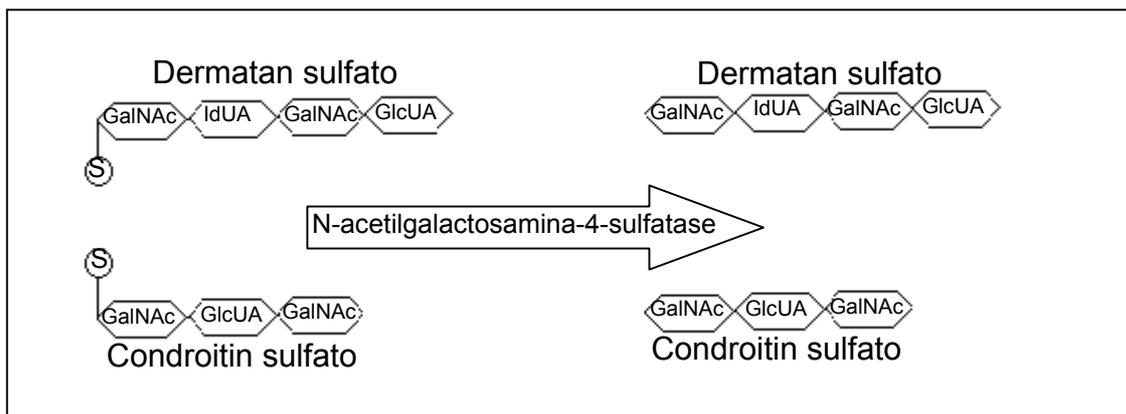


Figura 1: Metabolismo do dermatan sulfato e do condroitin sulfato (NYHAN & OZAND, 1998, modificado).

2.4.1.EPIDEMIOLOGIA

Os EIM têm incidência individual pequena, mas em conjunto chegam a afetar até 1:1000 recém-nascidos (GIUGLIANI,1998). APPLGARTH et al (2000), no Canadá, encontraram uma incidência de EIM de 40:100.000. Na América do Sul, há poucos estudos descrevendo freqüência dos EIM em grupos de 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).

As DLD têm uma incidência que estimada de 7-14:100.000 nascimentos, de modo geral variando conforme a procedência da amostra estudada: MEIKLE et al (1999), na Austrália, descrevem uma incidência de 13:100.000 nascimentos; POORTHUIS et al (1999), na Holanda, uma incidência de 14:100.000 nascimentos; APPLGARTH et al (2000) no Canadá, uma incidência de 7,6:100.000 nascimentos; TYLKI-SZYMANSKA et al (2001), na Polônia, uma incidência de 0,5 a 2:100.000 recém nascidos vivos. No Brasil, COELHO et al (1997), encontraram uma freqüência relativa de DLD de 59,8% entre pacientes de risco.

As mucopolissacaridoses apresentam uma incidência que varia de 1,3-4,5:100.000 nascimentos. NELSON (1997), na Irlanda do Norte, descreve uma

incidência conjunta das MPS estimada em (1,3:100.000) nascidos vivos; MEIKLE et al (1999), na Austrália, uma incidência de 4,4:100.000 (35% das DLDs diagnosticadas); POORTHUIS et al (1999), na Holanda, uma incidência de 4,5:100.000 nascimentos; APPLGARTH et al (2000), no Canadá, uma incidência de 1,8:100.000 nascimentos.

A MPS VI foi considerada uma das mucopolissacaridoses 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 APPLGARTH et al (2000), no Canadá, com dados de 24 anos (mais de 1.000.000 de nascimentos). MEIKLE et al (1999), na Austrália, relata uma incidência para MPS VI de 0,4:100.000 nascimentos. Alguns autores descrevem diferentes freqüências relativas dentro das demais DLDs: MICHELAKAKIS et al (1995), na Grécia, com dados de 13 anos, descrevem a MPS VI como sendo responsável por 8,3% de todas as DLD diagnosticadas (a MPS I seria responsável por 10,5%); COELHO et al (1997), acharam dado igual a 6%, sendo nesse estudo, considerada junto com a MPS I, um dos tipos mais freqüentemente identificados nessa população; POORTHUIS et al (1999), na Holanda, descrevem como sendo esse número de 0,2% (para MPS I 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.

2.4.2. DIAGNÓSTICO

A maioria dos pacientes tem diagnóstico firmado em torno dos dois anos de idade, quando, nas formas mais graves, já aparecem diversas alterações clínicas (AUCLAIR et al, 2003). Em 1957, quando foi identificada a presença de dermatan e heparan sulfato na urina de pacientes com MPS I, as bases para um teste bioquímico 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 (SCHWARTZ et al, 2001; WRAITH, 1996 e BECK, 2000). Esses testes urinários baseiam-se na detecção de mucopolissacaridúria em excesso, o que pode ser obtido por testes semiquantitativos 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) (SCHWARTZ et al, 2001 e WRAITH, 1996). Pode-se fazer, ainda, apenas 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 (SCHWARTZ et al, 2001 BECK, 2000).

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). Este fenômeno ainda não foi descrito para a ARSB.

Na MPS VI especificamente, 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.

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.

2.4.3. ASPECTOS GENÉTICOS E MOLECULARES

O defeito primário da maioria das DLDs é a mutação de genes que codificam uma ou mais enzimas lisossomais (BECK, 2000). Em geral, as DLDs têm herança autossômica recessiva, com exceção da Doença de Fabry e da MPS II que têm herança ligada ao X (BECK, 2000; CAILLAND & POENARU, 2000 e SCHWARTZ et al, 2001)

O gene que codifica a enzima ARSB, deficiente nessa doença, foi mapeado no braço longo do cromossomo 5 na região q13-14 (LITJENS et al, 1989 e NYHAN & OZAND, 1998). O gene possui 8 exons e a enzima resultante possui 533 aminoácidos na sua estrutura (PETERS et al, 1990).

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 (BRADFORD et al, 2002, WICKER et al, 1991 e PETERS et al, 1990). Estudos *in vitro* e em modelos animais mostram que as mutações, provavelmente, 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), mas sabe-se que cada mutação pode afetar a atividade enzimática de maneira diferente, podendo até não haver a síntese da enzima. Já foram identificadas 46 mutações patogênicas nesse gene. Mutações com sentido trocado são a maior parte (31/46). Também pode haver mutações sem sentido (cerca de 7 identificadas), pequenas inserções (identificadas apenas 1) ou deleções (identificadas 5) (HGMD, 2003). Foi ainda descrito por ARLT et al (1994) uma grande deleção de todo o exon 5 causando MPS VI na sua forma intermediária. Seis mutações não patogênicas também foram descritas: duas substituições de aminoácidos e quatro transições silenciosas (LITJENS e HOPWOOD, 2001). Segundo BRADFORD et al (2002), a mutação mais comum é a 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. 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),

também em pacientes australianos. Há várias outras mutações descritas, em geral, em um paciente ou em um pequeno número, por diversos outros autores: WICKER et al (1991), JIN et al (1992), LITJENS et al (1992), VOSKOBOEVA (1994), SIMONARO & SCHUCHMAN (1995), ISBRANDT et al (1996), LITJENS et al (1996), XU (1996), VILLANI et al (1998), VILLANI et al (1999), WU et al (2000), VOSKOBOEVA et al (2000), YANG et al (2001).

A correlação entre a severidade 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).

A análise das mutações, aliada aos estudos clínicos sistemáticos, permitirá melhor correlação entre genótipo e fenótipo (NYHAN & OZAND, 1998).

2.4.4. MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS

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 (SCHWARTZ et al, 2001).

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 (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).

A seguir serão comentados alguns aspectos clínicos das crianças com MPS VI, alguns comuns às outras MPSs.

MANIFESTAÇÕES GERAIS

De acordo com a idade de diagnóstico, idade do início dos sintomas e sua progressão são diferenciadas três formas clínicas da MPS VI: infantil ou grave, juvenil ou intermediária e forma adulta ou mais branda (NEUFELD & MUENZER, 2001), mas há autores que consideram apenas uma forma grave (A) e uma forma leve (B) (CASANOVA et al, 2001). Atualmente, apesar de vários autores citarem a existência dessas formas clínicas, não há parâmetros clínicos bem estabelecidos para classificar os pacientes em uma forma ou outra.

O diagnóstico é feito em torno dos dois anos de idade, quando, nas formas graves, já se pode observar hepatoesplenomegalia, alterações cardíacas e de esqueleto, face grosseira, opacificação corneana, contraturas articulares e dermatan sulfatúria (AUCLAIR et al, 2003). Já ao nascimento, nas formas graves, pode-se observar ainda macrocefalia e alteração no formato do tórax (NYHAN & OZAND, 1998) assim como hérnias umbilicais e inguinais, que são observadas com mais frequência nessa faixa etária (NEUFELD & MUENZER, 2001). Com o passar dos anos, a face pode assumir traços grosseiros com ponte nasal baixa, narinas amplas, lábios grossos e aspecto infiltrado além das demais alterações descritas com mais detalhes a seguir.

CRESCIMENTO E DESENVOLVIMENTO

Na MPS VI, o envolvimento somático é semelhante aos indivíduos com MPS I, mas em geral as crianças possuem inteligência normal, embora as aquisições cognitivas possam ser prejudicadas por déficit auditivo e visual, assim como pelas limitações físicas (NEUFELD & MUENZER, 2001).

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 é gravemente afetada ficando entre 110 e 140 cm (NEUFELD & MUENZER, 2001) ou entre 107 e 138 cm (NYHAN & OZAND, 1998), mas já foi descrito

um indivíduo de 15 anos com 174cm (SAUL et al, 1984). Os pacientes têm, em geral, o tronco curto (NEUFELD & MUENZER, 2001) e com a evolução da doença vão apresentando contraturas articulares e aparecimento ou aumento de gibosidade tóraco-lombar o que também contribui para uma baixa estatura.

MANIFESTAÇÕES OCULARES

As manifestações oculares incluem: opacificação corneana, 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 córnea normal possui 4 a 4,5% de GAGs onde 50% são queratan sulfato, 25% condroitin-6 sulfato e 25% de condroitin-4 sulfato (CASANOVA et al, 2002). O dermatan sulfato, GAG que se acumula na MPS VI, está presente apenas em cicatrizes corneanas ou enxertos corneanos mal sucedidos (CASANOVA et al, 2002). O acúmulo de dermatan sulfato em queratócitos corneanos é que ocasiona diminuição da sua transparência na MPS VI, podendo resultar em déficit visual importante (NEUFELD & MUENZER, 2001; NYHAN & OZAND, 1998 e CASANOVA et al, 2002). Alguns autores acreditam que há um comprometimento irreversível da córnea ainda durante a vida fetal (HERSKHOVITZ et al, 1999).

O glaucoma pode ocorrer quando o depósito de dermatan sulfato obstrui o sistema trabecular, causando glaucoma de ângulo agudo (CASANOVA et al, 2002). Além disso, o próprio depósito de dermatan sulfato 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 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 (COLLINS et al, 1990). Neste mesmo estudo encontrou-se essa alteração em 41,7% dos pacientes com MPS VI

(COLLINS et al,1990). 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, compressão da via de saída dos axônios do nervo óptico e mielopatia cervical (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 que podem estar associados ou não.

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, apresentam 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). É importante uma orientação adequada quanto à prevenção de cáries dentárias, levando em conta os riscos anestésicos e a dificuldade de manipulação intraoral 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 (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 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 (SHIH et al, 2002). Os GAGs 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 excursões 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 pulmonar é a apnéia obstrutiva durante o sono (NYHAN & OZAND, 1998 e LEIGHTON et al, 2001). Durante a fase do sono, REM (rapid eye movement) a via aérea superior fica mais vulnerável ao colapso com diminuição da resistência muscular (LEIGHTON et al, 2001).

Algumas das alterações citadas acima podem levar a hipoxemia crônica ocasionando hipertensão pulmonar e cor pulmonale, podendo levar à falência cardiopulmonar, que muitas vezes é a causa mortis nestes 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, nos fenótipos moderados, podendo apresentar regurgitação em diversos graus (NYHAN & OZAND, 1998). Nos

fenótipos graves pode haver cardiomiopatia com falência cardíaca (NEUFELD & MUENZER, 2001). Segundo DANGEL (1998), 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 (SCHWARTZ et al, 2001). MABE et al (2003) descrevem como sendo a valvulopatia aórtica a mais freqüentemente observada neste tipo de MPS.

MANIFESTAÇÕES ÓSTEO-ARTICULARES

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). 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 (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 a fibrose da fáscia palmar) (NYHAN & OZAND, 1998).

As alterações esqueléticas associadas recebem a denominação genérica de disostose múltipla (NEUFELD & MUENZER, 2001; SCHWARTZ et al, 2001 e NYHAN & OZAND, 1998) 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 antero-superior das vértebras (principalmente de L1 e L2) 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, metacarpos com bases cônicas, ossos do carpo pequenos e irregulares (SCHWARTZ et al, 2001).

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 (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 à já existente pelas alterações oftalmológicas específicas.

Pode haver mielopatia cervical ou tóraco-lombar, 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 e THORNE et al, 2001). A mielopatia pode levar, em raros casos, à tetraparesia, podendo ainda, estar associada a cifoescoliose ou deformidades toracolombares (NEUFELD & MUENZER, 2001 e NYHAN & OZAND, 1998). A mielopatia cervical é particularmente comum na MPS VI, já tendo sido descrito um caso de siringomielia associado com da 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 pode-se realizar uma ressonância magnética nuclear, mas 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 (BOOR et al, 2000).

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 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 (SCHWARTZ et al, 2001).

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

A presença de anormalidades neurológicas, hiperreflexia com ou sem clônus, ou uma história de diminuição da tolerância ao exercício, ou dificuldade em se levantar, deve alertar os clínicos para a possível necessidade de descompressão cirúrgica.

MANIFESTAÇÕES DIGESTIVAS / ABDOMINAIS

O abdome habitualmente é protuberante e hepatoesplenomegalia costuma estar presente após os 6 anos 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).

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 autônomo.

Muitos pacientes referem intolerâncias específicas, como ao leite ou à carne, mas ainda não há trabalhos nesta área que esclareçam este assunto.

MANIFESTAÇÕES EM PELE E TECIDO CONJUNTIVO

A pele costuma ser espessa e com hirsutismo moderado (NYHAN & OZAND, 1998; NEUFELD & MUENZER, 2001 e SCHWARTZ et al, 2001). Há infiltração generalizada em tecido conjuntivo, podendo poupar os membros inferiores, que ficam 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 E 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 frequência na MPS VI. 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 diminuição de provas de coagulação, tendência a leucopenia e alteração em provas de função hepática que precisam ser melhor estudadas.

2.4.5. 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 a minimizar os efeitos da doença no organismo.

Na área otorrinolaringológica, devem ser realizados de rotina exames de *screening* para verificação da acuidade auditiva que, se necessário, deve ser corrigida com aparelhos específicos. Também deve ser realizado controle das otites de repetição, que essas crianças costumam apresentar. 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 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 (CASANOVA et al, 2002).

No aspecto ósteo-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, valguismo e outras alterações (NYHAN & OZAND, 1998).

Outras cirurgias podem ser necessárias, como para a correção das hérnias, derivação ventrículo peritoneal, quando hidrocefalia, valvuloplastias (SCHWARTZ et al, 2001 e WRAITH, 1996), laminectomia ou fusão cervical, quando evidência de mielopatia cervical compressiva (NYHAN & OZAND, 1998). Sempre deve ser pesado o risco cirúrgico relacionado à anestesia, devido, principalmente, à dificuldade de intubação endotraqueal, que é muito

difícil 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, se possível, de crianças com MPS. 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 (SCHWARTZ et al, 2001 e WRAITH, 1996).

Com relação às cirurgias neurológicas: como a qualidade de vida destes pacientes pode ser boa, neurocirurgias agressivas, como manejo da compressão espinhal são preconizadas, sendo necessário sempre levar em conta todos os riscos anestésicos. Alguns autores falam em traqueostomia profilática para alguns pacientes pré-cirurgia (THORNE et al, 2001). THORNE et al (2001) acompanharam nove crianças com MPS VI, onde todas tinham algum grau de anormalidade cervical e pós-neurocirurgia, todas apresentaram melhora nos sinais e sintomas. 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 (THORNE et al, 2001).

TRANSPLANTE DE MEDULA ÓSSEA

O Transplante de medula óssea (TMO) é uma alternativa terapêutica utilizada como tentativa de correção de defeitos enzimáticos, desde 1979. Baseia-se 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 transplante de medula óssea (TMO) em MPS, envolve pacientes com MPS I e demonstram

que a relação risco-benefício favorece a realização do TMO, pois, apesar de não haver melhora das alterações esqueléticas, parece existir atenuação das distorções faciais, melhora do comprometimento visceral e um efeito benéfico no desempenho intelectual, para alguns grupos de pacientes (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 descrevem o follow-up de quatro crianças com MPS VI pós TMO, 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 TMO 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 TMO 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 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).

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 a enzima deficiente na sua forma ativa. Essa forma de tratamento

tem sido realizada com sucesso em outras DLD, como a Doença de Gaucher (CAILLAND & POENARU, 2000).

Os estudos para a terapia de reposição enzimática de doenças lisossômicas de depósito iniciaram com estudos *in vitro*. Esses estudos mostraram que a enzima ativa podia ser produzida em células de ovário de cobaias, mais comumente o 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 (no caso da MPS VI, o gato), que mostraram uma melhora importante nos sinais relacionados à patologia (BIELICHI et al,1999). O tratamento foi mais eficaz quando a enzima era produzida a partir de genes da mesma espécie do animal, em baixa dose (1mg/kg) quando comparado a uma dose maior (5mg/kg) (BIELICHI et al,1999). O tratamento não foi efetivo apenas sobre o acúmulo de GAGs sobre os queratócitos corneanos, em leucócitos sanguíneos e em cartilagens (BIELICHI et al,1999). 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 (espécie de 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 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).

Nas MPS, a correção do defeito metabólico através da administração de enzimas tem sido realizada com sucesso em modelos animais e já há ensaios clínicos em andamento para MPS I, mas os resultados a longo prazo ainda não foram avaliados (WRAITH, 1996). Sabe-se preliminarmente, que

houve normalização do tamanho hepático, da excreção de GAGs pela urina e aumento do peso e altura dos pacientes (CAILLAND & POENARU, 2000).

Já existem pesquisas de desenvolvimento da enzima deficiente nos pacientes com MPS VI ainda sem resultados publicados. O que se sabe até agora, é que houve melhora nas organomegalias, resistência geral e mobilidade articular, mas é necessário aguardar os resultados oficiais.

As pesquisas iniciaram primeiro em modelos animais. Alguns autores descrevem o gato como um modelo animal adequado que se presta à pesquisa na MPS VI, não só no desenvolvimento da terapia de reposição enzimática, mas também no desenvolvimento de terapia gênica (CRAWLEY et al, 1998; YOGALINGAM, 1998; YOGALINGAM et al, 1999 e MACRI et al, 2002), já que a evolução da doença em gatos se comporta de forma semelhante à forma grave da doença em humanos (YOGALINGAM et al, 1999). É importante salientar que o gato é um modelo natural. Há uma colônia na Austrália de gatos com MPS VI com a qual se tem realizado a maioria das pesquisas. Há algumas diferenças em relação à doença manifestada em humanos: nessa colônia todos os gatos doentes têm mutações homogêneas, o que não ocorre na espécie humana, onde há diversas mutações descritas em apenas um paciente. Além disso, os gatos têm, em geral, uma maior concentração de proteína mutante, o que pode alterar a evolução, no caso de um tratamento com a enzima de reposição.

TERAPIA GÊNICA

A terapia gênica para DLD com comprometimento visceral predominante, 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 (WRAITH, 1996 e 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

3.1. OBJETIVO GERAL

Determinar o perfil, clínico e bioquímico de uma amostra de pacientes com MPS VI.

3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar a correlação entre a idade e o número de manifestações clínicas relatadas;
- Avaliar a correlação entre as alterações bioquímicas observadas e o número de manifestações clínicas relatadas;
- Avaliar a correlação entre a excreção urinária de GAGs e a medida da atividade de ARSB em leucócitos;
- Comparar os dados encontrados em nossa amostra com os disponíveis na literatura;
- Contribuir para melhor delinear a história natural da doença, servindo de base para a avaliação da eficácia de protocolos de tratamento que venham a ser desenvolvidos

4. MÉTODOS

4.1. DELINEAMENTO

Este estudo observacional de pacientes com MPS VI fez parte de um projeto multicêntrico internacional. Os outros centros envolvidos situam-se na Alemanha, Inglaterra, Estados Unidos, Portugal e França.

O Serviço de Genética Médica do Hospital de Clínicas de Porto Alegre foi selecionado para participar como um dos centros por tratar-se de um serviço de referência com reconhecimento nacional e internacional em Erros Inatos do Metabolismo e Doenças Lisossômicas de Depósito, além de estar localizado em um país com significativa prevalência da doença em estudo, em comparação com números observados em outros países.

4.2. AMOSTRA ESTUDADA

A amostra foi selecionada a partir de contato com médicos de outros serviços de genética do Brasil e da América do Sul e através de contato com o próprio paciente ou familiar apenas no caso de pacientes acompanhados no nosso serviço. Para ser elegível, cada indivíduo devia preencher todos os critérios de inclusão e não apresentar nenhum critério de exclusão durante o período da seleção. O estudo foi realizado no período de julho a novembro de 2002.

Os critérios de inclusão foram:

- Assinatura do Termo de Consentimento, informado pelo paciente ou seu responsável legal (prévio a qualquer procedimento relacionado ao estudo) (Anexo 1);
- Idade superior ou igual a quatro anos;
- Uma medida de confirmação bioquímica da doença: ou redução dos níveis de atividade enzimática da enzima ARSB (em relação aos valores normais padronizados no laboratório

de referência), ou a elevação dos níveis de DS na urina, ou ambos. Os pacientes também deveriam ter o valor de outra sulfatase normal.

Os critérios de exclusão foram:

- Transplante de medula óssea prévio;
- Tratamento prévio ou atual com terapia de reposição enzimática.

4.3. PROCEDIMENTOS DO ESTUDO

Foram realizados:

- Anamnese semi-estruturada abordando, principalmente as manifestações clínicas mais relacionadas à doença (especificação no item “VARIÁVEIS ESTUDADAS”);
- Exame físico formal, com ênfase principal na antropometria;
- Coleta de sangue: coletados 5ml, pós 8 horas de jejum para medida da atividade da ARSB em leucócitos;
- Coleta de urina: coletada a primeira urina do dia, para a medida de GAGS URINÁRIOS;
- Eletrocardiograma: realizado pelo mesmo profissional treinado, pelas técnicas usuais;
- Ecocardiograma: realizado pelo mesmo profissional treinado, pelas técnicas usuais;
- Avaliação oftalmológica: realizado pelo mesmo profissional treinado medida de acuidade visul, medida da pressão intra-ocular (por tonômetro comum) e biomicroscopia (medida da opacificação corneana, que varia de + a ++++).

4.5. VARIÁVEIS ESTUDADAS

SEXO: masculino ou feminino.

ETNIA: Em relação à criança, sendo considerada a etnia referida pelo responsável, que a acompanhava. Foi oferecida uma lista de etnias (branca, negra, índia e hispânica), podendo ser escolhida entre essas ou citar alguma outra.

IDADE: quantificada em meses.

IDADE DE DIAGNÓSTICO: foi considerada como sendo aquela em que os pais relataram o diagnóstico específico de MPS VI. Quando dado era impreciso, por exemplo “mais ou menos com 3 anos”, foi considerada a menor idade aproximada, quantificada em meses.

IDADE DE INÍCIO DOS SINTOMAS: foi considerada a idade relatada pelos pais. Devido à imprecisão da informação parental, foi realizada a seguinte estratificação: informação não disponível:1, primeiros sintomas com menos de 6m: 2, de 6 a 12m: 3, de 12 a 18m: 4, de 18 a 24m: 5, de 24 a 30m: 6, de 30 a 36m: 7 e primeiros sintomas com 36m ou mais: 8. O dado foi baseado apenas na informação parental.

NATURALIDADE E NACIONALIDADE: foi considerado o estado e o país de nascimento.

CONSANGÜINIDADE: foi questionada ao (s) familiar (es) a presença de consangüinidade, sendo considerada como presente quando havia qualquer ascendente em comum entre o pai e a mãe.

DADOS DO NASCIMENTO: foram questionados os seguintes dados referentes à época do nascimento: peso em gramas (g), estatura em centímetros (cm), perímetro cefálico em cm, tipo de parto (vaginal ou cesáreo).

ANTROPOMETRIA ATUAL: foram aferidos peso (g), estatura (cm) sentada, de pé e deitada e perímetro cefálico (cm). Tanto para estes dados, como para os dados de nascimento, foram usadas como padrão as curvas do *National Center of Health Statistics percentiles*. (HAMIL et al, 1979) para peso e estatura e a curva do *Practical composite international and interacial graphs (head circumference from birth to eighteen years)* (NELHAUS, 1968) para perímetro cefálico.

MEDIDA DE GAGS NA URINA: a primeira urina da manhã foi coletada e realizada dosagem de GAGs urinários pelo teste espectrofotométrico do azul do 1,9 dimetilmetileno descrito por JONG et al (1992). Os valores considerados

normais para essa medida variam conforme a idade (Tabela 2). O resultado foi fornecido em mg/ mmol de creatinina.

Tabela 2: Valores de referência para a dosagem de GAGS urinários em maiores de 4 anos (JONG ET AL, 1992).

Idade	Valor de referência mg/ mmol de creatinina
4-5	9,3 - 12,7
6-7	7,5 - 11,1
8-9	6,8 - 10
10-14	5,2 - 8,8
15-19	2,8 - 5,4
>20	2,4 - 4,2

MEDIDA DA ATIVIDADE DA ARSB EM LEUCÓCITOS: sangue periférico foi coletado após um jejum de 8 horas, sendo medida a atividade enzimática através do método descrito por KRESSE et al (1982). De acordo com o LREIM-HCPA, os valores considerados normais para essa medida variam entre 72 e 176 nmoles/h/ml.

SINAIS E SINTOMAS MAIS FREQUÊNTES: foram pesquisados por anamnese 51 sinais e sintomas mais freqüentes nos pacientes com MPS VI. Foram eles: baixa estatura, pele espessa, hirsutismo, cabelos grossos, face grosseira, macrocefalia, macroglossia, otorrêa, otite média, déficit auditivo, rinorrêa, sinusite, déficit visual, opacificação corneana, glaucoma, degeneração retiniana, atraso na erupção dentária, cáries dentárias, abscessos dentários, doença valvar, falência cardíaca esquerda, falência cardíaca direita, alterações na condução cardíaca, apnéia do sono, hipertensão pulmonar, pectus carinatum, doença pulmonar restritiva, estenose de traquéia, pneumonia, hepatomegalia, esplenomegalia, hérnia inguinal, hérnia umbilical, diarrêa crônica, constipação crônica, atraso puberal, dor articular, contraturas articulares, mãos em garra, cifoescoliose, proeminência da lordose lombar, geno valgo, displasia de quadril, convulsões, hidrocefalia, instabilidade cervical/ displasia do odontóide, mielopatia cervical, paquimeningite cervical, compressão medula tóraco-lombar, doença discal e síndrome do túnel do carpo.

ALTERAÇÕES CARDÍACAS: as alterações cardiológicas foram pesquisadas por eletrocardiograma e ecocardiograma, realizados pelas técnicas convencionais pelo mesmo cardiologista treinado.

ALTERAÇÕES OFTALMOLÓGICAS: as alterações oftalmológicas foram pesquisadas por medida de acuidade visual e da pressão intra-ocular e por biomicroscopia corneana, realizadas por oftalmologista treinado.

4.6. ANÁLISE ESTATÍSTICA

As informações foram digitadas em planilha eletrônica utilizando-se o programa EXCEL. Os dados foram analisados com o auxílio dos programas SPSS 11.0 em microcomputador. O nível de significância adotado foi de 5% (p 0,05).

As curvas do National Center of Health Statistics (HAMIL et al., 1979) e de NELLHAUS (1968) foram utilizadas, respectivamente, para definição dos percentis de peso e comprimento/altura e de perímetro cefálico dos pacientes.

4.7. CONSIDERAÇÕES ÉTICAS

Este projeto foi executado pela sua autora, em conjunto com uma equipe multidisciplinar, que realizam, juntamente com o SGM-HCPA, o acompanhamento de pacientes com MPS de diversos tipos. A amostra foi composta por pacientes de diversas regiões do Brasil, acompanhadas por diversos serviços médicos. Houve a preocupação em enviar aos pacientes um relatório das avaliações realizadas. Quando necessário, também foi realizado contato direto com os médicos assistentes, posteriormente à obtenção dos resultados dos exames.

Qualquer procedimento do estudo só teve início após a aplicação do Termo de Consentimento Informado (TCI), mostrado na íntegra no Anexo 1.

O projeto de pesquisa que envolve essa dissertação foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Grupo de Pesquisa e Pós-Graduação do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (GPPG/HCPA) e registrado sob o número 02-106.

5. RESULTADOS

Para facilitar o entendimento, os resultados foram subdivididos em caracterização geral, caracterização clínica, caracterização bioquímica, correlação entre idade e sintomas mais freqüentes e correlação entre alterações bioquímicas e sintomas mais freqüentes.

5.1. CARACTERIZAÇÃO GERAL DA AMOSTRA

A amostra foi caracterizada quanto ao sexo, idade, etnia, idade de diagnóstico, idade de início dos sintomas, naturalidade e consangüinidade parental. Os dados completos de algumas variáveis são mostrados no Anexo 2.

TAMANHO DA AMOSTRA

Foram incluídos no estudo 28 pacientes.

SEXO

Entre os 28 pacientes, 15 eram do sexo masculino (53,6%) e 13 (46,4%) do sexo feminino.

ETNIA REFERIDA

Da amostra, 15/28 (53,6%) referiram-se como brancos, 9/28 (32,1%) como mulatos (citação espontânea), 2/28 (7,1%) como índios, 1/28 (3,6%) como negro e 1/28 (3,6%) como hispânico.

IDADE

A média da idade no momento da avaliação foi de 97,1 meses com variação de 48 a 186 meses, mediana de 93,5 meses e desvio padrão de 35 meses.

IDADE DE INÍCIO DOS SINTOMAS

Da amostra, 12/25 (48%) pacientes relataram início dos sintomas com idade inferior a 6 meses, 4/25 (16%) entre 6 e 12 meses, 3/25 (12%) entre 12 e 18 meses, 2/25 (8%) entre 18 e 24 meses, 1/25 (4%) entre 24 e 30 meses, 0/25 entre 30 e 36 meses e 3/25 (12%) com os 36 meses ou mais.

IDADE AO DIAGNÓSTICO

Este dado foi obtido para todos os pacientes. A média de idade de diagnóstico foi de 48,4 meses com uma variação de 15 a 109 meses, mediana de 45 meses e desvio padrão de 26,2 meses.

NACIONALIDADE / NATURALIDADE

A nacionalidade e a naturalidade dos pacientes estudados são mostradas na figs. 2 e 3.

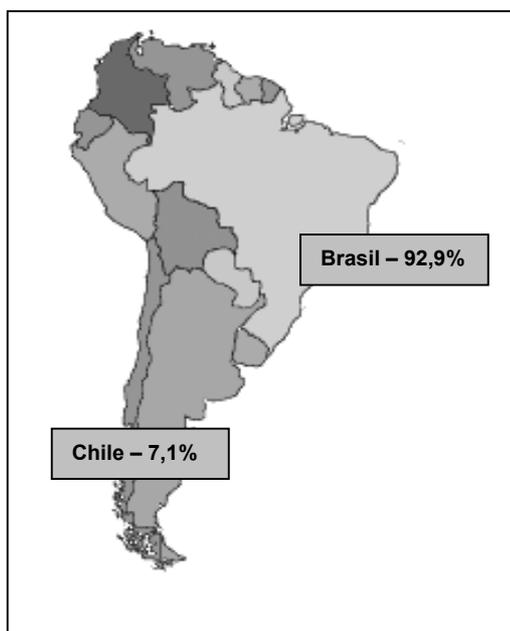


Figura 2: Nacionalidade em% dos 28 pacientes estudados

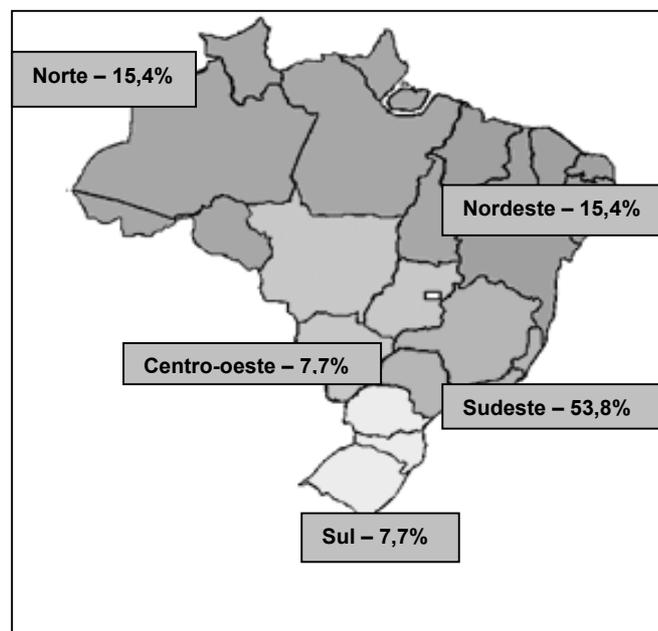


Figura 3: Naturalidade em% dos 26 pacientes brasileiros estudados.

CONSANGÜINIDADE PARENTAL

Esse dado foi obtido para todos os pacientes, os quais eram oriundos de 26 famílias (dois pares de irmãos de diferentes famílias foram incluídos na amostra). Das 26 famílias, 7 (27%) relataram consangüinidade parental. A tab.3 mostra a freqüência de consangüinidade segundo a região de origem.

Tabela 3: Freqüência de consangüinidade por região de origem.

Região	Consangüinidade na amostra(n/total - %)
Norte	0/4 – 0%
Nordeste	1/4 – 25%
Sudeste	6/14 – 42,8%
Centro-oeste	1/2 – 50%
Sul	1/ 2 – 50%

5.2. CARACTERIZAÇÃO CLÍNICA DA AMOSTRA

DADOS ANTROPOMÉTRICOS AO NASCIMENTO E NO MOMENTO DA AVALIAÇÃO

Os resultados completos estão mostrados no anexo 3. O dado perímetro cefálico ao nascimento não foi analisado, pois foi obtido em somente 3/28 (10,7%) da amostra estudada. A média do peso ao nascimento foi de 3481,2g, variando de 2420 a 4000g (mediana:3600, dp:418,8). A média do comprimento ao nascimento foi de 51,3cm, variando de 46 a 55cm (mediana:51,5, dp:2,1)

Foi feita uma comparação do peso e altura atuais das crianças com o peso e altura esperados, no percentil 5 da curva usada como padrão do *National Center of Health Statistics percentiles*.(HAMIL et al, 1979) e os resultados estão mostrados nas figs. 4 e 5 respectivamente. Quando o dado “estatura em pé no momento da avaliação” não era disponível, usamos para este cálculo o dado “estatura deitado no momento da avaliação” levando em conta que as crianças que possuíam as duas medidas não apresentavam diferença significativa entre elas, achamos adequado este procedimento. O perímetro cefálico também foi comparado, mas usando os percentis 5, 50 e 95 segundo a curva do *Practical composite international and interacial graphs (head circumference from birth to eighteen years)* (NELHAUS, 1968) (fig. 6).

TIPO DE PARTO

Da amostra estuda, 12/28 (42,9%) pacientes nasceram de parto vaginal e 16/28 (57,1%) de parto cesáreo.

MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS DA MPS VI

A frequência de 51 manifestações clínicas associadas a MPS VI, pesquisadas por anamnese na amostra é mostrada na tab.4.

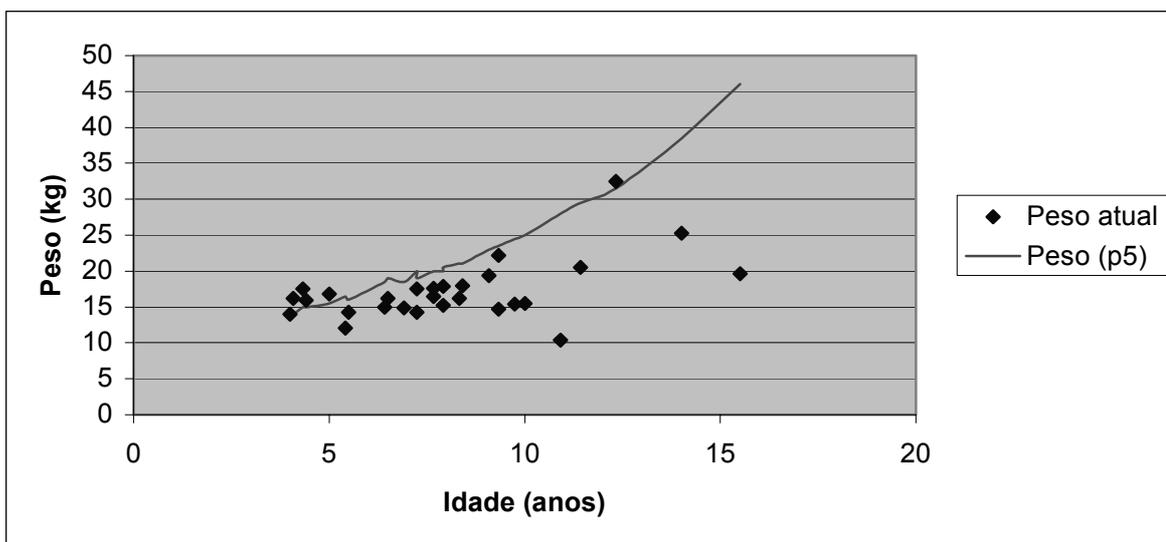


Figura 4: Comparação peso entre o momento da avaliação e o peso correspondente ao percentil 5 para a idade.

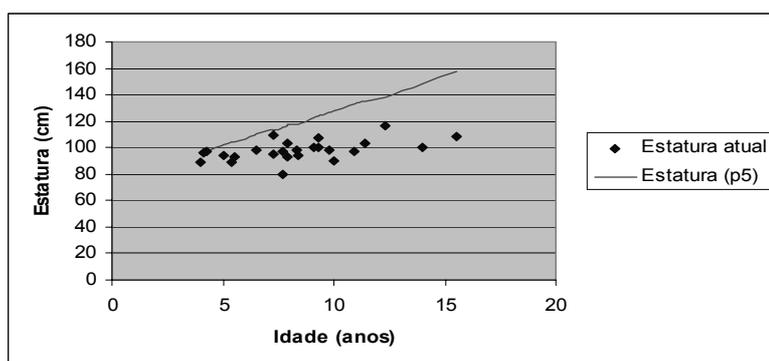


Figura 5: Comparação entre a estatura no momento da avaliação e a estatura correspondente ao percentil 5 para a idade.

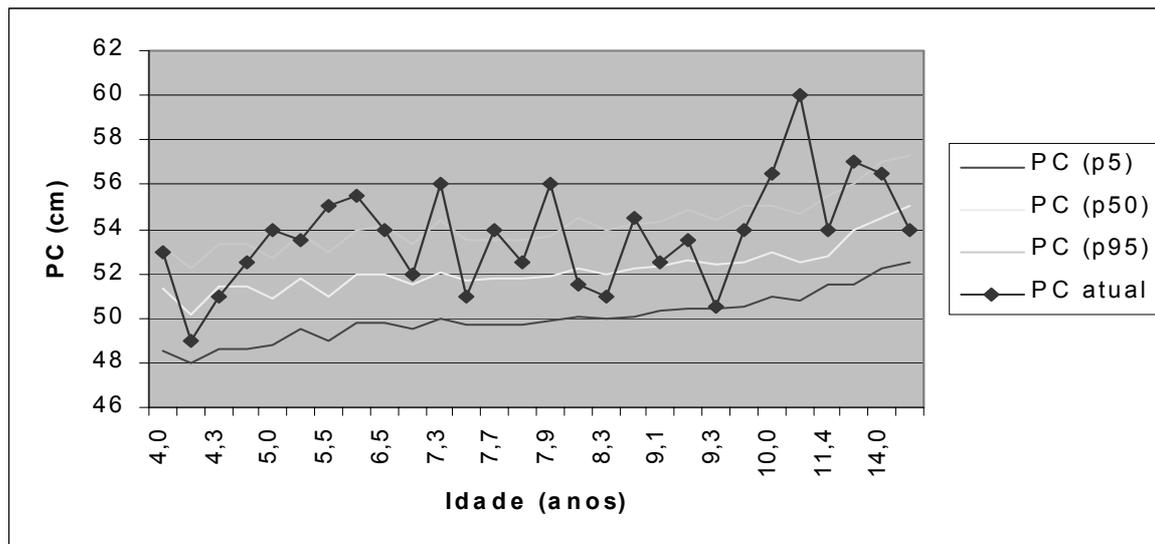


Figura 6: Comparação entre o perímetro cefálico no momento da avaliação e o perímetro cefálico correspondente ao percentil 5, 50 e 95 para a idade.

ALTERAÇÕES CARDÍACAS

A freqüência das alterações encontradas no eletrocardiograma (ECG) é mostrada na tab. 5.

A freqüência das alterações encontradas na ecocardiografia é mostrada na tab. 6.

ALTERAÇÕES OFTALMOLÓGICAS

A eficiência visual foi verificada em 25/28 pacientes, tendo sido observada uma média de 69% (3-100%, dp=34 e mediana=83,4). Também foi realizada biomicroscopia em 19/28 pacientes: todos apresentaram opacificação corneana de graus entre + e ++++. A pressão intra-ocular média observada em 15/28 pacientes foi de 19 (variação de 12 a 28, desvio padrão: 3,8 e mediana: 18,5). Os resultados são mostrados no Anexo 4.

Tabela 4: Frequência do número de manifestações clínicas relatadas.

Manifestação clínica	Nº ocorrências	% na amostra
Baixa Estatura	28	100
Fácies Grosseira	28	100
Opacificação Corneana	28	100
Contraturas Articulares	28	100
Mãos Em Garra	28	100
Doença Valvar	27	96,4
Pele Espessa	26	92,9
Hirsutismo	26	92,9
Cabelos Grossos	26	92,9
Hérnia Umbilical	26	92,9
Esplenomagalia	24	85,7
Geno Valgo	24	85,7
Apnéia Do Sono	23	82,1
Pectus Carinatum	22	78,6
Dor Articular	22	78,6
Cifoescoliose	22	78,6
Macrocefalia	19	67,9
Macroglossia	18	64,3
Atraso Erupção Dentária	16	57,1
Pneumonia	16	57,1
Proeminência Da Lordose Lombar	16	57,1
Déficit Auditivo	15	53,6
Displasia De Quadril	15	53,6
Otite Média	13	46,4
Cáries Dentárias	13	46,4
Hepatomegalia	10	35,7
Sinusite	9	32,1
Doença Pulmonar Restritiva	9	32,1
Rinorréia	8	28,6
Hérnia Inguinal	8	28,6
Alterações Na Condução Cardíaca	6	21,4
Instabilidade Cervical / Displasia Do Odontóide	6	21,4
Síndrome Do Túnel Do Carpo	5	17,9
Convulsões	5	17,7
Hipertensão Pulmonar	4	14,3
Falência Cardíaca Esquerda	3	10,7
Atraso Puberal	3	10,7
Hidrocefalia	3	10,7
Otorréia	2	7,1
Glaucoma	2	7,1
Constipação Crônica	2	7,1
Abscessos Dentários	1	3,6
Falência Cardíaca Direita	1	3,6
Estenose De Traquéia	1	3,6
Diarréia Crônica	1	3,6
Degeneração Retiniana	0	0
Mielopatia Cervical	0	0
Paquimeningite Cervical	0	0
Compressão Medula Toráco-Lombar	0	0
Doença Discal	0	0

5.3. CARACTERIZAÇÃO BIOQUÍMICA DA AMOSTRA

Foram realizadas medidas da atividade da enzima ARSB em leucócitos e dosagem de GAGS na urina. Os dados obtidos são mostrados no Anexo 5. A média da atividade da enzima ARSB em leucócitos foi de 5,4 mmoles/h/mg prot. (variação de 0-13, mediana:6 e dp:3). A média de vezes acima do máximo para a idade de excreção de GAGs foi de 7,9 vezes (variação de 7-15, mediana: 7,7 e dp: 1)

5.4. CORRELAÇÃO IDADE X NÚMERO DE SINTOMAS RELATADOS PELOS PACIENTES

O resultado da correlação de Pearson para essas variáveis é mostrado na fig. 7.

5.5. CORRELAÇÃO ALTERAÇÕES BIOQUÍMICAS X NÚMERO DE SINTOMAS RELATADOS PELOS PACIENTES

O resultado da correlação de Pearson para essas variáveis é demonstrado nos figs. 8 e 9.

Tabela 5: Frequência de alterações eletrocardiográficas na amostra (n:27/28)*

Alteração	Nº ocorrências (% na amostra)
Taquicardia sinusal	12 (44,4%)
Arritmia sinusal	3 (11,1%)
Bloqueio incompleto de ramo direito	3 (11,1%)
Sobrecarga átrio esquerdo	3 (11,1%)
Aumento atrial à direita	3 (11,1%)
Desvio de eixo p/a direita	3 (11,1%)
Desvio de eixo p/a esquerda	3 (11,1%)
Depressão do segmento ST	3 (11,1%)
Bloqueio fascicular esquerdo posterior	3 (11,1%)
Atraso de condução intraventricular	2 (7,4%)
Bloqueio AV transitório	1 (3,7%)

*O ECG não foi realizado, por problemas técnicos em 1/28 pacientes.

Tabela 6: Freqüência de alterações ecocardiográficas na amostra (n=28)

Alteração	Nº ocorrências (% na amostra)
Regurgitação mitral	27/28 (96,4%)
Regurgitação tricúspide	20/28 (71,4%)
Hipertensão pulmonar	13/28 (46,4%)
Regurgitação aórtica	12/28 (42,8%)
Regurgitação pulmonar	4/28 (14,3%)
Estenose mitral	2/28 (7,1%)
Estenose aórtica	2/28 (7,1%)
Estenose tricúspide	0/28 (0%)
Estenose pulmonar	0/28 (0%)

5.5. CORRELAÇÃO EXCREÇÃO URINÁRIA DE GAGs X MEDIDA DA ATIVIDADE ENZIMÁTICA EM LEUCÓCITOS

O resultado da correlação de Pearson para essas variáveis é demonstrado na fig. 10.

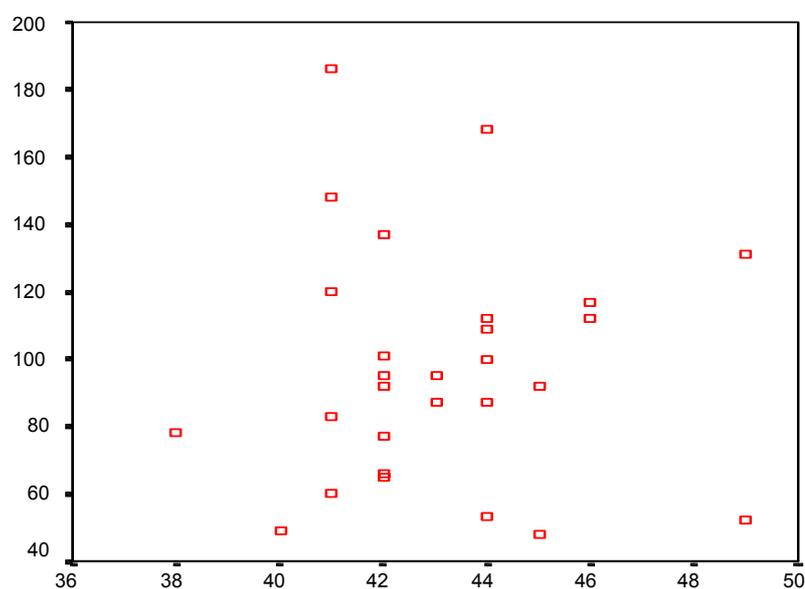


Figura 7: Correlação de Pearson entre idade e número de manifestações clínicas citadas (r: 0,017)

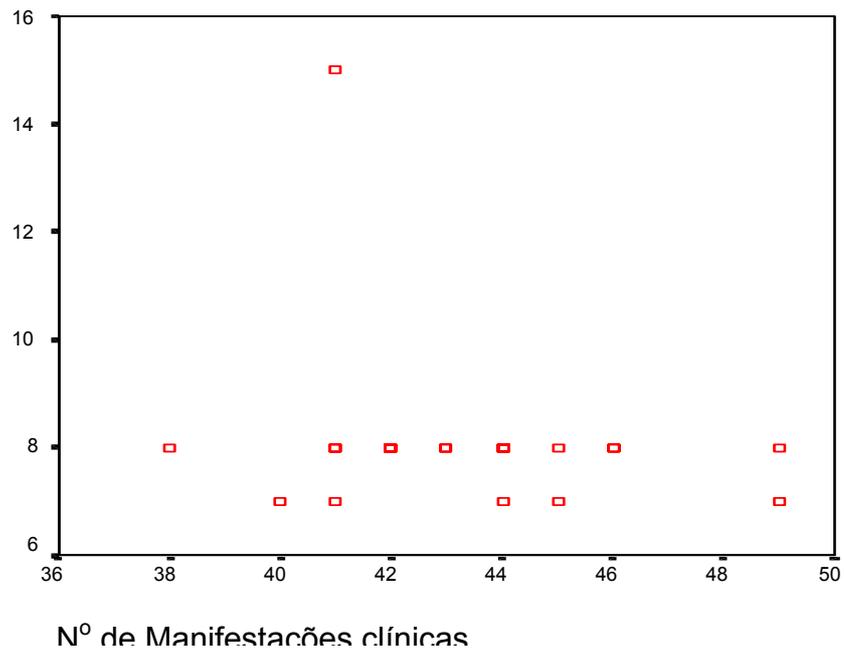


Figura 8: Correlação de Pearson entre medida de GAGs urinários (em número de vezes acima do máximo normal p/ idade) e e número de manifestações clínicas citadas ($r: 0,2$).

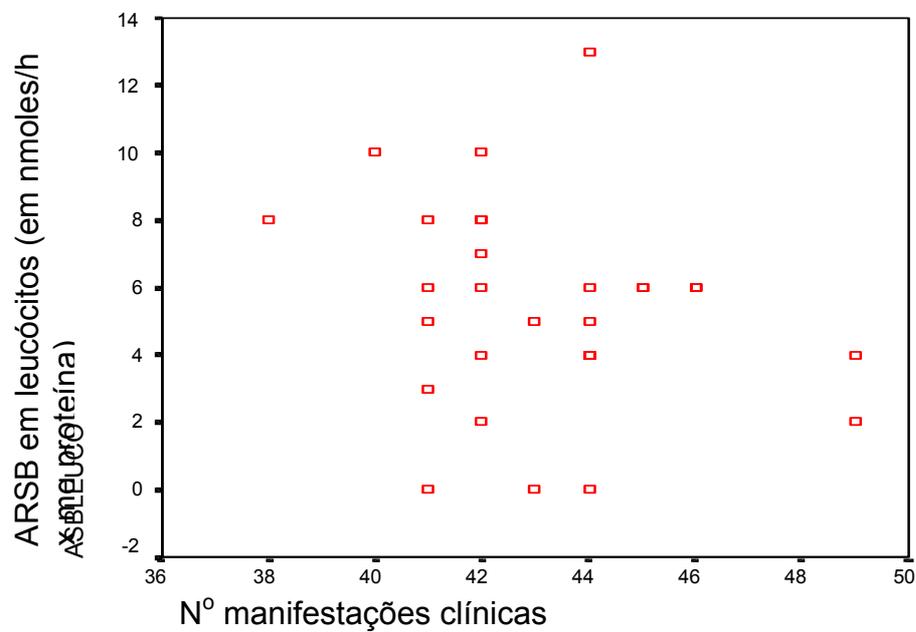


Figura 9: Correlação de Pearson entre medida da atividade da ARSB em leucócitos e número de manifestações clínicas citadas ($r: 0,2$).

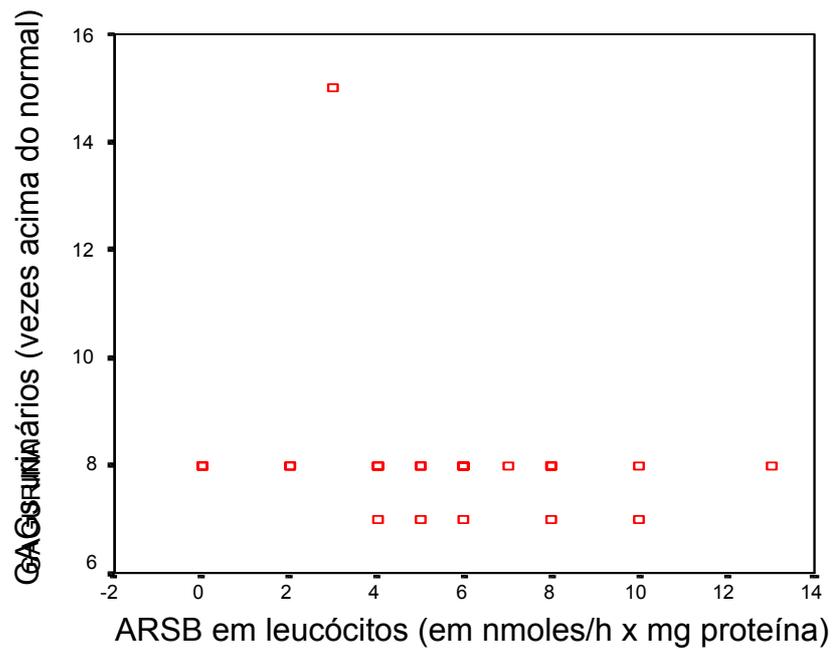


Figura 10: Correlação de Pearson entre medida de GAGs urinários (em vezes acima do máximo normal p/ idade) e entre medida da atividade da ARSB em leucócitos ($r: 0,2$)

6. DISCUSSÃO

6.1. EM RELAÇÃO AO DELINEAMENTO DO ESTUDO

Apesar de tratar de um estudo transversal atual, alguns dados foram coletados baseando-se na informação do familiar que estava acompanhando a criança, por isso, apesar do esforço feito pelo pesquisador e colaboradores envolvidos, muitas vezes não foi possível a obtenção de dados relativos a todas as variáveis do estudo.

A análise e discussão dos dados devem levar em conta essa limitação sendo, muitas vezes, necessário trabalhar com a informação disponível e não com a ideal. Como não existe nenhum estudo semelhante a este no Brasil ou na América Latina, a informação disponível é certamente relevante, sendo corretamente analisada e discutida.

6.2. EM RELAÇÃO À CARACTERIZAÇÃO GERAL DA MOSTRA

A amostra analisada é composta, na sua maioria, por pacientes da região sudeste do Brasil, correspondendo a 53,8% (14/26) da procedência da amostra (Anexo 2 e Fig.3) havendo, porém, ocorrência em todas as regiões do Brasil, caracterizando uma distribuição ampla da doença. Talvez este predomínio na região sudeste se explique pela ocorrência de maior taxa de consangüinidade nessa região: das 14 famílias, em 6 (42,8%) houve consangüinidade (tab. 3). Segundo LIASCOVICH et al (2001) a taxa esperada de consanguinidade para a região sudeste seria de 2%. Quanto à consangüinidade de toda a amostra, vimos que 7/26 famílias (26%) relataram consangüinidade, que é um valor elevado, quando comparado ao esperado para a população brasileira (1,86%, segundo DE BASSI, 1983 e 1,6% segundo LIASCOVICH et al, 2001) ou para a população Chilena (0,75% segundo

LIASCOVICH et al,2001). Este achado está de acordo com o modo de herança e com o fato de ser a MPS VI uma doença rara.

Quanto à etnia: sabemos que o tema é muito complexo, em se tratando de Brasil, que é considerado como possuindo a mais heterogênea população do mundo (ALVES-SILVA et al, 2000). Não esperávamos que a etnia tivesse qualquer influência em aspectos específicos da patologia estudada. Como nos propussemos a caracterizar a amostra, essa variável também precisava constar, mas sabe-se que no Brasil, após cinco séculos de miscigenação entre pessoas de três continentes (o colonizador europeu, africanos e nativos americanos de origem oriental), a etnia fenotípica pouco tem haver com a etnia genotípica dessa população (ALVES-SILVA et al, 2000). Segundo os dados encontrados na nossa amostra temos uma maioria referindo-se como brancos (15/28 ou 53,6%), sendo a segunda maior frequência de mulatos (9/28 ou 32,1%).

O número de pacientes dos sexos feminino e masculino foi semelhante ($\chi^2:0,17$, gl:1, p:0,7). Não se espera diferença nas demais variáveis em função do sexo, já que se trata de uma doença com herança autossômica.

Quanto à idade de início dos sintomas, a maioria dos pacientes (12/25 ou 48%) relatou início antes dos 6 meses de idade, refletindo o início precoce da doença como o que ocorre nas formas mais graves (NYHAN & OZAND, 1998 e NEUFELD & MUENZER, 2001). Talvez possamos, a partir disto, concluir que no Brasil há um predomínio dessa formas entre os portadores da doença. A idade de diagnóstico neste estudo (48,4 meses) foi tardia em comparação com a mostrada na literatura (24 meses segundo AUCLAIR et al 2003), caracterizando um atraso, em média, de 24 meses. Provavelmente, isso se deva à dificuldade de acesso a métodos diagnósticos e ao desconhecimento da doença por profissionais da área da saúde, já que se trata de uma doença rara. Esse dado passa a ter uma importância significativa quando se sabe do desenvolvimento de Terapia de Reposição Enzimática para esses pacientes que, por estudos em modelos animais (gatos), mostra ser mais eficaz, quanto mais jovem se inicia o tratamento (AUCLAIR et al, 2003). Deste modo, vê-se a importância de um diagnóstico precoce nesses pacientes.

6.3. EM RELAÇÃO À CARACTERIZAÇÃO CLÍNICA DA MOSTRA

A média de peso ao nascimento encontra-se entre os percentis 10 e 90 de recém-nascidos a termo, segundo BATAGLIA & LUBCHENCO (1967), sendo também semelhante àquela esperada para a população brasileira (PINHEIRO, 1989). O comprimento foi proporcional ao peso na maioria da amostra estudada. Não houve ocorrência, nessa população, de nascimentos prematuros. Na fig.4 vemos uma comparação peso entre o momento da avaliação e o peso correspondente ao percentil 5 para a idade e observamos que, até os 4 anos, a maioria das crianças se aproxima do percentil 5 e, a medida que envelhecem, distanciam-se, ficando abaixo deste percentil. Na Fig. 5 vemos uma comparação entre a altura no momento da avaliação e a altura correspondente ao percentil 5 para a idade, e observamos o mesmo fenômeno. Na Fig. 6 vemos uma comparação entre o perímetro cefálico no momento da avaliação e o perímetro cefálico correspondente aos percentis 5, 50 e 95 para a idade, e observamos que a maioria das crianças encontra-se entre os percentis 5 e 95 sendo, então, normocefálicos para a idade, mas, macrocefálicos se compararmos os seus percentis correspondentes de pesos e alturas. Esse dado enfatiza o já conhecido comprometimento ósseo causado pela doença e a presença de contraturas articulares.

O número de pacientes nascidos por cesariana (16/28 ou 57,1%) é superior ao valor relatado para a população brasileira (36,4% segundo GOMES et al, 1999) Acreditamos ser este dado um achado ocasional, já que, os outros dados que indicariam maior risco para o desenvolvimento de complicações perinatais, como peso e comprimento ao nascimento e prematuridade, não o demonstraram neste caso.

Quanto à citação de sintomas (Tab.4), vimos que todos os pacientes citaram baixa estatura, face grosseira, opacificação corneana, contraturas articulares e mãos em garra. Esse achado coincide com a descrição feita na literatura (NYHAN & OZAND, 1998 e NEUFELD & MUENZER, 2001 e SCHWARTZ, 2001) e, também, provavelmente, se deva à facilidade na observação desses sinais. Já outros sinais, que necessitam de métodos específicos para o seu diagnóstico, foram citados ou confirmados com uma

freqüência muito baixa ou até nula, como no caso de degeneração retiniana (neste caso a opacificação corneana dificulta o diagnóstico), mielopatia cervical, paquimeningite cervical, compressão medular tóraco-lombar e doença discal. Essas alterações ocorrem com uma freqüência maior que a observada nessa amostra, segundo BOOR et al (2000), SCHWARTZ et al (2001) e THORNE et al (2001) e, provavelmente, estão sendo sub-diagnosticadas, o que atrasa e dificulta o seu tratamento. Há uma discrepância entre algumas freqüências mostradas na tab. 4 e as mesmas observadas por exames específicos. Isto ocorreu porque os sintomas da tab. 4 foram pesquisados somente por anamnese e o dado podia se confirmar ou não nos exames específicos realizados. Esperava-se uma correlação positiva entre citação de sintomas e idade que não se confirmou (Fig.7).

Quanto às alterações cardíacas presentes na amostra, vimos que 100% da amostra apresenta alguma alteração ecocardiográfica. A mais freqüente foi a regurgitação da mitral (27/28 ou 96,4%), seguida pela regurgitação da tricúspide (20/28 ou 71,4%). Na literatura, a alteração mais encontrada neste tipo de MPS é a valvulopatia aórtica (MABE et al, 2003) e a freqüência encontrada no nosso estudo é maior que às já citadas (DANGEL, 1998, SCHWARTZ, 2001). Talvez isto se deva a um provável predomínio de formas moderadas e graves na nossa amostra.

Quanto às alterações oftalmológicas, vimos a presença de opacificação corneana em 19/19 pacientes avaliados entre + e +++++, confirmando o achado anterior que 28/28 pacientes citaram apresentar opacificação corneana (Tab.4). Esse achado provavelmente justifique a presença de uma eficiência visual baixa em média (69%) lembrando, entretanto, que o déficit visual presente nesses pacientes não se deve unicamente à opacificação corneana (ver item Manifestações Oculares em Manifestações Clínicas).

6.4. EM RELAÇÃO À CARACTERIZAÇÃO BIOQUÍMICA DA MOSTRA

A amostra foi caracterizada quanto à medida da atividade da ARSB em leucócitos e dosagem da excreção urinária de GAGs.

Quanto à atividade da ARSB em leucócitos, esperava-se uma correlação negativa entre o número de sintomas citados e a medida da atividade enzimática, que não se confirmou (Fig.9). Talvez isso se deva ao tamanho da amostra, ao fato de ser o exame de laboratório um exame *in vitro*, podendo o método não ter conseguido reproduzir com a precisão e sensibilidade necessárias os valores da atividade enzimática *in vivo*. Pode se dever também, ao fato de essa correlação não existir. Não existem outros estudos na literatura a respeito.

Quanto à excreção urinária de GAGs, esperava-se uma correlação positiva com o número de sintomas citados (Fig.8), que não se confirmou, provavelmente devido ao tamanho da amostra ou, talvez essa correlação não exista de fato.

Esperava-se, ainda, uma correlação negativa entre excreção urinária de GAGs e nível de atividade enzimática em leucócitos que também não se confirmou (Fig.10)

7. CONCLUSÕES

Relembrando os objetivos deste trabalho, podemos chegar a algumas conclusões.

- Embora seja razoável esperar que exista correlação entre a idade e o número de sintomas clínicos apresentados pelos pacientes, isso não foi confirmado neste trabalho. É provável que, com um número maior de pacientes ou uma forma de aferição mais objetiva destes sintomas, além de anamnese, essa possa ser observada;
- Da mesma forma, uma correlação entre a medida da atividade da ARSB e sintomas clínicos, não se confirmou nesse trabalho. É possível que ela possa se confirmar com a utilização de um método mais sensível de detecção dessa atividade e medindo-se mais objetivamente esses sintomas, como referido no item anterior;
- A correlação entre excreção urinária de GAGs e sintomas clínicos, que não foi encontrada neste trabalho, precisa ser melhor estudada, embora se saiba que em outros EIM onde há excreção urinária de metabólitos, como a Doença de Fabry (NEUFELD & MUENZER, 2001) não existe essa correlação.
- A correlação entre a excreção urinária de GAGs e a medida da atividade de ARSB em leucócitos, também não foi confirmada e merece estudos adicionais;
- Os dados obtidos foram comparados com os da literatura, sendo que as principais diferenças encontradas foram: (1) quanto à frequência de alterações cardíacas, maior na nossa amostra; (2) quanto à maior frequência de dano valvar mitral, ao invés de dano valvar aortico, e (3) quanto à idade de diagnóstico, mostrando, neste caso, um atraso importante nos nossos pacientes.

- Os dados obtidos neste trabalho, provavelmente contribuirão para futuros estudos de avaliação da eficácia de protocolos de tratamento que venham a ser desenvolvidos para essa doença.

8. 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. Alves-Silva J, Santos MS, Guimarães PEM, Ferreira ACS, Bandelt HJ, Pena SDJ, Prado VF. The ancestry of Brazilian mtDNA lineages. *Am J Hum Genet* 2000; 67: 444-61.
3. Applegarth DA, Toone JR, Lowry RB. Incidence of inborn errors of metabolism in British Columbia, 1969-1996. *Pediatrics* 2000; 105: 109-205.
4. Arlt G, Brooks DA, Isbrandt D, Hopwood JJ, Bielicki J, Bradford TM, Bindloss-Petherbridge CA, von Figura K, Peters C. Juvenile form of mucopolysaccharidosis VI (Maroteaux-Lamy syndrome): a C-terminal extension cause instability but increases catalytic efficiency of arylsulfatase B. *J Biol Chem* 1994; 269: 9638-43.
5. Auclair D, Hopwood JJ, Brooks DA, Lemontt JF, Crawley AC. Replacement therapy in mucopolysaccharidosis type VI: advantages of early of therapy. *Molecular Genetics and Metabolism* 2003; 78: 163-74.
6. Battaglia FC, Lubchenco LO. A practical classification of newborn infants by weight and gestational age. *J Pediatr* 1967; 71: 159-63.
7. 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.
8. Bielicki J, Crawley 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.
9. Boor R, Miebach E, Brühl K, Beck M. Abnormal somatosensory evoked potentials indicate compressive cervical myelopathy in mucopolysaccharidoses. *Neuropediatrics* 2000; 31: 122-7.
10. 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.
11. Cailland C, Poenaru L. Gene therapy in lysosomal diseases. *Biome & Pharmacother* 2000; 54: 505-12.
12. 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.
13. 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^o Latin American Congress of Genetics. Puerto Valarta. Mexico. 1994. n^o 418.

14. 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.
15. Collins MLZ, Traboulsi EI, Maumenee IH. Optic nerve head swelling and optic atrophy in the systemic mucopolysaccharidoses. *Ophthalmology* 1990; 97: 1445-9.
16. 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.
17. 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.
18. De Bassi RMA. Casamentos consangüíneos em populações brasileiras e alguns parâmetros migracionais e etários, associados a casamentos, em Curitiba [Dissertação de Mestrado]. Curitiba: Universidade Federal do Paraná; 1983.
19. Fuller M, Hopwood JJ, Anson DS. Receptor mediated binding of two glycosylation forms of N-acetylgalactosamine-4-sulphatase. *Biochimica and Biophysica acta* 1998;1496: 283-90.
20. Garrod AE, Lond OFR. The incidence of alkaptonúria: a study in chemical individuality. *The Lancet*.1908;13: 1616-20. www.ssiem.org.uk. 2004.
21. Giugliani R. Erros inatos do metabolismo: uma visão panorâmica. *Pediatria Moderna*. 1988; 23: 29-38.
22. Gomes UA, Silva AA, Bettiol H, Barbieri MA. Risk factors for the increasing caesarean section rate in Southeast Brazil: a comparison of two birth cohorts,1978-1979 and 1994. *Int J Epidemiol* 1999; 28: 687-94.
23. 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.
24. 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.
25. 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.
26. <http://www.uwcm.ac.uk/uwcm/mg/search/>. The human gene mutation database (HGMD) 2003.
27. Isbrandt D, Hopwood JJ, von Figura K, Peters C. Two novel frameshift mutation causing premature stop codons in a patient with severe form of Maroteaux-Lamy sindrom. *Hum Mutat* 1996; 7: 361-3.
28. Jin WD, Jackson CE, Desnick RJ, Schuchman EH. Mucopolysaccharidosis type VI: identification of three mutations in the arylsulfatase B gene of patients with the severe and mild phenotypes provides molecular evidence for genetic heterogeneity. *Am. J. Hum. Genet* 1992; 50: 795-800.
29. 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.
30. 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.
 31. Kresse H, von Fugura K, Klein U, Glossi J, Paschke E, Pohlmann R. Enzimic diagnosis of genetic mucopolissaccharide storage disorders. *Methods Enzimology* 1982; 83: 559-72.
 32. 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.
 33. Liascovich R, Rittler M, Castilla EE. Consanguinity in South América: demographic aspects. *Hum Hered* 2001; 151: 27-34
 34. 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.
 35. Litjens T, Brooks D.A, Peters C, Gibson GJ, Hopwood JJ. Identification, expression, and biochemichemical characterizzation of N-acetylgalactosamine-4-sulfatase mutation and relationship with clinical phenotype in MPS-VI patients. *Am J Hum genet* 1996; 58: 1127-34.
 36. 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.
 37. Litjens T, Morris CP, Robertson EF, Peters C, Von Figura K, Hopwood J.J. An N-acetylgalactosamine-4-sulfatase mutation (Δ -G-238) results in a severe Maroteaux-Lamy phenotype. *Hum Mutat* 1992; 1: 397-402.
 38. Mabe P, Leistner S, Schwartz I, Matte U, Giugliani R. Mucopolisacaridosis. In: Colombo M, Cornejo V, Raimann E, eds. *Errores innatos en el metabolismo del niño*. 2ª ed. Santiago de Chile. Editora Universitária. 2003. p. 225-56.
 39. 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.
 40. 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.
 41. Meikle PJ, Hopwood JJ, Clague AE, Carey WF. Prevalence of lysosomal storage disorders. *JAMA* 1999; 281: 249-54.
 42. Michelakakis H, Dimitrou E, Tsaggaraki S, Giououroukos S, Schulpis K, Bartsocas CA. Lysosomal storage diseases in Greece. *Genetic Counseling* 1995; 6: 43-7.
 43. Motamed M, Thorne S, Narula A. Treatment of otitis media with effusion in children with mucopolysaccharidoses. *Int. J. Pediatr. Otorhinolaryngol.* 2000; 53: 121-4.
 44. Nelhaus G. Head circumference from birth to eighteen years: Pratical composite international and interacial graphs. *Pediatr* 1968; 41:106-14.
 45. Nellhaus G. Head circumference from birth to eighteen years: Practical composite international and interracial graphs. *Pediatr* 1968; 41:106-14.

46. Nelson J. Incidence of the mucopolysaccharidoses in Northern Ireland. *Hum Genet* 1997; 101: 355-8.
47. 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^a ed. New York: McGraw-Hill. 2001.p.3421-52.
48. 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.
49. 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.
50. Pinheiro CEA. *Peso ao nascer na espécie humana: um enfoque multifatorial [Dissertação de Mestrado]*. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul 1989. 214p.
51. 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.
52. 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.
53. Schwartz IVD, Matte US, Leistner S, Giugliani R. Mucopolissacaridoses. In: Carakushanski G. *Doenças Genéticas em Pediatria*. 1^a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2001. p. 180-4.
54. 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.
55. Shih SL, Lee YJ, Lin SP, Sheu CY, Blickman JG. Airway changes in children with mucopolisaccaridoses – CT evaluation. *Acta Radiologica* 2002; 43: 40-3.
56. Simonaro CM, Schuchman EH. N-acetylgalactosamine-4-sulfatase: identification of four new mutation within the conserved sulfatase region causing mucopolysachharidosis type VI. *Biochim Biophys Acta* 1995; 1272: 129-32.
57. Thorne JA, Javadpour M, Hughes DG, Wraith E, Cowie RA. Craniovertebral abnormalities in type VI mucopolysaccharidosis (Maroteaux-Lamy syndrome). *Neurosurgery* 2001; 48: 849-53.
58. 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.
59. Tylki-Szymanska A, Czartoryska B, Lugowska A, Górska D. The prevalence and diagnosis of lisossomal storage diseases in Poland. *Eur. J. Pediatrics* 2001;160: 261-2.
60. Villani GRD, Balzano N, Di Natale P. Two novel mutations of the arylsulfatase B gene in two Italian patients with severe form of mucopolysaccharidosis. *Hum. Mutat* 1998; 11 (5):410-416.

61. Villani GRD, Balzano N, Vitale D, Saviano M, Pavone V, Di Natale P. Maroteaux-Lamy syndrome: five novel mutation and their structural localization. *Biochim Biophys Acta* 1999; 1453: 185-92.
62. Voskoboeva Elu, Isbrandt D, Von Figura K, Krasnopolaskaia X, Peters C. Four novel mutant alleles of the arylsulfatase B gene in two patients with intermediate form of mucopolysaccharidosis VI (Maroteaux-Lamy syndrom). *Hum Genet* 1994; 93: 259-64.
63. Voskoboeva EY, Krasnopolaskaia XD, Peters K, von Figura K. Identification of mutations in the arylsulfatase B gene in Russian patients with type VI mucopolysaccharidosis. *Genetika* 2000; 36 : 837-43.
64. Wenger DA, Coppola S, Shu-Ling. Lysosomal storage disorders: Diagnostic dilemmas and prospect for therapy. *Genetics in Medic* 2002; 4: 412-19.
65. 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.
66. Wraith JE. The mucopolisaccharidoses: a clinical review and guide to manegement. *Arch. Dis. Chil.* 1996; 72: 263-7.
67. Wu JY, Yang CF, Lee CC, Chang JG, Tasai FJ. A novel mutation (Q239R) identified in a Taiwan Chinese patients with a type VI mucopolysaccharidosis (Maroteaux-Lamy sindrome). *Hum Mutat* ;15: 389-90.
68. Xu M. Anovel nonsense point mutation mutation in the arylsulfatase B gene with a severe type Maroteaux-Lamy syndrome. *Hokkaido Igaku Zasshi* 1996; 71: 350-67.
69. Yang CF, Wu JY, Lyn SP, Tsai FJ. Mucopolysaccharodosis type VI: Report of two Taiwanese patients and identification of one novel mutation. *J Formos Med Assoc* 2001; 100: 820-3.
70. 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.
71. 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.

9. ARTIGO SUBMETIDO Á PUBLICAÇÃO (VERSÃO EM PORTUGUÊS)

ESTUDO CLÍNICO E BIOQUÍMICO DE 28 PACIENTES SUL-AMERICANOS COM MUCOPOLISSACARIDOSE TIPO VI

Ana Cecília Medeiros Mano Azevedo (1,2), Ida Vanessa Schwartz (1,3), Luciane Kalakun (1), Sílvia Brustolin (1), Maira Burin (1), Ana Paula Behregaray (1), Sandra Segal (1), Camila Giugliani (1), Maria Rosa (1), Patrícia Barrios (1,4), Diane Marinho (1,5), Patrícia Esteves (1,5), Eugênia Valadares (6), Raquel Boy (7), Dafne Horovitz (8), Paulina Mabe (9), Luís Carlos Santana da Silva (10), Márcia Ribeiro (11), Ana Maria Martins (12), Durval Palhares (13), Chong A Kim (14), Roberto Giugliani (1, 2, 3, 15).

Grupo de Estudo MPS, Serviço de Genética Médica, Hospital de Clinicas de Porto Alegre, Brasil; (2) Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas: Pediatria, UFRGS, Porto Alegre, Brasil; (3) Programa de Pós-Graduação em Genética e Biologia Molecular, UFRGS, Porto Alegre, Brasil; (4) Serviço de Cardiologia, Hospital de Clinicas de Porto Alegre, Brasil; (5) Serviço de Oftalmologia, Hospital de Clinicas de Porto Alegre, Brasil; (6) Departamento de Pediatria, UFMG, Belo Horizonte, Brasil; (7) Hospital Pedro Ernesto, UERJ, Rio de Janeiro, Brasil; (8) Instituto Fernandes Figueira, FIOCRUZ, Rio de Janeiro, Brasil; (9) INTA, Santiago, Chile; (10) Universidade Federal do Para, Belém, Brasil; (11) Instituto Martagão Gesteira, UFRJ, Rio de Janeiro, Brasil; (12) Departamento of Pediatria, EPM, UNIFESP, São Paulo, Brasil; (13) Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, Campo Grande, Brasil; (14) Instituto da Criança, HC-FM-USP, São Paulo, Brasil; (15) Departamento de Genetica, UFRGS, Porto Alegre, Brasil.

Correspondências para o autor:

Prof. Roberto Giugliani, MD, PhD

Serviço de Genética Médica

Hospital de Clinicas de Porto Alegre

Rua Ramiro Barcelos, 2350

90035-903 – Porto Alegre – RS - Brazil

Tel: + 55-51-3333-2125

Fax: 21-51-3333-2127

Email rqiugliani@hcpa.ufrgs.br or aazevedo@hcpa.ufrgs.br

RESUMO

Realizamos um estudo observacional de pacientes com mucopolissacaridose tipo VI, com o objetivo de determinar o perfil epidemiológico, clínico e bioquímico de um grupo de pacientes sul-americanos. Foram avaliados 28 pacientes por anamnese, exame físico, acardiograma, eletrocardiograma, avaliação oftalmológica, medidas de glicosaminoglicanos urinários e da atividade da N-acetilgalactosamina-4-sulfatase em leucócitos. Da amostra estudada, 92,9% eram brasileiros, sendo 53,8% da região sudeste. A idade média no momento da avaliação foi de 97,1 meses e de diagnóstico de 48,4 meses. Em 88% dos pacientes, o início dos sintomas foi antes dos 36 meses e 27% das famílias relataram consangüinidade entre os pais. A média de peso e estatura ao nascimento foi de 3481 gramas e 51,3 centímetros, respectivamente. O nascimento foi por parto vaginal em 57,1% dos casos. Todos apresentavam alguma alteração ecocardiográfica, bem como opacificação corneana. Os sinais e sintomas mais freqüentemente citados foram: baixa estatura, opacificação corneana, face grosseira, contraturas articulares e mãos em garra. A média da atividade enzimática em leucócitos foi de 5,4 mmoles/h/mg prot. (vr:72-174) e a excreção urinária de glicosaminoglicanos foi, em média, 7,9 vezes superior ao normal. O número de sinais e sintomas presentes não mostrou correlação significativa com a excreção de glicosaminoglicanos e com a medida da atividade enzimática. O mesmo aconteceu entre a excreção de glicosaminoglicanos e a medida da atividade enzimática. Concluímos que a MPS VI, é uma doença de alta morbidade e que, em comparação com os dados da literatura, nossos pacientes tiveram um diagnóstico mais tardio e uma maior freqüência de alterações cardíacas.

PALAVRAS CHAVE

Erros Inatos do Metabolismo, Doença Lisossômica de Depósito, Mucopolissacaridose, Mucopolissacaridose tipo VI, Síndrome de Maroteaux-Lamy, arilsulfatase B.

INTRODUÇÃO

Mucopolissacaridose tipo VI, também conhecida como Síndrome de Maroteaux-Lamy Syndrome, (MPS VI) é causada pela deficiência da enzima N-acetilgalactosamina-4-sulfatase, ou arilsulfatase B (ARSB). Essa enzima participa do metabolismo do dermatan sulfato (DS) e do condroitin sulfato (CS), glicosaminoglicanos (GAGs) constituintes do tecido intersticial. A atividade deficiente da ARSB acarreta um acúmulo de GAGs parcialmente degradados desses GAGs nos tecidos, sendo responsável pelas alterações clínicas características da doença^{1,2}.

O diagnóstico é feito através da constatação de mucopolissacaridúria em excesso e da redução da atividade da enzima ARSB em leucócitos e/ou fibroblastos cultivados^{3,4,5}.

O gene que codifica a ARSB foi mapeado no cromossomo 5q13-14, possui 8 exons e a enzima resultante possui 533 aminoácidos^{1,6,7}. É observada na MPS VI uma variabilidade de manifestações clínicas, com um espectro clínico heterogêneo entre as formas, refletindo provavelmente a heterogeneidade alélica associada a essa doença^{7,8,9}.

De acordo com a idade de diagnóstico, idade do início dos sintomas e sua progressão são diferenciadas três formas clínicas da MPS VI: infantil ou grave, juvenil ou intermediária e forma adulta ou mais branda¹. Já ao nascimento, nas formas graves, pode-se observar macrocefalia e alteração no formato do tórax¹ assim como hérnias umbilicais e inguinais que são observadas com mais frequência nesta faixa etária. In Nas formas mais brandas podemos ver sintomas progressivos incluindo traços faciais grosseiros, opacificação corneana, mãos em garra e contraturas articulares O diagnóstico é feito em torno dos dois anos de idade²

O objetivo geral deste estudo é determinar o perfil epidemiológico, clínico e bioquímico de um grupo de pacientes com MPS VI e, especificamente, avaliar a correlação dos sintomas citados com a idade e com as alterações bioquímicas

(excreção urinária de GAGs e medida da atividade de ARSB em leucócitos) servindo de base para estudos futuros de correlação genótipo-fenótipo e de protocolos de estudos clínicos futuros.

MATERIAL E MÉTODOS

Trata-se de um estudo observacional de pacientes com MPS realizado de julho a novembro de 2003, incluindo 28 pacientes. A amostra foi selecionada a partir de contato com médicos de outros serviços de genética do Brasil e da América do Sul. Cada indivíduo devia preencher os critérios de inclusão: assinatura do Termo de Consentimento Informado pelo paciente ou seu responsável legal (prévio a qualquer procedimento); idade superior ou igual a quatro anos; uma medida de confirmação bioquímica da doença (redução dos níveis de atividade da ARSB e/ou a elevação dos níveis de DS na urina) e apresentar a atividade de outra sulfatase normal. Os critérios de exclusão foram: transplante de medula óssea prévio; tratamento prévio ou atual com terapia de reposição enzimática. Foi realizado anamnese abordando também os sintomas mais relacionados à doença; exame físico; ecocardiograma, eletrocardiograma e avaliação oftalmológica (medidas da pressão intra-ocular, da eficiência visual e biomicroscopia). Os dados foram analisados com o auxílio dos programas SPSS 11.0. O nível de significância adotado foi de 5% ($p < 0,05$). Este projeto de pesquisa que foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Grupo de Pesquisa e Pós-Graduação do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (GPPG/HCPA).

RESULTADOS

Na amostra estudada ($n=28$), 15 eram do sexo masculino (53,6%) e 13 (46,4%) do sexo feminino, com uma média da idade no momento da avaliação de 97,1m (48-186m, dp: 35m) e uma média de idade de diagnóstico de 48,4m (15-109m, dp:26,2m). Quanto à idade de início dos sintomas: 12/25 (48%) pacientes relataram com idade inferior a 6m; 4/25 (16%) entre 6 e 12m; 3/25 (12%) entre 12 e 18m; 2/25 (8%) entre 18 e 24m; 1/25 (4%) entre 24 e 30m e 3/25 (12%) com 36 meses ou mais. Quanto à etnia, 15/28 (53,6%) referiram-se como brancos, 9/28 (32,1%) como mulatos, 2/28 (7,1%) como índios, 1/28 (3,6%) como negro e 1/28

(3,6%) como hispânico. A nacionalidade e a naturalidade dos pacientes estudados são mostradas na fig. 1.

Das 26 famílias (havia na amostra dois pares de irmãos de diferentes famílias), 7 (27%) relataram consangüinidade parental. Da amostra estudada, 12/28 (42,9%) pacientes nasceram de parto vaginal e 16/28 (57,1%) de parto cesáreo, sendo que a média do peso ao nascimento foi de 3481,2g (2420-4000g, dp:418,8) e a média do comprimento ao nascimento foi de 51,3cm (46-55cm, dp:2,1). O dado perímetro cefálico ao nascimento não foi analisado, pois foi obtido em somente 3/28 (10,7%) da amostra. Foi feita uma comparação do peso e altura com o peso e altura esperados, no percentil 5 da curva do *National Center of Health Statistics percentiles (NCHS)*¹⁰. Os resultados estão mostrados nas figs. 2 e 3 respectivamente. O perímetro cefálico também foi comparado, mas usando os percentis 5, 50 e 95 da curva do *Pratical composite international and interacial graphs (head circumference from birth to eighteen years)*¹¹ (fig. 4).

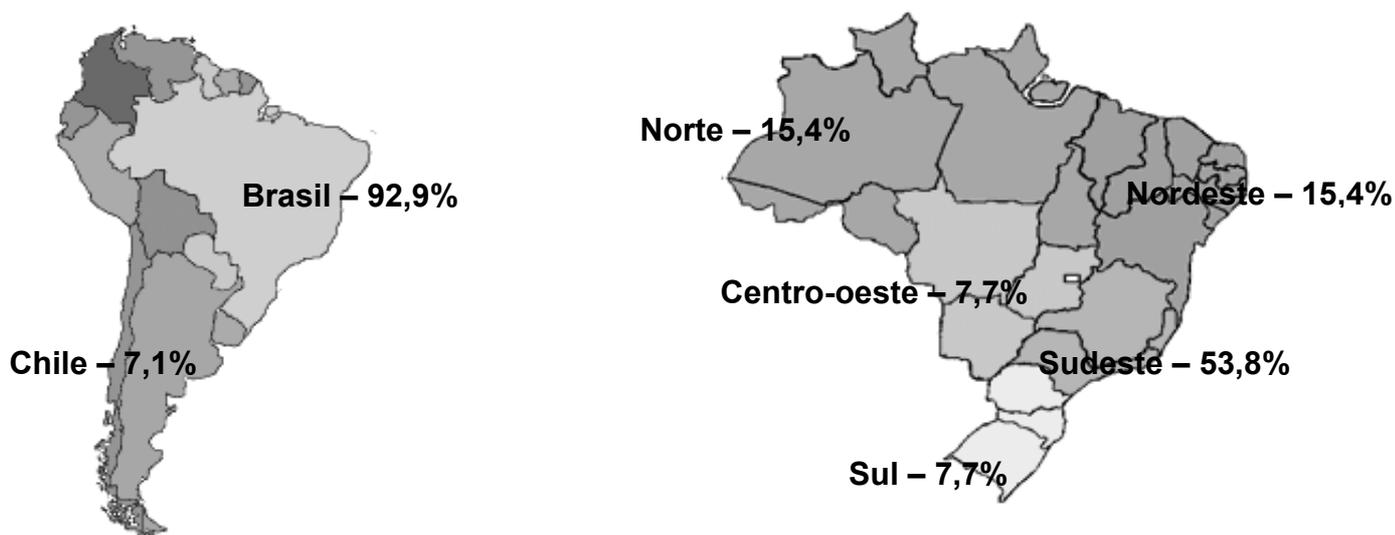


Figura 1: Nacionalidade em% dos 28 pacientes estudados e naturalidade em% dos 26 pacientes brasileiros estudados.

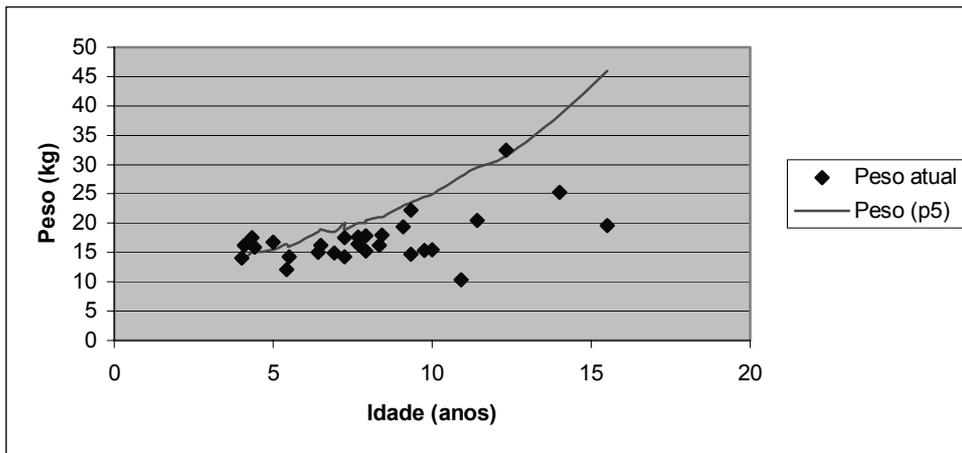


Figura 2: Comparação peso entre o momento da avaliação e o peso correspondente ao percentil 5 para a idade.

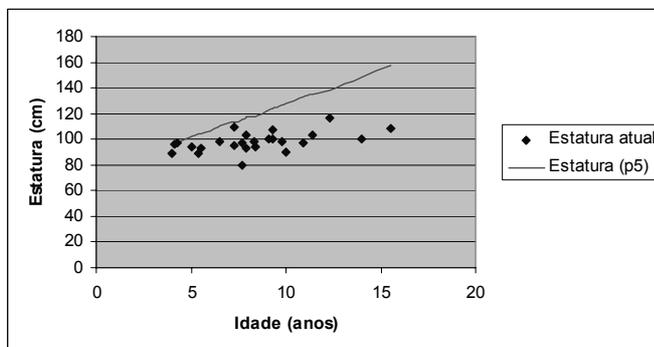


Figura 3: Comparação entre a estatura no momento da avaliação e a estatura correspondente ao percentil 5 para a idade.

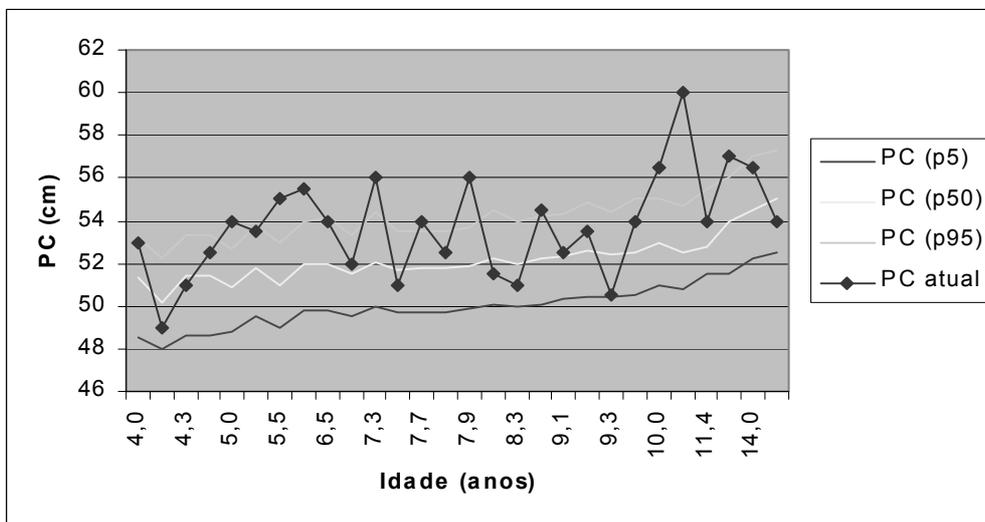


Figura 4: Comparação entre o perímetro cefálico no momento da avaliação e o perímetro cefálico correspondente ao percentil 5 para a idade.

.A freqüência das alterações encontradas no (ECG) está demonstrada na Fig. 5.

Figura 5: Freqüência de alterações eletrocardiográficas na amostra (n:27/28)

Alteração	Nº ocorrências (% na amostra)
Taquicardia sinusal	12 (44,4%)
Arritmia sinusal	3 (11,1%)
Bloqueio incompleto de ramo direito	3 (11,1%)
Sobrecarga átrio esquerdo	3 (11,1%)
Aumento atrial à direita	3 (11,1%)
Desvio de eixo p/a direita	3 (11,1%)
Desvio de eixo p/a esquerda	3 (11,1%)
Depressão do segmento ST	3 (11,1%)
Bloqueio fascicular esquerdo posterior	3 (11,1%)
Atraso de condução intraventricular	2 (7,4%)
Bloqueio AV transitório	1 (3,7%)

A freqüência das alterações encontradas na ecocardiografia é mostrada na Fig 6.

Figura 6: Freqüência de alterações ecocardiográficas na amostra (n=28)

Alteração	Nº ocorrências (% na amostra)
Regurgitação mitral	27/28 (96,4%)
Regurgitação tricúspede	20/28 (71,4%)
Hipertensão pulmonar	13/28 (46,4%)
Regurgitação aortica	12/28 (42,8%)
Regurgitação pulmonar	4/28 (14,3%)
Estenose mitral	2/28 (7,1%)
Estenose aórtica	2/28 (7,1%)
Estenose tricúspe	0/28 (0%)
Estenose pulmonar	0/28 (0%)

A freqüência dos 51 sinais e sintomas pesquisados na amostra é mostrada na Fig 7.

Figura 7: Freqüência da citação de sintomas mais relacionados a MPS VI na população

Sinal / Sintoma	Nº citações (n:28)	% na amostra
Baixa Estatura	28	100
Faces Grosseira	28	100
Opacificação Corneana	28	100
Contraturas Articulares	28	100
Mãos Em Garra	28	100
Doença Valvar	27	96,4
Pele Espessa	26	92,9
Hirsutismo	26	92,9
Cabelos Grossos	26	92,9
Hérnia Umbilical	26	92,9
Esplenomagalia	24	85,7
Geno Valgo	24	85,7
Apnéia Do Sono	23	82,1
Pectus Carinatum	22	78,6
Dor Articular	22	78,6
Cifoesciose	22	78,6
Macrocefalia	19	67,9
Macroglossia	18	64,3
Atraso Erupção Dentária	16	57,1
Pneumonia	16	57,1
Proeminência Da Lordose Lombar	16	57,1
Déficit Auditivo	15	53,6
Displasia De Quadril	15	53,6
Otite Média	13	46,4
Cáries Dentárias	13	46,4
Hepatomegalia	10	35,7
Sinusite	9	32,1
Doença Pulmonar Restritiva	9	32,1
Rinorréia	8	28,6
Hérnia Inguinal	8	28,6
Alterações Na Condução Cardíaca	6	21,4
Instabilidade Cervical / Displasia Do Odontóide	6	21,4
Convulsões	5	17,7
Síndrome Do Túnel Do Carpo	5	17,9
Hipertensão Pulmonar	4	14,3
Falência Cardíaca Esquerda	3	10,7
Atraso Puberal	3	10,7
Hidrocefalia	3	10,7
Otorréia	2	7,1
Glaucoma	2	7,1

Constipação Crônica	2	7,1
Abscessos Dentários	1	3,6
Falência Cardíaca Direita	1	3,6
Estenose De Traquéia	1	3,6
Diarréia Crônica	1	3,6
Degeneração Retiniana	0	0
Mielopatia Cervical	0	0
Pachymeningitis Cervicalis	0	0
Compressão Medula Toráco-Lombar	0	0
Dioença discal	0	0

Quanto a avaliação oftalmológica: a eficiência visual (n=25) média observada foi de 69% (3-100%, dp:34); a biomicroscopia (n:19), todos apresentaram opacificação corneana de graus entre + e ++++; a pressão intra-ocular média (n:15) foi de 19 (12-28, dp: 3,8). A média da atividade da enzima ARSB em leucócitos foi de 5,4 mmoles/h/mg prot. (0-13, dp:3, vr:72-174). A excreção urinária de GAGs foi 7,9 vezes superior ao máximo esperado para a idade (7-15, dp: 1). As correlações de Pearson feitas entre idade e número de sintomas citados (r: 0,017); entre número de sintomas e excreção de GAGs (r: 0,2) e entre número de sintomas citados e a medida da atividade da ARSB em leucócitos (r: 0,2) e entre excreção de GAGs a medida da atividade da ARSB em leucócitos (r: 0,2) não mostraram correlação significativa.

DISCUSSÃO

Apesar de se tratar de um estudo observacional atual, alguns dados foram coletados baseando-se na informação do familiar acompanhante, algumas vezes não sendo possível a obtenção de todos dados. A análise e discussão dos dados devem levar em conta esta limitação de, por vezes, trabalhar com a informação disponível e não com a ideal. Como não existe nenhum estudo semelhante a este na América do Sul, as informações disponíveis são certamente relevantes, desde que corretamente analisadas e discutidas.

A amostra brasileira, foi composta, predominantemente, por pacientes da região sudeste do Brasil (14/26 ou 53,8%) havendo, porém, ocorrência em todas as regiões, caracterizando uma distribuição ampla da doença. Das 14 famílias da região sudeste, 6 (42,8%) relataram consangüinidade, o que poderia explicar a predominância de casos da amostra nessa região. De toda a amostra, 7/26 famílias (26%) relataram consangüinidade. É um valor alto quando comparado ao esperado para a população brasileira (1.6%)¹², ou para a Chilena (0.75%)¹². Este

achado está de acordo com o modo de herança e com o fato de ser a MPS VI uma doença rara.

O Brasil é considerado possuidor da mais heterogênea população do mundo¹³ com uma miscigenação inicial entre pessoas de três continentes (africano, europeu e sulamericano) que hoje faz com que a etnia fenotípica pouco tenha haver com a genotípica¹³. Não esperávamos que a etnia tivesse qualquer influência em aspectos específicos da patologia estudada, mas achamos importante também caracterizá-la neste aspecto. Segundo os dados encontrados na nossa amostra temos uma maioria referindo-se como brancos (15/28 ou 53,6%), sendo a segunda maior freqüência de mulatos (9/28 ou 32,1%).

O número de pacientes dos sexos feminino e masculino foi semelhante ($\chi^2:0,17$, gl:1, p:0,7). Não se esperava diferença nas demais variáveis em função do sexo já que se trata de uma doença com herança autossômica.

Quanto a idade de início dos sintomas, a maioria dos pacientes (12/25 ou 48%) relatou início antes dos 6 meses de idade, refletindo o início precoce da doença, como o que ocorre nas formas mais graves^{1,2}. A partir disto, podemos aventar a hipótese que no Brasil exista um predomínio destas formas. A idade de diagnóstico média da amostra (48,4m) foi tardia em comparação com àquela da literatura (24m)², caracterizando um atraso em média de 24 meses. Provavelmente isto se deva a dificuldade de acesso ao diagnóstico e ao desconhecimento da doença por profissionais da área da saúde, já que se trata de uma doença rara. Este dado passa a ter uma importância significativa quando se sabe do desenvolvimento de Terapia de Reposição Enzimática que, por estudos em modelos animais (gatos), mostra ser mais eficaz, quanto mais jovem se inicia o tratamento².

A média de peso ao nascimento encontra-se entre os percentis 10 e 90 de recém-nascidos a termo¹⁴, sendo também semelhante àquela esperada para a população brasileira¹⁵. A estatura foi proporcional ao peso na maioria da amostra estudada. Não houve ocorrência, nesta população de nascimentos prematuros. Observamos que até os 4 anos a maioria das crianças se aproxima do percentil 5 para peso e estatura e, a medida que envelhecem, distanciam-se, ficando abaixo deste percentil. Quanto ao perímetro cefálico, observamos que a maioria das

crianças encontra-se entre os percentis 5 e 95 sendo, então, normocefálicos para a idade, mas macrocefálicos se compararmos os seus percentis correspondentes de pesos e alturas. Este dado enfatiza o já conhecido comprometimento ósseo causado pela doença e a presença de contraturas articulares.

O número de pacientes nascidos por cesariana (16/28 ou 57,1%) é superior ao valor relatado para a população brasileira (36,4%)¹⁶ Acreditamos ser este dado um achado ocasional, já que, os outros dados que indicariam maior risco para o desenvolvimento de complicações perinatais, como peso e estatura ao nascimento e prematuridade, não o demonstraram neste caso.

Quanto à citação de sinais e sintomas: todos os pacientes citaram baixa estatura, fácies grosseira, opacificação corneana, contraturas articulares e mãos em garra. Este achado coincide com a descrição feita na literatura^{1,2,5}, e também provavelmente se deva a facilidade em observar estes sinais. Já outros sinais que necessitam de métodos específicos para o seu diagnóstico, foram citados ou confirmados com uma frequência muito baixa ou até nula, como no caso de degeneração retiniana, mielopatia cervical, paquimeningite cervical, compressão medular tóraco-lombar e doença discal. Estas alterações ocorrem com uma frequência maior que a observada nesta amostra^{5,17,18} e provavelmente estão sendo sub-diagnosticadas, atrasando e dificultando o seu tratamento. Há uma discrepância entre algumas frequências mostradas na fig 7 e as mesmas observadas por exames específicos. Isto ocorreu porque os sintomas da fig 7 foram pesquisados somente por anamnese e o dado podia se confirmar ou não nos exames específicos realizados. Esperava-se uma correlação positiva entre citação de sintomas e idade que não se confirmou.

Quanto às alterações cardíacas na amostra: todos apresentaram alteração ecocardiográfica. A mais freqüente foi a regurgitação da mitral (27/28 ou 96,4%) seguida pela regurgitação da tricúspide (20/28 ou 71,4%). Na literatura, a alteração mais encontrada neste tipo de MPS é a valvulopatia aórtica¹⁹ e a frequência encontrada no nosso estudo é maior que às já citadas^{5,20}. Talvez isto se deva a um provável predomínio de formas moderadas e mais graves na nossa amostra.

Quanto às alterações oftalmológicas: 100% (19/19) da mostra apresentavam opacificação corneana entre + e +++++, confirmando o achado anterior que 28/28 pacientes citaram apresentar opacificação corneana. Este achado provavelmente justifique a presença de uma eficiência visual baixa em média (69%) lembrando, entretanto, que o déficit visual presente nestes pacientes não se deve unicamente a opacificação corneana.

Quanto à atividade da ARSB em leucócitos, esperava-se uma correlação negativa entre a ocorrência de sinais e sintomas e a medida da atividade enzimática que não se confirmou. Talvez isto se deva ao tamanho da amostra, ao fato de ser o exame de laboratório um exame *in vitro* podendo o método não ter conseguido reproduzir com a precisão e sensibilidade necessárias os valores da atividade enzimática ou, pode se dever também ao fato de esta correlação não existir, o que seria incompatível com os dados da literatura.

Quanto a excreção urinária de GAGs, esperava-se uma correlação positiva com a citação de sinais e sintomas que não se confirmou, provavelmente devido ao tamanho da amostra.

Esperava-se ainda uma correlação negativa entre excreção urinária de GAGs e nível de atividade enzimática em leucócitos que também não se confirmou.

Neste trabalho, determinou-se o perfil epidemiológico, clínico e bioquímico da amostra estudada o que nos permite concluir sobre os objetivos específicos: creditamos que exista correlação entre a idade e a ocorrência de sinais e sintomas clínicos, o que não foi confirmado neste trabalho. É provável que, com um número maior de pacientes ou uma forma de aferição mais objetiva destes sinais e sintomas, além de anamnese, esta correlação se confirme; acreditamos que exista uma correlação entre a medida da atividade da ARSB e sintomas clínicos, que não se confirmou neste trabalho. É possível que ela se confirme usando um método mais sensível de detecção desta atividade e medindo mais objetivamente estes sinais e sintomas. A correlação entre excreção urinária de GAGs e sinais e sintomas clínicos, que não foi encontrada neste trabalho, precisa ser melhor estudada. Em outros EIM onde há excreção urinária de metabólitos, como a Doença de Fabry¹¹ essa correlação não existe. A correlação entre a excreção urinária de GAGs e a medida da atividade de ARSB em leucócitos, da

mesma forma precisa ser melhor estudada. Os dados obtidos foram comparados com os da literatura, sendo que as principais diferenças encontradas foram quanto a frequência de alterações cardíacas, maior na nossa amostra; quanto a maior frequência de dano valvar mitral ao invés de dano valvar aortico e quanto a idade de diagnóstico, mostrando, neste caso um atraso importante na nossa amostra.

Os dados obtidos neste trabalho, provavelmente contribuirão estudos futuros de protocolos de estudos clínicos.

AGRADECIMENTOS

Esse estudo é parte de um estudo multicêntrico internacional coordenado e financiado pela BioMarin Pharmaceutical. Nós também agradecemos às agências CAPES, CNPQ e NORD por financiar parte dos autores.

REFERÊNCIAS

- 1- 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.
- 2- Auclair D, Hopwood JJ, Brooks DA, Lemontt JF, Crawley AC. Replacement therapy in mucopolysaccharidosis type VI: advantages of early of therapy. *Molecular Genetics and Metabolism* 2003; 78: 163-74.
- 3- Wraith JE. The mucopolysaccharidoses: a clinical review and guide to management. *Arch. Dis. Chil.* 1996;72: 263-7.
- 4- 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.
- 5- Schwartz IVD, Matte US, Leistner S, Giugliani R. Mucopolissacaridoses. In: Carakushanski G. *Doenças Genéticas em Pediatria.* 1^a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2001. p. 180-4.
- 6- Litjens T, Baker EG, Beckmann KR, Morris CP, Hopwood JJ, Callen DF. Chromosomal localization of ARSB, the gene for human N-acetylgalactosamine-4-sulfatase. *Hum Genet* 1989; 82 (1):67-8
- 7- 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.
- 8- 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(15):4962-71.
- 9- 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.
 - 10 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.
 - 11- Nelhaus G. Head circumference from birth to eighteen years: Practical composite international and interracial graphs. *Pediatr* 1968;41:106-14.
 - 12- Liascovich R, Rittler M, Castilla EE. Consanguinity in South America: demographic aspects. *Hum Hered* 2001;51:27-34
 - 13- Alves-Silva J, Santos MS, Guimarães PEM, Ferreira ACS, Bandelt HJ, Pena SDJ, Prado VF. The Ancestry of Brazilian mtDNA Lineages. *Am J Hum Genet* 2000; 67:444-61.
 - 14- Battaglia FC, Lubchenco LO. A practical classification of newborn infants by weight and gestational age. *J Pediatr* 1967;71 (2): 159-63.
 - 15- Pinheiro CEA. *Peso ao nascer na espécie humana: um enfoque multifatorial [Dissertação de Mestrado]*. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul 1989. 214p.
 - 16- Gomes UA, Silva AA, Bettiol H, Barbieri MA. Risk factors for the increasing caesarean section rate in Southeast Brazil: a comparison of two birth cohorts, 1978-1979 and 1994. *Int J Epidemiol* 1999;28 (4): 687-94.
 - 17- Boor R, Miebach E, Brühl K, Beck M. Abnormal Somatosensory evoked potentials indicate compressive cervical myelopathy in mucopolysaccharidoses. *Neuropediatrics* 2000;31: 122-7.
 - 18- Thorne JA, Javadpour M, Hughes DG, Wraith E, Cowie RA. Craniovertebral abnormalities in type VI mucopolysaccharidosis (Maroteaux-Lamy syndrome). *Neurosurgery* 2001; 48(4): 849-53.
 - 19- Mabe P, Leistner S, Schwartz I, Matte U, Giugliani R. Mucopolisacaridosis. In: Colombo M, Cornejo V, Raimann E, eds. *Errores innatos en el metabolismo del niño*. 2ª ed. Santiago de Chile. Editora Universitária. 2003. p. 225-56
 - 20- 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.

9. PAPER FOR PUBLICATION (English version)

CLINICAL AND BIOCHEMICAL STUDY OF 28 SOUTH-AMERICAN PATIENTS WITH MUCOPOLYSACCHARIDOSIS TYPE VI

Ana Cecília Medeiros Mano Azevedo (1,2), Ida Vanessa Schwartz (1,3), Luciane Kalakun (1), Sílvia Brustolin (1), Maira Burin (1), Ana Paula Behregaray (1), Sandra Segal (1), Camila Giugliani (1), Maria Rosa (1), Patrícia Barrios (1,4), Diane Marinho (1,5), Patrícia Esteves (1,5), Eugênia Valadares (6), Raquel Boy (7), Dafne Horovitz (8), Paulina Mabe (9), Luís Carlos Santana da Silva (10), Márcia Ribeiro (11), Ana Maria Martins (12), Durval Palhares (13), Chong A Kim (14), Roberto Giugliani (1, 2, 3, 15).

MPS Study Group, Medical Genetics Service, Hospital de Clinicas de Porto Alegre, Brazil; (2) Postgraduation Program in Medical Sciences: Pediatrics, UFRGS, Porto Alegre, Brazil; (3) Postgraduation Program in Genetics and Molecular Biology, UFRGS, Porto Alegre, Brazil; (4) Cardiology Service, Hospital de Clinicas de Porto Alegre, Brazil; (5) Ophtalmology Service, Hospital de Clinicas de Porto Alegre, Brazil; (6) Department of Pediatrics, UFMG, Belo Horizonte, Brazil; (7) Hospital Pedro Ernesto, UERJ, Rio de Janeiro, Brazil; (8) Instituto Fernandes Figueira, FIOCRUZ, Rio de Janeiro, Brazil; (9) INTA, Santiago, Chile; (10) Federal University of Para, Belém, Brazil; (11) Instituto Martagão Gesteira, UFRJ, Rio de Janeiro, Brazil; (12) Department of Pediatrics, EPM, UNIFESP, São Paulo, Brazil; (13) Federal University of Mato Grosso do Sul, Campo Grande, Brazil; (14) Instituto da Criança, HC-FM-USP, São Paulo, Brazil; (15) Department of Genetics, UFRGS, Porto Alegre, Brazil.

Corresponding Author:

Prof. Roberto Giugliani, MD, PhD

Medical Genetics Service

Hospital de Clinicas de Porto Alegre

Rua Ramiro Barcelos, 2350

90035-903 – Porto Alegre – RS - Brazil

Tel: + 55-51-3333-2125

Fax: 21-51-3333-2127

Email rjiugliani@hcpa.ufrgs.br or aazevedo@hcpa.ufrgs.br

ABSTRACT

An observational study of South-American patients with mucopolysaccharidosis type VI was carried out, aiming at determining their epidemiological, clinical and biochemical profile. Twenty-eight patients were evaluated through anamnesis, physical exam, echocardiogram, electrocardiogram, ophthalmologic evaluation, and measures of glycosaminoglycans in urine and of the activity of N-acetylgalactosamine-4-sulfatase in leukocytes. This study, 92.9% were Brazilian, being 53.8% of these from the Southeast region. Mean age at evaluation was 97.1 months and at diagnosis 48.4 months. For 88% of patients, the onset of symptoms was before the age of 36 months, and 27% of the families reported consanguinity. Mean weight and height at birth were 3.481 grams and 51.3 centimeters, respectively. Birth was through vaginal delivery in 57.1% of cases. All patients presented some echocardiographic finding, as well as corneal clouding. The most frequently reported signs/symptoms were: short stature, corneal clouding, coarse facial features, joint contractures, and claw hands. Mean enzyme activity in leukocytes was 5.4 mmoles/h/mg prot. (rv: 72–174), and urinary excretion of glycosaminoglycans was, on average, 7.9 times higher than normal. The number of signs/symptoms has not shown a significant correlation with the excretion of glycosaminoglycans and the enzymatic activity. Also, no significant correlation was found between the excretion of glycosaminoglycans and the enzymatic activity. It was concluded that MPS VI has high morbidity and that, when compared with data published in the literature, patients in our study had a later diagnosis and a higher frequency of cardiologic findings.

KEY WORDS

Inborn errors of metabolism, lysosomal storage diseases, mucopolysaccharidoses, mucopolysaccharidosis type VI, Maroteaux-Lamy syndrome, arylsulfatase B.

INTRODUCTION

Mucopolysaccharidosis type VI, also known as Maroteaux-Lamy Syndrome, (MPS VI) is caused by the deficiency of enzyme N-acetylgalactosamine-4-sulfatase, or arylsulfatase B (ARSB). This enzyme participates in the metabolism of dermatan sulfate (DS) and chondroitin sulfate (CS), glycosaminoglycans

(GAGs) found in the interstitial tissue. The deficient ARSB activity results in the accumulation of partially degraded GAGs in tissues, which in turn result in the clinical findings that characterize the disease^{1,2}.

The diagnosis is established by the presence of excessive mucopolysacchariduria and deficient ARSB activity in leukocytes and/or cultivated fibroblasts^{3,4,5}.

The gene that codifies ARSB has been mapped in chromosome 5q13-14, has 8 exons and the resulting enzyme has 533 aminoacids^{1,6,7}. A great variability of clinical manifestations is seen in MPS VI, resulting in a heterogeneous clinical spectrum among forms, probably reflecting the allelic heterogeneity associated with the disease^{7,8,9}.

According to the age at diagnosis, age at onset of symptoms, and progression of the disease, three clinical forms of MPS VI are seen: childhood or severe, early adulthood or intermediary, and the adulthood or milder form¹. In the more severe forms, one may observe, as early as at birth, macrocephaly and an abnormal shape of the thorax¹ as well as umbilical and inguinal hernias that are more frequently observed at this age. In the milder forms, progressive symptoms may be seen, including coarse facial features, corneal clouding, claw hands, and joint contractures. The diagnosis is made at around two years of age²

The overall objective of the present study was to determine the epidemiological, clinical, and biochemical profile of a group of MPS VI patients, and, specifically, to evaluate the correlation of symptoms reported with age and biochemical findings (urinary excretion of GAGs and measure of ARSB activity in leukocytes), so that it can serve as basis for future studies of the genotype-phenotype correlation and for protocols of future clinical studies.

MATERIAL AND METHODS

The present report is the result of an observational study of twenty-eight MPS patients carried out from July to November 2002. The sample was selected from several genetics services in Brazil and other South American countries. Each individual needed to meet the following inclusion criteria: signature of an Informed Consent Form by the patient or person legally responsible for him or her (prior to any procedure); be four year- old or older; present a biochemical confirmation of

the disease (reduction in levels of ARSB activity and/or the increase in levels of DS in urine), and present a normal activity of another sulfatase (to exclude multiple sulfatase deficiency). The exclusion criteria were: previous bone marrow transplantation and/or previous or present enzyme replacement therapy. An anamnesis containing the most frequent symptoms was carried out, as well as physical exam, echocardiogram, electrocardiogram, and ophthalmologic evaluation (measures of intra-ocular pressure, visual acuity, and biomicroscopy). The data were analyzed using SPSS 11.0. The level of significance adopted was 5% ($p < 0.05$). This research project has been approved by the Scientific and Ethics Committee of Hospital de Clínicas de Porto Alegre (GPPG/HCPA).

RESULTS

Of the sample studied ($n=28$), 15 were male (53.6%) and 13 (46.4%) female; mean age at evaluation was 97.1 months (48–186mo, sd: 35mo), and mean age at diagnosis was 48.4mo (15–109mo, sd: 26.2mo). As to age of onset of symptoms: 12/25 (48%) patients reported age below 6mo; 4/25 (16%) from 6 to 12mo; 3/25 (12%) from 12 to 18mo; 2/25 (8%) from 18 to 24mo; 1/25 (4%) from 24 to 30mo, and 3/25 (12%) at 36 months or older. As to race, 15/28 (53.6%) reported as being white, 9/28 (32.1%) mulatto, 2/28 (7.1%) American Indian, 1/28 (3.6%) black, and 1/28 (3.6%) reported as being Hispanic. Patients' nationality and place of origin are shown in Fig 1.

Of the 26 families (the sample included with two pairs of siblings from different families), 7 (27%) reported parental consanguinity. Of the sample studied, 12/28 (42.9%) patients were born vaginally, and 16/28 (57.1%) through Caesarean section; average weight at birth was 3,481.2g (2,420–4,000g, sd: 418.8), and average length at birth was 51.3cm (46–55cm, sd: 2.1). Cephalic perimeter at birth was not analyzed, since it was obtained in only 3/28 (10.7%) of the sample. A comparison of weight and height with the expected weight and height was made, using percentile 5 of the curve of the National Center of Health Statistics percentiles (NCHS)¹⁰. The results are shown in Figs 2 and 3, respectively. The cephalic perimeter was also compared, although by means of percentiles 5, 50, and 95 of the curve of Practical composite international and interracial graphs (head circumference from birth to eighteen years)¹¹ (Fig. 4).

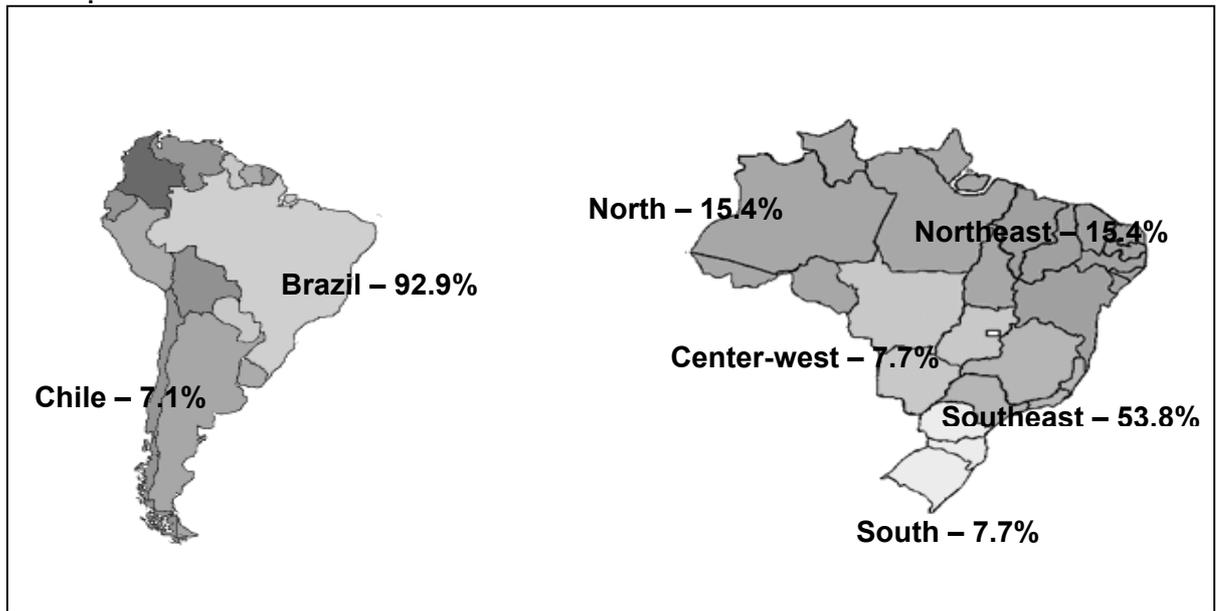


Figure 1: Nationality in % of 28 patients studied and place of origin in % of 26 Brazilian patients studied.

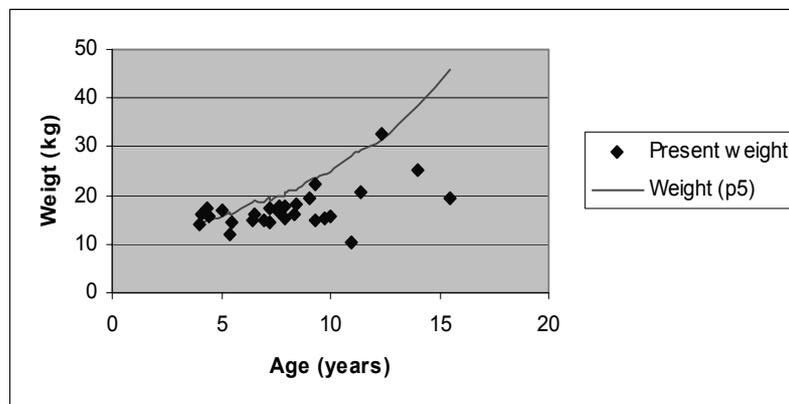


Figure 2: Comparison between weight at evaluation and age-related percentile 5 for weight.

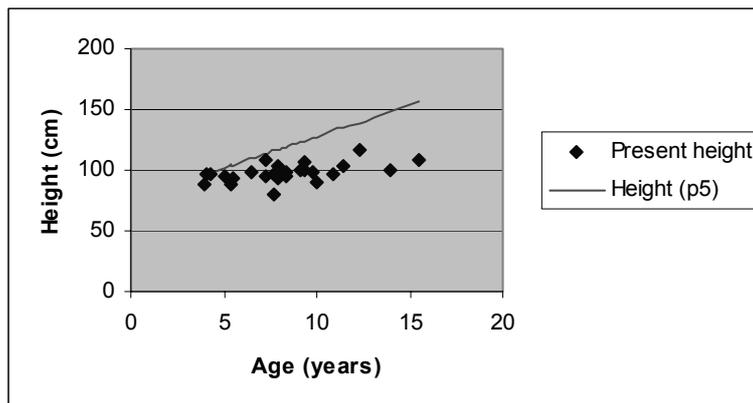


Figure 3: Comparison between height at evaluation and age-related percentile 5 for height.

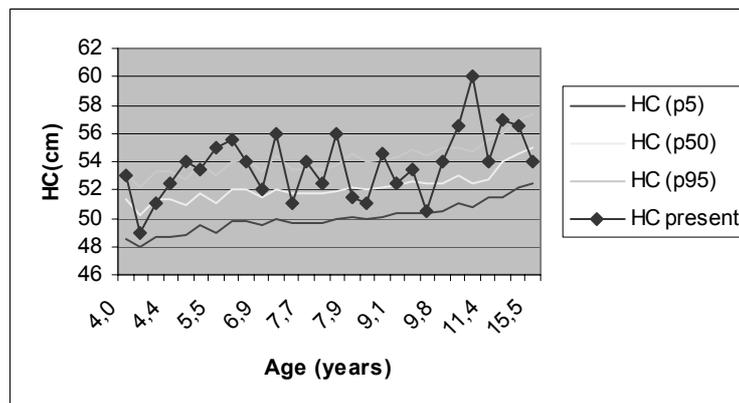


Figure 4: Comparison between head circumference at evaluation and head circumference corresponding to percentile 5 for age.

The frequency of findings found in (ECG) is shown in Fig 5.

Figure 5: Frequency of electrocardiogram findings in sample (n: 27/28)

Finding	N. of cases (% of sample)
Sinus tachycardia	12 (44.4%)
Sinus arrhythmia	3 (11.1%)
Incomplete right bundle branch block	3 (11.1%)
Left atrial overload	3 (11.1%)
Right atrial enlargement	3 (11.1%)

Right axis deviation	3 (11.1%)
Left axis deviation	3 (11.1%)
ST depression	3 (11.1%)
Left posterior fascicular block	3 (11.1%)
Intraventricular conduction delay	2 (7.4%)
Transient AV block	1 (3.7%)

The frequency of findings in echocardiogram is shown in Fig 6.

Figure 6: Frequency of echocardiogram findings in sample (n=28)

Finding	N. of cases (% in sample)
Mitral regurgitation	27/28 (96.4%)
Tricuspid regurgitation	20/28 (71.4%)
Pulmonary hypertension	13/28 (46.4%)
Aortic regurgitation	12/28 (42.8%)
Pulmonary regurgitation	4/28 (14.3%)
Mitral stenosis	2/28 (7.1%)
Aortic stenosis	2/28 (7.1%)
Tricuspid stenosis	0/28 (0%)
Pulmonary stenosis	0/28 (0%)

The frequency of the 51 signs and symptoms researched in sample is shown in Fig 7.

Figure 7: Frequency of symptoms most frequently related to MPS VI and most frequently reported by population

Sign / Symptom	N. of cases	% in sample
Short stature	28	100
Coarse facial features	28	100
Corneal clouding	28	100
Joint contractures	28	100
“Claw hands”	28	100
Valve disease	27	96.4
Thickened skin	26	92.9
Hirsutism	26	92.9
Coarse head hair	26	92.9

Umbilical hernia	26	92.9
Splenomegaly	24	85.7
Genu valgum	24	85.7
Sleep apnea	23	82.1
Pectus carinatum	22	78.6
Joint pain	22	78.6
Kyphoscoliosis	22	78.6
Macrocephaly	19	67.9
Macroglossia	18	64.3
Delayed dental eruption	16	57.1
Pneumonia	16	57.1
Prominent lumbar lordosis	16	57.1
Hearing impairment	15	53.6
Hip dysplasia	15	53.6
Otitis media	13	46.4
Dental caries	13	46.4
Hepatomegaly	10	35.7
Sinusitis	9	32.1
Restrictive lung disease	9	32.1
Rhinorrhea	8	28.6
Inguinal hernia	8	28.6
Conduction abnormalities	6	21.4
Cervical spine instability/ Odontoid dysplasia	6	21.4
Seizures	5	17.7
Carpal tunnel syndrome	5	17.9
Pulmonary hypertension	4	14.3
Left heart failure	3	10.7
Delayed puberty	3	10.7
Hydrocephalus	3	10.7
Otorrhea	2	7.1
Glaucoma	2	7.1
Chronic constipation	2	7.1
Dental abscesses	1	3.6
Right heart failure	1	3.6
Tracheal stenosis	1	3.6
Chronic diarrhea	1	3.6
Retinal degeneration	0	0
Cervical myelopathy	0	0
Pachymeningitis cervicalis	0	0
Thoracolumbar cord compression	0	0
Spinal disc disease	0	0

As to ophthalmologic evaluation, mean visual efficiency (n=25) observed was 69% (3–100%, median: 83.4, sd: 34); at biomicroscopy (n: 19), all patients presented corneal clouding ranging from + to ++++; mean intra-ocular pressure (n: 15) was 19 (12–28, median: 18.5, sd: 3.8).

Mean ARSB activity in leukocytes was 5.4 mmoles/h/mg prot. (0–13, sd: 3, rv: 72-174). Urinary excretion of GAGs ranged from 7.1 to 14.9 umol/mmol creat, being 7.9 times higher than the highest value expected for the age (data not shown).

Pearson's correlations between age and number of symptoms reported ($r: 0.017$); between the number of symptoms and excretion of GAGs ($r: 0.2$), between the number of symptoms reported and the measure of ARSB activity in leukocytes ($r: 0.2$), and between excretion of GAGs and the measure of ARSB activity in leukocytes ($r: 0.2$) have not shown any significant correlation.

DISCUSSION

Although the present study has an observational design, some pieces of data have been collected based on the information provided by the relative accompanying the patient; therefore, in some cases, not all data could be obtained. Data analysis and discussion had to consider this limitation of having to work with the information available, which at times was limited. As this is the only such study in South America, the pieces of information which have been made available are certainly relevant, provided they are correctly analyzed and discussed.

The Brazilian sample was predominantly composed of patients from the southeast region of Brazil (14/26 or 53.8%); however, there are cases in all regions of the country, characterizing a broad distribution of the disease. Of the 14 families from the southeast region, 6 (42.8%) reported consanguinity, what could explain the predominance of cases in the region. Of the entire sample, 7/26 families (26%) reported consanguinity. It is a large number when compared to the expected for the Brazilian population (1.6%¹²), or for the Chilean population (0.75%¹²). This finding is in accordance with the inheritance pattern of the disease and with the fact that MPS VI is also a rare disease.

Brazil is considered as having the most heterogeneous population in the world¹³ with an early miscegenation of people from three continents (African, European, and South-American), resulting today in a phenotypical ethnicity that has little to do with its genotypical counterpart¹³. We did not expect ethnicity to have any influence on specific aspects of the disease under study, but we have also considered important to characterize it in this manner. According to the data found in our sample, most people reported being white (15/28 or 53.6%); the second greatest frequency found was that for mulattos (9/28 or 32.1%).

The number of female and male patients was similar (χ^2 :0.17, gl: 1, p: 0.7). No difference was expected in the remaining variables due to gender, since the disease is of autosomic inheritance.

As to the age of onset of symptoms, most patients (12/25 or 48%) reported onset before the age of 6 months, reflecting the early onset of the disease, such as seen in the more severe forms^{1,2}. Thus, we can consider the hypothesis that in Brazil there is a predominance of these forms. The mean age at diagnosis (48.4mo) found for the sample was late when compared to that reported in the literature (24mo²), characterizing an average delay of 24 months. Probably this is due to difficult access to diagnosis and to ignorance even among health professionals about this disease, since it is a rare disease. This piece of data takes on great importance when one is aware of the development of Enzyme Replacement Therapy, which has shown in studies carried out in animal models (cats) that the younger the patient is the more efficient is the treatment².

Mean birth weight is between percentiles 10 and 90 for fullterm newborns¹⁴, also being similar to that expected for the Brazilian population¹⁵. Height was proportional to weight in most cases. There were no premature births in our study population. It was observed that until the age of 4 years most children reach percentile 5 for weight and height, and, as they grow older, stay below it, remaining below this percentile. As to cephalic perimeter, it was observed that most children are between percentiles 5 and 95; therefore, being normocephalic for their age, but macrocephalic when compared to their corresponding percentiles for weight and height. This data emphasizes the well-known bone damage caused by the disease and the presence of joint contractures.

The number of patients born through Caesarian section (16/28 or 57.1%) is larger than the number reported for the Brazilian population (36.4%¹⁶). It is our understanding that this data is an occasional finding, since the other data that would indicate greater risk to the development of perinatal complications, such as birth weight and height and prematurity, have not differed.

As to signs e symptoms reported, all patients reported short stature, coarse facial features, corneal clouding, joint contractures, and claw hands. This finding is in accordance with what is reported in the literature^{1,2,5}, and may be due to the fact that these signs are easily observed. On the other hand, the other signs,

which require specific methods in order to be diagnosed, have been reported or confirmed, and presented a very low, or even null, frequency, such as in the case of retinal degeneration, cervical myelopathy, pachymeningitis cervicalis, thoracolumbar cord compression, and spinal disc disease. These findings are usually more frequent than what has been seen in our sample^{5,17,18} and are probably being under diagnosed, delaying and hindering their treatment. There is a discrepancy between some frequencies shown in Table 3 and those seen in specific exams. This has happened because symptoms listed in Table 3 were researched only by means of anamnesis, and we were able to confirm or not the data through the specific exams performed. A positive correlation between symptoms reported and age was expected, but has not been confirmed.

As to cardiologic findings in our sample, all individuals presented some echocardiographic finding. The most frequent finding was mitral regurgitation (27/28 or 96.4%), followed by tricuspid regurgitation (20/28 or 71.4%). In the literature, the most frequent finding in this type of MPS is aortic valve disease¹⁹; the frequency we have found in our study is greater than the ones that have been reported^{5,20}. This may be due to a likely predominance of moderate and more severe forms of the disease in our sample.

As to ophthalmologic findings, 100% (19/19) of the sample presented corneal clouding between + and +++++, confirming the previous finding that 28/28 patients reported having corneal clouding (Table 3). This finding is likely to justify the presence of a low visual efficiency on average (69%); however, it should be pointed out that the visual deficit of these patients is not only due to corneal clouding.

As to ARSB activity in leukocytes, a negative correlation between the occurrence of signs and symptoms and the measure of the enzymatic activity was expected, but has not been confirmed. This may be due to either the sample size, or to the fact that the laboratorial exam is *in vitro*, thus unable to reproduce with the necessary precision and sensibility the values of enzymatic activity, or to the fact that this correlation is inexistent, which would be incompatible with the data published in the literature.

As to urinary excretion of GAGs, a positive correlation with the signs and symptoms reported was expected, but has not been confirmed; probably due to the sample size (or perhaps this correlation in fact does not exist).

A negative correlation between urinary excretion of GAGs and level of enzymatic activity in leukocytes was also expected, but it has also not been confirmed.

In the present study, the epidemiological, clinical and biochemical profile of the sample studied has been determined, which allows us to conclude the following about the specific objectives: We believe there is a correlation between age and the occurrence of clinical signs and symptoms, one which has not been confirmed in this study. It is likely that, with a greater number of patients or a more objective means of checking these signs and symptoms (besides anamnesis), this correlation will be confirmed; we also believe there is a correlation between the measure of ARSB activity and clinical symptoms, one which has not been confirmed herein. It is likely that it will be confirmed by means of a more sensible method to detect this activity, and measuring more objectively these signs and symptoms. The correlation between urinary excretion of GAGs and clinical signs and symptoms, which has not been found herein, needs to be further studied. In other inborn errors of metabolism in which there is urinary excretion of metabolites, such as in Fabry Disease this correlation is inexistent. The correlation between urinary excretion of GAGs and the measure of the ARSB activity in leukocytes also needs to be further studied. The data obtained herein have been compared to those found in the literature, and the main differences found have been as to the frequency of cardiologic findings, which was greater in our sample; as to the greater frequency of mitral instead of aortic valve disease, and as to the age at diagnosis, our findings show a significant delay in our sample.

The data obtained in the present study, the first effort to characterize a large MPS VI cohort in South America, represents a contribution to the understanding of the natural history of this progressive disease and to future specific studies of treatment protocols which are being developed for this condition.

ACKNOWLEDGEMENTS

This study is part of a multicentric international survey coordinated and sponsored by BioMarin Pharmaceutical. We also express our gratitude to CAPES, CNPQ, NORD for supporting fellows hips to part of the authors.

REFERENCES

- 1- 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.
- 2- Auclair D, Hopwood JJ, Brooks DA, Lemontt JF, Crawley AC. Replacement therapy in mucopolysaccharidosis type VI: advantages of early of therapy. *Molecular Genetics and Metabolism* 2003; 78: 163-74.
- 3- Wraith JE. The mucopolysaccharidoses: a clinical review and guide to management. *Arch. Dis. Chil.* 1996;72: 263-7.
- 4- 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.
- 5- Schwartz IVD, Matte US, Leistner S, Giugliani R. Mucopolissacaridoses. In: Carakushanski G. *Doenças Genéticas em Pediatria*. 1^a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2001. p. 180-4.
- 6- Litjens T, Baker EG, Beckmann KR, Morris CP, Hopwood JJ, Callen DF. Chromosomal localization of ARSB, the gene for human N-acetylgalactosamine-4-sulfatase. *Hum Genet* 1989; 82 (1):67-8
- 7- 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.
- 8- 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(15):4962-71.
- 9- 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.
- 10 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.
- 11- Nelhaus G. Head circumference from birth to eighteen years: Practical composite international and interracial graphs. *Pediatr* 1968;41:106-14.
- 12- Liascovich R, Rittler M, Castilla EE. Consanguinity in South America: demographic aspects. *Hum Hered* 2001;51:27-34

- 13- Alves-Silva J, Santos MS, Guimarães PEM, Ferreira ACS, Bandelt HJ, Pena SDJ, Prado VF. The Ancestry of Brazilian mtDNA Lineages. *Am J Hum Genet* 2000; 67:444-61.
- 14- Battaglia FC, Lubchenco LO. Apractical classification of newborn infants by weight and gestational age. *J Pediatr* 1967;71 (2): 159-63.
- 15- Pinheiro CEA. Peso ao nascer na espécie humana: um enfoque multifatorial [Dissertação de Mestrado]. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul 1989. 214p.
- 16- Gomes UA, Silva AA, Bettiol H, Barbieri MA. Risk factors for the increasing caesarean section rate in Southeast Brazil: a comparison of two birth cohorts, 1978-1979 and 1994. *Int J Epidemiol* 1999;28 (4): 687-94.
- 17- Boor R, Miebach E, Brühl K, Beck M. Abnormal Somatosensory evoked potentials indicate compressive cervical myelopathy in mucopolysaccharidoses. *Neuropediatrics* 2000;31: 122-7.
- 18- Thorne JA, Javadpour M, Hughes DG, Wraith E, Cowie RA. Craniovertebral abnormalities in type VI mucopolysaccharidosis (Maroteaux-Lamy syndrome). *Neurosurgery* 2001; 48(4): 849-53.
- 19- Mabe P, Leistner S, Schwartz I, Matte U, Giugliani R. Mucopolisacaridosis. In: Colombo M, Cornejo V, Raimann E, eds. *Errores innatos en el metabolismo del niño*. 2ª ed. Santiago de Chile. Editora Universitária. 2003. p. 225-56
- 20- 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.

10. CONSIDERAÇÕES FINAIS

À medida que as sociedades evoluem e controlam doenças infecto-contagiosas e nutricionais, as doenças de etiologia genética vão aparecendo como importantes causas de morbimortalidade na população. Cada vez mais se torna importante estudar essas doenças, buscando terapias específicas e formas de minimizar os seus danos para o indivíduo e para a sociedade. Pretendemos, com este trabalho, ter contribuído para um maior entendimento da Mucopolissacaridose tipo VI, para que assim possamos colaborar para uma melhor qualidade de vida de afetados e familiares.

11. ANEXOS

ANEXO 1.A.**TERMO DE CONSENTIMENTO INFORMADO****HOSPITAL DE CLÍNICAS DE PORTO ALEGRE
TERMO DE CONSENTIMENTO**

Eu _____
manifesto meu consentimento com meu envolvimento (ou do meu filho) no projeto de pesquisa intitulado:

Um Estudo Observacional de Indivíduos com MPS VI (Síndrome de Maroteaux-Lamy)

1. A natureza e objetivo do projeto de pesquisa, descritos na Folha de Informação em anexo, foram explicadas a mim/a meu filho. Eu compreendo e concordo em participar.
2. Eu compreendo que eu (ou meu filho) poderei não ter benefício direto por participar do estudo.
3. Eu entendo que os possíveis riscos e/ou efeitos adversos, desconfortos e inconveniências, como foi destacado na Folha de Informações, foram explicados a mim.
4. Eu compreendo que, apesar das informações obtidas no estudo poderem ser publicadas, elas serão confidenciais e eu (ou meu filho) não serei identificado a partir delas.
5. Eu compreendo que posso me retirar (ou retirar meu filho) do estudo em qualquer etapa e que isto não irá afetar os cuidados médicos ou quaisquer outros aspectos da relação minha (ou do meu filho) com este hospital.
6. Eu compreendo que não haverá pagamento para mim (ou meu filho) por participar deste estudo, a menos que esteja especificado na Folha de Informações.
7. Eu tive a oportunidade de discutir a minha participação (ou de meu filho) neste projeto de pesquisa com um membro da família ou amigo e/ou tive a oportunidade de ter um membro da família ou amigo presente enquanto o projeto de pesquisa estava sendo explicado pelo pesquisador.
8. Eu estou ciente de que devo guardar uma cópia do Termo de Consentimento, quando completo, e da Folha de Informações.
9. Eu concordo que os seguintes materiais sejam coletados de mim (ou de meu filho) e que sejam utilizados no projeto acima: sangue, urina, biópsia de pele.

Assinatura: _____

Relação com Paciente: _____

Nome Completo do Paciente: _____

Data: _____

Eu asseguro que expliquei o estudo para o(s) pai(s) /paciente e/ou criança e considero que ele(a) compreendeu o que está envolvido.

Nome: _____ Título: _____

Data: _____

Assinatura:

ANEXO 1.B.

INFORMAÇÕES PARA PACIENTES, PAIS, REPRESENTANTES LEGAIS

TÍTULO DO ESTUDO

Estudo Observacional de Indivíduos com Mucopolissacaridose VI (Síndrome de Maroteaux-Lamy)

NÚMERO DO ESTUDO

ASB-00-02

PATROCINADOR

BioMarin Pharmaceutical Inc., Novato, Califórnia, EUA

Estas informações estão sendo fornecidas a você para lhe ajudar na decisão sobre a sua participação (ou de seu filho) em um estudo. Este estudo chama-se “Estudo Observacional de pacientes com Mucopolissacaridose VI (Síndrome de Maroteaux-Lamy)” e será realizado no Serviço de Genética Médica do Hospital de Clínicas de Porto Alegre. Um médico irá lhe explicar os detalhes do estudo. Por favor, leia estas informações com atenção e sinta-se livre para resolver suas dúvidas com os seus médicos.

O QUE É A MUCOPOLISSACARIDOSE TIPO VI?

Você (ou seu filho) tem uma doença chamada Mucopolissacaridose tipo VI (MPS VI). Pacientes que têm MPS VI não produzem a enzima *N*-acetilgalactosamina 4-sulfatase (ASB) no seu organismo em quantidade suficiente. Por causa disto, eles não conseguem degradar alguns componentes do organismo (cadeias de açúcar ou mucopolissacarídeos ou glicosaminoglicanos), e estas substâncias acabam se acumulando no corpo. Isto, ao longo do tempo, causa o mau funcionamento de vários órgãos e sistemas do corpo. Assim, os pacientes com MPS VI sofrem de vários problemas de saúde, incluindo obstrução de vias aéreas, infecções respiratórias recorrentes, complicações cardíacas, aumento do tamanho do fígado e do baço, aumento do tamanho da língua, rigidez das articulações, problemas visuais, deformidades esqueléticas e crescimento lento.

POR QUE ESTE ESTUDO ESTÁ SENDO REALIZADO?

O objetivo deste estudo é examinar a variabilidade e a gravidade dos sintomas que os pacientes com MPS VI apresentam.

O Patrocinador deste estudo está desenvolvendo um possível tratamento para a MPS VI. Este novo tratamento ainda não foi aprovado e ainda está sendo pesquisado. O objetivo deste estudo é obter mais informações de como o acúmulo das cadeias de açúcar no organismo afetam o coração, pulmão, desenvolvimento dos ossos, função e resistência muscular/articular. Estas

informações serão usadas num futuro estudo clínico para ajudar a avaliar este novo tratamento.

COMO E ONDE ESTE ESTUDO SERÁ REALIZADO?

Até 200 pacientes com MPS VI, de todo o mundo, irão participar deste estudo.

Os pacientes selecionados serão solicitados a fornecer informações sobre toda a sua história médica. Informações sobre tratamentos atuais que você (seu filho) esteja recebendo do seu médico também serão requisitadas. Se você permitir, estas informações poderão ser obtidas através do seu médico ou dos registros médicos hospitalares. Os pacientes terão de ir ao hospital onde o estudo estiver sendo realizado (no seu caso, o Hospital de Clínicas de Porto Alegre) apenas uma vez; esta visita terá duração aproximada de dois dias. Durante estes dias, serão realizados as seguintes avaliações/procedimentos:

*- **Coleta de sangue** (5 mL ou uma colher de sopa), o que envolve fincar uma agulha no braço. O sangue será utilizado para um exame chamado medida da atividade da arilsulfatase B. Se você (ou seu filho) já tiver feito este exame, ele não será realizado novamente.*

*- **Coleta de urina** através em saco coletor ou frasco apropriado.*

*- **Eletrocardiograma:** neste exame alguns adesivos serão colocados no peito e conectados a uma máquina que mede a atividade elétrica do coração.*

*- **Teste de visão:** um oftalmologista (médico dos olhos) irá examinar completamente os seus olhos (ou de seu filho). Isto irá incluir um teste de visão (ler letras ou símbolos em uma cartilha colocada no outro lado da sala) e a medida de pressão do olho feito por um aparelho que será encostado levemente nos seus olhos (de seu filho).*

*- **Ecocardiograma:** neste exame, você (ou seu filho) terá de ficar deitado e imóvel enquanto uma pequena câmera com gel é movida por todo o peito. Esta câmera estará conectada a uma máquina especial que irá mostrar e registrar imagens do seu coração batendo.*

QUAIS SÃO OS RISCOS DESTA ESTUDO?

A coleta de sangue poderá causar um desconforto temporário por causa da picada de agulha, hematoma e raramente, infecção. Às vezes, uma pessoa pode ficar tonta ou desmaiar quando o sangue for coletado.

QUAIS SÃO OS BENEFÍCIOS DESTE ESTUDO?

Não existem benefícios diretos relacionados à participação neste estudo. No entanto, as informações obtidas sobre a MPS VI a partir deste estudo serão muito valiosas e serão usadas no futuro em um estudo clínico de um novo tratamento que ainda está sendo pesquisado

POSSO RECUSAR A PARTICIPAÇÃO?

Você (seu filho) não é obrigado a participar neste estudo. A sua participação neste estudo é voluntária. A recusa em participar não terá conseqüências para os seus cuidados presentes ou futuros. Você (ou seu filho) poderá se retirar do estudo a qualquer momento. Os médicos ou o Patrocinador do estudo podem decidir parar o estudo ou não permitir a sua participação (ou de seu filho) se isto for do seu melhor interesse.

TENHO QUE PAGAR PARA PARTICIPAR ?

Os custos que você tiver com o transporte para e do hospital serão reembolsados, assim como os custos relativos ao seu alojamento durante o período em que estiver sendo avaliado no Serviço de Genética Médica do Hospital de Clínicas de Porto Alegre. Quaisquer hospitalizações ou tratamentos de complicações médicas relacionadas à sua doença (ou de seu filho), mas não relacionadas ao estudo, não serão cobertas. Você (seu filho) não serão pagos para participar deste estudo.

E SE EU/MEU FILHO FOR PREJUDICADO?

O DR. ROBERTO GIUGLIANI DEVERÁ SER NOTIFICADO SE VOCÊ SUSPEITAR QUE VOCÊ (OU SEU FILHO) FOI PREJUDICADO POR ESTAR NO ESTUDO. CUIDADOS MÉDICOS ESTARÃO DISPONÍVEIS NO HOSPITAL DE CLÍNICAS DE PORTO ALEGRE SE VOCÊ (SEU FILHO) SOFRER ALGUM DANO. A

BIOMARIN PHARMACEUTICAL, INC. IRÁ COBRIR OS GASTOS MÉDICOS NECESSÁRIOS PARA TRATAR O PROBLEMA, SE VOCÊ (SEU FILHO) FOR FISICAMENTE PREJUDICADO POR PROCEDIMENTOS DO ESTUDOS REALIZADOS ADEQUADAMENTE. NENHUMA OUTRA COMPENSAÇÃO SERÁ FORNECIDA PELA BIOMARIN PHARMACEUTICAL INC.

AS INFORMAÇÕES SOBRE MIM/MEU FILHO SE TORNARÃO PÚBLICAS?

A sua identidade (ou de seu filho) e outras informações pessoais obtidas neste estudo serão confidenciais. Informações científicas e médicas obtidas neste estudo, das quais a sua identidade (ou de seu filho) não poderá ser revelada, deverão ser apresentadas em encontros e publicadas a fim de tornar as informações obtidas neste estudo de benefício para os outros.

Representantes autorizados e designados do patrocinador, *Food and Drug Administration* dos EUA e agências regulamentares de outros países poderão precisar ver os registros.

QUEM POSSO CONTACTAR PARA DÚVIDAS?

Você está livre para fazer perguntas sobre este estudo clínico a qualquer momento. Quando você tiver dúvidas relacionadas a este estudo, poderá contactar:

-Dr. Roberto Giugliani
-Dra. Ida Schwartz
-Dra. Ana Cecília Azevedo
Hospital de Clínicas de Porto Alegre
Rua Ramiro Barcelos 2350
90035-003 – Porto Alegre – RS – Brasil
Telefone 51-33168309, 51-99017418

ANEXO 2

CARACTERIZAÇÃO GERAL DA AMOSTRA

Paciente	Sexo ¹	Etnia	Idade (meses)	Idade diagnóstico (meses)	Idade início dos sintomas ²	Nacionalidade Naturalidade ³	Consangüinidade
1	F	Branco	148	54	2	SP	Não
2	F	Branco	48	32	2	RS	Sim
3	F	Branco	186	42	2	MG	Sim
4	M	Branco	83	54	2	MG	Não
5	M	Branco	92	15	5	AL	Não
6	F	Branco	87	24	2	MT	Não
7	M	Branco	95	33	2	PE	Não
8	F	Mulato	77	60	8	MG	Não
9	M	Branco	137	54	2	RJ	Sim
10	F	Branco	112	104	5	RS	Não
11	F	Branco	168	43	2	SP	Sim
12	M	Branco	66	24	2	SP	Não
13	F	Negro	95	94	4	MG	Sim
14	M	Mulato	117	52	4	AM	Não
15	M	Mulato	100	35	3	AM	Não
16	F	Mulato	78	72	3	MS	Sim
17	M	Branco	60	20	1	ES	Não
18	F	Branco	101	72	2	RJ	Sim
19	F	Mulato	53	52	3	RJ	Sim
20	M	Mulato	112	109	2	PA	Não
21	M	Mulato	87	84	1	PA	Não
22	F	Mulato	65	60	6	BA	Sim
23	M	Branco	109	19	8	SP	Não
24	M	Índio	92	32	4	CHILE	Não
25	M	Branco	49	47	1	CE	Não
26	F	Hispânico	52	20	8	CHILE	Não
27	F	Mulato	131	24	2	RJ	Não
28	F	Índio	120	24	3	RJ	Não

1: M: masculino, F: feminino. 2: SP: São Paulo, RS: Rio Grande do Sul; MG: Minas Gerais; AL: Alagoas; MT: Mato Grosso; PE: Pernambuco; RJ: Rio de Janeiro; AM: Amazonas; MS: Mato Grosso do Sul; ES: Espírito Santo; PA: Pará, BA: Bahia; CE: Ceará. 3: dado não disponível=1, <6m=2, 6m-12m=3, 12m-18m=4, 18m-24m=5, 24-30m=6, 30-36m=7, >36m=8.

ANEXO 3

DADOS ANTROPOMÉTRICOS AO NASCIMENTO E NO MOMENTO DA AVALIAÇÃO

Paciente	Peso-nascimento (g)	Estatura-nascimento (cm)	Peso atual (g)	Estatura atual (de pé) (cm)	Estatura atual (deitado) (cm)	Estatura atual (sentado) (cm)	Perímetro cefálico atual. (cm)
1	3050	49	32500	117	-	61	57
2	3600	51	14000	89	89	46,5	53
3	3900	52	19600	108,5	-	54	54
4	2950	50,5	14900	-	-	50	52
5	2420	47	16500	97	-	48	54
6	3700	51	17500	109	109,3	57,2	56
7	3200	52	17900	103,5	-	55	56
8	3650	55	15000	-	-	48	55,5
9	4000	51	20500	103	-	52,5	54
10	3950	52	22200	107	-	55,6	53,5
11	2950	99	25300	100	-	52,5	56,5
12	3670	53	14300	-	93,4	48,9	55
13	3750	51	15200	-	93,5	49	51,5
14	3600	50	15400	-	98,3	49,4	54
15	3200	49	16200	-	98	49,7	51
16	4000	51	16200	-	98	49,4	54
17	2870	55	16800	-	94,6	40,4	54
18	3300	52	18000	-	94,5	48,2	54,5
19	3050	50	15900	-	-	51	52,5
20	9999	99	14700	100	-	47,5	50,5
21	9999	99	14300	95	-	50,6	51
22	3300	99	12100	89,1	-	99	53,5
23	3460	46	19400	100,3	-	54,6	52,5
24	3900	53	17600	80	80,1	48,2	52,5
25	4000	53	16200	96	-	54,2	49
26	3730	52	17500	97	-	55	51
27	3730	52	20400	97,5	97,7	55	60
28	3580	53	15500	89,8	89,8	51,8	56,5
Média	3481,1	51,3	17557,1	98,8	94,7	52,9	53,7
D.Padrão	418,8	2,1	4033,4	8,7	7,0	9,9	2,4
Mediana	3600	51,5	16350	98,7	94,5	50,8	54
Mínimo	2420	46	12100	80	80,1	40,4	49
Máximo	4000	55	32500	117	109,3	99	60

ANEXO 4

FREQÜÊNCIA DAS ALTERAÇÕES OFTALMOLÓGICAS NA AMOSTRA

Paciente	Eficiência visual média (OD e OE)	Biomicroscopia ¹		Pressão intra-ocular ²	
		OD	OE	OD	OE
1	3	++	++	22	20
2	-	-	-	-	-
3	42,2	+	+	18	24
4	69,9	+	+	15	15
5	87,4	+	+	20	18
6	83,4	+++	+++	18	18
7	100	+	+	19	18
8	91,4	+	+	16	16
9	76,7	+++	+++	17	17
10	100	-	-	-	-
11	7,5	++++	++++	28	26
12	76,65	+++	+++	-	-
13	91,4	+	+	-	-
14	83,4	+	+	15	15
15	73,3	+	++	20	22
16	76,7	+	+	20	20
17	71,1	-	-	-	-
18	83,4	+++	+++	24	23
19	-	-	-	-	-
20	87,4	-	-	-	-
21	100	-	-	-	-
22	100	+	+	12	12
23	91,4	++	+++	21	22
24	7,5	+++	+++	-	-
25	100	+	+	-	-
26	-	-	-	-	-
27	10	-	-	-	-
28	7,5	-	-	-	-

Espaços preenchidos com hífen correspondem a dado indisponível por não colaboração do paciente para a realização adequada do exame. 1: a biomicroscopia mede a opacificção corneana e pode variar de + a +++++. 2: valor de referência para a medida da pressão intra-ocular: até 20.

ANEXO 5

CARACTERIZAÇÃO BIOQUÍMICA DA AMOSTRA.

Paciente	Dosagem GAGS urina * (mg/mmol creat)	Vezes acima do limite superior p/ idade de GAGS urina	Atividade ARSB Leucócitos # (nmoles/h x mg proteína)
1	17	8	0
2	53	7	6
3	32	15	3
4	35	8	5
5	35	8	7
6	46	8	5
7	38	8	2
8	65	8	8
9	48	8	10
10	25	8	0
11	26	8	4
12	44	8	6
13	64	8	0
14	59	8	6
15	57	8	6
16	23	8	8
17	31	7	8
18	51	8	8
19	61	7	5
20	32	8	6
21	27	8	4
22	33	8	4
23	41	8	13
24	52	8	6
25	42	7	10
26	48	7	4
27	44	8	2
28	78	8	6
Média		7,9	5,4
Mediana		7,7,	6,0
Desv. Pad.		1	3
Variação		7,1-14,9	0-13

Valores de referência: *Gags na urina e mmg/ mmol creatinina: 4-5 anos: 9,3 - 12,7; 6-7 anos: 7,5 - 11,1; 8-9 anos: 6,8 - 10; 10-14 anos: 5,2 - 8,8; 15-19 anos: 2,8 - 5,4; >20 anos: 2,4 - 4,2. #

Valores de referência para a atividade da ARSB em leucócitos- 72-176 mmoles/h/mg prot.