



## **FIND: a importância do diagnóstico no tratamento das mucopolissacaridoses**

*FIND: the importance of early diagnosis in mucopolysaccharidoses*

Paulo Gaspar<sup>1</sup>, Sandra Alves<sup>2</sup>, Elisa Leão Teles<sup>3</sup>, Laura Vilarinho<sup>1,2</sup>

paulo.gaspar@insa.min-saude.pt

(1) Unidade de Rastreio Neonatal, Metabolismo e Genética. Departamento de Genética Humana, Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, Porto, Portugal.

(2) Unidade de Investigação e Desenvolvimento. Departamento de Genética Humana, Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, Porto, Portugal.

(3) Secção de Doenças Hereditárias do Metabolismo, Sociedade Portuguesa de Pediatria, Porto, Portugal.

### **\_Resumo**

As Mucopolissacaridoses (MPS) são um sub-grupo das Doenças Lisossomais de Sobrecarga, causadas por deficiências em enzimas lisossomais, que catalisam a degradação dos glicosaminoglicanos (também designados GAGs ou mucopolissacarídeos), que se acumulam nos lisossomas de diferentes órgãos e tecidos. As MPS têm apresentação multissistémica, com diferentes graus de gravidade, e evolução variável. Sendo patologias de apresentação heterogénea e consequentemente de diagnóstico difícil, o objetivo do estudo FIND, que resulta de uma parceria entre a Secção de Doenças Hereditárias do Metabolismo da Sociedade Portuguesa de Pediatria e o Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, é alertar os clínicos para sinais e sintomas de risco ao mesmo tempo que disponibiliza uma ferramenta de diagnóstico. Este diagnóstico é efetuado através da determinação enzimática em sangue colhido em cartão, sendo possível a identificação da enzima deficiente, em sete tipos de MPS. O estudo FIND, devido à forma fácil e económica de obtenção de amostra, associada à baixa quantidade necessária para a análise, coloca à disposição dos clínicos, um ótimo meio para a identificação e caracterização de casos sintomáticos de MPS em idade pediátrica.

### **\_Abstract**

*Mucopolysaccharidoses (MPS) are a sub-group of Lysosomal Storage Disorders, caused by the impairment of lysosomal enzymes, that are responsible for the degradation of Glycosaminoglycans (also known as GAGs or mucopolysaccharides), which are stored in the lysosome. MPS are multissystemic disorders, with different degrees of severity and evolution. Since they have a wide spectrum of presentation, becoming the diagnosis very difficult, it appears the Project FIND, that results from the association between Secção de Doenças Hereditárias do Metabolismo da Sociedade Portuguesa de Pediatria and Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge, in order to claim awareness to red flags of MPS and to provide a useful tool to diagnose it. This diagnosis is done by measuring lysosomal enzymatic activities in dried blood spots, in order to detect the deficient one. Project FIND, due to the small amount, inexpensive and easy way to collect the sample, make available to the physicians a good way to identify and characterize symptomatic MPS patients at pediatric age.*

### **\_Introdução**

As Doenças Lisossomais de Sobrecarga (DLS) são um grupo de mais de 50 doenças hereditárias do metabolismo, caracterizadas pela ausência ou deficiência de uma ou mais proteínas, nomeadamente enzimas lisossomais, envolvidas na degradação e reciclagem de macromoléculas. Como consequência, verifica-se uma acumulação progressiva de diferentes produtos (proteínas, polissacarídeos, lípidos) no interior do lisossoma conduzindo a uma disfunção de células, tecidos e órgãos (1). Embora individualmente raras, no seu conjunto têm uma prevalência de 1/5.000 nados-vivos na população mundial, sendo de 1/4.000 na população portuguesa (2,3).

As Mucopolissacaridoses (MPS) são um sub-grupo de doenças metabólicas de sobrecarga lisossomal, geneticamente heterogéneas, originadas pelo deficiente catabolismo dos mucopolissacarídeos, designados também por glicosaminoglicanos (GAGs). À exceção da MPS II (com modo de transmissão ligada ao cromossoma X), as MPSs são de transmissão autossómica recessiva. Estão descritos 11 tipos de MPSs, de acordo com a enzima deficiente implicada no catabolismo dos glicosaminoglicanos (quadro 1). Apesar do mecanismo não estar completamente descrito, a acumulação de GAGs altera a homeostasia de células e órgãos, assumindo um papel fulcral nos sintomas apresentados e na progressão da doença (4,5). Os GAGs, uma família de glicoconjugados, englobam o sulfato de dermatano, sulfato de queratano, sulfato de heparano, sulfato de condroitina e o ácido hialurónico, que se acumulam, dependendo da deficiência enzimática presente (6).

Quadro 1: Deficiência enzimáticas e GAGs excretados nas Mucopolissacaridoses.

Mucopolissacaridose	Doença	Deficiência Enzimática	Glicosaminoglicanos excretados
MPS I	Hurler, Scheie, Hurler\Scheie	$\alpha$ - L-iduronidase	DS/ HS
MPS II	Hunter	Iduronato-2-sulfatase	DS/ HS
MPS III - Sanfillipo	A	Heparano-N-sulfatase	HS
	B	N-acetil- $\alpha$ -D-glucosaminidase	
	C	Acetil-CoA- $\alpha$ -glucosaminidase-N-acetiltransferase	
	D	N-acetilglucosamina- 6-sulfatase	
MPS IV	Morquio A	Galactose-6-sulfatase	KS / CS
	Morquio B	$\beta$ -galactosidase	KS
MPS VI	Maroteaux-Lamy	Ariisulfatase B	DS
MPS VII	Sly	$\beta$ -Glucuronidase	DS / HS / CS
MPS X	Deficiência em Hialuronidase	Hialuronidase	AH

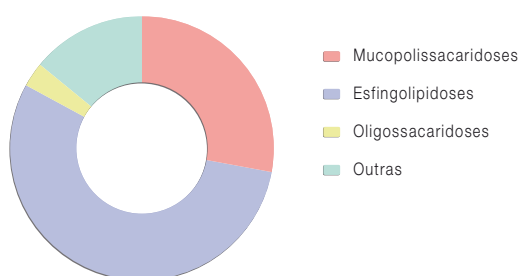
DS – sulfato de dermatano; KS – sulfato de queratano; HS – sulfato de heparano; CS – sulfato de condroitina; AH – Ácido Hialurónico

A prevalência das MPS pode ser superior ao estimado, uma vez que estas doenças nem sempre são clinicamente detetáveis ao nascimento, dado que, os seus sintomas podem só ser percebidos com o decorrer dos primeiros anos de vida, à medida que os produtos tóxicos não eliminados se vão acumulando no organismo (4,5). Em Portugal, as Mucopolissacaridoses representam 28% das Doenças Lisossomais de Sobrecarga, apresentando uma prevalência de 4,8/100.000 (3,7) (gráfico 1).

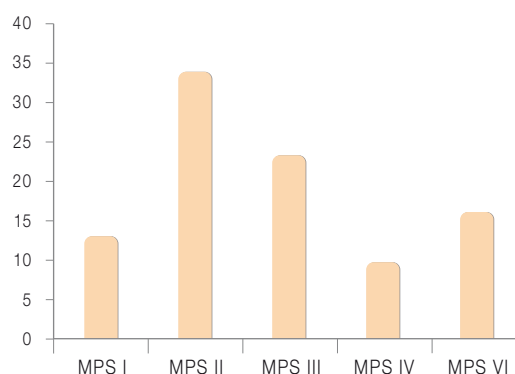
Embora um largo espectro de heterogeneidade fenotípica tenha sido descrito dentro da mesma MPS e entre MPSs, todas elas são crónicas e progressivas, sendo as principais características a presença de nanismo, organomalias, infecções respiratórias recorrentes, hérnias, rigidez articular, disostose múltipla, fâcies grosseiras e em certos casos atraso neurocognitivo. Os sintomas apresentados pelas MPS dependem essencialmente do tipo de GAG que se acumula; as MPS III caracterizam-se

Gráfico 1 (A-B): Frequência das diferentes doenças lisossomais de sobrecarga (DLS) em Portugal.

A Frequência dos diferentes grupos de DLS



B Frequência das diferentes Mucopolissacaridoses



Adaptado de Pinto et al (9)

pela presença de demência rapidamente progressiva, distúrbios do sono e hiperatividade; já a opacidade da córnea ocorre essencialmente na MPS I e MPS VI; e a MPS IV apresenta essencialmente hiper mobilidade das articulações e displasia esquelética (5). Mas a identificação dos doentes de MPS não é fácil, particularmente para as formas mais atenuadas de MPS. Cimaz *et al* verificou que, menos de 20% das formas atenuadas de MPS I são identificadas corretamente (8). Como consequência, verificam-se atrasos significativos no diagnóstico correto da patologia, impedindo uma intervenção atempada, que poderia evitar a progressão da doença e prevenir a ocorrência de danos irreversíveis (9). No que respeita a Portugal, a idade média de diagnóstico das MPS ronda os 6-7 anos de idade (3). Nos últimos anos, terapias de substituição enzimática têm sido desenvolvidas e aprovadas para algumas MPS, nomeadamente para a MPS I, II, IVA e VI (10, 11). Uma vez que a eficácia terapêutica é maior quando a terapia se inicia antes do aparecimento dos sintomas mais limitantes, torna-se imperativo que o diagnóstico destas patologias se faça o mais cedo possível (12). O diagnóstico das MPS passa por uma caracterização bioquímica e molecular, podendo este ser efetuado em leucócitos, fibroblastos ou mais recentemente em amostras de sangue colhidas em papel de filtro.

A identificação da enzima deficiente e/ou a alteração no gene que a codifica, permite iniciar uma terapia específica e/ou tratamentos mais adequados, receber aconselhamento genético correto e disponibilizar um diagnóstico pré-natal.

### **\_Objetivos**

O estudo FIND, resultante de uma parceria entre a Secção de Doenças Hereditárias do Metabolismo da Sociedade Portuguesa de Pediatria (SDHM-SPP) e o Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge (INSA), tem como objetivos principais: a divulgação dos sinais de alerta que permitam equacionar o diagnóstico de uma MPS e a disponibilização de uma ferramenta que possibilite o estudo e diagnóstico deste grupo de patologias.

### **\_Material e métodos**

Perante a variação fenotípica e sintomatologia inicial, por vezes sobreponível a outras doenças mais comuns, torna-se fundamental alertar os clínicos para estes sinais e sintomas de risco, sendo este o papel da Secção de Doenças Hereditárias do Metabolismo, na informação e formação dos profissionais e população. Para a realização do diagnóstico atempado é então disponibilizado um meio de despiste de fácil acesso e de rápida resposta, que permitirá a identificação dos diferentes tipos de MPS. À semelhança do estudo efetuado em Espanha (13, 14), o clínico, perante uma suspeita de MPS, solicita o envio de um *kit* de diagnóstico através do e-mail [projecto.find@gmail.com](mailto:projecto.find@gmail.com), fornecendo os seus contactos para o envio do mesmo. Cada *kit* contém o cartão para recolha de amostra, requisição da análise, instruções de colheita e quadro com os sintomas que o doente pode apresentar. Após a colheita da amostra de sangue no cartão apropriado e do formulário preenchido, a amostra é enviada para a Unidade de Rastreio Neonatal, Metabolismo e Genética do Departamento de Genética Humana do INSA, no Porto, Portugal. O diagnóstico de sete diferentes tipos de MPS, é efetuado através da determinação enzimática em amostra de sangue colhido em cartão, com identificação da enzima deficiente, responsável pela patologia. O ensaio enzimático é realizado em placas de 96 poços, com a incubação de discos de 3,2mm de diâmetro com substratos fluorescentes específicos para cada uma das MPS. No fim do ensaio, a fluorescência é lida (excitação, 345nm; emissão, 460nm), o resultado é obtido com uma curva de calibração do padrão 4-metilumbelliferona e expresso em nmol\hspot.

### **\_Discussão e resultados**

O estudo FIND, devido à forma fácil e económica de obtenção de amostra em sangue seco, associada à baixa quantidade necessária para a análise, coloca à disposição dos clínicos, um ótimo meio para a identificação e caracterização de casos sintomáticos de Mucopolissacaridoses em idade pediátrica, conduzindo-os o mais atempadamente possível para um tratamento específico. Por outro lado, permitirá a averiguação mais realista da verdadeira prevalência das Mucopolissacaridoses como um todo e isoladamente.

**Referências bibliográficas:**

- (1) Neufeld EF. Lysosomal storage diseases. *Annu Rev Biochem.* 1991;60:257-80. Review.
- (2) Meikle PJ, Hopwood JJ, Clague AE, et al. Prevalence of lysosomal storage disorders. *JAMA.* 1999;281(3):249-54.
- (3) Pinto R, Caseiro C, Lemos M, et al. Prevalence of lysosomal storage diseases in Portugal. *Eur J Hum Genet.* 2004;12(2):87-92.  
[www.nature.com/ejhg/journal/v12/n2/full/5201044a.html](http://www.nature.com/ejhg/journal/v12/n2/full/5201044a.html)
- (4) Wilcox WR. Lysosomal storage disorders: the need for better pediatric recognition and comprehensive care. *J Pediatr.* 2004;144(Suppl 5):S3-14. Review.
- (5) Clarke LA. Pathogenesis of skeletal and connective tissue involvement in the mucopolysaccharidoses: glycosaminoglycan storage is merely the instigator. *Rheumatology (Oxford).* 2011;50(Suppl 5):v13-8.
- (6) Coutinho MF, Lacerda L, Alves S. Glycosaminoglycan storage disorders: a review. *Biochem Res Int.* 2012;2012:471325. Epub 2011 Oct 5.  
[www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3195295/](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3195295/)
- (7) Coutinho MF, Duarte AJ, Matos L, et al. Doenças lisossomais de sobrecarga em Portugal: 10 anos de experiência em estudos moleculares no INSA (2006-2016). *Boletim Epidemiológico Observações.* 2015;5(Supl 7):16-20.  
<http://repositorio.insa.pt/handle/10400.18/3787>
- (8) Cimaz R, Coppa GV, Koné-Paut I, et al. Joint contractures in the absence of inflammation may indicate mucopolysaccharidosis. *Pediatr Rheumatol Online J.* 2009;7:18.  
[www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2775028/](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2775028/)
- (9) Lehman TJ, Miller N, Norquist B, et al. Diagnosis of the mucopolysaccharidoses. *Rheumatology (Oxford).* 2011;50(Suppl 5):v41-8. Review.
- (10) Giugliani R, Federhen A, Vairo F, et al. Emerging drugs for the treatment of mucopolysaccharidoses. *Expert Opin Emerg Drugs.* 2016;21(1):9-26.
- (11) Giugliani R. The mucopolysaccharidoses. In: Metha A, Winchester B (eds). *Lysosomal Storage Disorders — A Practical Guide.* Chichester, West Sussex: Wiley-Blackwell, 2012, pp. 94-100.
- (12) Giugliani R. Mucopolysaccharidoses: From understanding to treatment, a century of discoveries. *Genet Mol Biol.* 2012;35(Suppl 4):924-31.  
[www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3571427/](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3571427/)
- (13) Colón Mejeras C. Proyecto FIND: la importancia de un diagnóstico precoz. *Acta Pediatr Esp.* 2015;73(3):56-59
- (14) Colón Mejeras C, Álvarez González JV, Couce Pico ML. Proyecto FIND. Resultados del primer año de trabajo en la detección precoz de las mucopolisacaridosis. *Acta Pediatr Esp.* 2015;73(10): 265-267.