



LISBOA

UNIVERSIDADE
DE LISBOA



FACULDADE DE
MEDICINA
LISBOA

TRABALHO FINAL

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA

Clínica Universitária de Medicina I

Défice de lipase ácida lisossomal

Ana Isabel Teodósio Zambujal Chicharo

JUNHO'2019



LISBOA

UNIVERSIDADE
DE LISBOA



FACULDADE DE
MEDICINA
LISBOA

TRABALHO FINAL

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA

Clínica Universitária de Medicina I

Défice de lipase ácida lisossomal

Ana Isabel Teodósio Zambujal Chicharo

Orientado por:

Dr. Diogo Nuno Fonseca da Cruz

JUNHO'2019

RESUMO

A lipase ácida lisossomal (LAL) é a enzima responsável pela hidrolização dos ésteres de colesterol e triglicéridos, desempenhando um papel fundamental no metabolismo lipídico.

O déficit de lipase ácida lisossomal (DLAL) enquadra-se nas doenças de sobrecarga lisossomal. Consiste numa doença autossômica recessiva que resulta de mutações no gene LIPA, com consequente ausência ou diminuição da atividade enzimática da LAL.

Na DLAL, podem-se distinguir dois fenótipos distintos: a doença de Wolman, que se manifesta no período neonatal e em que a atividade enzimática é quase nula, e a doença de depósitos de ésteres de colesterol, em que a atividade enzimática está diminuída e em que a idade de início e as manifestações são muito variáveis.

Clinicamente, esta entidade é caracterizada por níveis séricos elevados de colesterol-LDL e triglicéridos, aterosclerose acelerada e eventos cardiovasculares precoces, assim como por doença hepática progressiva, podendo manifestar-se com esteatose, fibrose e cirrose.

O diagnóstico é feito por *dried blood spot*, técnica que quantifica a atividade da LAL. Atualmente já está disponível uma terapêutica enzimática de substituição, a sebelipase alfa, que tem mostrado melhorias no perfil lipídico e nos marcadores de lesão hepática dos doentes, com evidência de eficácia clínica.

ABSTRACT

Lysosomal acid lipase (LAL) is an enzyme that hydrolyses cholesteryl esters and triglycerides, thereby playing a central role in lipid metabolism.

Lysosomal acid lipase deficiency (LALD) is an autosomal recessive lysosomal storage disease and is the result of mutations in the LIPA gene with consequent absence or decrease of LAL enzyme activity.

The phenotypic spectrum of LALD ranges from the infantile-onset form (Wolman disease), where LAL function is nearly absent, to a later-onset form known as cholesteryl

ester storage disease, where some LAL residual activity still remains and in which the age of onset and manifestations are very variable.

Clinical manifestations of LALD include elevated serum LDL-cholesterol and triglycerides, accelerated atherosclerosis and premature cardiovascular events. The lipid deposition in the liver can lead to steatosis, fibrosis and cirrhosis.

LALD diagnosis is based on the use of *dried blood spots (DBS)*, a technique that determines LAL functional levels. Currently, an enzyme replacement therapy, sebelipase alfa, is available, which is associated not only with improvements in the lipid profile, but also with improvements in the markers of liver damage in patients.

PALAVRAS-CHAVE

Défice de lipase ácida lisossomal; doença de Wolman; doença de depósitos de ésteres de colesterol; dislipidémia; terapêutica enzimática de substituição.

KEY WORDS

Lysosomal acid lipase deficiency; Wolman disease; cholesteryl ester storage disorder; dyslipidemia; enzyme replacement therapy.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACAT: acil-CoA:colesterol aciltransferase

DBS: *Dried blood spot*

DDEC: Doença de depósitos de ésteres de colesterol

DLAL: Déficit de lipase ácida lisossomal

DW: Doença de Wolman

EC: Ésteres de colesterol

ERMN: Espectroscopia por ressonância magnética

FDA: *Food and Drugs Administration*

HDL: *High-density lipoprotein*

HMGR: 3-hidroxi-3-metil-glutaril-CoA redutase

IDL: *Intermediate-density lipoprotein*

LAL: Lipase ácida lisossomal

LAMP: Lysosome-associated membrane protein

LDL: *Low-density lipoprotein*

LIMP: Lysosome membrane protein

RMN: Ressonância magnética

TG: Triglicéridos

VLDL: *Very-low-density lipoprotein*

ÍNDICE

1. Introdução.....	página 9
2. Genética.....	página 10
3. Epidemiologia.....	página 11
4. Fisiopatologia	página 12
5. Características clínicas, laboratoriais e anátomo-patológicas.....	página 13
6. Diagnóstico.....	página 15
6.1. Suspeita diagnóstica	
6.2. Confirmação do diagnóstico	
6.2.1. Medição da atividade da enzima LAL	
6.2.2. Análise molecular do gene LIPA	
7. Exames complementares de diagnóstico.....	página 18
8. Terapêutica.....	página 19
8.1. Suporte nutricional	
8.2. Terapêutica anti-dislipidémica	
8.3. Transplante de medula óssea	
8.4. Transplante hepático	
8.5. Terapêutica de substituição enzimática	
9. Seguimento.....	página 22
10. Prognóstico.....	página 23
11. Conclusão.....	página 24
12. Agradecimentos.....	página 25
13. Bibliografia.....	página 26

1. INTRODUÇÃO

A lipase ácida lisossomal (LAL) é uma enzima fundamental no metabolismo lipídico. A sua função consiste em hidrolisar ésteres de colesterol (EC) e mono-, di- e triglicéridos (TG), transformando-os em ácidos gordos e colesterol livre.¹ A LAL encontra-se em quase todas as células, com exceção dos eritrócitos.²

Sem esta enzima presente e funcionante, a via de metabolização dos EC e TG é interrompida, permanecendo estas macromoléculas acumuladas nos lisossomas, com particular destaque no fígado, baço, trato gastrointestinal, glândulas supra-renais e paredes dos vasos sanguíneos. Deste modo, o défice de lipase ácida lisossomal (DLAL) enquadra-se nas doenças de acumulação lisossomal, tal como a doença de Fabry, Gaucher ou Niemann-Pick.^{3 4 5}

O DLAL pode apresentar-se com dois fenótipos diferentes, consoante há uma diminuição da funcionalidade da enzima, no caso da Doença de Depósitos de Ésteres de Colesterol (DDEC), ou uma completa ausência da mesma, como se observa na doença de Wolman (DW).³

2. GENÉTICA

O gene LIPA, responsável pela codificação da LAL, encontra-se no braço longo do cromossoma 10, no locus 10q23.31.⁶ A LAL é uma proteína constituída por 399 aminoácidos, incluindo um *signal peptide* de 21 aminoácidos.⁷

O DLAL é uma doença de transmissão autossômica recessiva que resulta de mutações no gene LIPA, com conseqüente diminuição ou ausência da atividade enzimática da LAL. Na maioria dos casos, a DW resulta de mutações *nonsense* com deleções ou inserções no gene LIPA, que resultam numa função enzimática inferior a 1% dos valores de referência da LAL. Já a DDEC tem na sua base mutações, na sua maioria *missense*, que permitem uma função enzimática residual, entre 1 e 12% dos valores observados nos indivíduos sem a mutação.^{2 8} Apesar de já terem sido identificadas mais de 40 mutações, 61% dos casos reportados de DDEC são portadores de uma mutação específica que troca uma guanina por uma adenina na *splice junction* na posição E8SJM, no exão 8.⁹ Estes dados tornaram possível, através do rastreio genético desta mutação, estimar a prevalência da patologia na população.^{2 10}

3. EPIDEMIOLOGIA

O DLAL é uma doença rara, com uma incidência estimada de 1:40.000 recém-nascidos alemães e 1:300.000 hispânicos ou caucasianos. Calcula-se que 1:200 indivíduos seja portador do alelo mutado E8SJM. Aparentemente, não há discrepâncias no atingimento entre ambos os sexos.^{10 11}

Estima-se que a prevalência global desta patologia seja de 1:177.000, sendo que, especificamente, a DW tem uma prevalência estimada de 1:528.000 crianças e a DDEC de 1:130.000 a 1:370.000 pessoas.^{11 12 13 14}

Visto que o número de casos reportados é inferior a este, pensa-se que esta patologia estará sub-diagnosticada. Várias hipóteses se colocam como explicação deste facto: um quadro clínico pouco específico, sem nenhuma característica definidora da patologia, muitas vezes apenas com sintomatologia ligeira ou que se sobrepõe a doenças mais comuns.^{3 15}

Não foram encontrados estudos epidemiológicos sobre DLAL conduzidos em Portugal.

4. FISIOPATOLOGIA

Descrevendo o metabolismo lipídico fisiológico, as lipoproteínas ligam-se a um recetor específico na membrana celular dos hepatócitos e são incorporadas em vesículas endocíticas. A membrana destas vesículas vai-se fundir com a membrana dos lisossomas, permitindo que os EC e a componente proteica das lipoproteínas sejam hidrolisados pelas enzimas lisossomais (entre as quais a LAL) em colesterol livre e aminoácidos, respetivamente. A acumulação do colesterol na célula é responsável pela *upregulation* do gene da acil-CoA:colesterol aciltransferase (ACAT), aumentando a formação de EC a partir do colesterol livre, e pela *downregulation* dos genes da 3-hidroxi-3-metil-glutaril-CoA redutase (HMGR) e do recetor de LDL.^{16 17}

No DLAL, a ausência da enzima LAL impede a hidrolisação dos lípidos (colesterol LDL, IDL e quilomícrons) em moléculas de menores dimensões e passíveis de serem transportadas do lisossoma para o citoplasma das células. Assim, os EC e TG não hidrolisados acumulam-se no compartimento lisossomal, enquanto a concentração citoplasmática de colesterol diminui. Na tentativa de contrariar este défice, há uma resposta por parte da célula no sentido de promover a atividade do recetor de LDL na membrana plasmática e a síntese *de novo* de colesterol e ácidos gordos. Adicionalmente, conduz à estimulação da síntese de apolipoproteína B (Apo B100), no sentido de facilitar a libertação do colesterol intrahepático para a corrente sanguínea, incorporado em lipoproteínas como o VLDL, e ainda à diminuição da síntese do transportador ABCA1, responsável pela exocitose de partículas de HDL, com a conseqüente diminuição dos níveis séricos do colesterol HDL.^{6 18} Este desequilíbrio metabólico leva à acumulação progressiva de lípidos nos lisossomas dos hepatócitos e células de *Kupffer*, resultando em esteatose de predomínio microvesicular que pode levar a fibrose, cirrose micronodular e, em última instância, a insuficiência hepática. Os doentes vão apresentar uma dislipidémia do tipo IIb, com níveis séricos elevados de colesterol-LDL e TG simultaneamente com um decréscimo dos níveis de HDL. Por si só, este perfil lipídico é pró-aterogénico, e a este efeito adiciona-se a acumulação de células espumosas nas paredes dos vasos sanguíneos, que vai potenciar uma aterosclerose precoce e acelerada.⁹

5. CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS, LABORATORIAIS E ANATOMO-PATOLÓGICAS

A perda de função da enzima LAL está associada a um largo espectro de manifestações clínicas e, como já referido, o DLAL pode apresentar-se de duas formas fenotipicamente distintas.

A DW, em que há total ausência da atividade enzimática da LAL, é caracterizada pelo aparecimento de vômitos e diarreia durante o período neonatal. Para além disso, regista-se má absorção, atraso no crescimento e uma caquexia progressiva, devidas à presença de macrófagos ingurgitados com os depósitos de lípidos nas vilosidades intestinais.¹⁹ Ao exame objetivo salienta-se a hepatoesplenomegália, que surge nas primeiras semanas de vida e que pode atingir dimensões volumosas de modo a comprimir a caixa torácica, causando compromisso da função ventilatória do recém-nascido.

Por volta da sexta semana de vida, o aumento das células espumosas na medula óssea provoca anemia e trombocitopénia.

A esperança média de vida destas crianças é cerca de 3 a 6 meses, não se tendo registado nenhum caso em que, sem terapêutica, fosse atingido o primeiro ano de idade.⁵

A DW, ao contrário do DDEC, tem um achado patognomónico: o aumento de volume e a calcificação simétrica das glândulas supra-renais, visíveis em exames de imagem como a radiografia simples do abdómen ou a tomografia computadorizada. Estes achados estão presentes em cerca de 50% dos casos reportados.⁵

No DDEC, os sintomas são mais tardios e o espectro clínico é mais amplo que na DW. As manifestações clínicas podem surgir na infância, adolescência ou idade adulta, sendo que a idade média de aparecimento dos primeiros sintomas é aos 9 anos. Destacam-se a hepatomegália, em 99% dos doentes, e a hiperlipidémia, presente em 87% dos mesmos. Regista-se, ainda, numa percentagem significativa de doentes, um aumento dos valores séricos de colesterol total (63%) e colesterol LDL (64%), concomitantemente com um colesterol HDL reduzido (em 44%).²⁰

Como já referido, estes doentes apresentam um risco cardiovascular aumentado pela aterosclerose prematura. Assim, vão apresentar uma maior predisposição para doença coronária, enfarte agudo do miocárdio e acidente vascular cerebral.²⁴

Foram também reportados sintomas como vômitos, diarreia, dor e distensão abdominal, icterícia, esteatorreia, hemorragia gastrointestinal e disfunção da vesícula biliar.^{9 18}

As primeiras alterações que surgem nas análises sanguíneas são no perfil lipídico e nas transaminases hepáticas. Estas enzimas hepáticas apresentam o seu valor sérico aumentado em 92% dos doentes.

A afeção hepática na DDEC inclui esteatose hepática difusa com predomínio microvesicular, fibrose e cirrose micronodular (64.5% dos doentes) e ainda a hipertensão portal, com consequentes varizes esofágicas e ascite (63—87% dos pacientes).^{5 21} Um aspeto particular da esteatose apresentada é a coloração alaranjada do fígado, visível na laparoscopia, resultante da deposição de EC, que difere da aparência amarelada associada à acumulação de TG predominante em doenças como a esteatose hepática ou a esteato-hepatite alcoólica ou não alcoólica.²³ Um estudo de 2017 mostrou que 66% dos doentes com DLAL estavam em risco de necessitar de um transplante hepático.²²

Pacientes com sinais e sintomas mais ligeiros ou menos específicos podem permanecer sem diagnóstico até um evento cardiovascular precoce, morte súbita no contexto de insuficiência hepática ou necessidade de transplante.²⁵

6. DIAGNÓSTICO

6.1. SUSPEITA DIAGNÓSTICA

O diagnóstico do DLAL constitui um desafio aos clínicos pela sua raridade, pela escassez de sinais e sintomas nos fenótipos mais ténues da doença e pela sobreposição das manifestações com outras patologias (sejam elas cardiovasculares, hepáticas ou metabólicas) mais frequentes na população. A junção destes fatores resulta, muitas vezes, num diagnóstico incorreto ou tardio.²⁵

O reconhecimento desta patologia é feito com base numa colheita minuciosa da história clínica e realização do exame objetivo, análises bioquímicas sugestivas, determinação laboratorial do défice enzimático e, por último, na análise molecular do gene LIPA.⁵

A suspeita diagnóstica deve surgir perante pacientes com hepatomegália e alterações nos marcadores de lesão hepática e no perfil lipídico sem etiologia aparente.

Em doentes com lesão hepática, o DLAL deve ser considerado como hipótese diagnóstica perante casos de hepatomegália, aspartato aminotransferase persistentemente acima dos valores de referência ou doença hepática progressiva de origem indeterminada. É importante excluir hepatite B e hepatite C, numa primeira abordagem, e hepatopatias auto-imunes, hemocromatose, défice de alfa 1-antitripsina, doença de Wilson, doença de Gaucher e doença de Niemann-Pick, numa abordagem mais intensiva. Neste sentido, devem ser pedidos os doseamentos de auto-anticorpos, ferritina, alfa 1-antitripsina e ceruplasmina. O diagnóstico diferencial com esteatohepatite não alcoólica pode ser um desafio, visto que esta entidade define-se como um diagnóstico de exclusão.^{5 26}

6.2. CONFIRMAÇÃO DO DIAGNÓSTICO

6.2.1. MEDIÇÃO DA ATIVIDADE DA ENZIMA LAL

A confirmação do diagnóstico baseia-se na evidência da diminuição da atividade da LAL. Inicialmente, a medição da atividade enzimática era realizada em leucócitos ou fibroblastos.^{27 28} Estes métodos têm a vantagem de revelar uma discrepância entre os valores registados nos pacientes com DW e nos com DDEC, permitindo diferenciar as duas entidades. Os pacientes com DW geralmente apresentam atividade enzimática

inferior a 1% do normal, enquanto que os com DDEC têm atividade residual que pode chegar aos 12% do esperado.²⁹

Atualmente, a técnica mais utilizada é a *dried blood spot* (DBS). Nesta técnica, não há correlação entre os níveis de LAL e o fenótipo da doença (DW ou DDEC). No entanto, a capacidade do método DBS em identificar inequivocamente os casos mais ligeiros e a facilidade da recolha e transporte da amostra tornam-no preferencial.³⁰

Devido à existência de diferentes lipases, tanto intra- como extra-celulares, é necessário o uso de um inibidor da LAL para padronizar a medição da DBS. Assim, utiliza-se o *Lalstat 2*, um inibidor específico da LAL que, ao não interferir com outras lipases, permite medir e interpretar a atividade desta enzima pela comparação entre os resultados obtidos na incubação da LAL na presença e na ausência do inibidor. A técnica DBS usando o *Lalstat 2* mostrou discriminar de forma confiável e reproduzível os indivíduos afetados e não afetados pelo DLAL.^{31 32}

É essencial uma correta preparação e armazenamento da amostra para prevenir a deterioração da atividade da enzima.³³ Uma amostra de má qualidade pode comprometer uma medição correta da LAL e um falso-positivo pode conduzir a um diagnóstico errado de DLAL. Para contornar esta questão, é aconselhado fazer em paralelo a medição de outra enzima para ser usada como controlo. A beta galactosidase é a mais frequentemente escolhida pela estabilidade semelhante à LAL no DBS, pela facilidade de realização e pelos custos reduzidos. Sendo assim, uma beta galactosidase normal implica integridade da técnica e qualidade da amostra.³⁴

Se a técnica DBS revela uma atividade enzimática dentro dos valores de referência (0,5 – 2.3 nmol/*punch*/h), pode-se excluir a hipótese de défice enzimático. No entanto, se o DBS mostrar uma atividade enzimática inferior ao que é expectável num indivíduo saudável (<0,5 nmol/*punch*/h), há que confirmar esse resultado: repetir o teste com nova amostra, medir a LAL em fibroblastos ou leucócitos ou fazer a sequenciação genética.⁵

6.2.2. ANÁLISE MOLECULAR DO GENE LIPA

Na presença de um paciente com um teste DBS revelador de uma atividade diminuída da enzima LAL, pode proceder-se à sequenciação do gene LIPA para identificação de eventuais mutações.^{35 31} Nestes casos, o DNA genómico é extraído a partir de células leucocitárias do sangue periférico e os exões e as regiões de transição entre exões e intrões são amplificados através da *Polymerase Chain Reaction*, usando *primers* desenhados de acordo com a sequência do gene LIPA.³⁶

7. EXAMES COMPLEMENTARES DE DIAGNÓSTICO

Os exames complementares disponíveis no diagnóstico e seguimento dos doentes com DLAL são fundamentalmente dirigidos à patologia hepática.

A biópsia constitui um ótimo exame para avaliação do compromisso hepático e pode levantar a suspeita de DLAL.²⁵ Não deve, no entanto, ser esquecido que não é suficiente para efetuar um diagnóstico definitivo. Para além disso, é um exame invasivo, com risco de a amostra não ser representativa e de possíveis complicações, entre as quais a hemorragia.^{35 37} Tipicamente, a análise histológica da biópsia hepática de um paciente com DLAL revela esteatose de predomínio microvesicular ao nível dos hepatócitos, células de *Kupffer*, e macrófagos portais, que pode evoluir para fibrose e cirrose micronodular.³⁸ A marcação imunológica com catepsina D, uma proteína presente no lúmen dos lisossomas, e de LAMP1, LAMP2 e LIMP2 presentes na membrana do organelo, permite localizar os depósitos lipídicos no interior dos lisossomas.^{9 39} No microscópio eletrónico, é possível ainda detetar depósitos lipídicos na forma de TG nas células de *Kupffer* e macrófagos portais, bem como cristais de colesterol armazenados nos hepatócitos.³⁸ A birrefringência de cristais de EC nos hepatócitos e células de *Kupffer*, quando colocados sob luz polarizada, é patognomónica da doença.^{9,38}

A espectroscopia por ressonância magnética (ERMN) é um método não invasivo que caracteriza as alterações do conteúdo lipídico do fígado. Nos pacientes com DLAL, revela acumulação de EC pelas células hepáticas, sem as limitações associadas à biópsia de uma amostra que pode não ser representativa de todo o fígado. Esta técnica surge, assim, como uma alternativa fiável e segura à biópsia do tecido hepático. No entanto, ainda não se encontra disponível em Portugal.³⁷

Para avaliação da fibrose hepática de modo não invasivo há ainda a salientar a elastografia por *Fibroscan*. Este método parece ter potencial na monitorização destes doentes mas ainda não apresenta correlação com a atividade da LAL e é pouco usado atualmente.⁴⁰

Por último, a realização de biópsia intestinal nestes doentes mostra evidência de acumulação lipídica na mucosa do duodeno e do intestino delgado, devido à presença de macrófagos com vacúolos preenchidos por EC e TG.^{5 9}

8. TERAPÊUTICA

8.1. SUPORTE NUTRICIONAL

Particularmente na DW é fundamental a gestão da nutrição da criança, que muitas vezes requer alimentação parentérica devido à má-absorção. Podem ser iniciadas fórmulas pobres em lípidos ou suplementos que, apesar de tudo, não impedem a desnutrição.⁴¹

8.2. TERAPÊUTICA ANTI-DISLIPIDÉMICA

Para além das recomendações de uma dieta pobre em gorduras, o uso de fármacos hipolipemiantes parece desempenhar um papel importante na abordagem destes doentes.

As estatinas, ao serem inibidoras da HMG-CoA redutase, reduzem a síntese de colesterol endógeno. No entanto, ainda não foram realizados estudos que demonstrem que o seu uso em monoterapia ou em terapia combinada com outros fármacos anti-dislipidémicos tenha a eficácia apresentada em pacientes com hipercolesterolemia por outras causas.⁴² O perfil lipídico pode melhorar mas não é suficiente para influenciar de maneira positiva o *outcome* do doente, tendo-se inclusivamente tentado a administração conjunta com ezetimibe ou colestiramina.

É de referir que as estatinas podem potenciar o processo patológico na medida em que, ao diminuir a síntese de colesterol livre, vão estimular o *uptake* de LDL pelos hepatócitos, disponibilizando mais EC e TG para se acumularem nos lisossomas. A longo prazo, a progressão da lesão hepática e a fibrose nestes pacientes não é atrasada pela administração destes fármacos, tendo sido até especulado que o seu uso pode aumentar o depósito de EC pela *up regulation* do recetor de LDL, contribuindo para o agravamento da esteatose hepática já instalada.^{9 41}

Em relação ao ezetimibe, este diminui a absorção de colesterol no intestino, diminuindo por consequência a circulação enterohepática do mesmo. Havendo menos mobilização de EC e TG para o fígado, os depósitos de colesterol diminuem e os níveis séricos de LDL também. Para além disso, atua também diminuindo a inflamação hepática que conduz à fibrose. Só foram encontrados relatos de dois doentes tratados com Ezetimibe, mas não houve registo de progressão da doença hepática ao fim de 9 e 10 anos, apresentando apenas ligeira fibrose na elastografia *Fibroscan*.⁴³

8.3. TRANSPLANTE DE MEDULA ÓSSEA

Há relatos de sucesso deste transplante a longo prazo em pacientes com DW atribuídos ao facto de as células do dador fornecerem LAL aos lisossomas do recetor do transplante, normalizando os níveis de EC e TG.^{44 45} No entanto, estes casos são raros, sendo que na maioria dos submetidos ao transplante não se registaram melhorias na morbilidade ou mortalidade.⁴⁶

8.4. TRANSPLANTE HEPÁTICO

A evidência é limitada a alguns casos, principalmente crianças, sendo difícil tirar conclusões acerca da eficácia desta intervenção.^{5 47 48}

O transplante pode ser necessário em caso de falência hepática, no entanto, não corrige o défice de LAL que constitui a base fisiopatológica da doença. Assim, não previne a progressão sistémica da DLAL, com o aumento de risco cardiovascular associado à aterosclerose e a recorrência da esteatose, fibrose e cirrose no enxerto hepático.⁴⁹

8.5. TERAPÊUTICA DE SUBSTITUIÇÃO ENZIMÁTICA

A base desta terapêutica é a administração exógena de uma molécula recombinante com a mesma sequência de aminoácidos que a LAL, a sebelipase alfa. Esta enzima é obtida em laboratórios de engenharia genética e tem como propósito repor a atividade fisiológica da LAL, que se revela insuficiente nos doentes com DDEC ou DW.⁵⁰

Foi aprovada em 2015 pela Comissão Europeia e pela *US Food and Drugs Administration* (FDA) para o tratamento a longo prazo do DLAL em pacientes com todas as idades.⁵¹

Na DDEC, a dose recomendada é de 1 miligrama por quilograma, administrado de 15 em 15 dias. Na DW, a dose pode ser escalada até 3 miligramas por quilograma, de acordo com a resposta da criança.⁵²

Estudos mostraram que o tratamento com sebelipase alfa cursa com uma diminuição do LDL e TG e aumento do HDL séricos, com manutenção destes efeitos um ano após a terapêutica. No entanto, nas primeiras 2 a 4 semanas de terapêutica registaram-se

aumentos nos valores de colesterol e TG séricos, atribuídos à hidrólise destas moléculas no fígado e consequente mobilização para a circulação sistémica. A longo prazo, esta melhoria nos biomarcadores aterogénicos permite inferir uma redução do risco cardiovascular, apesar de serem necessários mais estudos para comprovar que estas melhorias nos parâmetros laboratoriais se traduzem, de facto, numa melhoria clínica e estatisticamente significativa. É de salientar que estas alterações analíticas ocorreram independentemente do uso de terapêutica anti-dislipidémica concomitante, o que suporta a ideia de que é fundamental o tratamento dirigido ao mecanismo fisiopatológico subjacente ao DLAL. Registou-se ainda uma normalização dos valores séricos das enzimas hepáticas (alanina aminotransferase e aspartato aminotransferase) e uma diminuição do volume hepático, com diminuição da fração lipídica do fígado.^{50 53 54 55 56}
57

A sebelipase alfa é um medicamento geralmente bem tolerado, com efeitos secundários sobreponíveis aos do grupo placebo em termos de distribuição e frequência. São reportados efeitos adversos em cerca de 20% dos doentes, sendo o mais frequente a cefaleia (40%), nasofaringite (35%), tosse (28%), febre (25%), dor abdominal (23%) e infeção do trato respiratório superior (22%). A maioria são de intensidade ligeira a moderada e não obrigam a interrupção ou suspensão do fármaco.⁵⁰

Os efeitos adversos mais preocupantes foram descritos em cerca de 3% dos doentes e incluem sinais e sintomas de reações alérgicas, nomeadamente desconforto torácico, dispneia, *rash* pruriginoso e aumento da frequência cardíaca ou respiratória.⁵²

9. SEGUIMENTO

Após o diagnóstico, é fundamental estabelecer a extensão da doença e avaliar a sua progressão ao longo do tempo. Apesar de não haver um conjunto de orientações específicas para a vigilância dos doentes com DLAL, há várias recomendações na literatura para o seu seguimento.

Em todos os casos, devem ser pedidas análises laboratoriais que incluam um hemograma com contagem plaquetária, provas de coagulação, perfil lipídico em jejum e marcadores de disfunção hepática. É também aconselhável monitorizar imagiologicamente o volume hepático e esplénico por RMN, bem como quantificar o conteúdo lipídico hepático, o que pode ser feito de modo não invasivo através de uma espectroscopia por RMN. A realização de biópsia hepática deve ser considerada de acordo com o risco individual.^{8 25}

No caso de patologia hepática grave, deve-se ponderar a realização de uma endoscopia digestiva alta para averiguar a presença de varizes esofágicas.²⁵

Foi recentemente estimado, de acordo com fórmula *Framingham*, que o risco cardiovascular dos doentes com DLAL era 54% superior ao da população em geral. Deste modo, é de extrema importância o controlo apertado dos fatores de risco para doença cardiovascular, bem como a deteção precoce de possíveis complicações. Pode-se considerar uma ecografia carotídea com Doppler, para avaliar a espessura da camada íntima do vaso e averiguar a presença de placas ateroscleróticas, no entanto, a sua realização já não está recomendada por não se ter estabelecido uma relação fiável com o prognóstico do doente.⁵

É também recomendado encaminhar para consulta de nutrição as crianças com diarreia crónica e défice de crescimento, compatíveis com um quadro de má absorção. Adicionalmente, uma equipa de nutricionistas pode ajudar doentes de todas as idades no aconselhamento de uma dieta pobre em lípidos.⁸

Para além disto, o doente e os seus familiares (pais e irmãos) devem ser referenciados a uma consulta de aconselhamento genético de modo a conhecerem o risco de transmissão da mutação.¹⁸

10. PROGNÓSTICO

A evolução natural da DLAL conduz a um aumento do risco de insuficiência hepática, doença cardiovascular e morte, mesmo em pacientes com quadros clínicos assintomáticos e lentamente progressivos.⁵

A progressão da doença e o impacto das manifestações clínicas na qualidade de vida do doente é muito variável. Há casos de crianças sofrem de insuficiência hepática nos primeiros meses ou anos de vida e necessitam de transplante hepático. No total, cerca de 13% dos doentes são submetidos a esta intervenção.²¹ Outra percentagem significativa de doentes sofre das complicações cardiovasculares da DLAL, nas quais se inclui a doença arterial coronária, acidente vascular cerebral e aneurismas.²⁵

A maioria das mortes (cerca de 73%) ocorre por insuficiência hepática ou hemorragia digestiva devido às varizes esofágicas.⁹

11. CONCLUSÃO

O DLAL é uma doença de sobrecarga lisossomal caracterizada pela acumulação de colesterol nos lisossomas. Manifesta-se por um envolvimento multissistémico progressivo, afetando particularmente o fígado, baço, intestino e sistema cardiovascular.

É uma patologia rara e cujo diagnóstico implica alto índice de suspeição. Sugere-se que seja mais frequentemente considerada no diagnóstico diferencial de doenças hepáticas crónicas de etiologia desconhecida (esteato-hepatite não alcoólica) ou conhecida (esteato-hepatite alcoólica), bem como de dislipidémia grave.

Só através da consciencialização e informação sobre a doença é possível um reconhecimento acertado e atempado da mesma, com confirmação por gota seca DBS. Para além disso, é essencial uma abordagem terapêutica eficaz, baseada na terapêutica enzimática de substituição com sebelipase alfa, com o objetivo de prevenir a realização de transplantes hepáticos e reduzir as mortes prematuras por causas cardiovasculares.

12. AGRADECIMENTOS

Queria deixar uma palavra de agradecimento ao Professor Doutor Ducla Soares, pela sugestão do tema que tanto gostei de explorar. Um agradecimento muito grande também ao Dr. Diogo Cruz, por ter aceite a responsabilidade de orientar este trabalho e por toda a ajuda ao longo do processo.

À minha irmã, aos meus pais e aos meus avós. Às nove que cresceram ao meu lado. E a todos os que me acompanharam neste percurso na Faculdade de Medicina de Lisboa. Sem vocês, estes seis anos teriam sido impossíveis. Obrigada.

“Tu tornas-te eternamente responsável por aquilo que cativas.”

Antoine de Saint-Exupéry

13. BIBLIOGRAFIA

1. Desai NK, Wilson DP. *NCBI Bookshelf - Endotext*. 2016:1-7.
2. Aguisanda F, Thorne N, Zheng W. Targeting Wolman Disease and Cholesteryl Ester Storage Disease: Disease Pathogenesis and Therapeutic Development. *Curr Chem Genomics Transl Med*. 2017;11(1):1-18. doi:10.2174/2213988501711010001
3. Bay L, Canero Velasco C, Ciocca M, et al. Liver disease and dyslipidemia as a manifestation of lysosomal acid lipase deficiency (LAL-D). Clinical and diagnostic aspects, and a new treatment. An update. *Arch Argent Pediatr*. 2017;115(3):287-293. doi:http://dx.doi.org/10.5546/aap.2017.eng.287
4. Valayannopoulos V, Mengel E, Brassier A, Grabowski G. Lysosomal acid lipase deficiency: Expanding differential diagnosis. *Mol Genet Metab*. 2017;120(1-2):62-66. doi:10.1016/j.ymgme.2016.11.002
5. Camarena C, Aldamiz-Echevarria LJ, Polo B, et al. Update on lysosomal acid lipase deficiency: Diagnosis, treatment and patient management. *Med Clínica (English Ed)*. 2017;148(9):429. doi:10.1016/j.medcle.2017.04.021
6. Weiskirchen R. Fast progression of liver damage in lysosomal acid lipase deficiency. *Curr Med Res Opin*. 2017;33(11):2081-2083. doi:10.1080/03007995.2017.1335193
7. Aslanidis C, Klima H, Lackner KJ, Schmitz G. Genomic organization of the human lysosomal acid lipase gene (LIPA). *Genomics*. 1994;20(2):329-331. doi:10.1006/geno.1994.1180
8. Hoffman EP, Barr ML, Giovanni MA, Murray MF. Lysosomal Acid Lipase Deficiency. *GeneReviews® - NCBI Bookshelf*. 2015:1-14.
9. Bernstein DL, Hülkova H, Bialer MG, Desnick RJ. Cholesteryl ester storage disease: Review of the findings in 135 reported patients with an underdiagnosed disease. *J Hepatol*. 2013;58(6):1230-1243. doi:10.1016/j.jhep.2013.02.014
10. Muntoni S, Wiebusch H, Jansen-Rust M, et al. Prevalence of Cholesteryl Ester Storage Disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2007;27(8):1866-1868. doi:10.1161/ATVBAHA.107.146639

11. Scott SA, Liu B, Nazarenko I, et al. Frequency of the cholesteryl ester storage disease common LIPA E8SJM mutation (c.894G>A) in various racial and ethnic groups. *Hepatology*. 2013;58(3):958-965. doi:10.1002/hep.26327
12. Carter A, Brackley SM, Gao J. The global prevalence and genetic spectrum of lysosomal acid lipase deficiency : A rare condition that mimics NAFLD. *J Hepatol*. 2019;70(1):142-150. doi:10.1016/j.jhep.2018.09.028
13. Poupětová H, Ledvinová J, Berná L, Dvořáková L, Kožich V, Elleder M. The birth prevalence of lysosomal storage disorders in the Czech Republic: Comparison with data in different populations. *J Inherit Metab Dis*. 2010;33(4):387-396. doi:10.1007/s10545-010-9093-7
14. Meikle P, Hopwood J, Clague A, Carey W. Prevalence of lysosomal storage disorders. *Jama*. 1999;281(3):249-254. doi:10.1001/jama.281.3.249.
15. Moodie D. Lysosomal Acid Lipase Deficiency. *Congenit Hear Dis*. 2015;10:191-192. doi:10.1111/chd.12274
16. Tanaka a. Acid lipase deficiency: Wolman disease and cholesteryl ester storage disease. *Nippon rinsho Japanese J Clin Med*. 1995;53(12):3004-3008. doi:10.5275/ijcr.2011.11.05
17. Goldstein JL, Dana SE, Faust JR, Beaudet AL, Brown MS. Role of Lysosomal Acid Lipase in the Metabolism Density Lipoprotein of Plasma Low. *J Biol Chem*. 1975;250(21):8487-8495.
18. Jurecka A, Tyłki-Szyma A. Lysosomal acid lipase deficiency: Wolman disease and cholesteryl ester storage disease. *Prilozi*. 2014.
19. Sun Y, Xu Y-H, Du H, et al. Reversal of advanced disease in lysosomal acid lipase deficient mice: A model for lysosomal acid lipase deficiency disease. *Mol Genet Metab*. 2014;112(3):229-241. doi:10.1016/j.ymgme.2014.04.006
20. Ayhan G, Tuna C. The Frequency of Lysosomal Acid Lipase Deficiency in Children With Unexplained Liver Disease. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition* 2019; 68 (3): 371-376. doi:10.1097/MPG.0000000000002224
21. Burton BK, Deegan PB, Enns GM, et al. Clinical Features of Lysosomal Acid Lipase Deficiency. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2015;61(6):619-625.

doi:10.1097/MPG.0000000000000935

22. Burton BK, Silliman N, Marulkar S. Progression of liver disease in children and adults with lysosomal acid lipase deficiency. *Curr Med Res Opin.* 2017;33(7):1211-1214. doi:10.1080/03007995.2017.1309371
23. Cruz D, Ricardo I, Colaço I, Faria F, Pereira L. Défice de lipase ácida lisossomal – Uma causa genética desconhecida de doença cardiovascular. 2015:35-41.
24. Reiner Ž, Guardamagna O, Nair D, et al. Lysosomal acid lipase deficiency – An under-recognized cause of dyslipidaemia and liver dysfunction. 2014;235(14):21-30.
25. Zandanell S, Primavesi F, Aigner E. Hepatosteatosi from Lysosomal Acid Lipase Deficiency. *Journal of Gastrointestinal Surgery.*2019:601-602.
26. Decarlis S, Agostoni C, Ferrante F, Scarlino S, Riva E, Giovannini M. Combined hyperlipidaemia as a presenting sign of cholesteryl ester storage disease. *J Inherit Metab Dis.* 2009;32(SUPPL. 1):6-11. doi:10.1007/s10545-008-1027-2
27. Kelly S, Bakhru-Kishore R. Fluorimetric assay of acid lipase in human leukocytes. *Clin Chim Acta.* 1979;97(2-3):239-242. doi:10.1016/0009-8981(79)90421-2
28. Guy GJ, Butterworth J. Acid esterase activity in cultured skin fibroblasts and amniotic fluid cells using 4-methylumbelliferyl palmitate. *Clin Chim Acta.* 1978;84(3):361-371.
29. Aslanidis C, Ries S, Fehringer P, Buchler C, Klima H, Shmitz G. Genetic and Biochemical Evidence That CESD and Wolman Disease Are Distinguished by Residual Lysosomal Acid Lipase Activity. *Genomics.* 1996;33(162):85-93.
30. Civallero G, De Mari J, Bittar C, Burin M, Giugliani R. Extended use of a selective inhibitor of acid lipase for the diagnosis of Wolman disease and cholesteryl ester storage disease. *Gene.* 2014;539(1):154-156. doi:10.1016/j.gene.2014.02.003
31. Lukacs Z, Barr M, Hamilton J. Best practice in the measurement and interpretation of lysosomal acid lipase in dried blood spots using the inhibitor Lalistat 2. *Clin Chim Acta.* 2017;471(May):201-205. doi:10.1016/j.cca.2017.05.027
32. Hamilton J, Jones I, Srivastava R, Galloway P. A new method for the measurement

- of lysosomal acid lipase in dried blood spots using the inhibitor Lalistat 2. *Clin Chim Acta*. 2012;413(15-16):1207-1210. doi:10.1016/j.cca.2012.03.019
33. Adam BW, Orsini JJ, Martin M, et al. The preparation and storage of dried-blood spot quality control materials for lysosomal storage disease screening tests. *Clin Biochem*. 2011;44(8-9):704-710. doi:10.1016/j.clinbiochem.2011.02.014
 34. Gasparotto N, Tomanin R, Frigo AC, et al. Rapid diagnostic testing procedures for lysosomal storage disorders: α -glucosidase and β -galactosidase assays on dried blood spots. *Clin Chim Acta*. 2009;402(1-2):38-41. doi:10.1016/j.cca.2008.12.006
 35. Curiati M, Obikawa S, Kyosen V, Pereira G, Silva FR da P, Martins AM. Lysosomal Acid Lipase Deficiency: Report of Five Cases Across the Age Spectrum. *Case Rep Pediatr*. 2018. doi:10.1155/2018/4375434
 36. Pisciotta L, Fresa R, Bellocchio A, et al. Cholesteryl Ester Storage Disease (CESD) due to novel mutations in the LIPA gene. *Mol Genet Metab*. 2009;97(2):143-148. doi:10.1016/j.ymgme.2009.02.007
 37. Thelwall P, Smith F, Leavitt M, et al. Hepatic cholesteryl ester accumulation in lysosomal acid lipase deficiency: Non-invasive identification and treatment monitoring by magnetic resonance. *J Hepatol*. 2013;59(3):543-549. doi:10.1016/j.jhep.2013.04.016
 38. Tommaso A, Barra F, Hessel G, Moreno C, Giugliani R, Escanhoela C. Importância da biópsia hepática no diagnóstico da deficiência de lipase ácida lisossomal: relato de caso. *Rev. Paul. Pediatric*. 2018:1-4.
 39. Hulková H, Elleder M. Distinctive histopathological features that support a diagnosis of cholesterol ester storage disease in liver biopsy specimens. *Histopathology*. 2012;60(7):1107-1113. doi:10.1111/j.1365-2559.2011.04164.x
 40. Harrison SA. Management of lysosomal acid lipase deficiency for the gastroenterologist and hepatologist. *Gastroenterol Hepatol*. 2016;12(5):331-333.
 41. Erwin AL. The role of sebelipase alfa in the treatment of lysosomal acid lipase deficiency. *Therap Adv Gastroenterol*. 2017;10(7):553-562. doi:10.1177/1756283X17705775
 42. Iverson SA, Ward CP. Asymptomatic cholesteryl ester storage disease in an adult

- controlled with simvastatin. *Ann Clin Biochem.* 1997;433-436.
43. Di Rocco M, Pisciotta L, Madeo A, Bertamino M, Bertolini S. Long term substrate reduction therapy with ezetimibe alone or associated with statins in three adult patients with lysosomal acid lipase deficiency. *Orphanet J Rare Dis.* 2018;13(1):1-6. doi:10.1186/s13023-018-0768-8
 44. Tolar J, Petryk A, Khan K, et al. Long-term metabolic, endocrine, and neuropsychological outcome of hematopoietic cell transplantation for Wolman disease. *Bone Marrow Transplant.* 2009;43(1):21-27. doi:10.1038/bmt.2008.273
 45. Krivit W, Peters C, Dusenbery K, et al. Wolman disease successfully treated by bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 2000;26(5):567-570. doi:10.1038/sj.bmt.1702557
 46. Gramatges M, Dvorak C, Regula D, Enns GM, Weinberg K, Agarwal R. Pathological evidence of Wolman's disease following hematopoietic stem cell transplantation despite correction of lysosomal acid lipase activity. *Bone Marrow Transplant.* 2009;44(7):449-450. doi:10.1038/bmt.2009.57
 47. Leone L, Ippoliti PF, Antonicelli R, Balli F, Gridelli B. Treatment and liver transplantation for cholesterol ester storage disease. *J Pediatr.* 1995;127(3):509-510. doi:10.1016/S0022-3476(95)70103-6
 48. Arterburn J, Lee W, Wood R, Shaw B, Markin, R. Orthotopic Liver Transplantation for Cholesteryl Ester Storage Disease. *Journal of Clinical Gastroenterology.* 1991;13(4): 482-484
 49. Bernstein DL, Lobritto S, Iuga A, et al. Lysosomal acid lipase deficiency allograft recurrence and liver failure- clinical outcomes of 18 liver transplantation patients. *Mol Genet Metab.* 2018;124(1):11-19. doi:10.1016/j.ymgme.2018.03.010
 50. Wilson DP, Marulkar S, Tripuraneni R, Burton BK. Sebelipase Alfa Improves Atherogenic Biomarkers in Adults and Children With Lysosomal Acid Lipase Deficiency. *J Clin Lipidol.* 2017;11(3):789-790. doi:10.1016/j.jacl.2017.04.030
 51. Sebelipase alfa Approval Letter. *Center for Drug Evaluation and Research.* 2013:1-7. doi:10.13664/j.cnki.pcr.2011.05.029
 52. Kanuma - sebelipase alfa. *European Medicine Agency - Science Medicine Health.*

2015;44(0):1-3.

53. Valayannopoulos V, Malinova V, Honzík T, et al. Sebelipase alfa over 52 weeks reduces serum transaminases, liver volume and improves serum lipids in patients with lysosomal acid lipase deficiency. *J Hepatol.* 2014;61(5):1135-1142. doi:10.1016/j.jhep.2014.06.022
54. Bruckert E, Marulkar S, Friedman M, Wilson D. Sebelipase alfa improves atherogenic biomarkers in children and adults with lysosomal acid lipase deficiency. *Atherosclerosis.* 2017;263(2017):225-226. doi:10.1016/j.atherosclerosis.2017.06.735
55. Burton BK, Marulkar S, Friedman M, Tripuraneni R, Furuya KN. Long-term benefit of sebelipase alfa over 76 weeks in children and adults with lysosomal acid lipase deficiency (ARISE). Poster presented at WORLD Symposium 2017; 13-17 February 2017; San Diego, CA, USA. *Mol Genet Metab.* 2016;120(1-2):S33. doi:10.1016/j.ymgme.2016.11.056
56. Burton BK, Balwani M, Feillet F, et al. A Phase 3 Trial of Sebelipase Alfa in Lysosomal Acid Lipase Deficiency. *N Engl J Med.* 2015;373(11):1010-1020. doi:10.1056/NEJMoa1501365
57. Balwani M, Breen C, Enns GM, et al. Clinical effect and safety profile of recombinant human lysosomal acid lipase in patients With cholesteryl ester storage disease. *Hepatology.* 2013;58(3):950-957. doi:10.1002/hep.26289