

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

**RESSONÂNCIA MAGNÉTICA CEREBRAL E ESPECTROSCOPIA DE
PRÓTONS POR RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NA INVESTIGAÇÃO DE
PACIENTES COM MUCOPOLISSACARIDOSE**

LEONARDO MODESTI VEDOLIN

Tese de Doutorado

Porto Alegre

2006

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

**RESSONÂNCIA MAGNÉTICA CEREBRAL E ESPECTROSCOPIA DE
PRÓTONS POR RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NA INVESTIGAÇÃO DE
PACIENTES COM MUCOPOLISSACARIDOSE**

LEONARDO MODESTI VEDOLIN

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

Orientador: Prof. Dr. Roberto Giugliani

Co-orientadora: Profa. Dra. Ida Vanessa Doederlein Schwartz

Porto Alegre

2006

AGRADECIMENTOS

Ao Professor Roberto Giugliani pela oportunidade e confiança no meu projeto.

A Professora Ida Vanessa Doederlein Schwartz pela amizade e incansável dedicação no aprimoramento do trabalho.

Às amigas Márcia Komlos e Alice Schuch pelo trabalho árduo e dedicação extrema no cumprimento das metas e prazos estabelecidos. Vocês foram fundamentais no desenvolvimento deste trabalho.

Às colegas Ana Cecília Azevedo, Louise Pinto, Ana Cristina Puga, e demais componentes da Rede MPS Brasil, pelo auxílio no recrutamento de pacientes.

Aos físicos Fabio Maeda e Ana Maria Silva pelo auxílio técnico no processamento dos dados.

Ao Sistema de Saúde Mãe de Deus, particularmente à diretoria do Mãe de Deus Center pelo apoio e reconhecimento do projeto como forma de gerar conhecimento na comunidade.

Aos meus pais pelo ensinamento dos princípios éticos necessários para minha formação e aprimoramento profissional.

DEDICATÓRIA

*“Segundo Schakespeare, palavras não pagam dívidas.
Mas palavras, assim espero, são capazes de comunicar
sentimentos como gratidão e amor”.*
Eduardo Giannetti, O valor do amanhã.

**Este trabalho é dedicado a Camille e a Giorgia, as
pessoas mais maravilhosas que conheço. Obrigado pela
paciência.**

LISTA DE FIGURAS

FIGURAS DA REVISÃO DA LITERATURA

FIGURAS PAPER 1

FIGURAS ARTIGO 1

FIGURAS PAPER 2

FIGURAS ARTIGO 2

LISTA DE TABELAS

TABELAS DA REVISÃO DA LITERATURA

Tabela 1. Exemplos de doenças lisossômicas e classe do substrato	20
Tabela 2. Classificação das mucopolissacaridoses	23
Tabela 3. Revisão sobre estudos de ressonância magnética nas mucopolissacaridoses	40

TABELAS PAPER 1

TABELAS ARTIGO 1

TABELAS PAPER 2

TABELAS ARTIGO 2

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Col	-	colina
Cr	-	creatina
DL	-	doenças lisossômicas
EIM	-	erros inatos do metabolismo
EL	-	enzimas lisossômicas
EPV	-	espaços perivasculares
ERM	-	espectroscopia de prótons por ressonância magnética
FLAIR	-	<i>fluid attenuated inversion recovery</i>
GAG	-	glicosaminoglicanos
HS	-	heparan sulfato
LCR	-	líquido cefalorraquidiano
LMC	-	leucodistrofia metacromática
M6-P	-	manose-6-fosfato
ml	-	mioinositol
MPS	-	Mucopolissacaridoses
NAA	-	n-acetil-aspartato
PRESS	-	<i>point resolved surface coil spectroscopy.</i>
RER	-	retículo endoplasmático rugoso
RM	-	ressonância magnética
SNC	-	sistema nervoso central
STEAM	-	<i>stimulated emission acquisition mode</i>
SB	-	substância branca
SC	-	substância cinzenta
TMO	-	transplante de medula óssea
TER	-	terapia de reposição enzimática
TR	-	tempo de repetição

RESUMO

As mucopolissacaridoses (MPS) constituem um grupo de doenças lisossômicas caracterizadas pela deficiência de uma das enzimas responsáveis pela degradação dos glicosaminoglicanos. A expressão neurológica da doença varia de acordo com cada deficiência enzimática, mas o retardo mental é característico da MPS III e de formas graves das MPS I, II e VII. Vários estudos com ressonância magnética (RM) demonstraram que atrofia cerebral, lesões na substância branca (SB) e hidrocefalia são freqüentemente observados em pacientes com MPS. Entretanto a correlação entre a RM, anormalidades bioquímicas e gravidade do quadro neurológico ainda não foi descrita na literatura. Além disso, a comparação dos achados de espectroscopia de prótons por RM (ERM) com a RM convencional é desconhecida. O objetivo deste trabalho foi analisar a aplicação da RM e da ERM na investigação de pacientes com MPS. Sessenta crianças com MPS tipos I, II, IV e VI foram avaliadas com RM e ERM. Os resultados foram comparados com tempo de doença, anormalidades bioquímicas e disfunção cognitiva. Os exames de RM foram realizados em equipamento de alto campo magnético (1.5 T). Pacientes com maior tempo de doença tiveram mais lesões na SB. A atrofia cerebral e o grau de dilatação ventricular não foram afetados pelo tempo de doença ou idade dos pacientes. Pacientes com MPS II e disfunção cognitiva apresentaram maior atrofia cerebral, hidrocefalia, lesões mais severas na substância branca e aumento da relação mioinositol/creatina na ERM. Estas informações podem ser úteis para o melhor entendimento da fisiopatogenia das MPS e do papel da RM na sua investigação.

ABSTRACT

The mucopolysaccharidoses are a group of lysosomal diseases characterized by enzymatic deficiency which leads to incomplete degradation of glycosaminoglycans. Neurological expression varies according to each enzyme but mental compromise is characteristic of MPS III and the severe forms of MPS I, II and VII. Studies with magnetic resonance imaging (MRI) demonstrated that brain atrophy, white matter (WM) lesions and hydrocephalus are common in MPS patients. However, correlation among MRI, biochemical changes and severity of neurological deficit was not published so far. In addition, comparison between MR spectroscopy (MRS) and MRI is controversial. The purpose of this study was to analyze MRI and MRS findings in MPS patients. Sixty patients with MPS types I, II, IV and VI were evaluated with MRI and MRS. Results were compared with disease duration, biochemical changes and cognitive impairment. MRI exams were performed in high field MRI scanner (1.5 T). Patients with longer disease duration had more WM lesions. Brain atrophy and hydrocephalus were not affected by disease duration or patient's age. Patients with MPS II and cognitive impairment had more brain atrophy, hydrocephalus, severe WM lesions and elevated myoinositol/creatine at MRS. These results can be useful to better understand the pathogenic process and to increase the applicability of MRI in the disease investigation.

SUMÁRIO

16

INTRODUÇÃO	17
1 REVISÃO DA LITERATURA	19
1.1 DOENÇAS LISSÔMICAS	19
1.1.1 Introdução	19
1.1.2 Estrutura e função do lisossomo	19
1.1.3 Enzimas lisossômicas	19
1.1.4 Substratos lisossômicos	20
1.1.5 Epidemiologia das doenças lisossômicas	20
1.1.6 Classificação das doenças lisossômicas	20
1.1.7 Aspectos clínicos das doenças lisossômicas	21
1.1.8 Tratamento das doenças lisossômicas	21
1.2 MUCOPOLISSACARIDOSES	21
1.2.1 Aspectos históricos	21
1.2.2 Epidemiologia	22
1.2.3 Classificação	23
1.2.4 Aspectos bioquímicos	24
1.2.5 Aspectos genéticos	25
1.2.6 Aspectos clínicos gerais das MPS	25
1.2.7 Disfunção neurológica nas MPS	25
1.2.7.1 MPS I	25
1.2.7.2 MPS II	26
1.2.7.3 MPS III	26
1.2.7.4 MPS IV	26
1.2.7.5 MPS VI	27
1.2.7.6 MPS VII	27
1.2.7.7 MPS IX	27
1.2.8 Neuropatologia	27
1.2.9 Diagnóstico	30
1.2.10 Tratamento	30
1.3 NEUROIMAGEM	31

1.3.1 Neuroimagem nas doenças lisossômicas.....	31
1.3.2 Neuroimagem nas mucopolissacaridoses	32
1.3.2.1 Considerações gerais	32
1.3.2.2 Principais achados na ressonância magnética	32
1.3.2.3 Espectroscopia de prótons nas mucopolissacaridoses	41
2 OBJETIVOS	45
2.1 OBJETIVO GERAL.....	45
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	45
3 REFERÊNCIAS	46
4 PAPER 1 - CORRELATION OF MRI AND MR SPECTROSCOPY FINDINGS WITH COGNITIVE IMPAIRMENT IN MUCOPOLYSACCHARIDOSIS II.....	47
ABSTRACT	48
INTRODUCTION	49
METHODS	50
RESULTS	52
DISCUSSION	54
REFERENCES	57
5 ARTIGO 1 - CORRELAÇÃO DOS ACHADOS DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA E ESPECTROSCOPIA DE PRÓTONS COM DISFUNÇÃO COGNITIVA NA MUCOPOLISSACARIDOSE TIPO II.....	59
RESUMO.....	60
INTRODUÇÃO	61
MATERIAL E MÉTODOS	62
RESULTADOS	64
DISCUSSÃO	66
REFERENCES	69
6 PAPER 2: MR IMAGING AND MR SPECTROSCOPY IN MUCOPOLYSACCHARIDOSIS: AGE-RELATED CHANGES AND CORRELATION WITH BIOCHEMICAL FINDINGS.....	72
ABSTRACT	73
INTRODUCTION	74
METHODS.....	75
RESULTS	79
DISCUSSION	82
REFERENCES	87

ARTIGO 2: RESSONÂNCIA MAGNÉTICA E ESPECTROSCOPIA DE PRÓTONS NA MUCOPOLISSACARIDOSE: ALTERAÇÕES RELACIONADAS À IDADE E CORRELAÇÃO COM ACHADOS BIOQUÍMICOS.	88
RESUMO	89
INTRODUÇÃO	90
MATERIAL E MÉTODOS	91
RESULTADOS	94
DISCUSSÃO	99
REFERÊNCIAS	103
8 CONSIDERAÇÕES GERAIS E PERSPECTIVAS.....	103

A RM é o exame de neuroimagem mais importante na investigação de pacientes com doenças metabólicas do SNC. A técnica tem alta sensibilidade para detectar alterações morfológicas e funcionais e auxilia na caracterização das lesões, monitorização da progressão e da resposta terapêutica. Avanços sugerem que a RM também será utilizada no diagnóstico precoce de várias doenças..... 103

Este estudo analisou o potencial da RM e da ERM na investigação de pacientes com MPS. Os resultados demonstraram que existe correlação entre achados de RM e presença de disfunção cognitiva em pacientes com MPS II. Além disso, concluiu-se que as lesões na SB aumentam com a duração da doença, sugerindo que algum processo neurodegenerativo em progressão possa estar se desenvolvendo na SB de pacientes afetados. Demonstrou-se também que não existe correlação entre os achados de RM, ERM e anormalidades bioquímicas como o nível de GAG urinário ou atividade enzimática residual. Outra conclusão importante é que pacientes com MPS VI apresentam alterações na RM que sugerem comprometimento grave como hidrocefalia e lesões na SB. 103

Estes resultados comprovam que a RM é sensível para demonstrar o comprometimento do SNC na MPS. Sugerem que a técnica possa ser utilizada no futuro como marcador de doença e eventualmente de resposta terapêutica em ensaios clínicos. Entretanto novos estudos deverão ser realizados para investigar a associação de achados de imagem com substratos específicos e genótipo. A análise de subgrupos de pacientes pode indicar novos marcadores de enfermidade. Estas evidências serão fundamentais para o melhor entendimento da fisiopatogenia da doença e do desenvolvimento de novas formas de tratamento. 104

9 ANEXOS.....	104
Artigos publicados sobre mucopolissacaridose.	104
1."Correlation of MRI and MR Spectroscopy findings with cognitive impairment in mucopolysaccharidosis II", na American Journal of Neuroradiology, 2007 (Jun/Jul).	104
2. "Prospective study of 11 Brazilian patients with mucopolysaccharidosis", no Jornal de Pediatria, 2006;82:273-8	104
Trabalhos sobre mucopolissacaridose apresentados em eventos científicos no país.	104
1. "Ressonância Magnética e Espectroscopia de prótons como marcadores de difusão cerebral em pacientes com Mucopolissacaridose tipo II", no Congresso Brasileiro de Radiologia, de 12 à 14 de Outubro de 2006, em Curitiba, PR.	105
2. "Terapia de Reposição enzimática intra-tecal em paciente com mucopolissacaridose tipo I e compressão medular sintomática", no Congresso Brasileiro de Genética Médica, de 31 de Maio à 3 de Junho de 2006, em Guarujá, SP.	105
3. "Ressonância Magnética e Espectroscopia de Prótons na investigação de pacientes com Mucopolissacaridose", na Jornada Paulista de Radiologia, de 20 à 23 de Abril de 2006, em São Paulo, SP.	105
4. "Alterações craniofaciais nas mucopolissacaridoses", na Jornada Sul de Radiologia, de 8 à 10 de Setembro, em Porto Alegre, RS.	105
Trabalhos sobre mucopolissacaridose apresentados em eventos científicos no exterior.	105
1. "CSF behavior during intra-thecal enzyme replacement therapy in a patient with MPS I and spinal cord compression", no 11th International Congress of Human Genetics, de 6 à 10 de Agosto de 2006, em Brisbane, Australia.	105
2. "A Follow-up of 20 Brazilian patients with Hunter syndrome in a medical genetics service: preliminaries results", no SSIEM 41th Annual Symposium, de 31 de Agosto à 3 de Setembro de 2004, em Amsterdam, Netherland.	105
3."Progression of muscle-skeletal abnormalities in 21 Brazilian patients with mucopolysaccharidosis type II followed at the Hospital de Clinicas de Porto Alegre, RS, Brazil", no Simpósio Internacional de MPS, em Mainz, Germany, em Junho de 2004.	105

4. "A prospective observational evaluation of 20 Brazilian MPS II patients in a Medical Genetics Service: preliminaries results", no Simpósio Internacional de MPS, em Mainz, Germany, em Junho de 2004. 105

5. "Cerebral involvement in mucopolysaccharidosis type II (MPS II): Association of Brain MRI and clinical manifestations", no World Lysosomal Disease Research Network Symposium, de 13 à 15 de MAio de 2004, em Minneapolis, Minnesota. 105

INTRODUÇÃO

Os erros inatos do metabolismo (EIM) representam um grupo heterogêneo de doenças que causam disfunção neuropsicomotora, principalmente em crianças . Geralmente existem poucas manifestações de doença no período neonatal, mas progressivamente surgem sinais e sintomas de disfunção neurológica que reduzem a qualidade e a expectativa de vida dos pacientes. O desenvolvimento de programas de rastreamento, testes diagnósticos e intervenção terapêutica têm aumentado progressivamente a detecção dos EIM . Em muitos países, estas doenças são consideradas problemas de saúde pública devido à alta prevalência e ao importante impacto social e econômico . Habitualmente, os EIM são classificados de acordo com o defeito enzimático ou tipo de organela afetada. As doenças das organelas são usualmente separadas em 3 grupos: lisossômicas, peroxissômicas ou mitocondriais.

As mucopolissacaridoses (MPS) constituem um grupo de doenças lisossômicas (DL) causadas pela deficiência de alguma das enzimas necessárias para a catabolização dos glicosaminoglicanos (GAG). Dependendo da deficiência enzimática, o catabolismo do dermatan sulfato, do queratan sulfato, do condroitin sulfato ou do ácido hialurônico podem ser bloqueados de forma isolada ou em combinação. Em consequência, os GAG parcialmente degradados acumulam-se nos lisossomos causando disfunção celular. Além disto, fragmentos de GAG parcialmente degradados são excretados em quantidade aumentada na urina .

As manifestações clínicas podem variar de paciente para paciente, mas a patofisiologia é a mesma: o acúmulo de moléculas de GAG dentro dos lisossomos leva à congestão celular, organomegalias e disfunção funcional. O depósito de GAG é progressivo . Desta forma, as MPS são doenças crônicas e estão associadas à profunda e incapacitante morbidade, assim como a uma mortalidade precoce, geralmente na infância ou no início da vida adulta .

O diagnóstico de DL é inicialmente suspeitado pela história clínica e exame físico e confirmado por exames bioquímicos e genéticos. As DL apresentam elevada heterogeneidade clínica . O início do quadro clínico pode variar entre indivíduos com a mesma doença. A doença de Pompe, por exemplo, pode se manifestar no lactante ou em adultos. Apesar da presença de sinais e sintomas sugestivos de algum tipo de DL (por

exemplo, a presença de lesões na retina e angioceratoma de pele na doença de Fabry), o diagnóstico definitivo exige a avaliação bioquímica e/ou genética.

Mesmo com a necessidade de análise laboratorial para confirmação diagnóstica, os exames de neuroimagem são importantes para caracterizar as lesões cerebrais, excluir lesões prévias, monitorar a progressão e a resposta terapêutica . Evidências sugerem que os achados de neuroimagem têm boa correlação com os achados histológicos . Neste contexto, a ressonância magnética (RM) é considerada a técnica de imagem de escolha para avaliar as doenças metabólicas . Além da superioridade para demonstrar lesão na substância branca (SB), a RM pode fornecer informações funcionais do tecido em estudo através de técnicas modernas como tensor da difusão e espectroscopia . Recentemente, McGraw utilizou seqüências de tensor da difusão para avaliar a resposta ao transplante de células tronco em pacientes com doença de Krabbe, DL caracterizada pela atividade deficiente da enzima galactocerebrosidase .

Segundo van der Knapp, o diagnóstico de MPS pode ser sugerido pela RM . As lesões freqüentemente observadas em exames de RM de pacientes com a doença são atrofia cerebral, lesões na SB, hidrocefalia, dilatação dos espaços perivasculares e estenose do canal vertebral. Apesar dos achados na RM cerebral de pacientes com MPS serem clássicos, a evidência existe a partir de série de casos com amostras relativamente pequenas e grupos heterogêneos de pacientes. Além disso, a prevalência das lesões em cada tipo de MPS é desconhecida. Da mesma forma, pouco se sabe a respeito da correlação entre os achados da neuroimagem, anormalidades bioquímicas e sintomas neurológicos. O conhecimento destas possíveis associações pode fornecer novas evidências sobre a patogenia, caracterização das lesões e história natural da doença.

1 REVISÃO DA LITERATURA

1.1 DOENÇAS LISSÔMICAS

1.1.1 Introdução

Apesar do descobrimento do lisossomo ter se dado em 1955, a primeira descrição de uma DL foi em 1881 na caracterização da doença de Tay-Sachs . A primeira correlação entre um defeito enzimático e DL deu-se em 1963 no estudo da doença de Pompe . Desde então, mais de 50 doenças já foram descritas .

As DL são doenças multissistêmicas e progressivas causadas por atividade enzimática deficiente ou, menos freqüentemente, por disfunção de, pelo menos, uma das proteínas envolvidas na biogênese enzimática . Conseqüentemente, existe acúmulo celular de substratos não-degradados. Este acúmulo anormal desencadeia disfunção celular progressiva e neurodegeneração .

1.1.2 Estrutura e função do lisossomo

O lisossomo é uma organela intracelular que compõe, juntamente com o endossomo, o sistema endossomo-lisossomal . Esse sistema foi descrito pela primeira vez em 1966 por De Duve . Desde então, vários termos e funções têm sido descritos em relação ao seu papel. Sua função básica é a digestão de moléculas .

O material degradado pelos lisossomos pode ser de origem intra (endocitose) ou extracelulares (fagocitose) . Muitos co-fatores são necessários para estas funções como os ativadores protéicos e a catepsina A . Além disto, o lisossomo tem uma membrana altamente especializada responsável pelo transporte protéico celular.

1.1.3 Enzimas lisossômicas

As enzimas lisossômicas (EL) são glicoproteínas. Existem inúmeras EL e o processo de síntese enzimática ocorre em etapas . A primeira etapa é a síntese, no retículo endoplasmático rugoso (RER) do precursor enzimático inativo. Em seguida, ocorre a translocação da proteína para dentro do RER, por meio de um peptídeo sinalizador. Após, o precursor enzimático é glicosilado e transportado ao complexo de Golgi aonde adquire um ligante, manose-6-fosfato (M6-P). A etapa final de maturação tem início nos compartimentos

pré-lisossômicos (endossomo tardio) e culmina com a ativação final no interior dos lisossomos .

1.1.4 Substratos lisossômicos

Existem vários substratos no interior dos lisossomos. Os principais compostos são os glicoesfingolipídeos, glicoproteínas, glicosaminoglicanos, colesterol e glicogênio . Dependendo do tipo de defeito enzimático, um ou mais tipos de substratos são acumulados.

O acúmulo de substratos lisossômicos é complexo e vários compostos não relacionados primariamente ao defeito enzimático primário podem se acumular nos tecidos. Um exemplo é o acúmulo intraneuronal de gangliosídeos em alguns tipos de MPS .

1.1.5 Epidemiologia das doenças lisossômicas

Como grupo, as DL têm prevalência de aproximadamente 1/7.000 nascimentos, variando de 1/57.000 na doença de Gaucher para 1/4.000.000 na sialidose . Com a evolução dos conhecimentos genéticos e bioquímicos, a incidência está aumentando . No Brasil, existem poucos estudos populacionais. Coelho *et al.* testaram a prevalência dos EIM em 10.000 pacientes num estudo de rastreamento e as DL corresponderam a mais de 50% dos casos .

As DL são causadas por defeitos em genes únicos e transmitidas de forma autossômica recessiva. As exceções são a MPS tipo II, a doença de Fabry e doença de Danon que têm transmissão ligada ao cromossomo X.

1.1.6 Classificação das doenças lisossômicas

Classicamente, dividem-se as doenças lisossômicas de acordo com a classe do substrato acumulado . Desta forma, existem as MPS, lipidoses, esfingolipidoses, entre outras (Tabela 1).

Tabela 1. Exemplos de doenças lisossômicas e classe do substrato

Mucopolissacaridoses	Glicoproteinoses	Esfingolipidoses
MPS I	Fucosidose	Doença de Fabry
MPS II	Alfa-manosidose	Doença de Farber
MPS III	Beta-manosidose	Doença de Gaucher
MPS IV	Sialidoses	Gangliosidose GM 1
MPS VI	Aspartilglucosaminuria	Gangliosidose GM 2
MPS VII		Doença de Krabbe
MPS IX		Leucodistrofia Metacromática
		Doença de Niemann-Pick (A,B)
		Doença de Sandhoff

1.1.7 Aspectos clínicos das doenças lisossômicas

As DL têm um amplo espectro de apresentação clínica e progressão . Alguns dos sinais e sintomas comuns são alterações ósseas, organomegalia, dismorfia facial e disfunção neurológica .

São doenças com acentuada heterogeneidade fenotípica . De um modo geral, acredita-se que exista uma correlação linear entre o grau de deficiência enzimática, idade de início e gravidade da disfunção . Como regra, quanto maior a deficiência enzimática, mais cedo surge a doença e mais graves são os sintomas .

1.1.8 Tratamento das doenças lisossômicas

Existe tratamento para alguns tipos de DL. Exemplos de tratamento são o transplante de medula óssea (TMO) e a terapia de reposição enzimática (TRE). O TMO é indicado para MPS I e MPS VI e a TRE para a MPS I, MPS II, MPS VI, a doença de Gaucher e a doença de Fabry . Acredita-se que o sucesso dessas estratégias terapêuticas depende da intervenção precoce antes que o dano celular seja irreversível.

1.2 MUCOPOLISSACARIDOSES

1.2.1 Aspectos históricos

Segundo Whitley, a primeira descrição definitiva da MPS foi feita por Charles Hunter em 1917 . O autor relatou o quadro clínico de dois irmãos com oito e dez anos de idade que apresentavam, entre outros sinais, dismorfismo facial, surdez e hepatoesplenomegalia. Dois anos mais tarde, Gertrud Hurler relatou dois casos de pacientes com deformidade na coluna vertebral, opacificação de córnea e retardo mental. Anos depois, estes relatos caracterizam a descrição dos primeiros casos de MPS tipos II e I respectivamente .

Atualmente, existem 11 tipos de MPS diferenciadas por critérios clínicos, genéticos e bioquímicos . O último tipo de MPS foi descrita em 1996 por Natowicz ao descrever o caso de uma menina com manifestações clínicas e bioquímicas de deficiência de hialuronidase, hoje classificada como MPS IX .

1.2.2 Epidemiologia

A incidência da MPS é variada, dependendo do tipo de MPS e da população estudada . Em conjunto, as MPS têm incidência de aproximadamente 1/25.000 . Dados de incidência são pouco conhecidos no Brasil, mas os tipos I, II e VI parecem ser os mais freqüentes . Quando comparado com dados disponíveis em países menos populosos como Holanda e Irlanda do Norte, o diagnóstico de MPS no Brasil está provavelmente subestimado. Algumas razões para este fato são o desconhecimento por parte dos profissionais da saúde das manifestações clínicas da doença e a dificuldade de acesso dos pacientes aos centros especializados.

1.2.3 Classificação

Várias enzimas agem seqüencialmente na degradação dos GAG . A atividade deficiente de cada uma dessas enzimas associa-se a um tipo específico de MPS. Existem onze tipos de deficiência enzimática que determinam os tipos de MPS. A classificação e as características principais das MPS são demonstradas na Tabela 2.

Tabela 2. Classificação das mucopolissacaridoses

Tipo	Epônimo	Enzima deficiente	GAG acumulado
I	Hurler (H), Hurler-Scheie(HS), Scheie (S)	Alfa-L-iduronidase	Dermatan Sulfato, Heparan sulfato
II	Hunter	Iduronato sulfatase	Dermatan Sulfato, Heparan sulfato
IIIA	Sanfilippo A	Heparan N-sulfatase	Heparan sulfato
IIIB	Sanfilippo B	Alfa-N-acetil- glucosaminidase	Heparan sulfato
IIIC	Sanfilippo C	Acetil-COA:alfa- glucosaminidase acetiltransferase	Heparan sulfato
IIID	Sanfilippo D	N-acetilglucosamina 6-sulfatase	Heparan sulfato
IVA	Morquio A	Galactose 6-sulfa- tase	Queratan sulfato, condroitin 6-sulfato
IVB	Morquio B	Beta-galactosidase	Queratan sulfato
VI	Maroteaux-Lamy	Arilsulfatase B	Dermatan sulfato
VII	Sly	Beta-glucuronidase	Dermatan sulfato, Heparan sulfato, condroitina 6-sulfato
IX	Natowicz	Hialuronidase	Hialuronan

1.2.4 Aspectos bioquímicos

Os GAG são polissacarídeos sulfatados componentes dos proteoglicanos e degradados nos lisossomos. Os proteoglicanos interagem com as células e a matriz extracelular, sendo capazes de controlar o fluxo de água e nutrientes. O heparan sulfato (HS), por exemplo, é um constituinte da superfície celular e matriz extracelular de praticamente todos os tecidos de mamíferos e atua no controle da coagulação sanguínea, crescimento e adesão celular.

A degradação dos GAG depende da atuação de várias enzimas como as exoglicosidases, sulfatases, transferase não-hidrolizada e endoglicosidases. O catabolismo do dermatan sulfato, por exemplo, exige a ação seqüencial de 3 exoglicosidases (alfa-L-iduronidase, beta-glucuronidase e beta-hexosaminases) e 2 sulfatases (iduronato 2-sulfatase e N-acetilgalactosaminase). O tipo de GAG armazenado ou excretado pelos pacientes com MPS pode ser previsto pelo tipo de deficiência enzimática encontrada (Figura 1).

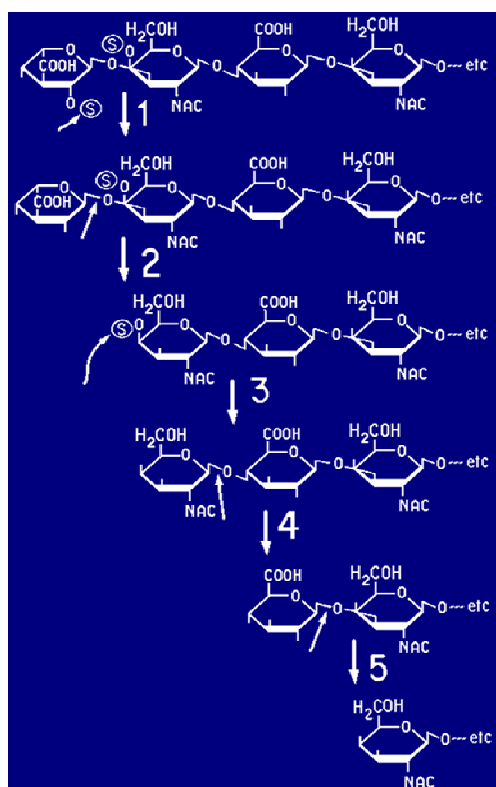


Figura 1. Esquema da degradação do dermatan sulfato. As enzimas envolvidas na rota metabólica e o tipo de MPS são: (1) iduronato sulfatase e MPS II; (2) alfa-L-iduronidase e MPS I; (3) N-acetilgalactosamina 4-sulfatase e MPS VI; (5) beta-glucuronidase e MPS VII. A enzima 4 é a beta-hexosaminase (A e B) envolvida na doença de Sandhoff

Além de confirmar o diagnóstico, evidências demonstram que a análise bioquímica é potencialmente útil na predição da evolução clínica e eventualmente na monitorização de resposta terapêutica em pacientes com MPS .

1.2.5 Aspectos genéticos

As MPS são transmitidas de forma autossômica recessiva, exceto na MPS II onde a transmissão é ligada ao cromossomo X . A maioria dos genes codificadores das enzimas responsáveis pela degradação dos GAG foram clonados e caracterizados na década de 1990 . A elucidação da estrutura gênica foi seguida de vários estudos que identificaram diversas mutações .

As mutações nas MPS são numerosas e a maioria são mutações de ponto . A correlação entre genótipo e fenótipo é possível, mas o efeito da mutação é geralmente difícil de prever .

1.2.6 Aspectos clínicos gerais das MPS

As MPS apresentam várias características em comum . Estas características incluem o curso progressivo e crônico, envolvimento multissistêmico, organomegalia, disostose múltipla e dismorfia facial. São freqüentes na doença a baixa estatura de início pós-natal, a macrocrania, o envolvimento ocular, a cardiopatia, o envolvimento articular, as doenças respiratórias, as alterações na pele e o comprometimento neurológico .

Em relação aos sinais de envolvimento neurológico, destacam-se a hidrocefalia, retardo do desenvolvimento neuropsicomotor, regressão neurológica, síndrome do túnel do carpo, mielopatia cervical e envolvimento do sistema autonômico . Os sintomas neurológicos podem ser as manifestações iniciais da MPS .

1.2.7 Disfunção neurológica nas MPS

1.2.7.1 MPS I

A MPS I é caracterizada pela deficiência da enzima alfa-L-iduronidase. É dividida em 3 entidades clínicas: MPS IH (doença de Hurler), MPS I HS (doença de Hurler-Scheie) e MPS IS (doença de Scheie). A MPS IH e a MPS IS representam os extremos do espectro da doença, sendo a MPS IH a forma grave, a MPS IHS a forma intermediária e a MPS IS a forma leve. Os fenótipos clínicos não são distinguíveis bioquimicamente .

O retardo mental grave é característico da MPS IH. Nesta forma da doença, o retardo neuropsicomotor é evidente, usualmente entre o primeiro e segundo ano de vida. A presença de hidrocefalia e deficiência auditiva também é freqüente. Ao contrário da forma grave, nas formas intermediária (MPS I HS) e leve (MPS I S) a disfunção cognitiva e a hidrocefalia são leves ou ausentes .

1.2.7.2 MPS II

A MPS II (síndrome de Hunter) é caracterizada pela presença de entidades clínicas distintas que provavelmente representam os extremos da mesma doença: MPS II forma grave e MPS II forma leve. A distinção entre as formas é clínica, pois o grau de deficiência enzimática é semelhante .

Neurologicamente, a forma grave da MPS II se caracteriza por retardo do desenvolvimento neuropsicomotor semelhante à MPS IH e hidrocefalia comunicante. Na MPS II, entretanto, a progressão da doença é mais lenta. Já a forma leve se caracteriza por preservação da função neurológica, apesar dos sinais de envolvimento somático serem evidentes .

1.2.7.3 MPS III

A MPS III (doença de Sanfilippo) se caracteriza por quatro subtipos, dependendo da deficiência enzimática (MPS IIIA, B, C e D). A apresentação clínica da MPS III é única dentro das MPS devido ao importante comprometimento das funções neurológicas e pouco envolvimento somático. Estas características são responsáveis pelo diagnóstico clínico tardio que freqüentemente é visto neste tipo de MPS .

Geralmente o início da doença é entre os dois e seis anos de idade e se manifesta com regressão neurológica, alteração comportamental (comumente hiperatividade e agressividade) ou distúrbio do sono .

1.2.7.4 MPS IV

Existem dois tipos de MPS IV (MPS IVA e MPS IVB) distinguíveis pela deficiência enzimática encontrada. Clinicamente, as formas são semelhantes e o envolvimento somático (principalmente ósseo) é clássico da doença .

Do ponto de vista neurológico, a principal complicação da doença é a instabilidade e mielopatia no segmento medular da coluna, devido à hipoplasia do odontóide (achado universal da doença), frouxidão ligamentar e subluxação atlanto-axial .

1.2.7.5 MPS VI

A MPS VI (síndrome de Maroteaux-Lamy) se caracteriza pela deficiência da enzima arilulfatase B. O envolvimento somático pode ser grave como em pacientes com MPS IH. Apesar de evidências de metabolismo neuronal anormal em modelos animais, o desenvolvimento mental é usualmente normal em pacientes com MPS VI . Por outro lado, a estenose do canal vertebral e a mielopatia compressiva são freqüentes nesta forma de MPS .

1.2.7.6 MPS VII

A MPS VII foi descrita pela primeira vez em 1973 por Sly *et al.* num paciente com deficiência de beta-glucuronidase. Evidências sugerem que a forma neonatal é a mais freqüente. Do ponto de vista neurológico, a MPS VII tem grande variabilidade fenotípica. Podem ser observados envolvimento leve em adultos e grave retardo mental em crianças .

1.2.7.7 MPS IX

Em 1996, Natowicz *et al.* descreveram o quadro clínico de uma paciente com deficiência de hialuronidase . A menina de 14 anos apresentava massas periarticulares, leve dismorfismo craniofacial e desenvolvimento neurológico normal. Considerada um novo tipo de MPS (tipo IX), até hoje este é o único caso descrito na literatura.

1.2.8 Neuropatologia

Macroscopicamente, evidências na MPS II confirmam a presença de atrofia cerebral e dilatação dos ventrículos laterais nestes pacientes . Estes achados são conhecidos há vários anos e correspondem às alterações encontradas nos exames de neuroimagem.

Microscopicamente, estudos recentes têm demonstrado resultados interessantes em relação ao local de depósito dos GAG . Sabe-se hoje que os GAG não-degradados se acumulam no interior dos lisossomos de células nervosas, principalmente neurônios e células gliais . Estudos em modelos animais também demonstram acúmulo de GAG nas

meninges e espaços perivasculares . Recentemente, vacuolizações em linfócitos B e T também foram descritas .

Por outro lado, os mecanismos celulares e moleculares responsáveis pela neurodegeneração e disfunção neuronal nas MPS estão sendo estudados. Estudos em modelos animais demonstram várias alterações que potencialmente podem causar dano neuronal. Entre elas destacam-se a dentritogênese ectópica , expansão neurítica (meganeurito) , formação de esferóides axonais (distopia neuroaxonal) , ativação microglial , astrogliose , desmielinização, neuroplasticidade , vasculopatia e morte celular (Figuras 2 e 3).

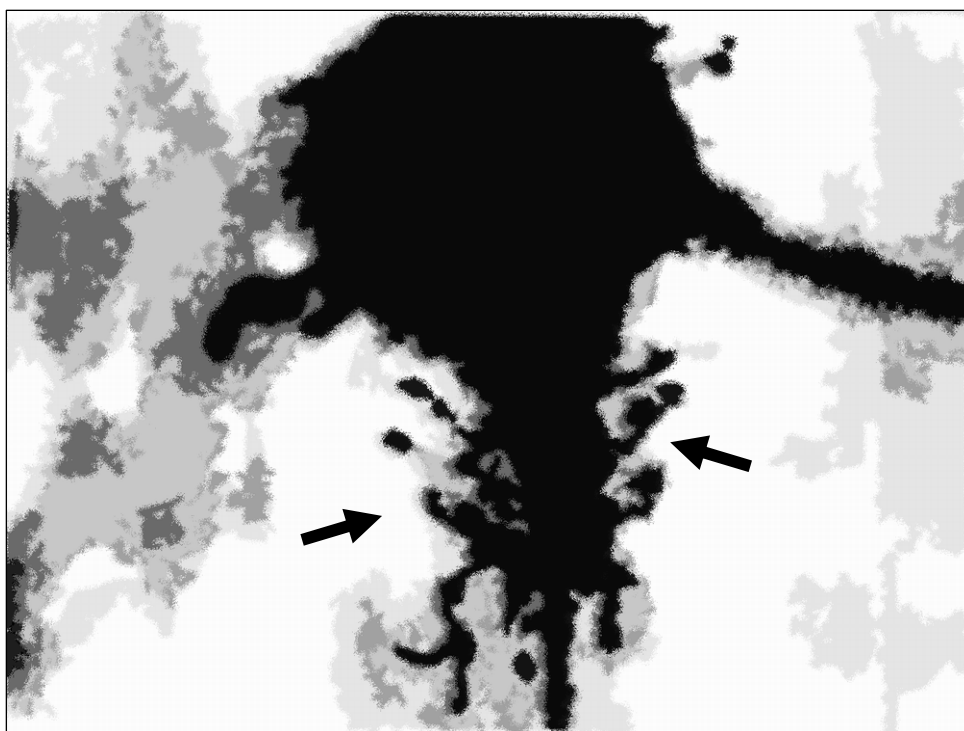


Figura 2. Esquema gráfico representando a dentritogênese ectópica. Na metade inferior da Figura, dendritos ectópicos proliferam nas bordas de um axônio (setas).

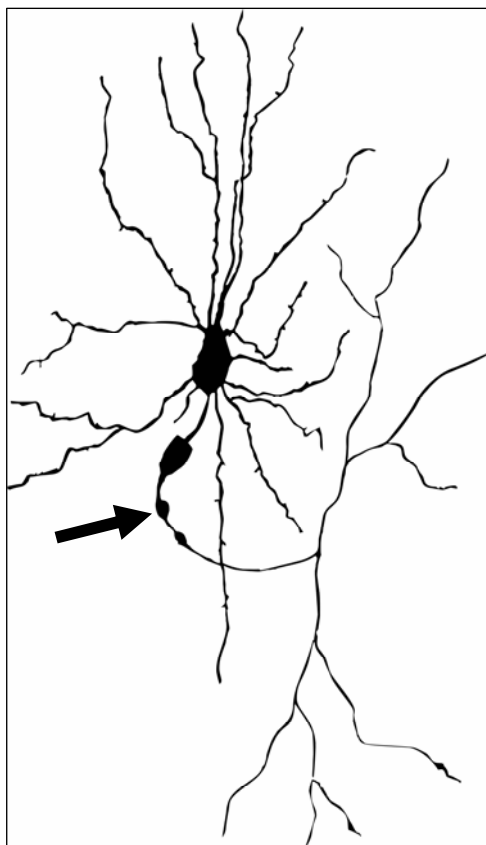


Figura 3. Esquema gráfico representando a distopia neuroaxonal. Observam-se zonas de aumento focal da espessura do axônio (seta).

Em comum, estes processos dificultam, direta ou indiretamente, vários processos neurofisiológicos, entre eles a transmissão do impulso nervoso e o transporte retrógrado de fatores de sustentação celular. Além do acúmulo de GAG, gangliosídeos (GM2 e GM3) também são encontrados no SNC, provavelmente em diferentes regiões subcelulares. Evidências sugerem que estes lipídeos são acumulados nos corpos em zebra, que são considerados remanescentes das inclusões lisossômicas vistas nas esfingolipidoses. O acúmulo deste material é intrigante, pois a degradação destes lipídeos não envolve as enzimas do catabolismo dos GAG. Evidências sugerem que o catabolismo dos gangliosídeos pode estar inibido devido ao acúmulo de GAG. Outro achado interessante é que este acúmulo é mais significativo em pacientes com MPS IH, II (forma grave) e III (A, B e D), todos os tipos que apresentam retardo mental, mas não em pacientes com MPS IHS ou MPS IS, na qual a inteligência é normal.

1.2.9 Diagnóstico

A análise dos GAG urinários foi o primeiro método disponível para o diagnóstico de MPS. Esta estratégia permanece ainda uma opção válida como teste preliminar, mas a técnica é incapaz de distinguir subtipos de pacientes. Entretanto o diagnóstico definitivo de MPS depende da demonstração da atividade reduzida da enzima que se supõe deficiente. Como as enzimas lisossômicas estão presentes em várias células (exceto nos eritrócitos maduros), a deficiência pode ser quantificada nas células ou fluidos como fibroblastos, leucócitos ou soro .

O diagnóstico pré-natal também é possível . Células do líquido amniótico ou de biópsias das vilosidades coriônicas são geralmente usadas. Apesar do alto custo e menor disponibilidade, a análise molecular também é uma opção diagnóstica na MPS .

1.2.10 Tratamento

O manejo terapêutico das MPS envolve tratamentos sintomático e específico. Suporte nas complicações cardiorespiratórias, atenção à disfunção ocular e auditiva, manejo da compressão medular e hidrocefalia são exemplos de tratamentos sintomáticos que podem trazer melhoria na qualidade de vida dos pacientes e familiares .

Em relação ao tratamento específico, o TMO é indicado em pacientes com MPS I e MPS VI e a TRE é uma alternativa em pacientes com MPS I, II e VI . Estudos com terapia gênica, privação de substrato e uso de chaperona também estão em andamento .

1.3 NEUROIMAGEM

1.3.1 Neuroimagem nas doenças lisossômicas

Uma análise sistemática da forma, distribuição e extensão das lesões encontradas nos exames de imagem é útil para limitar as hipóteses diagnósticas num paciente com suspeita de DL e diagnóstico laboratorial incerto . Isso facilita o manejo do paciente e reduz a lista de exames laboratoriais necessários para confirmar o diagnóstico .

Por outro lado, apesar da alta sensibilidade para detectar lesão estrutural, a especificidade da RM para diagnosticar o tipo de DL é menor . Além disto, a acurácia depende muito da experiência do interpretador e do período em que o exame foi realizado em relação à fase de progressão da doença. Como regra, os achados que sugerem um tipo específico de DL são identificados numa fase precoce da evolução da doença . Tardamente, muitas doenças se manifestam com achados inespecíficos como atrofia e leucodistrofia severa . Um exemplo é a leucodistrofia metacromática (LMC). Na fase inicial existe preservação das fibras arqueadas e SB perivascular. Esta seletividade desaparece com a progressão da doença .

Como grupo, as DL freqüentemente se manifestam na RM com lesões difusas na SB cerebral e cerebelar . Envolvimento difuso e sem acometimento das fibras arqueadas é típico da LMC . Nas gangliosidoses e na doença de Krabbe, é comum a alteração de sinal na RM no tálamo e no cerebelo . Na doença de Fabry, surgem lesões esparsas na SB (padrão microangiopático) e obstrução vascular . Na alfa-manosidose observam-se espaços perivasculares dilatados, espessamento da díploe e alterações ósseas . Outros achados que podem ser encontrados nas DL são a hipomielinização e faixas de hipossinal (padrão tigróide) nas seqüências ponderadas em T2, perpendiculares ao ventrículo, particularmente na LMC .

Diversos estudos avaliaram a história natural dos achados de RM em pacientes com DL e a correlação dos mesmos com outras variáveis como dados histológicos e sintomas neurológicos. Na doença de Krabbe, por exemplo, os achados de imagem têm boa correlação com os estágios clínicos da doença, quantidade de células globóides na histologia e estudos neurofisiológicos .

Como descrito anteriormente, o diagnóstico definitivo de DL depende da análise bioquímica. Entretanto não é incomum que pacientes com sinais e sintomas neurológicos inespecíficos, iniciem a investigação com exame de imagem. Como o diagnóstico precoce é fundamental para prevenção de dano neurológico permanente em alguns casos, a RM tornou-se fundamental na investigação de várias doenças metabólicas .

1.3.2 Neuroimagem nas mucopolissacaridoses

1.3.2.1 Considerações gerais

A primeira descrição de lesão nos exames de neuroimagem de pacientes com MPS foi em 1975 . Fowler descreveu a presença de hidrocefalia comunicante em 6 pacientes com a doença. Anos mais tarde, Kulkarni *et al.* relataram os achados de RM em 16 pacientes com MPS I e MPS II. As principais lesões descritas foram alteração de sinal na SB, compressão medular e hidrocefalia. Desde então, diversos autores confirmaram a alta prevalência de lesões no SNC de pacientes com MPS . Raramente o exame de RM é normal .

1.3.2.2 Principais achados na ressonância magnética

Espaços perivasculares dilatados

A presença de espaços perivasculares (EPV) dilatados é um achado característico das MPS . Os EPV são espaços limitados pela pia e preenchidos por líquido intersticial que acompanham as artérias e arteríolas que transitam nos hemisférios cerebrais . Segundo Groeschel, foram descritos por Virchow e Robin no final do século 19 . Estudos recentes demonstram que, além da função de drenagem de material intersticial, os EPV podem apresentar função imunológica. Trabalhos em modelos animais demonstraram a presença de linfócitos T, macrófagos migratórios e mastócitos nos espaços perivasculares .

Nas MPS, estudos histológicos sugerem que a dilatação dos EPV decorre do preenchimento do espaço por GAG não-degradados e acumulados de forma anormal nestas regiões . Outra hipótese é que a dilatação ocorra devido a um distúrbio da drenagem do líquido intersticial . Evidências sugerem que a dilatação dos EPV é mais freqüente na MPS tipo I, II e VI . Topograficamente, os EPV dilatados ocorrem principalmente na SB supratentorial e no corpo caloso. Locais menos freqüentes são o tronco cerebral, cerebelo, núcleos da base e tálamos. Morfologicamente, têm forma arredondada ou linear. Quando linear, a orientação é perpendicular ao ventrículo, acompanhado o trajeto das veias subependimárias. O tamanho é muito variável, mas raramente ultrapassa 1 cm de diâmetro . O sinal dos espaços perivasculares acompanha o sinal do líquido cefalorraquidiano (LCR) nas seqüências ponderadas em T1, T2 e FLAIR. Alguns autores denominam estes EPV dilatados de “alteração cribiforme” ou aparência em “favo de mel” . Os EPV não sofrem realce pelo gadolínio e raramente têm efeito de massa. Exemplos de EPV são demonstrados na Figura 4.

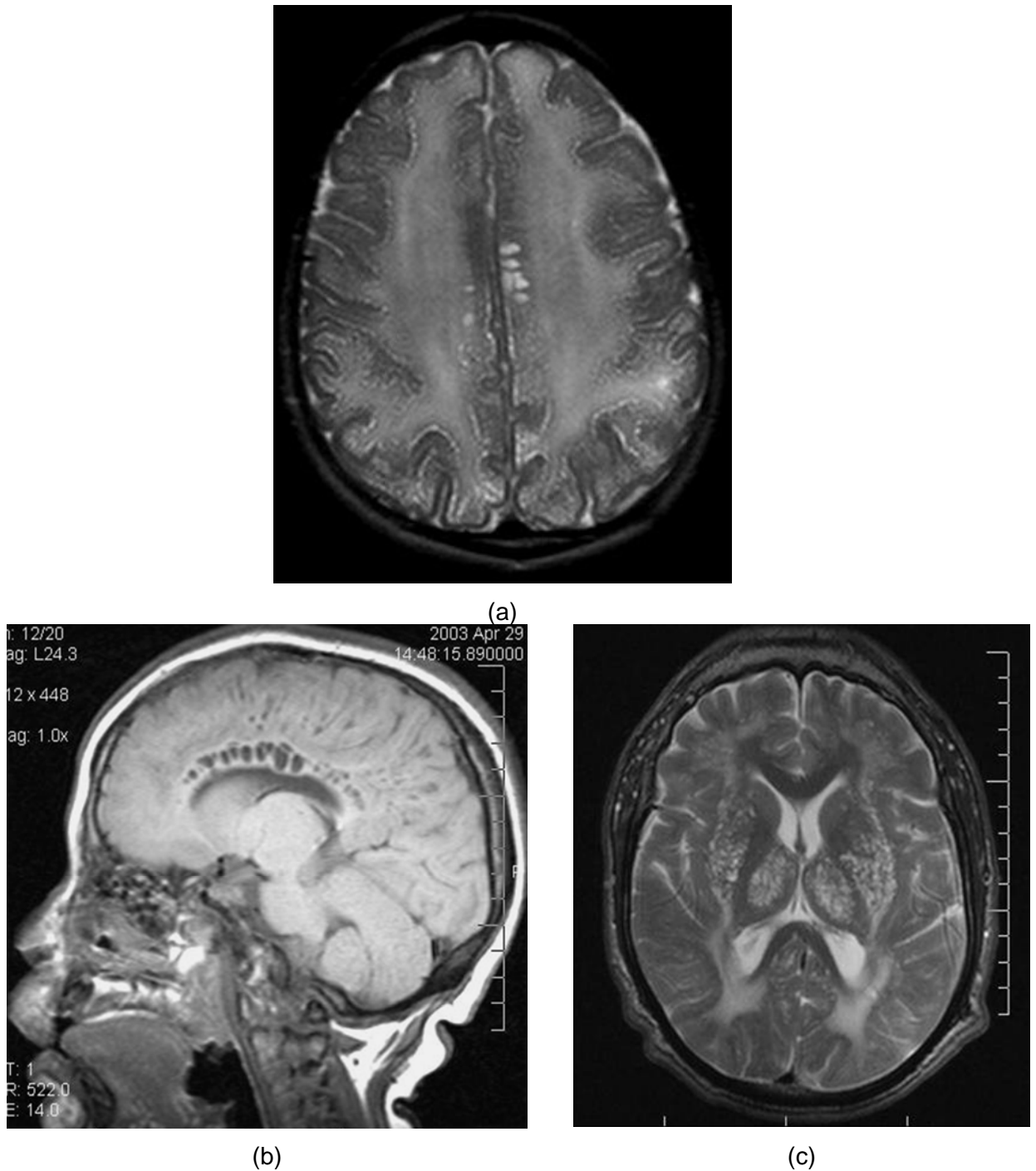


Figura 4. Espaços perivasculars (EPV) dilatados. Imagens nos planos axiais ponderadas em T2 (a, c) e sagital ponderada em T1 (b) em três pacientes com MPS II. Na Figura 4a existem EPV dilatados na substância branca subcortical dos lobos frontais e parietais. Na Figura 4b os EPV são extensos no corpo caloso. Na Figura 4c existem múltiplos EPV dilatados nos tálamos e núcleos da base

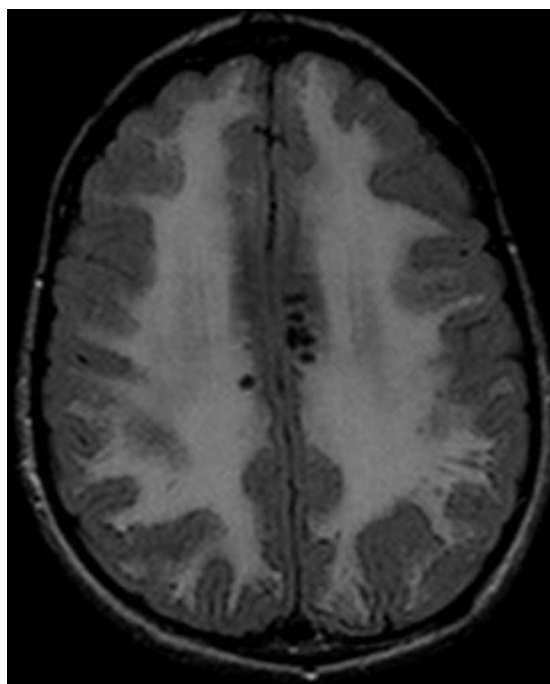
Apesar de clássico, este sinal não é específico da doença, podendo ser encontrado em outras como a hipomelanose de Ito, síndrome velocardiofacial e doença de Lowe . Além disso, a dilatação dos EPV pode ser visto em indivíduos sem sintomas neurológicos .

Lee *et al.* descreveram achados interessantes a respeito dos EPV numa série de 14 pacientes com MPS I, II e III. Os autores encontraram EPV em todos os pacientes analisados, especialmente na transição fronto-parietal. Em casos mais graves, os núcleos da base, lobo temporal, corpo caloso e região frontal inferior também estavam acometidos. Quando comparados com a presença de ventriculomegalia, atrofia cerebral e lesões na SB, a extensão dos EPV dilatados apresentaram correlação inversa. Além disso, a gravidade dos EPV não teve correlação com o grau de retardo mental. Segundo Seto *et al.* os EPV podem regredir após TMO.

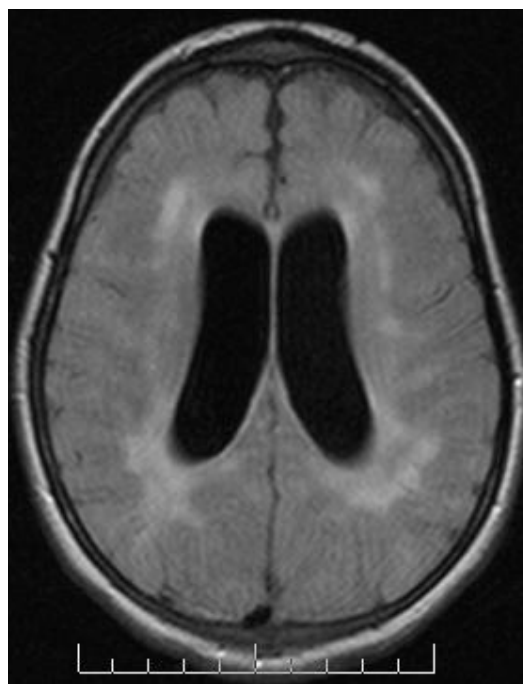
Lesões na substância branca

Outro achado freqüente na MPS é a presença de lesões na SB, com sinal hiperintenso em relação ao LCR, nas seqüências obtidas com tempo de repetição (TR) longo como FLAIR e T2 . Do ponto de vista histológico, a causa desta lesão é desconhecida. Teorias relacionam a lesão à gliose regional ou à perda de mielina . Considerada uma causa potencial, a permeação líquórica em pacientes com hidrocefalia não parece estar diretamente relacionada ao surgimento destas lesões que ocorrem freqüentemente distantes da superfície ventricular. A mielinização incompleta também tem sido relatada nas MPS .

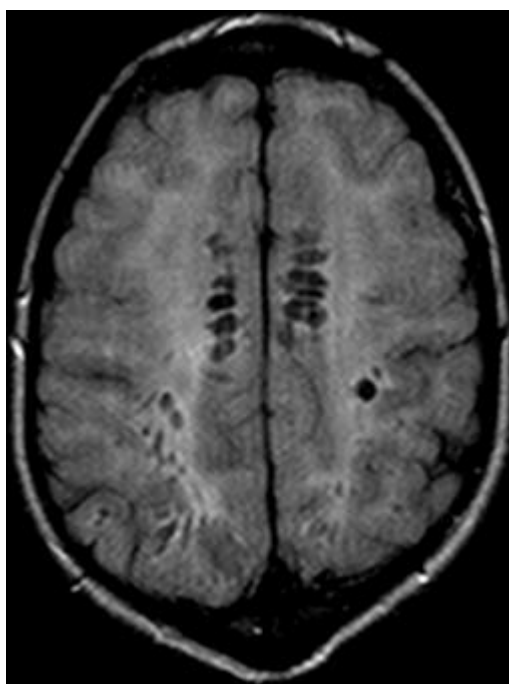
Em geral, são lesões difusas e acometem ambos os hemisférios cerebrais (Figura 5). Comprometimento das estruturas da fossa posterior, tálamos e núcleos da base são menos freqüentes. Segundo Seto , este tipo de lesão é mais freqüente na MPS II e III. As lesões na SB podem ser progressivas e eventualmente pode-se confundir MPS com outra leucodistrofia .



(a)



(b)



(c)

Figura 5. Lesões na substância branca (SB). Imagens axiais ponderadas em FLAIR de três pacientes com MPS II demonstrando diferentes graus de lesões na SB. Observa-se nas Figuras 5 a,c, espaços perivascularres dilatados esparsos, mais evidentes junto à linha média.

Da mesma forma que os EPV, a correlação entre a gravidade das lesões e o sintoma neurológico é controverso. Matheus *et al.*, por exemplo, não encontraram correlação entre a gravidade da doença e os sintomas neurológicos num estudo de 18 pacientes com MPS I e II . A mesma conclusão foi descrita por Barone *et al.* ao estudarem três pacientes com MPS III . Já Gabrielli *et al.* demonstraram correlação entre lesões na SB e retardo mental em 20 pacientes com diferentes tipos de MPS . O mesmo achado foi observado por Lee *et al.* numa análise em 14 pacientes com MPS I, II e III.

A correlação entre lesões na SB, o início dos sintomas, a idade dos pacientes e a evolução após TMO também tem sido discutida na literatura . As lesões na SB podem preceder o desenvolvimento de sintomas neurológicos . Parsons *et al.* não encontraram relação entre lesões na SB e idade numa série de 5 pacientes com MPS. Por outro lado, Takahashi *et al.* relataram melhora das lesões na SB em três dos sete pacientes que realizaram TMO . Já Seto *et al.* relataram melhora nas lesões na SB após TMO em um paciente com MPS VI numa série de sete casos analisados .

Dilatação ventricular

A dilatação ventricular é um achado freqüente em pacientes com MPS . Evidências sugerem que a prevalência depende do tipo de MPS e a idade do paciente. Segundo Seto *et al.* a ventriculomegalia é mais grave nos tipos I e II . Na série de Lee *et al.* o achado foi mais freqüente em pacientes com MPS I e teve relação inversa com a presença de EPV dilatados Já Parsons *et al.* encontraram maior ventriculomegalia em pacientes mais velhos, numa série de cinco pacientes com MPS .

Do ponto de vista patogênico, a dilatação ventricular pode estar relacionada à hidrocefalia comunicante ou dilatação “ex-vacuo” . A diferenciação destas entidades é crítica, pois a hidrocefalia comunicante pode exigir derivação ventricular.

A causa da hidrocefalia em pacientes com MPS é controversa. Estudos sugerem que a hidrocefalia comunicante ocorre devido ao bloqueio das granulações do espaço subaracnóideo, possivelmente por depósito de GAG nestas regiões . Apesar de controversa, a derivação ventricular tem sido descrita como alternativa terapêutica nestes pacientes . A Figura 6 demonstra um exemplo de hidrocefalia grave.

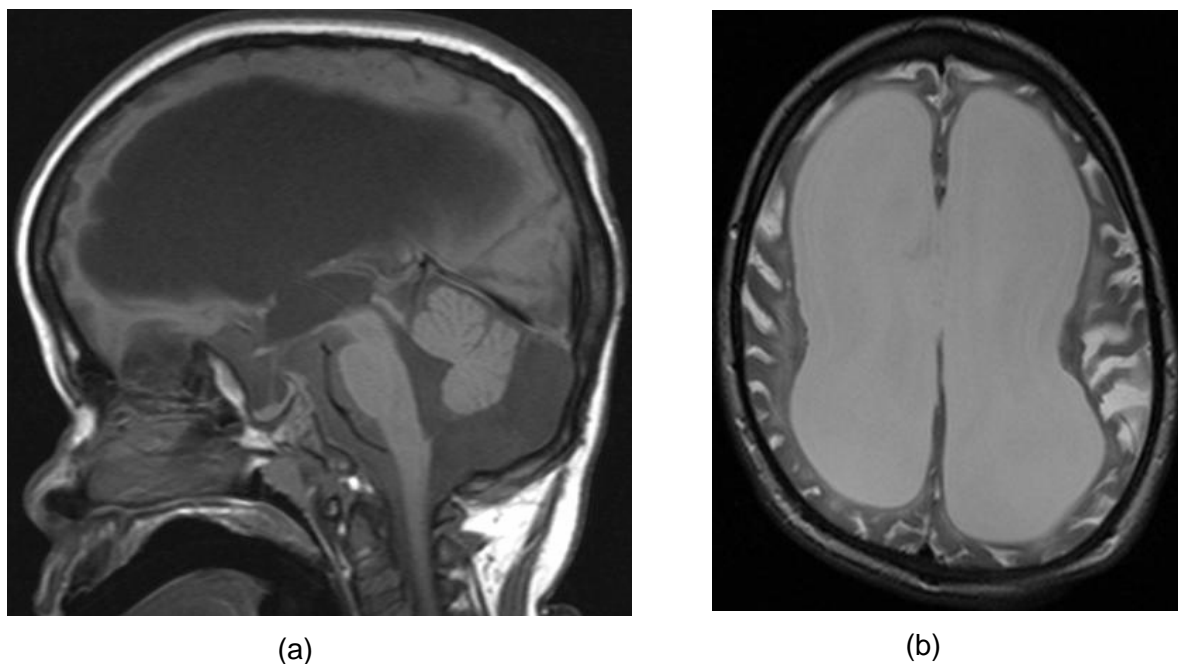


Figura 6. Hidrocefalia. Imagens ponderadas nos planos sagital T1 (a) e axial T2 (b). Exemplo de hidrocefalia grave em paciente com MPS II.

Atrofia cerebral

A atrofia cerebral é comum em pacientes com MPS . Lee *et al.* concluíram que a atrofia é mais freqüente em pacientes com MPS I e tem relação inversa com a presença de espaços perivasculares dilatados . Já Parsons *et al.* encontram maior atrofia em pacientes mais velhos .

O grande problema da avaliação da atrofia pela RM é a subjetividade da mensuração (Figura 7). A maioria dos autores considera atrofia presente quando existe proeminência de sulcos corticais . Desta forma, esta técnica pode apresentar alta variabilidade, pois o aumento dos sulcos também pode ocorrer devido ao maior acúmulo de LCR entre os giros e não por redução da espessura do giro ou córtex adjacentes.

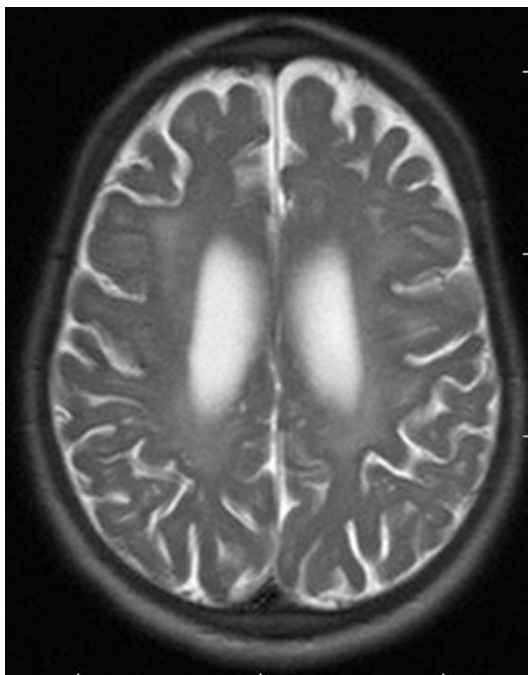


Figura 7. Atrofia cerebral. Imagem axial ponderada em T2. Paciente com cinco anos de idade com MPS II e retardo cognitivo. A proeminência dos sulcos corticais é geralmente considerada um marcador de atrofia cerebral

Alterações na coluna vertebral

Topograficamente, a coluna é um dos locais mais afetados pela doença. Um dos achados mais freqüentes é a presença de espessamento meningeo e do ligamento longitudinal posterior. Acredita-se que este espessamento é causado por depósito de GAG. Outras causas são a hipertrofia ligamentar secundária a subluxação crônica e a presença de uma massa na junção craniovertebral, geralmente com sinal baixo em T1 e T2, relacionada à fibrocartilagem não-ossificada e osteíte reativa.

A estenose do canal é causa de grande morbimortalidade em pacientes com MPS. O local mais comum de estenose é na transição craniovertebral, principalmente no plano C1-C2. Além do espessamento meningeo e ligamentar, a displasia óssea (platispondilia) com angulação anterior e deslocamento posterior do osso), a hérnia de disco, a cifoescoliose e a instabilidade atlanto-axial contribuem para a alta prevalência de estenose do canal nestes pacientes.

A instabilidade atlanto-axial é comum devido à lassidão do ligamento transversal e/ou hipoplasia do odontóide. Parsons *et al.* demonstraram alterações na transição craniovertebral independentemente da idade dos pacientes numa série de cinco pacientes com MPS. Devido à grande prevalência de alterações nesta região, a análise criteriosa e sistemática é necessária no estudo da doença na coluna.

As grandes conseqüências da estenose são a mielopatia compressiva e a siringomielia . Evidências recentes sugerem que após o TMO pode haver melhora da displasia progressiva no odontóide e que o depósito de GAG na dura é mais freqüente na região cervical quando comparado com as regiões tóraco-lombares. A Figura 8 demonstra a estenose do canal cervical.

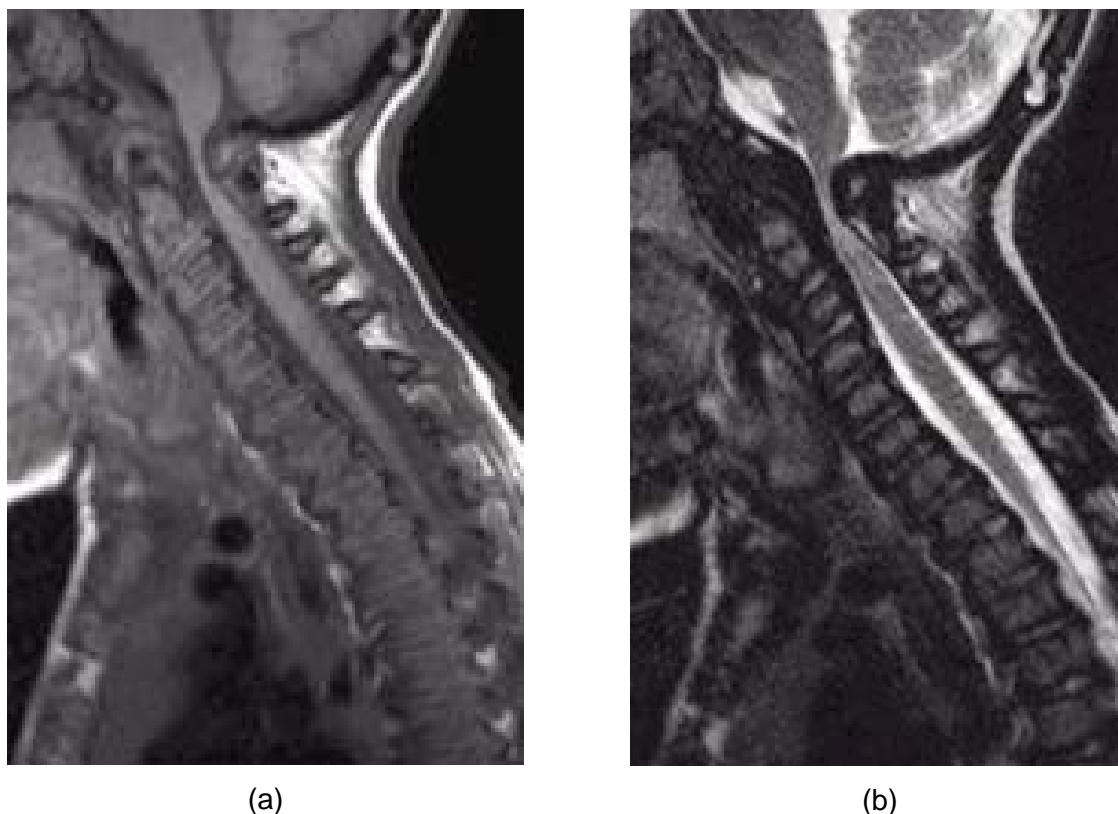


Figura 8. Estenose do canal vertebral. Imagens sagitais ponderadas em T1 (a) e T2 (b). Paciente com MPS IS. Observar importante redução do diâmetro do canal vertebral na transição craniocervical e mielopatia, caracterizada por hipersinal medular em T2, no plano C1-C2.

Alterações craniofaciais

Alterações craniofaciais também são freqüentes nas MPS. A literatura relata a presença de sutura metópica com padrão semelhante à trigonocefalia, acúmulo de múltiplos dentes num folículo (padrão em roseta) e sela deformada (forma de J) . A presença de cistos na fossa posterior e megacisterna magna também são freqüentes . Macrocefalia é comum em pacientes com MPS . O conhecimento deste achado é importante no diagnóstico diferencial das leucodistrofias com macrocrania como a doença de Canavan e Alexander .

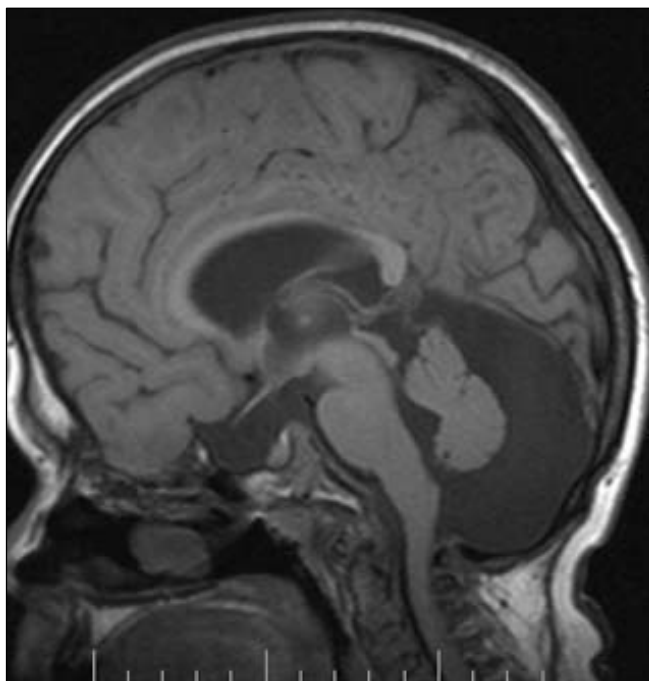


Figura 9. Megacisterna magna. Imagem sagital ponderada em T1. Observar a ampliação da cisterna magna neste paciente com MPS II.

Outros achados

A prevalência de tumores do SNC em pacientes com MPS é desconhecida. Stockler *et al.* relataram o surgimento de um endimoma de fossa posterior num paciente com MPS I . Recentemente, relatos de casos descreveram a presença de lisencefalia e isquemia cerebral em pacientes com MPS .

Conclusões sobre os achados de RM na MPS

Apesar de várias descrições sobre os achados de RM em pacientes com MPS, as evidências basearam-se em pequenas séries de casos com amostra heterogênea de pacientes e sem análise criteriosa dos tipos da doença (Tabela 3). Além disso, a maioria das variáveis foi analisada com critérios subjetivos. Até hoje, nenhum estudo utilizou técnicas quantitativas para avaliar as lesões cerebrais de pacientes com MPS e a correlação entre neuroimagem, alterações bioquímicas e sintomas neurológicos é controversa .

Tabela 3. Revisão sobre estudos de ressonância magnética nas mucopolissacaridoses

Autor	Ano	Delineamento	Forma	Amostra
Kulkarni M <i>et al.</i>	1987	Série de casos	IH, IS e II	8
Murata R <i>et al.</i>	1989	Série de casos	IH, II, IIIA e VI	8
Shimoda <i>et al.</i>	1990	Rélato de caso	II	1
Afifi AK <i>et al.</i>	1990	Série de casos	I	5
Gabrielli O <i>et al.</i>	1992	Série de casos	I	2
Lee C <i>et al.</i>	1993	Série de casos	IH, II e III A	6
Shinomiya N <i>et al.</i>	1996	Relato de caso	II	1
Parsons VJ <i>et al.</i>	1996	Série de casos	II	5
Hughes DG <i>et al.</i>	1997	Série de casos	IV	7
Petitti N <i>et al.</i>	1997	Série de casos	III	2
Barone R <i>et al.</i>	1999	Série de casos	III	3
Takahashi Y <i>et al.</i>	2001	Série de casos	IH, IS, II e VII	7
Thorne <i>et al.</i>	2001	Série de casos	VI	9
Seto T <i>et al.</i>	2001	Série de casos	III	23
Zafeirou D <i>et al.</i>	2004	Série de casos	III	3
Gabrielli O <i>et al.</i>	2004	Série de casos	I, II, III e VI	20
Matheus MG <i>et al.</i>	2004	Série de casos	I e II	18

1.3.2.3 Espectroscopia de prótons nas mucopolissacaridoses

Princípios da ERM

A espectroscopia de prótons por RM (ERM) é uma técnica não-invasiva que tem se mostrado útil para avaliar alterações bioquímicas e metabólicas em várias doenças do SNC . A união das imagens da RM convencional com a ERM permite uma correlação interessante entre os fenômenos fisiológicos e anatômicos em uma determinada região do cérebro. Tradicionalmente, a ERM utiliza o núcleo de hidrogênio (H+) devido a sua abundância natural no organismo e à alta sensibilidade magnética quando comparada com outros picos como o fósforo (P-31) e o flúor (F-19) .

Os princípios físicos que formam os espectros são semelhantes à formação da imagem da RM, exceto que o sinal obtido é transformado num espectro de diferentes frequências e não em uma imagem convencional . O fenômeno básico da ERM está baseado no princípio do desvio químico. Basicamente, a ERM demonstra vários sinais que correspondem aos metabólitos presentes naquela região de interesse. Estes sinais se caracterizam por um ou mais picos que apresentam algumas características especiais como

freqüência de ressonância (posição do pico), largura, forma da linha, fase e área. Os picos são separados um dos outros devido às diferentes freqüências de ressonância entre eles. Estas diferenças são determinadas pelo ambiente químico do núcleo em estudo. Normalmente, estas diferenças são expressas em ppm (partes por milhão) que é uma unidade relativa. A vantagem desta mensuração é que ela permite que os desvios químicos sejam expressos independentemente da força do campo magnético .

O espectro pode ser afetado por vários fatores como a homogeneidade do campo magnético, potencial do campo, seqüências de pulso e parâmetros da aquisição. Existem duas seqüências básicas de localização: STEAM (*stimulated emission acquisition mode*) e PRESS (*point resolved surface coil spectroscopy*). Atualmente, a seqüência PRESS é mais utilizada devido a menor sensibilidade a movimento e maior relação sinal/ruído .

No espectro, a área contida no pico é diretamente proporcional à concentração do metabólito . A concentração dos metabólitos é expressa mais freqüentemente como uma razão entre os picos (quantificação relativa). Esta estratégia tem vantagens como a maior praticidade, menor tempo de pós-processamento e maior disponibilidade nos equipamentos convencionais de RM . Entretanto, quando for necessária a correlação entre parâmetros bioquímicos e de ERM, a quantificação absoluta pela ERM é necessária. Apesar de pouco utilizada, esta opção permite que as concentrações dos metabólitos sejam expressas em unidades bioquímicas como milimoles/kg .

Principais picos na ERM

Os principais metabólitos detectáveis na ERM são o n-acetil-aspartato (NAA), colina (Col), creatina (Cr) e mioinositol (ml). Outros picos que também podem ser analisados são a alanina, lactato, lipídeos, glutamato e aminoácidos . Evidências demonstram que a concentração dos metabólitos varia com a idade. As duas principais mudanças são o aumento do NAA e a redução da Col com a maturação do cérebro .

O NAA é um neurotransmissor derivado dos aminoácidos, sintetizado nos neurônios e transportado nos axônios. Seu pico surge em 2 ppm e é atribuído em grande parte pelo seu grupo n-acetil-metila. Dentro do pico do NAA existem outros picos como a fração n-acetil-aspartil-glutamato. É considerado um marcador neuronal e está reduzido em situações de morte ou disfunção neuronal. Evidências sugerem que o NAA aumenta na doença de Canavan .

O pico da Col é atribuído à presença de colina livre, fosfocolina e glicerofosfocolina. Na ERM, o pico surge em 3.2 ppm. A colina não é sintetizada no cérebro e evidências sugerem que o metabólito é absorvido do plasma ou sintetizado no fígado como fosfatidil colina. A colina é um constituinte dos fosfolipídios da membrana celular e reflete a atividade da membrana celular . Além disso, está envolvida na síntese do neurotransmissor

acetilcolina e de fosfolípidos. O aumento da colina ocorre devido à atividade aumentada da membrana celular ou aumento da população celular .

O pico da Cr em 3.03 ppm surge da combinação dos picos da creatina livre, fosfato creatina, lisina e glutamina. Um segundo pico pode ser visto em 3.94 ppm. Estudos sugerem que a creatina tem um papel na manutenção das reservas energéticas da célula. Apesar de ser usada como referência interna devido à teórica estabilidade, situações que alterem o metabolismo ou a osmolaridade celular podem afetar a concentração do metabólito no organismo .

O ml é sintetizado em células gliais, não cruza a barreira hematoencefálica e seu pico é em 3.56 ppm. O ml é considerado um marcador de resposta glial e o aumento do metabólito sugere proliferação glial ou aumento do tamanho das células gliais. Evidências demonstram aumento do ml em diversas doenças como neoplasias gliais de baixo grau, doença de Alzheimer e encefalopatia hepática . Exemplo de um espectro é demonstrado na Figura 10.

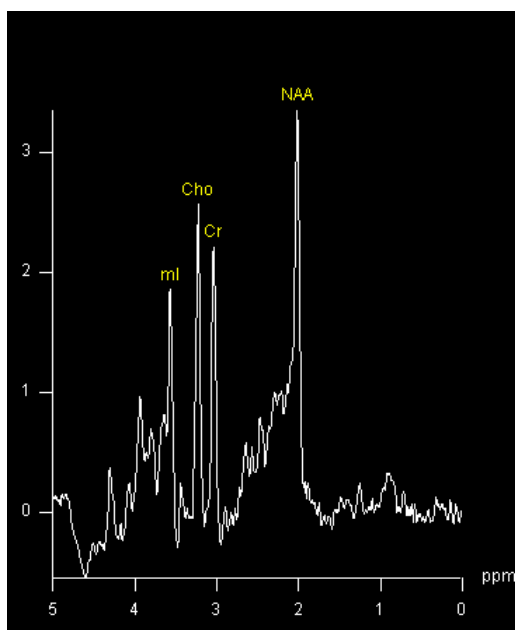


Figura 10. Espectroscopia de prótons utilizando a seqüência PRESS com TE de 30 ms. A amplitude e posição do n-acetil-aspartato (NAA), creatina (Cr), colina (Cho) e mio-inositol (ml) são demonstrados.

ERM nas doenças metabólicas

A ERM é considerada uma ferramenta útil na avaliação das doenças metabólicas . Tzika *et al.* e Van der Knapp *et al.* descreveram a importância da técnica na análise de vários processos subjacentes às doenças metabólicas como perda neuronal pela redução do NAA e acidose metabólica devido à presença de lactato no espectro . Nas DL, achados

de ERM foram descritos em várias doenças como a LMC, a doença de Krabbe e a lipofucinose ceróide. Como grupo, as principais alterações encontradas foram redução do NAA, aumento do ml e da colina.

Na LMC, Sener *et al.* descreveram redução da colina e Grodd *et al.* encontraram redução do NAA e aumento do mioinositol.

Na Doença de Fabry, Jardim *et al.* descreveram aumento da relação Col/Cr e redução do NAA/creatina . Já Politei *et al.* não detectaram alterações na ERM utilizando a técnica de quantificação absoluta em 5 pacientes com a doença .

Na doença de Krabbe, Farina *et al.* encontraram aumento da relação Col/Cr e do ml/Cr em três pacientes com a doença tanto da SB como na substância cinzenta (SC). Os autores também relatam alterações na SB aparentemente normal (*normal-appearing white matter*), indicando maior sensibilidade da ERM em relação à RM convencional. A ERM também foi testada na diferenciação das fases da doença. Já Brockmann *et al.* encontraram o aumento da Col/Cr e do ml/Cr em pacientes com a forma infantil da doença.

Na lipofucinose ceróide, Seitz *et al.* descrevem aumento do ml, redução do NAA e glutamato-glutamina. Nas fases tardias, o aumento do ml se tornou a alteração mais proeminente. Já Vanhanen *et al.* destacaram que a ERM pode ser útil para monitorizar a progressão da doença .

ERM na MPS

Apesar de ser uma técnica muito utilizada nas DL, até hoje a ERM foi pouco explorada em pacientes com MPS . Somente três relatos de casos foram descritos e as alterações encontradas foram o aumento do ml e a redução do NAA .

O maior estudo até hoje foi feito por Takahashi *et al.* . Os autores descreveram os achados em sete pacientes com MPS (2 com MPS I, 4 com MPS II e 1 com MPS VII). Nesta série, dois pacientes foram analisados com ERM. Os autores encontraram a presença de um pico em 3.7 ppm maior que o pico de ml. Após correlacionar com achados de ERM da urina dos pacientes, concluíram que este pico seria um marcador *in vivo* do depósito de GAG. Além disso, a relação deste pico reduziu após o tratamento com transplante de medula óssea. Os autores também relatam que não houve diferença entre a relação NAA/Cr entre os pacientes e o grupo controle e a relação Col/Cr era maior em pacientes com a doença.

Entretanto a correlação entre a ERM, anormalidades bioquímicas e gravidade do quadro neurológico ainda não foi descrita na literatura. Além disso, a comparação dos achados de ERM com a RM convencional é desconhecida. Estas informações podem ser úteis para o melhor entendimento da fisiopatogenia e papel da RM na investigação da doença.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Analisar o potencial da RM e da ERM na investigação de pacientes com MPS.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Comparar os achados de RM e ERM com o déficit cognitivo dos pacientes.
- b) Analisar o efeito do tempo de doença e da idade dos pacientes sobre os achados de RM e ERM.
- c) Comparar os achados da RM e ERM com os níveis de GAGs urinários.
- d) Comparar os achados de RM e ERM com a atividade residual da enzima.
- e) Comparar os diversos tipos de MPS quanto aos achados de RM e ERM.

3 REFERÊNCIAS

4 PAPER 1 - CORRELATION OF MRI AND MR SPECTROSCOPY FINDINGS WITH COGNITIVE IMPAIRMENT IN MUCOPOLYSACCHARIDOSIS II

Article accepted for publication in AJNR 2007 (Jun/Jul)

**Vedolin L, MD¹, Schwartz IVD, PhD^{2,3}, Komlos M, MD¹, Schuch A³, Puga AC, PhD²,
Pinto LLC, MD², Pires AP, PhD², Giugliani R, PhD^{2,3}**

¹ Neuroradiology Department, Mãe de Deus Center and Hospital Mãe de Deus, Porto Alegre, Brazil;

² Medical Genetics Service, Hospital de Clínicas, Porto Alegre, Brazil;

³ Department of Genetics, Federal University of Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil.

Address correspondence to:

Leonardo M. Vedolin, MD

Av Nilo Peçanha, 550 ap 1301 – Bela Vista – 90410.000

Porto Alegre, Brazil

Phone number: 55.51.3331.9080

e-mail: leonardovedolin@hotmail.com

Disclosure: The authors thanks NORD for the financial support

ABSTRACT

Background and objectives: There are no reliable markers to predict neurological outcome of mucopolysaccharidosis (MPS) II patients. We hypothesized that brain MR imaging (MRI) and MR spectroscopy (MRS) are useful in depicting features related to cognitive impairment in MPS II.

Methods: Nineteen male patients with MPS II were included in this study. They were evaluated through intelligence/developmental tests in order to be classified in 2 groups: patients with cognitive impairment (group A) or patients without cognitive impairment (group B). Brain MRI evaluated white matter (WM) lesions, hydrocephalus and brain atrophy. Voxels from MRS (PRESS TE 30 ms) were positioned in the WM of the deep right frontal lobe and at the gray matter (GM) in the posterior occipital cortex, across the midline. Comparison of MRI and MRS findings between groups and a control group was performed.

Results: The mean age of the patients was 9.6 years (group A: 7.08 years old, 12 patients; group B: 14 years old, 7 patients; $p=0.076$). Brain atrophy and hydrocephalus were more frequently found in group A patients ($p=0.006$ and $p=0.029$, respectively); these patients also presented more severe WM lesions than patients from group B ($p=0.022$). Patients from group A also had a higher ml/Cr ratio in the GM ($p=0.046$) and in the WM ($p=0.032$). The Cho/Cr and NAA/Cr ratios were similar in both groups.

Conclusion: Our study showed that severe WM lesions, brain atrophy, hydrocephalus and elevated ml/Cr were more common in MPS II patients with cognitive impairment.

INTRODUCTION

Hunter disease or mucopolysaccharidosis type II (MPS II) is a rare lysosomal storage disease caused by deficiency of iduronate 2-sulphatase (IDS), which leads to incomplete degradation and progressive accumulation of glycosaminoglycans (GAGs) in various organs, including the central nervous system (CNS). The cerebral manifestations of MPS II range widely from mild to severe disability; the reason for this heterogeneity is not well understood. Patients having neurological compromise usually present severe disability and die before 15 years of age, while patients without cognitive impairment can present a normal life expectancy (1,2). Despite the high morbidity and mortality of the disease, enzyme-replacement therapy (ERT) is a potential treatment for MPS II (3).

Brain magnetic resonance imaging (MRI) is the prime imaging modality for detection of CNS abnormalities in MPS II patients. White matter (WM) lesions, dilated perivascular spaces (DPVS), hydrocephalus and spinal canal stenosis have been described in previous studies (4-8). However, relationship between neuroimaging findings and mental dysfunction is controversial. Data from Gabrielli et al (9) showed correlation between WM alterations and mental retardation. Recently, Matheus et al (10) did not find association between neuroimaging findings and clinical status. Some reasons for these discrepancies could be the inclusion of different types of MPS patients as a unique study group, inclusion of patients with mild phenotype only and subjective scores to grade lesions on MRI (9,10).

In metabolic and destructive brain disorders, MR spectroscopy (MRS) imaging functions as a diagnostic tool for noninvasive analysis of biochemical tissue (11-13). Regarding MPS, Takahashi et al (14) recently described the MRS findings in MPS patients before and after BMT. The authors found an abnormal resonance peak at 3.7 ppm in the brain and urine of MPS patients, higher than the myoinositol in a small case report study. Until now, these findings have not been confirmed in other studies.

Given the wide spectrum of disease severity and progressive course, one of the challenges for managing the disorder is to accurately predict clinical phenotype. To date there is no reliable marker to predict the onset of cerebral lesions and outcome. Adequate measure of MRI brain involvement and detection of cerebral lesions before clinical manifestations could be used to monitor lesion progression and select therapeutic interventions. The purpose of our study was to test which MRI and MRS findings correlate with neurological compromise in MPS II patients.

METHODS

We prospectively evaluated 19 MPS II male patients from the MPS clinics of the Medical Genetics Service of our hospital. Each patient had typical clinical manifestations of the disorder, as well as a biochemical diagnosis of MPS II confirmed by a deficient activity of IDS in plasma or leucocytes, with a normal activity of at least one other sulphatases, in order to exclude multiple sulphatases deficiency. They had not been previously submitted to bone marrow transplantation (BMT) or ERT.

All patients were submitted to age-appropriate development tests (Bayley for children under 42 months, Weschler for children between 43 months to 10 years and Leiter for patients who were 11 years or older) by a psychologist (APP) who is experienced in development neurology. According to the study protocol, patients were classified either as presenting (group A) or not (group B) cognitive impairment (CI). CI was considered present when developmental tests or IQ below 70 was found. Severely affected patients that could not respond to development tests were classified within the CI group. For MRS, an age-matched control group was examined with the same protocol used to examine the patient group. This control group consists of healthy children from the community without developmental delay or neurological symptoms.

All MR imaging of the brain were performed on a 1.5 T MR system and included axial FLAIR-weighted images (TR/TE/TI = 9000/114/2500), axial and coronal T2-weighted images (TR/TE: 4000/99) and sagittal T1-weighted images (TR/TE = 522/14). WM lesions were defined as hyperintense on FLAIR and graded in 2 categories: *mild* (scattered and less than 5 WM lesions) and *severe* (extensive, confluent and more than 5 WM lesions). Brain atrophy was considered present when dilated sulci were found as described by Lee et al (4). For statistical analysis, hydrocephalus was calculated by a semi-quantitative ratio measuring the maximum distance between the outer borders of the occipital horns divided by the maximum biparietal diameter (Ventricular size = $10 - (\text{occipital horns diameter} / \text{biparietal diameter})$). Although DPVS is common in MPS II patients, this finding was not tested in this study.

Single-voxel proton MR spectra were acquired at the same 1.5 T MR unit by using point-resolved spectroscopy (PRESS) technique (TR/TE: 2000/30 ms). Automated shimming and chemical shift selective water suppression were used. Voxels of 8 ml were positioned at two locations containing mainly white matter (WM) tissue at the deep right frontal lobe and at the gray matter (GM) in the posterior occipital cortex, across the midline (figure 1).

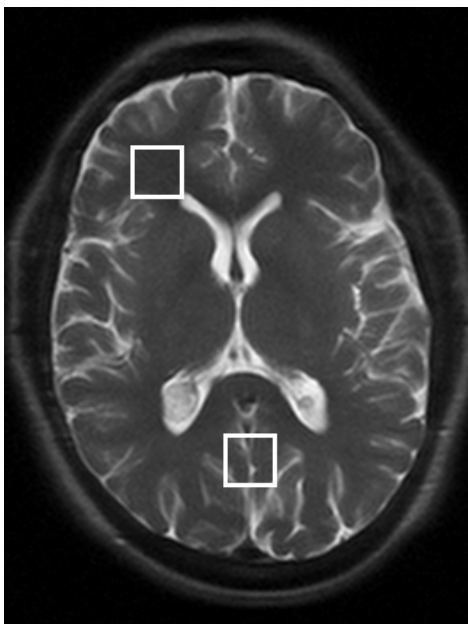


Figure 1. Example of the localization used for single-voxel imaging. Superimposed on an axial T2-weighted image, the white square shows the volume of brain tissue sampled by MRS at the white (right frontal lobe) and gray matter (posterior occipital cortex).

To reduce measurement variability, partial volume effects with cerebrospinal fluid or other brain structures, these locations are considered standard for research studies in our department. For MRS analysis, we excluded patients with severe hydrocephalus. The data were postprocessed and myoinositol (ml) was assigned at 3.56 ppm, choline (Cho) at 3.2 ppm, creatine (Cr) at 3.03 ppm and NAA at 2.0 ppm. A computer software designed by the manufacturer (*Siemens, Erlangen*) was used to measure peak areas. Imaging evaluation was performed by a single reader (LV), using a computerized database, blinded to clinical findings or disease form.

For statistical analysis, descriptive summary statistics and univariate analysis were performed, using the software SPSS for Windows 10 (SPSS, Chicago, Ill). For categorical variables (age, severity of WM lesions and brain atrophy) Fischer's exact test was used. For continuous variables (degree of hydrocephalus and metabolite ratios on MRS) we used Student test for independent samples. Significance level was set at 0.05.

The study was approved by the local institutional review board (number 03/066). Informed consents were obtained from the patients or their legal representatives before undergoing evaluations.

RESULTS

Nineteen patients were included in the study. The mean age of the patients was 9.6 years (SD 6.5 years; age range 3-26 years). Based on IQ and development testing, 12/19 patients (63.2%) had CI (group A), while 7/19 (36.8%) did not (group B).

Table 1 lists imaging findings in both groups. Although the presence of WM lesions did not differ significantly between groups, WM lesion severity was significantly greater in patients with CI ($p=0.038$). Most of them presented severe lesions, diffusely involving the WM and usually affecting more than 3 cerebral lobes. Isolated involvement of periventricular or deep WM was uncommon. Hyperintense lesions were confluent in some patients but never caused mass effect. None of the evaluated patients had lesions involving the corpus callosum. Hydrocephalus and brain atrophy were more frequent in CI patients ($p=0.029$ and $p=0.006$, respectively). Brain atrophy was diffuse and sometimes asymmetric, with fronto-parietal regions usually more severely affected.

Examples of MRS of patients with and without CI are shown in figures 2 and 3. Table 2 shows MRS findings in both groups. Patients presenting CI had a higher ml/Cr ratio in the GM ($p=0.046$) and in the WM ($p=0.032$). The Cho/Cr and NAA/Cr ratios, in both WM and GM, were similar in both groups. Metabolite value differences between groups occurred independently of degree of WM lesions, hydrocephalus or patient age ($p>0.05$).

Table 1. Univariate analysis of MRI findings

	All patients (n=19)	Group A (n=12)	Group B (n=7)	P value
Mean age (SD)	9.63 (6.5)	7.08 (3.5)	14 (8.4)	0.076
WML	Severe 14 (73,7%) Mild= 5 (26.3%)	Severe=11 (91.7%) Mild= 1 (8.3%)	Severe= 3 (42.9%) Mild= 4 (57.1%)	0.038
Hydrocephalus	7.83 (0.44)	7.98 (0.46)	7.58 (0.26)	0.029
Brain atrophy	11/19 (57.8%)	10/12(90.9%)	1/7 (9.1%)	0.006

Note: Group A and group B indicate children with and without cognitive impairment, respectively; age expressed as years old; SD means standard deviation; WML, white matter lesion; numbers between () means (SD) or (%).

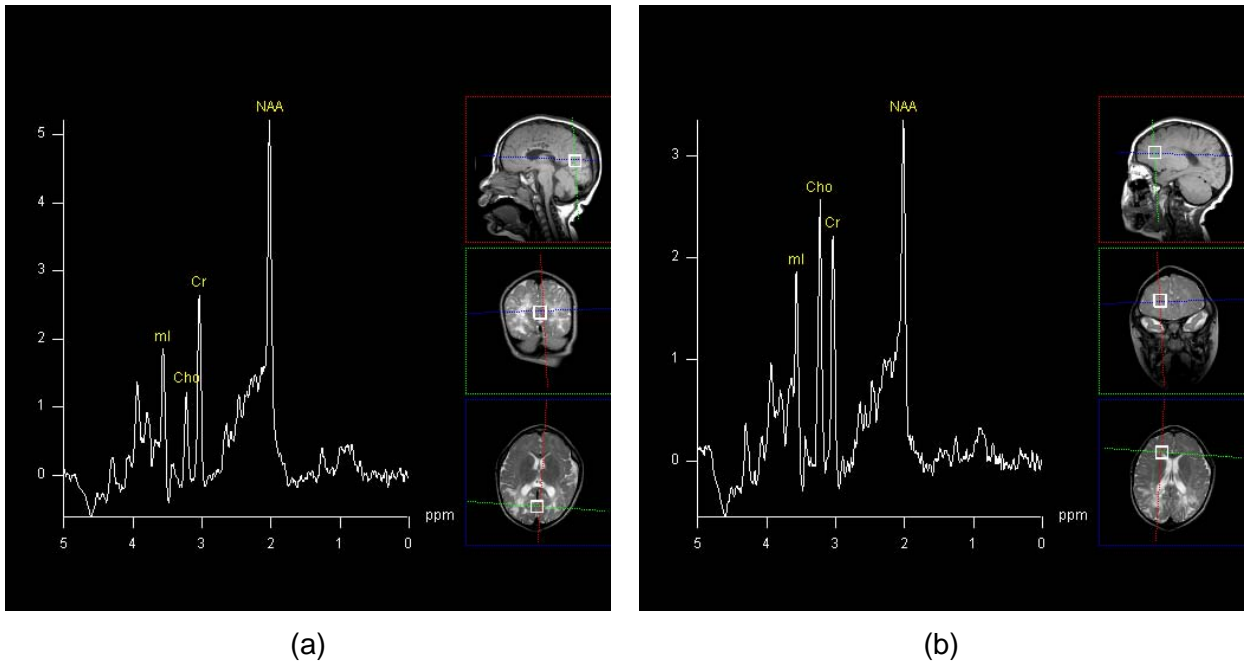


Figure 2. MRS of a patient with MPS II and cognitive impairment. There is elevation of the ml/Cr ratio at the gray (a) and white matter (b).

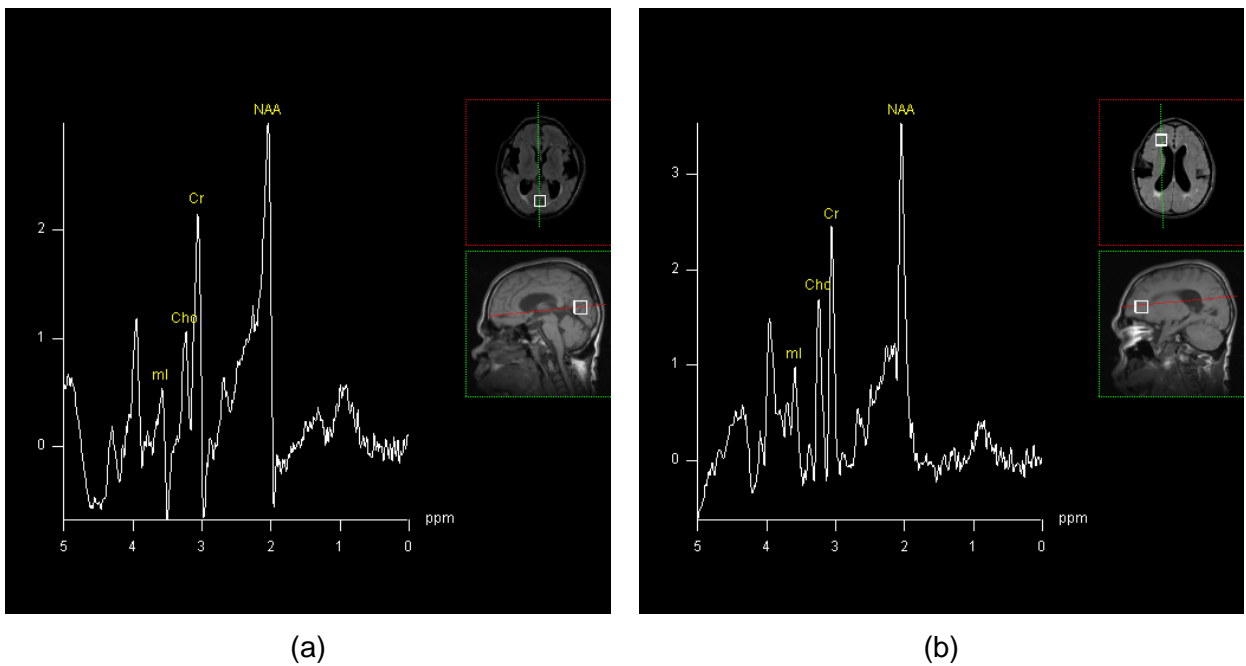


Figure 3. MRS of a MPS II patient without cognitive impairment. When compared with figure 2, elevated ml/Cr ratio at the gray (a) and white matter (b) is no longer present.

Table 2. Univariate analysis of MRS findings

Metabolite ratio	Group A (n=12)	Group B (n=7)	Control Group (n=10)	P value
WM NAA/Cr	1.94±0.49	2.17±0.26	2.11±0.36	0.450
WM Cho/Cr	0.94±0.21	0.97±0.12	0.83±0.19	0.301
WM ml/Cr	0.57±0.18	0.43±0.12	0.40±0.10	0.032
GM NAA/Cr	2.05±0.41	2.01±0.50	2.12±0.21	0.842
GM Cho/Cr	0.45±0.08	0.45±0.07	0.48±0.07	0.668
GM ml/Cr	0.47±0.88	0.36±0.11	0.45±0.66	0.046

Note: Group A and group B indicate children with and without cognitive impairment, respectively; NAA indicate n-acetylaspartate; Cr, creatine; Cho, choline; ml, myo-inositol; WM, white matter; GM, gray matter.

DISCUSSION

Our data suggest that MRI and MRS can be useful tools to access the severity of brain compromise in MPS II patients. We found a higher prevalence of brain atrophy, hydrocephalus, severe WM lesions and elevated ml in more severely affected children. These results confirm the high sensitivity of neuroimaging for characterization of brain involvement in MPS. Besides, MRS findings could be useful to better understand the pathophysiology of brain response to GAGs deposits (15-16). Although our study group was composed by a highly selected population of MPS II patients and the extrapolation of these results for all MPS patients should be done with caution, our preliminary results may support using neuroimaging as a marker of disease severity in clinical trials.

Brain atrophy has been considered a common finding in MPS, although correlation with mental status is controversial in the literature (9,10). As an imaging finding, atrophy was always diffuse, and tended to involve more extensively both frontal and parietal areas. In some patients asymmetry was found. We did not find an explanation for such asymmetry, as neurological examination did not show focal motor or sensitive signs. As pointed out by Matheus et al (10), one possible explanation could be an association of brain atrophy and asymmetric deposition of GAGs, or central spinal fluid (CSF) entrapment in subarachnoidal

spaces. This association could explain why there is controversy regarding the correlation between dilated sulci and mental status.

Hydrocephalus is an important cause of morbidity in MPS II, as chronic intra-ventricular high pressure can lead to behavioral disturbances, optic nerve lesions, and brain stem damage (17,18). Because of likely outcomes, different authors recommend neurosurgical intervention for patients with MPS, mainly types I, III and VI. Experiences with such neurosurgical procedures in MPS II are limited. As venous hypertension is a known cause of hydrocephalus, one hypothesis for the ventricular enlargement in these patients could be the reduced venous outflow through the skull base. New studies are necessary to confirm this association.

The pathophysiologic mechanisms causing hyperintensity on FLAIR-weighted images, and their consequences are not fully understood. Intraneuronal deposition of GAGs has been reported in the literature (22). Perhaps brain response to this deposition could be gliosis, resulting in a signal intensity change on MRI. Knowledge of the patterns of WM lesion is important since MPS can be mistaken for other leukodystrophies (19,21).

There are limited data correlating WM lesions and clinical findings on MPS. Gabrielli et al found a linear correlation between WM lesions and mental retardation in 20 patients with different forms of MPS. On the other hand, Matheus et al described a broad spectrum of MRI findings, but no relationship between the imaging and clinical manifestation, in 18 patients with MPS types I and II. In our study, the severity of WM lesions was more commonly seen in patients with CI. This correlation may reflect the fact that our study group was composed of patients with a single type of MPS (MPS II), with a wide range of neurological compromise. As far as we know, our study is the largest series of MPS II patients studied through MRI and MRS up to now.

Regarding MRS findings, we found a statistical significant elevation of ml in the GM and WM of patients with CI. The ml peak contains contributions from various compounds, including myo-inositol, inositol monophosphate, phosphatidyl inositol and inositol diphosphate. The main component, myo-inositol, is synthesized primarily in glial cells and does not cross the blood-brain barrier. Studies from primate models showed significant correlation between markers of astrogliosis and ml/Cr ratios. For these reasons, ml is considered to be a glial marker, and an increase in its content is believed to represent glial proliferation or an increase in glial cell size (24-27). As intraneuronal deposition of GAGs (22) and microglial activation in MPS models have been reported in the literature, it is possible that cerebral GAGs deposition is responsible for inducing the changes in glial cells that can be measured by MRS as an elevation of ml/Cr ratio.

Myo-inositol is also considered an organic osmolyte, playing a major role in the volume and osmoregulation of astrocytes (11,13,27). For this reason, increased volume of cells in

MPS II could also be responsible for the elevation of ml. New studies are necessary to confirm these theories.

Finally, another potential explanation is that ml could be an indirect marker of GAGs deposition. An integrating correlation between in vitro GAGs and abnormal MRS resonance at 3.7 ppm in the brain of MPS II patients, higher than the chemical shift of ml peak in MRS was recently described by Takahashi et al (14). The authors concluded that the presence of this peak could represent GAGs molecules. Although the study has many limitations (for example, small number of patients and control group with known epilepsy history), if this correlation turns out to be confirmed in future studies, we could speculate that macromolecules (GAGs) can be a major component of elevated ml peak detected with MRS. However, the precise measurement of GAGs would require a different MRS quantification approach, not performed in our study.

We did not find differences in NAA/Cr between groups. This result is interesting as we expected to detect a low NAA in patients more severely affected. One possible reason could be explained at the cellular level. In MPS model, Walkley et al (30) did not find axonal spheroid formation (neuroaxonal dystrophy) in spite of widespread intraneuronal storage in neurons. In contrast, this cellular finding is abundant in gangliosidoses – a lysosomal storage disease with progressive psychomotor regression and low NAA at the MRS, even in the normal-appearing white matter (NAWM) (31,32).

As both cho/Cr and ml/Cr are considered markers of glial response we also expected to find an increase in the cho in neurological patients. Besides, Takahashi et al (14) also found an elevated choline/creatine ratio in white matter of MPS patients. The fact is that correlation between ml and choline as glial markers is not universal. For instance, elevated choline / creatine ratio and normal ml / Cr ratio is described in schizophrenic patients and the opposite in gliomatosis cerebri (33,34). In addition, we must take into account the fact that the way we measured metabolite concentration allowed us to obtain only relative metabolite concentrations.

In conclusion, our data support the evidence that cerebral involvement is common in patients with MPS II. Because there is no specific treatment for neuronal involvement in MPS patients, a better understanding of the pathophysiology of brain response to GAGs is crucial. This study showed that severity of WM lesions, hydrocephalus and elevated ml could be markers of brain dysfunction in MPS II patients. Further studies involving a larger sample and serial imaging are required to confirm our preliminary MRS findings.

REFERENCES

1. Neufeld E, Musner J. The mucopolysaccharidoses. In: Scriver C, Beudet A, Sly W, Valle D, eds. *The metabolic and molecular bases on inherited disease*. 8th ed. New York: McGraw-Hill, 2001: 3421-3452.
2. Meikle PJ, Hopwood JJ, Clague AE et al. Prevalence of lysosomal storage disorders. *Jama* 1999;281(3):249-254.
3. Muenzer J, Wraith JE, Beck M et al. A phase II/III clinical study of enzyme replacement therapy with idursulfase in mucopolysaccharidosis II (Hunter syndrome). *Genet Med* 2006;8:465-473.
4. Lee C, Dineen TE, Brack M et al. The mucopolysaccharidoses: characterization by cranial MR imaging. *AJNR Am J Neuroradiol* 1993;14(6):1285-1292.
5. Murata R, Nakajima S, Tanaka A et al. MR imaging of the brain in patients with mucopolysaccharidosis. *AJNR Am J Neuroradiol* 1989;10(6):1165-1170.
6. Shimoda-Matsubayashi S, Kuru Y, Sumie H et al. MRI findings in the mild type of mucopolysaccharidosis II (Hunter's syndrome). *Neuroradiology* 1990;32(4):328-330.
7. Parsons VJ, Hughes DG, Wraith JE. Magnetic resonance imaging of the brain, neck and cervical spine in mild Hunter's syndrome (mucopolysaccharidoses type II). *Clin Radiol* 1996;51(10):719-723.
8. Seto T, Kono K, Morimoto K et al. Brain magnetic resonance imaging in 23 patients with mucopolysaccharidoses and the effect of bone marrow transplantation. *Ann Neurol* 2001;50(1):79-92.
9. Gabrielli O, Polonara G, Regnicolo L et al. Correlation between cerebral MRI abnormalities and mental retardation in patients with mucopolysaccharidoses. *Am J Med Genet A* 2004;125(3):224-231.
10. Matheus MG, Castillo M, Smith JK et al. Brain MRI findings in patients with mucopolysaccharidosis types I and II and mild clinical presentation. *Neuroradiology* 2004;46(8):666-672.
11. Castillo M, Kwock L, Mukherji SK. Clinical applications of proton MR spectroscopy. *AJNR Am J Neuroradiol* 1996;17(1):1-15.
12. Bianchi MC, Tosetti M, Battini R et al. Proton MR spectroscopy of mitochondrial diseases: analysis of brain metabolic abnormalities and their possible diagnostic relevance. *AJNR Am J Neuroradiol* 2003;24(10):1958-1966.
13. Hunter JV, Wang ZJ. MR spectroscopy in pediatric neuroradiology. *Magn Reson Imaging Clin N Am* 2001;9(1):165-189, ix.
14. Takahashi Y, Sukegawa K, Aoki M et al. Evaluation of accumulated mucopolysaccharides in the brain of patients with mucopolysaccharidoses by (1)H-magnetic resonance spectroscopy before and after bone marrow transplantation. *Pediatr Res* 2001;49(3):349-355.
15. Siegel DA, Walkley SU. Growth of ectopic dendrites on cortical pyramidal neurons in neuronal storage diseases correlates with abnormal accumulation of GM2 ganglioside. *J Neurochem* 1994;62(5):1852-1862.
16. Hochuli M, Wuthrich K, Steinmann B. Two-dimensional NMR spectroscopy of urinary glycosaminoglycans from patients with different mucopolysaccharidoses. *NMR Biomed* 2003;16(4):224-236.

17. Vougioukas VI, Berlis A, Kopp MV et al. Neurosurgical interventions in children with Maroteaux-Lamy syndrome. Case report and review of the literature. *Pediatr Neurosurg* 2001;35(1):35-38.
18. Robertson SP, Klug GL, Rogers JG. Cerebrospinal fluid shunts in the management of behavioural problems in Sanfilippo syndrome (MPS III). *Eur J Pediatr* 1998;157(8):653-655.
19. Barone R, Parano E, Trifiletti RR et al. White matter changes mimicking a leukodystrophy in a patient with Mucopolysaccharidosis: characterization by MRI. *J Neurol Sci* 2002;195(2):171-175.
20. Mancini GM, van Diggelen OP, Huijmans JG et al. Pitfalls in the diagnosis of multiple sulfatase deficiency. *Neuropediatrics* 2001;32(1):38-40.
21. Ben-Zeev B, Gross V, Kushnir T et al. Vacuolating megalencephalic leukoencephalopathy in 12 Israeli patients. *J Child Neurol* 2001;16(2):93-99.
22. Kurihara M, Kumagai K, Goto K et al. Severe type Hunter's syndrome. Polysomnographic and neuropathological study. *Neuropediatrics* 1992;23(5):248-256.
23. Meier C, Wismann U, Herschkowitz N et al. Morphological observations in the nervous system of prenatal mucopolysaccharidosis II (M. Hunter). *Acta Neuropathol (Berl)* 1979;48(2):139-143.
24. Brand A, Richter-Landsberg C, Leibfritz D. Multinuclear NMR studies on the energy metabolism of glial and neuronal cells. *Dev Neurosci* 1993;15((3-5)):289-298.
25. Katz-Brull R, Lenkinski RE, Du Pasquier RA et al. Elevation of myoinositol is associated with disease containment in progressive multifocal leukoencephalopathy. *Neurology* 2004;63(5):897-900.
26. Vrenken H, Barkhof F, Uitdehaag BM et al. MR spectroscopic evidence for glial increase but not for neuro-axonal damage in MS normal-appearing white matter. *Magn Reson Med* 2005;53(2):256-266.
27. Ashwal S, Holshouser B, Tong K et al. Proton spectroscopy detected myoinositol in children with traumatic brain injury. *Pediatr Res* 2004;56(4):630-638.
28. Mucke L, Oldstone MB, Morris JC et al. Rapid activation of astrocyte-specific expression of GFAP-lacZ transgene by focal injury. *New Biol* 1991;3(5):465-474.
29. Kim JP, Lentz MR, Westmoreland SV et al. Relationships between astrogliosis and ¹H MR spectroscopic measures of brain choline/creatine and myo-inositol/creatine in a primate model. *AJNR Am J Neuroradiol* 2005;26(4):752-759.
30. Walkley SU. Cellular pathology of lysosomal storage disorders. *Brain Pathol* 1998;8(1):175-193.
31. Walkley SU, Haskins ME, Shull RM. Alterations in neuron morphology in mucopolysaccharidosis type I. A Golgi study. *Acta Neuropathol (Berl)* 1988;75(6):611-620.
32. Inglese M, Nusbaum AO, Pastores GM et al. MR imaging and proton spectroscopy of neuronal injury in late-onset GM2 gangliosidosis. *AJNR Am J Neuroradiol* 2005;26(8):2037-2042.
33. Yamasue H, Fukui T, Fukuda R et al. ¹H-MR spectroscopy and gray matter volume of the anterior cingulate cortex in schizophrenia. *Neuroreport* 2002;13(16):2133-2137.
34. Saraf-Lavi E, Bowen BC, Pattany PM et al. Proton MR Spectroscopy of Gliomatosis Cerebri: Case Report of Elevated Myoinositol with Normal Choline Levels. *AJNR* 2003;24:946-951.

5 ARTIGO 1 - CORRELAÇÃO DOS ACHADOS DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA E ESPECTROSCOPIA DE PRÓTONS COM DISFUNÇÃO COGNITIVA NA MUCOPOLISSACARIDOSE TIPO II

Artigo aceito para publicação na AJNR 2007 (Jun/Jul)

**Vedolin L¹, Schwartz IVD^{2,3}, Schuch A³, Komlos M¹, Puga AC², Pinto LLC², Pires AP²,
Giugliani R^{2,3}**

¹ Departamento de Neurorradiologia, Mãe de Deus Center e Hospital Mãe de Deus, Porto Alegre, Brasil;

² Serviço de genética médica, Hospital de Clínicas, Porto Alegre, Brasil;

³ Departamento de Genética, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brasil;

Endereço para correspondência:

Leonardo M. Vedolin, MD

Av. Nilo Peçanha, 550 ap 1301 – Bela Vista – 90410.000

Porto Alegre, Brasil

Telefone: 55.51.3331.9080

e-mail: leonardovedolin@hotmail.com

Agradecimento: Os autores agradecem TKT-Shire e NORD pelo suporte financeiro.

RESUMO

Introdução e objetivos: Não existem marcadores confiáveis para prever o desfecho neurológico nos pacientes com mucopolissacaridose (MPS) tipo II. Neste estudo testou-se a correlação dos achados de ressonância magnética (RM) e a espectroscopia por RM (ERM) com a presença de disfunção cognitiva em pacientes com MPS II.

Material e métodos: Dezenove meninos com diagnóstico confirmado de MPS tipo II foram incluídos no estudo. Todos os pacientes foram submetidos a teste de QI e de desenvolvimento e foram classificados em 2 grupos: pacientes com disfunção cognitiva (grupo A) e pacientes sem disfunção cognitiva (grupo B). A RM avaliou a gravidade das lesões na substância branca (SB), hidrocefalia e atrofia cerebral. Na ERM, voxels foram posicionados na SB profunda do lobo frontal direito e na substância cinzenta (SC) no córtex occipital posterior, na linha média. Foi realizada a comparação entre os achados na RM e ERM entre os grupos e com um grupo controle.

Resultados: A idade média dos pacientes foi de 9,6 anos (grupo A: 7,08 anos, 12 pacientes; grupo B: 14 anos, 7 pacientes; $p=0.076$). A prevalência de atrofia cerebral e hidrocefalia foi maior no grupo A ($p=0.006$ e 0.029 respectivamente). Estes pacientes também apresentaram lesões mais extensas na SB que os pacientes do grupo B ($p=0.022$). Pacientes do grupo A tiveram uma maior relação ml/Cr na SC ($p=0.046$) e na SB ($p=0.032$). As relações Col/Cr e NAA/Cr foram similares entre os dois grupos.

Conclusão: O estudo mostrou que a extensão das lesões na SB, a atrofia cerebral, a hidrocefalia e a elevação do ml foram mais comuns no grupo de pacientes com MPS II com disfunção cognitiva.

INTRODUÇÃO

A Doença de Hunter ou Mucopolissacaridose (MPS) tipo II é uma doença lisossômica de depósito, rara, causada pela deficiência de iduronato-2-sulfatase (IDS), que leva à degradação incompleta e acumulação progressiva dos glicosaminoglicanos (GAG) em vários órgãos, incluindo o sistema nervoso central (SNC). As manifestações cerebrais da MPS tipo II são diversas, variando de leve a acentuado grau de incapacidade. A razão para esta heterogeneidade não é bem entendida. Os pacientes que apresentam comprometimento neurológico geralmente apresentam grave incapacidade e morrem antes dos 15 anos de idade, enquanto que pacientes sem comprometimento neurológico podem ter uma expectativa de vida normal (1,2). Apesar da elevada morbi-mortalidade da doença, a terapia com reposição enzimática (TRE) é considerada um potencial tratamento para pacientes com MPS II(3).

A ressonância magnética (RM) é o principal exame de imagem para detecção das alterações no SNC nos pacientes com MPS. Lesões na substância branca (SB), espaços perivasculares dilatados (EPVD), hidrocefalia e estenose do canal medular têm sido descritos em estudos anteriores (4-8). Entretanto a correlação entre os achados de neuroimagem e de disfunção cerebral é controversa. Dados de Gabrielli *et al.* (9) demonstraram correlação entre alterações na SB e retardo mental. Recentemente, Matheus *et al.* (10) não encontraram associação entre os achados de neuroimagem e a condição clínica. Algumas razões para estas discrepâncias poderiam ser a inclusão de pacientes com diferentes tipos de MPS em um único grupo de estudo, a inclusão de apenas pacientes com fenótipo leve ou mesmo a utilização de escores subjetivos para graduar as lesões na RM (9, 10).

Nas doenças cerebrais metabólicas, a espectroscopia por RM (ERM) é considerada uma ferramenta diagnóstica na análise bioquímica não-invasiva do tecido cerebral (11-13). Com relação à ERM, Takahashi *et al.* (14) recentemente descreveram os achados em pacientes com MPS antes e após transplante de medula óssea (TMO). Os autores encontraram um pico anormal de ressonância em 3.7 ppm no cérebro e na urina dos pacientes, maior que o do mioinositol, numa pequena série de casos. Até o momento, estes achados não foram confirmados em outros estudos.

Devido ao amplo espectro de severidade da MPS II e seu curso progressivo, um dos desafios no manejo da doença tem sido a predição acurada do fenótipo. Até o momento, não há um marcador confiável para predizer o início das lesões cerebrais, nem a evolução da doença. A adequada avaliação do envolvimento cerebral e detecção de lesões cerebrais através da RM, antes das manifestações clínicas, poderiam ser usadas para monitorar a progressão da doença e selecionar possíveis intervenções terapêuticas. O objetivo deste

estudo é avaliar se os achados na RM e ERM se correlacionam com o comprometimento neurológico nos pacientes com MPS II.

MATERIAL E MÉTODOS

Avaliou-se prospectivamente 19 pacientes masculinos do ambulatório de MPS, do serviço de Genética médica do nosso hospital. Todos pacientes apresentavam manifestações clínicas típicas da doença, bem como diagnóstico confirmado de MPS tipo II, demonstrado por um aumento da atividade de IDS no plasma ou leucócitos e atividade normal de pelo menos uma outra sulfatase, a fim de excluir deficiência de múltiplas sulfatases. Nenhum paciente tinha sido submetido previamente a TMO ou TRE.

Todos os pacientes foram submetidos a testes de desenvolvimento apropriados para a idade (*Bayley* para crianças menores de 42 meses, *Weschler* para crianças entre 43 meses e 10 anos e *Leiter* para pacientes com 11 anos ou mais) por um psicólogo (AAP) experiente em desenvolvimento neurológico.

De acordo com o protocolo estudado, os pacientes foram classificados como apresentando (forma A) ou não (forma B) disfunção cognitiva (DC). DC foi considerada presente quando foram encontradas alterações nos testes de desenvolvimento ou coeficiente de inteligência (CI) menor que 70. Pacientes severamente afetados, incapacitados de responder aos testes de desenvolvimento, foram classificados como forma A (com DC). Para comparação com os achados da ERM, um grupo controle com idade semelhante foi examinado. Esse grupo controle consistiu de crianças sem retardo de desenvolvimento ou sintomas neurológicos.

Todos os exames de RM cerebral foram realizados em um aparelho de 1.5T e incluíram imagens axiais FLAIR (TR/TE/TI = 9000/114/2500), axiais e coronais ponderadas em T2 (TR/TE: 4000/99) e imagens sagitais ponderadas em T1 (TR/TE = 522/14). Lesões na SB foram definidas como hiperintensas no FLAIR e graduadas em duas categorias: leve (esparsas e menos que 5 lesões na SB) ou grave (extensas, confluentes, mais que 5 lesões na SB). Atrofia cerebral foi considerada presente quando os sulcos corticais estivessem dilatados como descrito por Lee *et al.* (4). Para a análise estatística, a hidrocefalia foi calculada por uma razão semiquantitativa medindo-se a distância máxima entre os limites externos dos cornos occipitais, divididos pelo diâmetro biparietal máximo (tamanho ventricular = 10 – diâmetro dos cornos occipitais/diâmetro biparietal máximo).

A ERM com voxel único foi realizada no mesmo aparelho de 1.5T usando-se a técnica PRESS (*point-resolved spectroscopy*, TR/TE: 2000/30 ms). *Shimming* automático e supressão da água foram feitos e voxels de 8 ml foram posicionados em duas regiões,

contendo principalmente SB profunda no lobo frontal direito e SC no córtex occipital posterior, na linha média (Figura 1).

No departamento estas localizações são utilizadas de rotina nos projetos de pesquisa, visando diminuir a variabilidade das medidas e os efeitos de volume parcial com o LCR e com outras estruturas cerebrais. Para análise da ERM, excluíram-se os pacientes com hidrocefalia severa. Os dados foram submetidos a um pós-processamento e o mioinositol (ml) determinado em 3.56 ppm, Colina (Col) em 3.2 ppm, Creatina (Cr) em 3.03 ppm e NAA em 2.0 ppm. Um software desenvolvido pelo fabricante (Siemens, Erlangen) foi utilizado para analisar as áreas de pico. A avaliação das imagens foi realizada por um único observador (LMV), usando um banco de dados, e cegado para todos os dados clínicos e formas da doença.

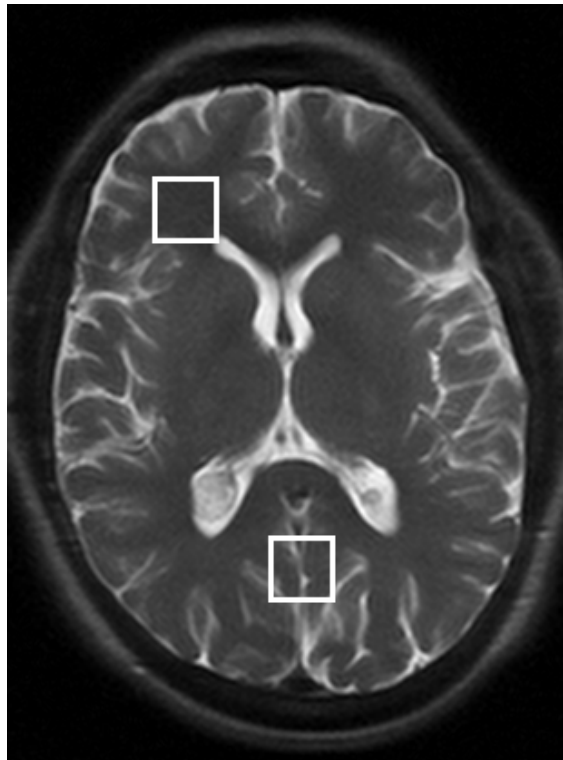


Figura 1. Exemplo da localização da ERM com voxel único. Sobreposto a uma imagem axial ponderada em T2, o quadrado branco mostra o volume de tecido cerebral estudado na ERM na substância branca (lobo frontal direito) e substância cinzenta (córtex occipital posterior).

Na análise estatística, foram realizadas análises descritivas e univariada, utilizando-se o programa SPSS para Windows 10 (SPSS, Chicago, Ill). Para as variáveis categóricas (idade, grau de severidade das lesões na SB e atrofia cerebral) foi usado o teste exato de

Fischer. Já para as variáveis contínuas foi empregado o teste t de student para amostras independentes. A significância estatística foi determinada em 0.05.

RESULTADOS

A idade média dos pacientes foi de 9,6 anos (DP 6,5 anos; intervalo entre 3 e 26 anos). De acordo com o teste de QI e o teste de desenvolvimento, 12/19 (63,2%) pacientes tinham DC (grupo A), enquanto que 7/12 (36,8%) não tinham (grupo B).

Na Tabela 1 estão listados os achados de imagem nos dois grupos. Apesar da presença de lesões na SB ter sido semelhante entre os grupos, a severidade das lesões na SB foi significativamente maior nos pacientes com DC ($p=0.038$). A maioria destes pacientes apresentava lesões severas, difusamente envolvendo a SB e geralmente afetando mais de 3 lobos cerebrais. O envolvimento isolado da SB periventricular ou profunda foi incomum. As lesões hiperintensas, mesmo confluentes em alguns pacientes, não causavam efeito de massa em nenhum deles. Nenhum dos pacientes avaliados apresentou lesões envolvendo o corpo caloso. Os achados de atrofia e hidrocefalia foram mais frequentes nos pacientes com DC ($p=0.006$ e 0.029 respectivamente). A atrofia era difusa e, às vezes, assimétrica, afetando mais severamente as regiões fronto-parietais.

Tabela 1. Análise univariada dos achados de RM

	Todos pacientes (n=19)	Grupo A (n=12)	Grupo B (n=7)	Valor de P
Idade média	9.63 (6.5)	7.08 (3.5)	14 (8.4)	0.076
Lesões na SB	Severa=14(73,7%) Leve=5 (26.3%)	Severa=11(91.7%) Leve=1 (8.3%)	Severa=3(42.9%) Leve=4 (57.1%)	0.038
Hidrocefalia	7.83 (0.44)	7.98 (0.46)	7.58 (0.26)	0.029
Atrofia cerebral	11/19 (57.8%)	10/12(90.9%)	1/7 (9.1%)	0.006

Nota: Grupo A e B indicam crianças com e sem disfunção cognitiva, respectivamente; idade expressa em anos; DP = desvio padrão, SB = substância branca; números entre () significam (DP) ou (%).

Exemplos de ERM nos pacientes com e sem DC são mostradas nas Figuras 2 e 3. A Tabela 2 mostra os achados de ERM nos dois grupos. Pacientes com DC tiveram maior relação ml/Cr na SC ($p=0.046$) e na SB ($p=0.032$). As relações Col/Cr e NAA/Cr nas substâncias branca e cinzenta foram similares nos dois grupos. As diferenças dos valores dos metabólitos encontradas entre os grupos foram independentes do grau das lesões na substância branca, hidrocefalia ou idade dos pacientes ($p > 0.05$).

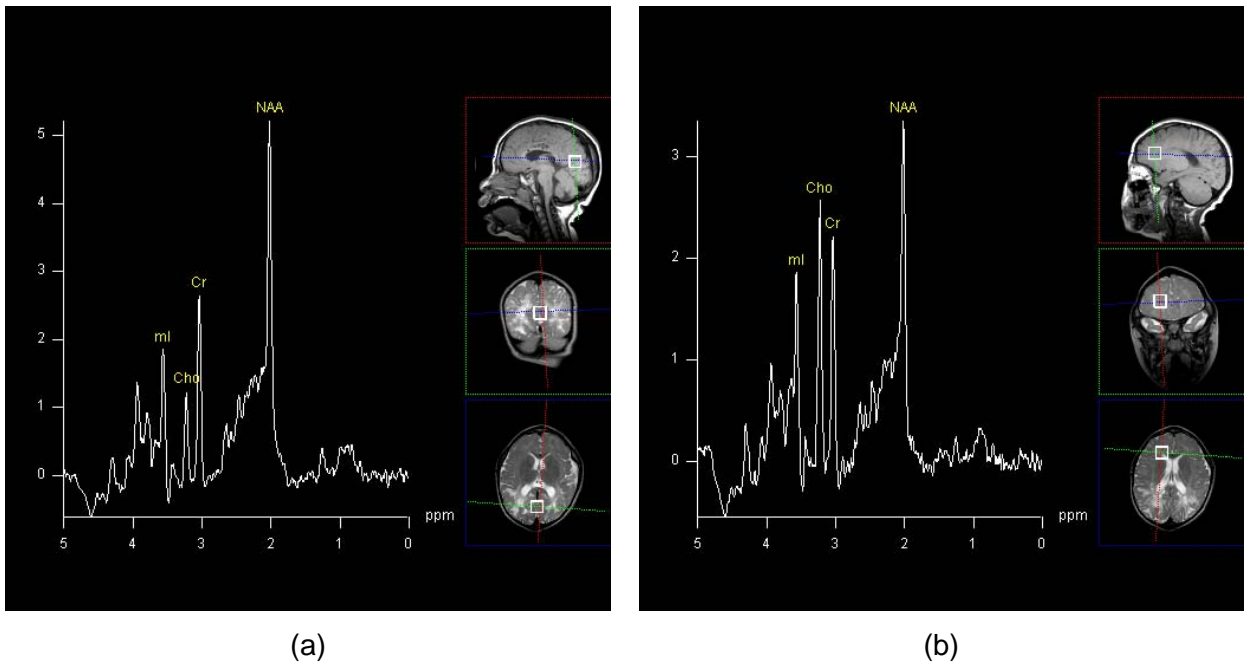


Figura 2. ERM de um paciente com MPS II com disfunção cognitiva. Há uma elevação da relação ml/Cr na substância cinzenta (a) e na substância branca (b).

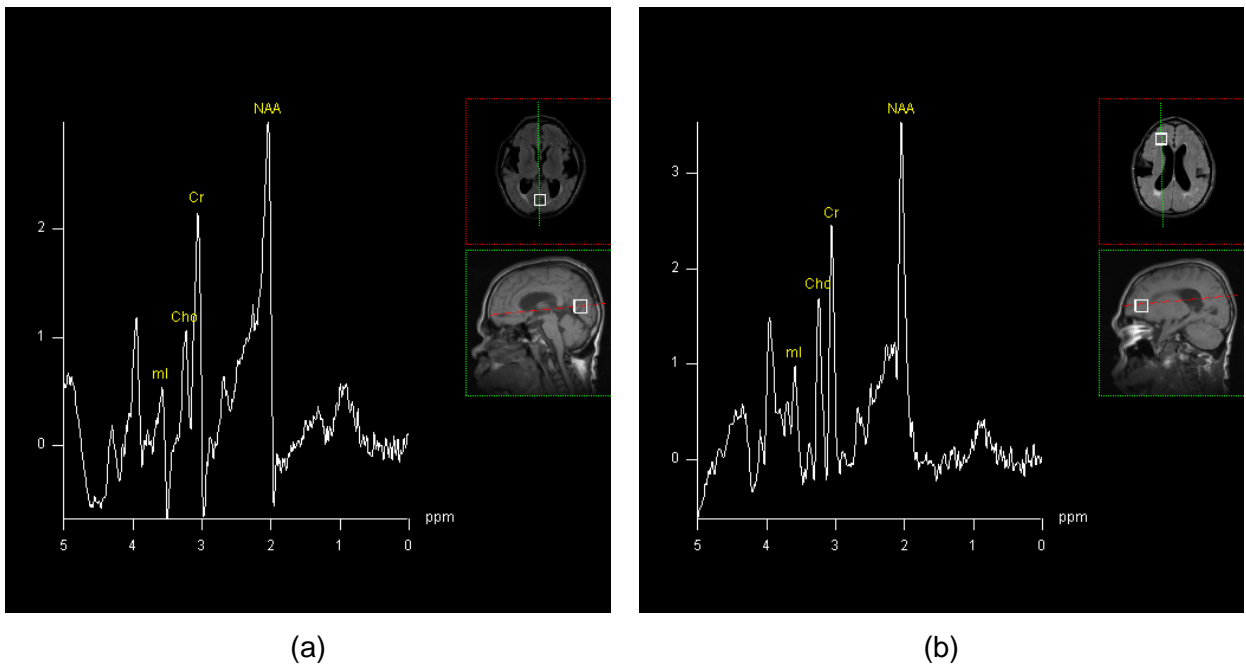


Figura 3. ERM de um paciente com MPS II sem disfunção cognitiva. Quando comparado à Figura 2, não existe aumento da relação ml/Cr na substância cinzenta (a) ou na substância branca (b).

Tabela 2. Análise univariada dos achados de ERM

Relação metabólica	Grupo A (n=12)	Grupo B (n=7)	Grupo controle (n=10)	Valor de P
SB NAA/Cr	1.94 ± 0.49	2.17 ± 0.26	2.11 ± 0.36	0.450
SB Cho/Cr	0.94 ± 0.21	0.97 ± 0.12	0.83 ± 0.19	0.301
SB ml/Cr	0.57 ± 0.18	0.43 ± 0.12	0.40 ± 0.10	0.032
SC NAA/Cr	2.05 ± 0.41	2.01 ± 0.50	2.12 ± 0.21	0.842
SC Cho/Cr	0.45 ± 0.08	0.45 ± 0.07	0.48 ± 0.07	0.668
SC ml/Cr	0.47 ± 0.88	0.36 ± 0.11	0.45 ± 0.66	0.046

Nota: Grupo A e B indicam crianças com e sem disfunção cognitiva respectivamente; NAA = n-acetilaspártato; Cr = creatina; Col = colina; ml = mioinositol; SC = substância cinzenta; SB = substância branca.

DISCUSSÃO

Estes resultados sugerem que a RM e a ERM podem ser úteis para avaliar o grau de comprometimento neurológico nos pacientes com MPS II. Encontraram-se maior prevalência de atrofia cerebral, hidrocefalia, lesões severas na SB e elevação do mioinositol em crianças mais severamente afetadas. Estes resultados confirmam a alta sensibilidade da RM para a caracterização do envolvimento cerebral nas MPS. Além disso, os achados na ERM poderiam ser úteis para melhor entender a patofisiologia da resposta cerebral aos depósitos de GAG (15,16). Embora o grupo em estudo tenha sido composto por uma população altamente selecionada de pacientes com MPS II e a extrapolação dos resultados para todos os pacientes com MPS deva ser feita com cautela, os resultados preliminares podem apoiar o uso da neuroimagem como um marcador de severidade da doença em ensaios clínicos.

A atrofia cerebral tem sido considerada um achado comum nas MPS, entretanto sua correlação com o comprometimento neurológico é controversa (9,10). Neste estudo, a atrofia foi sempre difusa com tendência a envolver mais difusamente ainda os lobos frontais e parietais. Em alguns pacientes, encontrou-se atrofia assimétrica. Não se encontrou explicação para esse achado, já que estes pacientes não apresentaram nenhum sintoma motor ou sensitivo focal. Como ressaltado por Matheus *et al.* (10), uma possível explicação para esta assimetria poderia ser a deposição assimétrica de GAG ou até mesmo um aprisionamento de líquido no espaço subaracnoideo. Esta associação poderia explicar a controvérsia existente na literatura em relação à correlação entre sulcos dilatados e à alteração no estado mental.

A hidrocefalia é considerada uma importante causa de morbi-mortalidade nos pacientes com MPS II (17,18), já que o aumento crônico de pressão intraventricular pode levar a distúrbios de comportamento, lesões no nervo óptico e alterações no tronco cerebral. Devido a estas complicações, diferentes autores têm recomendado intervenção neurocirúrgica nos pacientes com MPS, principalmente nos MPS tipos I, III e VI. A experiência destes procedimentos em pacientes com MPS II é limitada. Como sabemos que a hipertensão venosa é uma causa conhecida de hidrocefalia, uma hipótese para o aumento ventricular nestes pacientes poderia ser a reduzida saída do fluxo venoso pela base do crânio, porém novos estudos são necessários para confirmar essa associação.

Os mecanismos patofisiológicos responsáveis pela hiperintensidade de sinal na seqüência FLAIR e suas conseqüências não são totalmente entendidos. A deposição intraneuronal de GAG tem sido descrita na literatura (22). Possivelmente, a resposta cerebral a essa deposição seja gliose, resultando em uma alteração de intensidade de sinal na RM. O conhecimento dos padrões de lesão na SB é importante uma vez que a MPS pode ser confundida com outras leucodistrofias (19-21).

Os dados correlacionando as lesões na SB e os achados clínicos em pacientes com MPS são limitados (5, 9, 10). Gabrielli *et al.* (9) encontraram uma correlação linear entre lesões na SB e retardo mental em 20 pacientes com formas diferentes de MPS. Entretanto Matheus *et al.* (10) descreveram um amplo espectro de achados na RM, mas não encontraram relação entre os achados de imagem e as manifestações clínicas em 18 pacientes com MPS tipos I e II. No presente estudo (pelo que se tem conhecimento, é a maior série de pacientes com MPS II estudada através de RM e ERM até o momento), a severidade das lesões na SB foi mais acentuada nos pacientes com DC. Esta correlação pode ter sido pela composição de pacientes com um único tipo de MPS (MPS II) e um amplo espectro de comprometimento neurológico..

Na ERM, encontrou-se um aumento significativo do ml na SC e SB de pacientes com disfunção cognitiva. O pico de mioinositol contém diversos compostos, entre eles o mioinositol, inositol monofosfato, fosfatidilinositol e inositol difosfato. O principal componente, o mioinositol, é sintetizado primariamente nas células gliais e não cruza a barreira hematoencefálica (24). Estudos em modelos primatas demonstraram significativa correlação entre marcadores de astrogliose e relação ml/Cr (25, 27, 29). Por estas razões, ml é considerado um marcador glial e acredita-se que um aumento do mioinositol represente proliferação glial ou um aumento no tamanho destas células. Já que a deposição intraneuronal de GAG e ativação mociogliai nos modelos MPS têm sido descritos na literatura (22, 31), é possível que a deposição de GAG no cérebro seja responsável por induzir as alterações nas células gliais que podem ser medidas através da ERM como uma elevação da relação ml/Cr.

O mioinositol também é considerado um osmólito orgânico com função importante no volume e osmorregulação dos astrócitos (11, 13, 27). Por esta razão, um aumento de volume das células na MPS II poderia também ser responsável pela elevação do ml. Novos estudos são necessários para confirmar estas teorias.

Finalmente, outra hipótese é que o ml fosse um marcador indireto de deposição de GAG. Takahashi *et al.* (14) encontraram uma correlação entre GAG *in vitro* e picos anormais na espectroscopia em 3.7ppm no cérebro de pacientes com MPS, maior que o desvio químico do mioinositol. Os autores concluíram que a presença deste pico poderia representar moléculas de GAG. Embora este estudo apresente limitações (por exemplo, pequeno número de pacientes e grupo controle com história conhecida de epilepsia), se esta correlação for confirmada, se poderia especular que macromoléculas (GAG) podem ser o principal componente da elevação do pico de ml detectado na ERM. Entretanto a medida precisa do GAG necessita de uma avaliação diferenciada, não realizada neste estudo.

Não se encontraram diferenças na relação NAA/Cr entre os grupos. Este resultado é interessante, já que se esperava encontrar uma redução do NAA nos pacientes mais gravemente afetados. Uma explicação para isso poderia ser encontrada em nível celular. Em modelos MPS, Walkley *et al.* (30) não encontraram formação esferóide axonal (distrofia neuroaxonal) apesar da acentuada deposição intraneuronal. Por outro lado, este achado celular é abundante nas gangliosidoses – uma doença lisossômica de depósito com progressiva regressão psicomotora e baixos níveis de NAA na ERM, mesmo na substância branca de aparência normal (*normal appearing white matter*) (31, 32).

Como a relação da Col/Cr e do ml/Cr é considerada marcador de resposta glial, também se esperava encontrar um aumento da colina nos pacientes neurologicamente comprometidos. Além disso, Takahashi *et al.* (14) também encontraram um aumento da relação Col/Cr na SB dos pacientes MPS. O fato é que a relação entre mioinositol e colina como marcadores gliais não é universal. Por exemplo, a elevação da relação Col/Cr e a relação ml/Cr normal são descritas em pacientes esquizofrênicos (33) e o contrário na gliomatose cerebri (34). Adicionando-se a isso, deve-se levar em conta o fato de que a forma como se mediu a concentração dos metabólitos permite que se obtenham apenas concentrações relativas destes metabólitos.

Em conclusão, os dados do estudo apóiam a evidência de que o envolvimento cerebral é comum em pacientes com MPS tipo II. Devido à ausência de tratamento específico para o envolvimento neuronal nos pacientes MPS, um melhor entendimento da patofisiologia da resposta cerebral as GAG é essencial. Este estudo mostrou ainda que a gravidade das lesões na SB, hidrocefalia e aumento de mioinositol podem representar marcadores de disfunção cerebral nos pacientes com MPS II. Outros estudos envolvendo

um maior número de pacientes e imagens de seguimento são necessárias para confirmar estes achados preliminares de ERM.

REFERENCES

1. Neufeld E, Musner J. The mucopolysaccharidoses. In: Scriver C, Beudet A, Sly W, Valle D, eds. *The metabolic and molecular bases on inherited disease*. 8th ed. New York: McGraw-Hill, 2001: 3421-3452.
2. Meikle PJ, Hopwood JJ, Clague AE, Carey WF. Prevalence of lysosomal storage disorders. *Jama* 1999;281(3):249-254.
3. Kakkis ED, Muenzer J, Tiller GE, Waber L, Belmont J, Passage M, et al. Enzyme-replacement therapy in mucopolysaccharidosis I. *N Engl J Med* 2001;344(3):182-188.
4. Lee C, Dineen TE, Brack M, Kirsch JE, Runge VM. The mucopolysaccharidoses: characterization by cranial MR imaging. *AJNR Am J Neuroradiol* 1993;14(6):1285-1292.
5. Murata R, Nakajima S, Tanaka A, Miyagi N, Matsuoka O, Kogame S, et al. MR imaging of the brain in patients with mucopolysaccharidosis. *AJNR Am J Neuroradiol* 1989;10(6):1165-1170.
6. Shimoda-Matsubayashi S, Kuru Y, Sumie H, Ito T, Hattori N, Okuma Y, et al. MRI findings in the mild type of mucopolysaccharidosis II (Hunter's syndrome). *Neuroradiology* 1990;32(4):328-330.
7. Parsons VJ, Hughes DG, Wraith JE. Magnetic resonance imaging of the brain, neck and cervical spine in mild Hunter's syndrome (mucopolysaccharidoses type II). *Clin Radiol* 1996;51(10):719-723.
8. Seto T, Kono K, Morimoto K, Inoue Y, Shintaku H, Hattori H, et al. Brain magnetic resonance imaging in 23 patients with mucopolysaccharidoses and the effect of bone marrow transplantation. *Ann Neurol* 2001;50(1):79-92.
9. Gabrielli O, Polonara G, Regnicolo L, Petroni V, Scarabino T, Coppa GV, et al. Correlation between cerebral MRI abnormalities and mental retardation in patients with mucopolysaccharidoses. *Am J Med Genet A* 2004;125(3):224-231.
10. Matheus MG, Castillo M, Smith JK, Armao D, Towle D, Muenzer J. Brain MRI findings in patients with mucopolysaccharidosis types I and II and mild clinical presentation. *Neuroradiology* 2004;46(8):666-672.
11. Castillo M, Kwock L, Mukherji SK. Clinical applications of proton MR spectroscopy. *AJNR Am J Neuroradiol* 1996;17(1):1-15.
12. Bianchi MC, Tosetti M, Battini R, Manca ML, Mancuso M, Cioni G, et al. Proton MR spectroscopy of mitochondrial diseases: analysis of brain metabolic abnormalities and their possible diagnostic relevance. *AJNR Am J Neuroradiol* 2003;24(10):1958-1966.
13. Hunter JV, Wang ZJ. MR spectroscopy in pediatric neuroradiology. *Magn Reson Imaging Clin N Am* 2001;9(1):165-189, ix.
14. Takahashi Y, Sukegawa K, Aoki M, Ito A, Suzuki K, Sakaguchi H, et al. Evaluation of accumulated mucopolysaccharides in the brain of patients with mucopolysaccharidoses by (1)H-magnetic resonance spectroscopy before and after bone marrow transplantation. *Pediatr Res* 2001;49(3):349-355.

15. Siegel DA, Walkley SU. Growth of ectopic dendrites on cortical pyramidal neurons in neuronal storage diseases correlates with abnormal accumulation of GM2 ganglioside. *J Neurochem* 1994;62(5):1852-1862.
16. Hochuli M, Wuthrich K, Steinmann B. Two-dimensional NMR spectroscopy of urinary glycosaminoglycans from patients with different mucopolysaccharidoses. *NMR Biomed* 2003;16(4):224-236.
17. Vougioukas VI, Berlis A, Kopp MV, Korinthenberg R, Spreer J, van Velthoven V. Neurosurgical interventions in children with Maroteaux-Lamy syndrome. Case report and review of the literature. *Pediatr Neurosurg* 2001;35(1):35-38.
18. Robertson SP, Klug GL, Rogers JG. Cerebrospinal fluid shunts in the management of behavioural problems in Sanfilippo syndrome (MPS III). *Eur J Pediatr* 1998;157(8):653-655.
19. Barone R, Parano E, Trifiletti RR, Fiumara A, Pavone P. White matter changes mimicking a leukodystrophy in a patient with Mucopolysaccharidosis: characterization by MRI. *J Neurol Sci* 2002;195(2):171-175.
20. Mancini GM, van Diggelen OP, Huijmans JG, Stroink H, de Coo RF. Pitfalls in the diagnosis of multiple sulfatase deficiency. *Neuropediatrics* 2001;32(1):38-40.
21. Ben-Zeev B, Gross V, Kushnir T, Shalev R, Hoffman C, Shinar Y, et al. Vacuolating megalencephalic leukoencephalopathy in 12 Israeli patients. *J Child Neurol* 2001;16(2):93-99.
22. Kurihara M, Kumagai K, Goto K, Imai M, Yagishita S. Severe type Hunter's syndrome. Polysomnographic and neuropathological study. *Neuropediatrics* 1992;23(5):248-256.
23. Meier C, Wismann U, Herschkowitz N, Bischoff A. Morphological observations in the nervous system of prenatal mucopolysaccharidosis II (M. Hunter). *Acta Neuropathol (Berl)* 1979;48(2):139-143.
24. Brand A, Richter-Landsberg C, Leibfritz D. Multinuclear NMR studies on the energy metabolism of glial and neuronal cells. *Dev Neurosci* 1993;15((3-5)):289-298.
25. Katz-Brull R, Lenkinski RE, Du Pasquier RA, Koralnik IJ. Elevation of myoinositol is associated with disease containment in progressive multifocal leukoencephalopathy. *Neurology* 2004;63(5):897-900.
26. Vrenken H, Barkhof F, Uitdehaag BM, Castelijns JA, Polman CH, Pouwels PJ. MR spectroscopic evidence for glial increase but not for neuro-axonal damage in MS normal-appearing white matter. *Magn Reson Med* 2005;53(2):256-266.
27. Ashwal S, Holshouser B, Tong K, Serna T, Osterdock R, Gross M, et al. Proton spectroscopy detected myoinositol in children with traumatic brain injury. *Pediatr Res* 2004;56(4):630-638.
28. Mucke L, Oldstone MB, Morris JC, Nerenberg MI. Rapid activation of astrocyte-specific expression of GFAP-lacZ transgene by focal injury. *New Biol* 1991;3(5):465-474.
29. Kim JP, Lentz MR, Westmoreland SV, Greco JB, Ratai EM, Halpern E, et al. Relationships between astrogliosis and 1H MR spectroscopic measures of brain choline/creatine and myo-inositol/creatine in a primate model. *AJNR Am J Neuroradiol* 2005;26(4):752-759.

30. Walkley SU. Cellular pathology of lysosomal storage disorders. *Brain Pathol* 1998;8(1):175-193.
31. Walkley SU, Haskins ME, Shull RM. Alterations in neuron morphology in mucopolysaccharidosis type I. A Golgi study. *Acta Neuropathol (Berl)* 1988;75(6):611-620.
32. Inglese M, Nusbaum AO, Pastores GM, Gianutsos J, Kolodny EH, Gonen O. MR imaging and proton spectroscopy of neuronal injury in late-onset GM2 gangliosidosis. *AJNR Am J Neuroradiol* 2005;26(8):2037-2042.
33. Yamasue H, Fukui T, Fukuda R, Yamada H, Yamasaki S, Kuroki N, et al. 1H-MR spectroscopy and gray matter volume of the anterior cingulate cortex in schizophrenia. *Neuroreport* 2002;13(16):2133-2137.
34. Saraf-Lavi E, Bowen BC, Pattany PM et al. Proton MR Spectroscopy of Gliomatosis Cerebri: Case Report of Elevated Myoinositol with Normal Choline Levels. *AJNR* 2003;24:946-951.

**6 PAPER 2: MR IMAGING AND MR SPECTROSCOPY IN
MUCOPOLYSACCHARIDOSIS: AGE-RELATED CHANGES AND CORRELATION
WITH BIOCHEMICAL FINDINGS.**

**Vedolin L¹; Schwartz IVD^{2,3}; Komlos M¹; Schuch A³; Azevedo AC²; Vieira T²;
Maeda, FK⁴; Marques da Silva AM⁴; Giugliani R^{2,3}**

- ¹ Neuroradiology Department, Mãe de Deus Center and Hospital Mãe de Deus, Porto Alegre, Brazil;
- ² Medical Genetics Service, Hospital de Clínicas, Porto Alegre, Brazil;
- ³ Department of Genetics, Federal University of Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil;
- ⁴ Physics Department, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil.

Address correspondence to:

Leonardo M. Vedolin, MD
Av Nilo Peçanha, 550 ap 1301 – Bela Vista – 90410.000
Porto Alegre, Brazil
Phone number: 55.51.3331.9080
e-mail: leonardovedolin@hotmail.com

ABSTRACT

Purpose: To investigate the influence of aging on conventional magnetic resonance (MR) imaging and MR spectroscopy (MRS) findings of mucopolysaccharidosis (MPS) patients and to test the correlation of biochemical abnormalities and neuroimaging findings.

Methods: Sixty patients with MPS types I (n=8), II (n=31), IV-A (n=4) and VI (n=17) underwent T2-weighted, fluid-attenuated inversion recovery (FLAIR) and MRS in a clinical 1.5 T MR imaging unit. For analysis of MRI variables we measured the normalized cerebral volume (NCV), normalized CSF volume (NCSFV), normalized ventricular volume (NVV) and normalized lesion load (NLL) in the white matter on FLAIR using semi-automated and an automated segmentation techniques. For MRS, point-resolved spectroscopy (PRESS) technique was used. Voxels were positioned at the white (WM) and gray matter (GM). Statistical analysis involved Pearson or Spearman tests for correlation between neuroimaging, age and biochemical correlation.

Results: The median age at onset of the disease was 20 months. Patients with longer disease duration had more NLL in the WM ($r=0.28$, $p=0.03$) and this difference was more pronounced in MPS II patients ($r=0.44$, $p=0.02$). Metabolites ratios in MRS, NCV, MCSFV and NVV did not correlate with disease duration or age of the patients ($p > 0.05$). MRI and MRS variables either in the WM or GM did not correlate with enzymatic activity or GAG levels. Patients with MPS II had a lower mean NCV ($p<0.001$).

Conclusions: Our data showed that WM lesion is more extensive as disease duration increases, especially in MPS II patients. MRI and MRS findings did not correlate with either enzymatic or GAG levels. Brain atrophy is more pronounced in MPS II patients.

INTRODUCTION

The mucopolysaccharidosis (MPS) are a group of inherited lysosomal storage disorders characterized by a deficiency in one of the lysosomal enzymes responsible to degrade glycosaminoglycans (GAG) (1). There are 11 types of MPS with a combined incidence of 1 in 25.000. In all types, partially degraded GAG accumulate in lysosomes of affected cells leading to chronic and progressive deterioration of cells. The neurological expression of the disease varies within each enzyme deficiency. Mental retardation is characteristic of MPS III and severe forms of MPS I, II, and VII and this condition is probably multifactorial (1).

The management for MPS is changing, as new treatment options such as enzyme replacement therapy (ERT) and bone marrow transplantation (BMT) undergo trials. For example, ERT are currently available for MPS I, II and VI (2-4). However, to achieve a good long-term outcome, treatment options before the onset of irreversible clinical symptoms will be an important goal. Markers of disease activity will be needed for early diagnosis, prognosis and to monitor therapy in MPS.

MRI and MRS have assumed an important role as tools to assist in the diagnosis of many metabolic disorders (5-7). Also, quantitative assessment of brain lesions is becoming an important consideration in monitoring the clinical outcome and treatment effects. The reason is because recent considerable advances in MR imaging have allowed the study of brain morphometrics in vivo, which can provide accurate, reproducible and quantitative measures for assessing imaging findings, such as brain atrophy, white matter (WM) lesion load and ventricular size. Recent advances in neuroimaging and image post-processing have enabled largely automated measurements of cerebral, ventricle and CSF volumes. Besides, combining the results of imaging studies with the results of molecular genetics improves the genotype-phenotype correlation and has the potential to enable a better understanding of the pathophysiology of the disease.

Regarding neuroimaging in MPS, results of several studies involving MR imaging demonstrated that brain atrophy, WM lesions and hydrocephalus are commonly observed in MPS patients (8-12). Also, MR imaging techniques that demonstrated functional environment such as MR spectroscopy have been employed for the evaluation of MPS patients (13).

Although such findings have been described for more than 20 years, evidences from these studies were based mostly on case reports or small series of cases, usually with a heterogeneous phenotype. Age-related changes of the MR findings are controversial. Besides, the relationship between neuroimaging and biochemical findings has not been tested.

In this study, we sought to investigate the age-related changes through neuroimaging and to test the correlation of MRI, MRS and biochemical findings in patients with MPS.

METHODS

Subjects

From August 2002 to August 2006, we selected all patients with MPS seen at the genetic department of our hospital. Of these, 70 patients with biochemical confirmed diagnosis of MPS were able to participate of this study. We excluded 10 individuals because of inadequate image quality for reliable pos-processing and/or patients who were unable to perform the MR images (usually patients with respiratory compromise and clinically unstable). The remaining sixty patients were the study group (8 patients with MPS I, 31 with MPS II, 4 with MPS IV-A and 17 with MPS VI). All patients with MPS I had MPS HIS or MPS IS. Of the MPS II patients, 17 had the severe form and 14 the mild form. Forty-four patients were male and sixteen were female. Each patient had typical clinical manifestations of the disorder, as well as a biochemical diagnosis of MPS confirmed by a deficient enzymatic activity (alfa-L-iduronidase for MPS I, iduronate sulfatase for MPS II, galactose 6-sulfatase for MPS IVA and n-acetylgalactosamine 4-sulfatse for MPS VI) and increased urinary GAG. In order to exclude multiple sulphatases deficiency, a normal activity of at least one other sulphatases was necessary for MPS II, IV-A and VI. For MPS I and II enzymatic deficiency was measured in leukocytes and plasma. Enzymatic deficiency for patients with MPS VI was measured in leukocytes. Thirty-one patients were receiving ERT (7 with MPS I, 16 with MPS II and 8 with MPS VI).

Age of onset was defined as the age at which the first clinical symptom was noticed. Age and disease duration at the first MR examination was also measured. As the values ranges of urinary GAG and enzymatic deficiency vary according to the MPS subtype and age, for measuring the GAG urinary level (first sample of the day), we standardized the result using the higher number of the normal value range as the standard reference and divided the patient's GAG from this reference. For measuring the enzymatic level we used the same approach but choose the lower number of the normal value range. The study was approved by the local institutional review board. Informed consents were obtained from the patients or their legal representative's before undergoing evaluations.

Data acquisition

All subjects were examined with a clinical 1.5 T MR imaging unit (Symphony, Siemens, Erlangen, Germany). The MR imaging protocol included acquisition of two transverse images obtained parallel to a line that joins the most inferoanterior and inferoposterior parts of the

corpus callosum: (1) fluid attenuated inversion recovery (FLAIR) sequence with repetition time (TR) of 9000 msec, echo time (TE) of 114 msec, inversion time (TI) of 2500 msec, and (2) T2-weighted images with TR of 4000 msec and TE of 99 msec. The slice thickness was 5 mm, the field of view range from 180 to 230 and pixel size range from 0.45 to 0.55 cm. No paramagnetic agent was used.

Single-voxel proton MR spectra were acquired at the same 1.5 T MR unit by using point-resolved spectroscopy (PRESS) technique (TR/TE: 2000/30 ms). Automated shimming and chemical shift selective water suppression were used. Voxels of 8 ml were positioned at two locations containing mainly white matter (WM) tissue at the deep right frontal lobe and at the gray matter (GM) in the posterior occipital cortex, across the midline (figure 1). To reduce measurement variability, partial volume effects with cerebrospinal fluid or other brain structures, these locations are considered standard to research studies in our department. A software designed by the manufacturer (Siemens, Erlangen) was used to analyze peaks of N-acetylaspartate (NAA) at 2.01, choline (Cho), creatine (Cr) and myoinositol (ml). Integral values of ml at 3.56 ppm, Cho at 3.25 ppm and NAA at 2.01 were expressed as ratios to the Cr resonance intensity at 3.05 ppm. MRS postprocessing was performed at a workstation by two researchers in agreement (L.V. and M.K.) They were blinded to the age, type and clinical status of the patients.

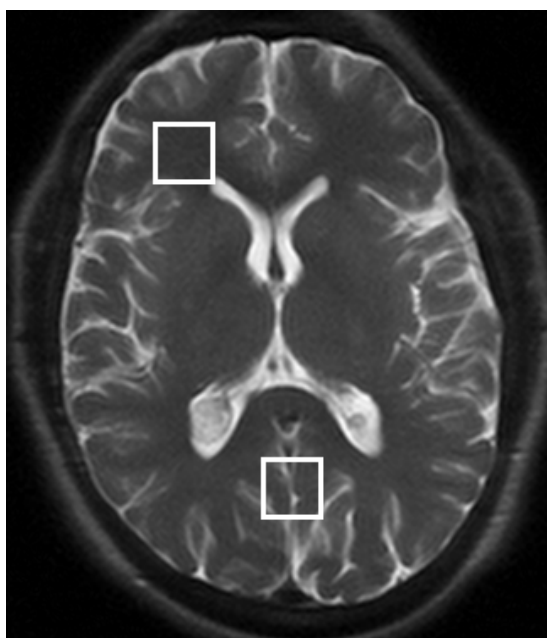


Figure 1: Example of the localization used for single-voxel imaging. Superimposed on an axial T2-weighted image, the white square shows the volume of brain tissue sampled by MRS at the white (right frontal lobe) and gray matter (posterior occipital cortex).

Data analysis

For analysis of MRI variables we measured the normalized cerebral volume (NCV), normalized CSF volume (NCSFV), normalized ventricular volume (NVV) and normalized lesion load (NLL) in the WM on FLAIR.

For preprocessing, segmentation and quantitative analysis we used the ImageJ software (<http://rsb.info.nih.gov/ij>) from the National Institute of Health (NIH). This software has both semi-automated and an automated segmentation tools. Volumes were counted in voxels using the Voxel Counter plugin of ImageJ software.

For normalization, the outer table of the skull was defined as the peripheral edge of the volume of interest. Normalized volumes, which are corrected for different skull sizes, were used for statistical analysis.

NCV was measured using a semi-automated segmentation technique. The method consists of an established seeded region growing algorithm in multiple regions of interest. The seeds are generated through manual specification of the structure of interest with a mouse. The borders of the skull and cerebral hemispheres were outlined using the Multi Cell Outliner plugin (<http://rsb.info.nih.gov/ij/plugins/multi-cell-outliner.html>). We also apply a manual correction step to account for occasional misclassification of nonbrain areas. In some individuals with large skulls, the very superior or inferior regions (5 to 10 mm) were not included in the analysis volume. Importantly, because of normalization process, volumes are largely insensitive to incomplete coverage.

NCSFV, NVV and NLL were measured using an automatic segmentation technique. A two-step procedure was made. Using a local threshold technique the analyzed structure was marked by a trained researcher (F.M.). For NCSFV and NVV a transverse axial T2-weighted image was used. For NLL a transverse FLAIR image was selected for measurement. The segmented structures were measured to obtain absolute total volumes. NVV measured only lateral ventricles values so the III and IV ventricles were excluded.

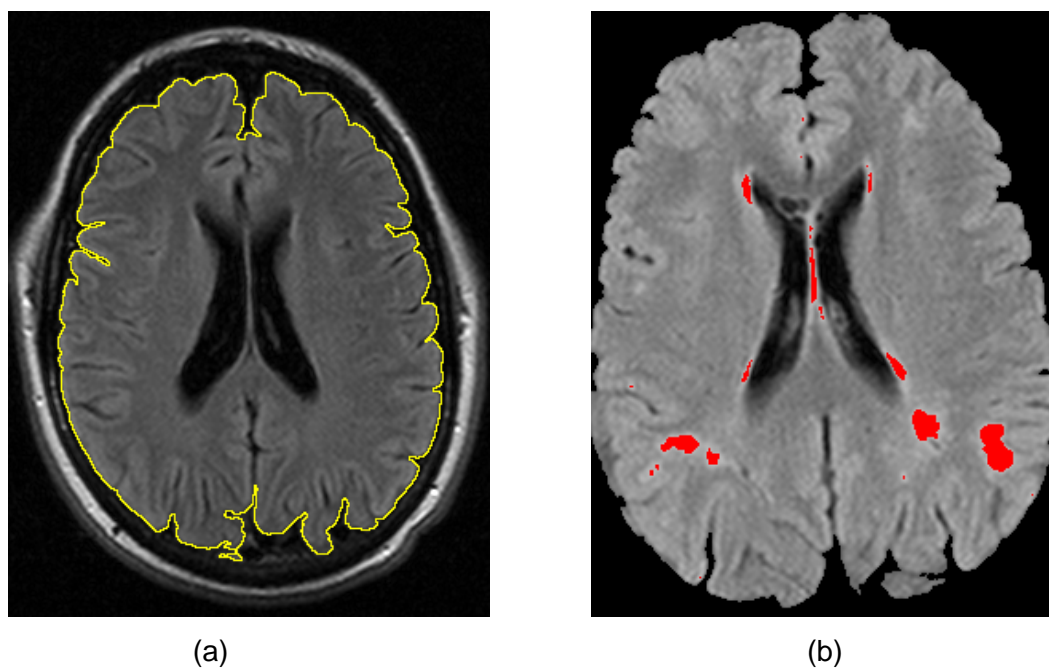


Figure 2: Results of semi-automated and automated segmentation of cerebral volume (a) and lesion load in the white matter (b)

Statistical Analysis

Statistical analysis was performed by using the SPSS software for Windows 12 (SPSS, Chicago, Illinois). Descriptive statistics, including the mean, median and standard deviations of the clinical, biochemical and imaging data were calculated. Age-related effects on MRI, MRS and biochemical variables were evaluated using the Pearson (r) or Spearman correlation coefficient (r_s), according to data distribution. For comparison between groups, ANOVA with Tukey test for post hoc analysis or Kruskal-Wallis was performed, according to data distribution. The significance level for group comparisons and correlation tests was set to $p < 0.05$.

RESULTS

Demographic characteristics, biochemical features, MRI and MRS findings of the sixty patients are provided in table 1. Most had MPS II (51,7%). The median age at onset was 20 months (± 20.5). The age range of onset was 0 to 80 months, so all patients were less than 7 years old at the onset. The oldest patient was 38 years old and MPS IS. Half of the patients underwent the first MR imaging at the age of 10 or more (percentiles 50=121 month). There was no significant difference in age of onset or age at the first MRI between MPS types.

Table 1. Demographic, biochemical and imaging findings in 60 patients with MPS

Age at onset	20 (± 20.5 , 0-84)
Disease duration	102 (± 73.8 , 8-415)
Age at the first MR imaging	121 (± 78.8 , 31-463)
Urinary GAG level	3.56 (± 1.86 , 0.35-10.42)
Enzymatic level	0.06 (± 0.11 , 0-8)
Normalized brain volume	50.8 (± 6.25 , 35.4-69.5)
Normalized ventricular volume	2.5 (± 3.70 , 0.2-22.4)
Normalized CSF volume	6.5 (± 3.55 , 1.5-15.1)
Normalized lesion load	2.41 (± 2.17 , 0.05-10.4)
GM NAA/Cr	2.19 (± 0.41 , 1.10-3.57)
GM Cho/Cr	0.52 (± 0.11 , 0.28-0.85)
GM ml/Cr	0.39 (± 0.10 , 0.17-0.67)
WM NAA/Cr	2.22 (± 0.61 , 1.47-4.69)
WM Cho/Cr	1.03 (± 0.19 , 0.36-1.42)
WM ml/Cr	0.46 (± 0.16 , 0.20-1.20)

Numbers in parentheses are (mean or median \pm SD, range). Age at onset, disease duration and age at the first MR imaging values are expressed in month and median. Fractional cerebral, ventricular, cerebral spinal fluid (CSF) and lesion load volumes are expressed in % and normalized for skull size. GAG, glycosaminoglycans; GM, gray matter; WM, white matter; NAA, n-acetyl-aspartate; Cho, choline; Cr, creatine; ml, myo-inositol.

Table 2 shows correlation of MRI and MRS with age of the patients and disease duration. Patients with longer disease time had more NLL in the WM ($r_s=0.28$, $p=0.03$, figure 3). This difference was more pronounced in MPS II patients ($r_s=0.44$, $p=0.02$, figure 4) and did not change if ERT were or not used ($r_s=0.37$, $p=0.04$ for patients without ERT and $r_s=0.39$, $p=0.04$ for patients with ERT). NCV, NVV and NCSFV did not correlate with disease duration and age of the patients ($p >0.05$). There was no correlation of MRS metabolites (either WM or GM), GAGs accumulation in the urine or enzymatic level with disease duration or patient's age.

Table 2. Age-related changes on MRI and MRS in 60 patients with MPS

Variable	Disease duration	Age of the patient
Normalized cerebral volume	$r=-0.17$, $p=0.19$	$r=-0.15$, $p=0.24$
Normalized ventricular volume	$r_s=-0.05$, $p=0.66$	$r_s=-0.10$, $p=0.45$
Normalized CSF volume	$r_s= 0.08$, $p=0.54$	$r_s=0.09$, $p=0.50$
Normalized lesion load	$r_s=0.28$, $p=0.03$	$r_s=0.20$, $p=0.13$
GM NAA/Cr	$r=-0.23$, $p=0.10$	$r=-0.19$, $p=0.17$
GM Cho/Cr	$r=0.21$, $p=0.12$	$r=0.24$, $p=0.08$
GM ml/Cr	$r=-0.24$, $p=0.07$	$r=-0.17$, $p=0.23$
WM NAA/Cr	$r=0.01$, $p=0.96$	$r=-0.06$, $p=0.66$
WM Cho/Cr	$r=0.18$, $p=0.23$	$r=0.21$, $p=0.15$
WM ml/Cr	$r=-0.21$, $p=0.16$	$r=-0.18$, $p=0.22$

r and r_s indicate Pearson correlation coefficient and Spearman correlation coefficient; respectively. GM, gray matter; WM, white matter; NAA, n-acetil-aspartate; Cho, choline; Cr, creatine; ml, myo-inositol.

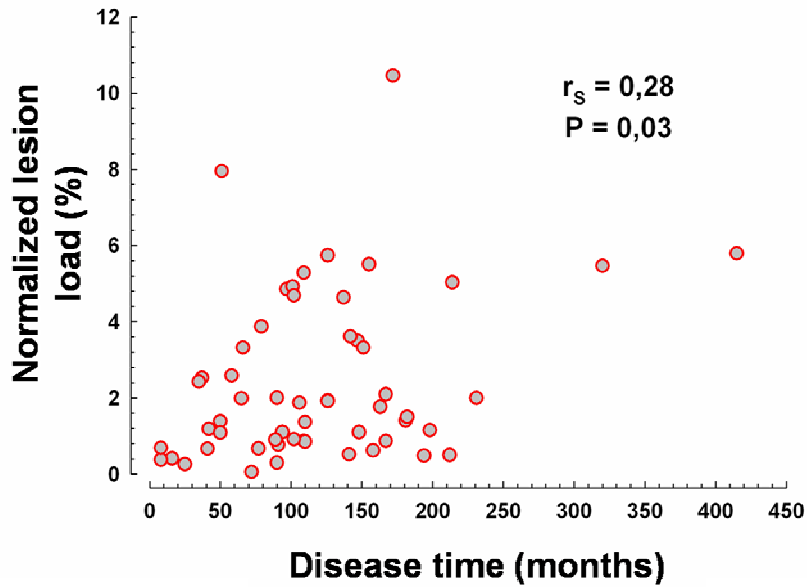


Figure 3. Scatterplot of the normalized lesion load volume vs disease duration in 60 patients with MPS.

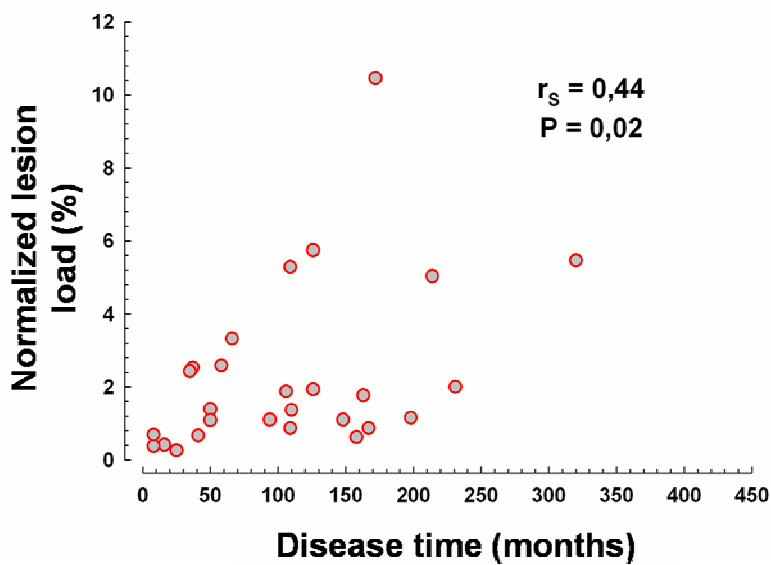


Figure 4. Scatterplot of the normalized lesion load volume vs disease duration in 31 patients with MPS II.

To explore the relationship between neuroimaging variables with biochemical findings, we assessed the relationship of MRI and MRS findings with urinary GAG and enzymatic level. MRI and MRS variables either in the WM or GM did not correlate with degree of decrease of enzymatic level or GAG urinary level, even if the patient was on ERT or not.

Table 3 shows correlation of MRI and MRS findings between subtypes of MPS. Because of the small number of patients, MPS IV group was excluded for subgroup analysis. Patients with MPS II had a lower mean NCV ($p < 0.001$). There was no difference between the MRS metabolites, NVV, NCSFV and NLSV and type of MPS (figure 5).

Table 3. Correlation of MRI and MRS findings with type of MPS.

Variable	MPS I (n=8)	MPS II (n=31)	MPS VI (n=17)	P value
Normalized cerebral volume	54.4 (± 8.5)	48.1 (± 5.9)	52.9 (± 3.3)	0.004*
Normalized ventricular volume	3.1 (± 4.8)	2.6 (± 4.3)	2.1 (± 1.4)	0.807
Normalized CSF volume	7.2 (± 3.8)	6.6 (± 3.6)	5.8 (± 3.0)	0.626
Normalized lesion load	2.7 (± 2.0)	2.3 (± 2.3)	2.4 (± 2.2)	0.856
GM NAA/Cr	1.9 (± 0.15)	2.1 (± 0.44)	2.3 (± 0.41)	0.126
GM Cho/Cr	0.52 (± 0.09)	0.50 (± 0.12)	0.56 (± 0.12)	0.265
GM ml/Cr	0.38 (± 0.08)	0.41 (± 0.11)	0.35 (± 0.08)	0.141
WM NAA/Cr	2.02 (± 0.21)	2.15 (± 0.46)	2.3 (± 0.9)	0.514
WM Cho/Cr	1.12 (± 0.19)	1.04 (± 0.18)	0.94 (± 0.22)	0.174
WM ml/Cr	0.45 (± 0.07)	0.46 (± 0.11)	0.39 (± 0.14)	0.262

Numbers in parentheses are (mean \pm SD). Fractional cerebral, ventricular, cerebral spinal fluid (CSF) and lesion load volumes are expressed in % and normalized for skull size. MRS metabolites expressed in ratio to creatine. GM, gray matter; WM, white matter; NAA, n-acetyl-aspartate; Cho, choline; Cr, creatine; ml, myo-inositol. * ANOVA with post hoc analysis.

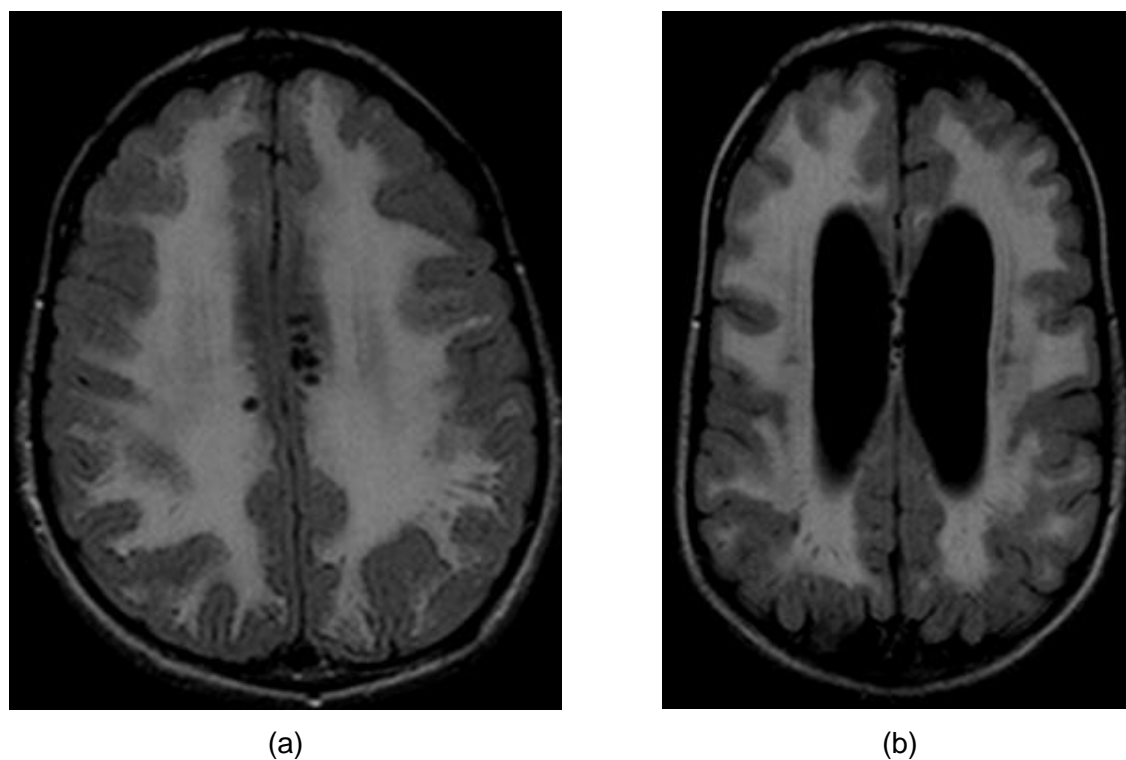


Figure 5. White matter lesions in MPS patients. Examples of extensive WM lesions on FLAIR in patients with MPS II (figure 5a) and VI (figure 5b).

DISCUSSION

The MPS represents a heterogeneous group of illnesses that frequently cause neuropsychomotor dysfunction in children (1). The diagnosis is initially suspected through history and physical examination and confirmed by biochemical and genetic exams. Even though laboratory analyses are necessary for diagnostic confirmation, MRI is important to characterize the brain lesions, especially hydrocephalus, spinal stenosis, and WM lesions (8-14). In doubtful cases, MRI is also important in order to exclude other metabolic diseases (15). Besides, the method can be used to monitor disease progression and therapeutic response, especially in clinical trials. [16]

In spite of various descriptions regarding the MRI findings in patients with MPS, the evidence available are based on small series of cases, with heterogeneous samples of patients and without a serious criteria as to the appointment of subgroups (10,11,17-23). Besides, most of the variables were analyzed subjectively and no study used MRI quantitative techniques. Up to date, the correlation between neuroimaging, biochemical alterations and neurological symptoms is controversial.

In this study, we evaluated MRI and MRS findings in 60 patients with MPS using semi and automated segmentation techniques. As far as we now, this is the largest series

describing such findings. The major conclusions are as follows: 1) WM lesion are more extensive as disease duration increases, specially in MPS II patients; 2) MRS metabolites, cerebral volume, ventriculomegaly and CSF volume do not change with disease duration; 3) urinary GAG level and enzymatic level do not correlate with MRI or MRS findings; 4) reduced brain volume is more pronounced in MPS II patients.

Regarding demographic data, two interesting findings were observed. First, all patients had a disease age of onset below the age of 7. So we can conclude that most or even all patients with MPS are diagnose before that age, mainly because the somatic findings are usually evident in young children. An exception could be MPS III patients (a group that was not included in this study) that frequently present neurological findings but usually do not have severe somatic compromise at least during the first years of the disease. Second, most of the patient underwent the first MRI examination at the age of 10, rather late in the course of the disease. This is an important point to discuss because if MRI is going to be used as a tool to monitor disease progression or as a marker of treatment response we need to perform these exams earlier. The reason for this delay is probably the origin of most of the patients that came from many regions or countries far way from our center.

In contrast to the findings obtained by Parsons et al (24), which studied 5 patients with MPS II, our data showed a positive correlation of WM lesion and disease duration. The cause of this lesion is not fully understood. Histological studies demonstrate gliosis, loss of axons and myelin in the brain of MPS patients and animal models. Because extensive WM lesion is a frequent finding in many metabolic diseases, MPS should be differentiating from other leukodystrophies. Besides, as MRI variables including WM lesion seem to be a promising adjunct outcome measures in metabolic disease trials, the potential progressive behavior of WM lesions with aging are an important issue to beware of.

An increase of WM lesions with aging is also important because it shows that neuropathology in the WM could be a progressive phenomenon. Evidences from animal models showed progressive age-related changes. Current evidence suggests that ectopic dendritogenesis, neuroaxonal dystrophy and death of neurons could be responsible for cellular dysfunction in MPS patients (28-30). In addition to GAG deposition, gangliosides (GM2 and GM3) also accumulate in the brains of MPS patients. It is interesting that ganglioside accumulation has been found in the brain of the MPS forms that present mental retardation (1). Although we cannot prove it in this study, we speculate that gangliosides accumulation could be involved in the appearing of WM lesion.

Our data showed that MRS ratios, cerebral, CSF and ventricular volumes were not age-related variables. This conclusion was based on normalized and automated MRI techniques to reduce potential confounding effects. As far as we now, these results have never been described previously in the literature. They are important because they indicate

that brain atrophy and hydrocephalus could not be a consequence of aging. Maybe other markers related to genotype could also play a role in the development of these neurological entities. This could be important to plan potential forms of treatment and to search for the cause of these conditions.

Histological studies showed that GAG accumulates in the meninges and it is a potential cause of hydrocephalus (1). Comparing the GAG level with ventricular and CSF volumes we thought to test this correlation. However, our data showed that increased urinary GAG levels do not correlate either with ventricular or CSF volumes. Although this negative relationship does not exclude the correlation, it is possible that other features are responsible for ventricular and sulci enlargement in these patients. For instance, venous hypertension could be one of these causes. We did not measure hemodynamic parameters in this study, but obstruction in cerebral veins is thought to be a cause of communicating hydrocephalus in children with skull base abnormalities (14). It has been postulated that ventricular enlargement results from diminished venous outflow through bone dysostosis of the skull base. As a skull base abnormality and communicant hydrocephalus occur in MPS patient, this could be a potential cause of ventricular enlargement. New studies with measuring of venous flow (such as MR venography) could test this hypothesis.

In our data, a lower enzymatic level did not correlate with changes in MRI and MRS variables. As there is evidence that a lower enzymatic level is considered a marker of disease activity, we expected a positive correlation with some neuroimaging variables such as extensive lesions in the WM, a low NAA/Cr and elevated ml/Cr at the MRS (24,25). However we could not find such results. Correlation between patient genotype, amount of residual activity and clinical presentation has been investigated for many lysosomal diseases, including MPS. Although residual enzymatic activity presents itself as a potential marker of disease, results from literature are controversial. Azevedo et al (27) did not find correlation of enzymatic activity and clinical manifestations in 28 patients with MPS VI. We speculate that besides the residual enzymatic activity other findings such as the type of the substrate and genotype profile must contribute to CNS pathology (25,27).

Brain atrophy is common in MPS and the most compelling reason for measuring it is that it provides a marker of axonal loss, which, if progressive, is likely to result in irreversible disability (9,10,13,14). It probably represents neuronal death and myelin loss, although other entities such as ectopic dendritogenesis, neuroaxonal dystrophy, and microglial activation have also been described in MPS (28-30). Evidences suggest that brain atrophy is more common in MPS I, II and III (9,10). Our data confirm that cerebral volume is lower in MPS II patients. The results found in MPS I patients were probably caused by the prevalence of the subtypes in our data. In this study we included 8 patients with the intermediate form (Hurler-Scheie) or the mild form (Scheie). None had the severe form of the disease (Hurler). A higher

cerebral volume in patients with MPS VI it is not surprising because mental compromise is not a frequent finding in this type of MPS.

Evidences from series of cases suggest that WM lesions and hydrocephalus are more prominent in MPS IH and II (1,9,10). According to Seto et al (9), ventriculomegaly is more serious in types I and II. In the Lee et al (10) series the finding was more frequent in patients with MPS I. Comparing MPS subtypes, we did not find significant difference regarding WM lesions or ventriculomegaly in patients with MPS I or II from MPS VI patients. We found in some of the 17 patients with MPS VI, extensive WM lesions and ventricular enlargement. Although primary neurological involvement has generally been considered absent, our data shows that severe WM lesions and hydrocephalus do occur in this subtype of MPS.

Discrepancy between neuroimaging findings and clinical phenotype is seen in other metabolic disorders such as Alexander disease, megalencephaly leukoencephalopathy with subcortical cyst and leukoencephalopathy associated with congenital muscular dystrophy (13,14,31). Recently, Walkley et al (32) described abnormal lysosomal storage in neurons and glia of a feline model of MPS VI. The authors also could prove an abnormal amount of gangliosides (GM2 and GM3) in such cells. Previously, this substrate was found in neurons of patients with the most common forms of MPS (I, II and III) that present mental compromise (1). Further studies are necessary to better understand the correlation of gangliosides, MRI findings and neurological compromise in children with MPS VI.

In conclusion, our data showed the disease duration increase WM lesion in MPS patients. We did not find correlation between neuroimaging and biochemical abnormalities. Ventricular enlargement and WM lesions occur in MPS VI. Further studies with a longitudinal design and correlation with regional areas of the brain may provide new insights to the understanding of the natural history of this progressive disease.

REFERENCES

7 ARTIGO 2: RESSONÂNCIA MAGNÉTICA E ESPECTROSCOPIA DE PRÓTONS NA MUCOPOLISSACARIDOSE: ALTERAÇÕES RELACIONADAS À IDADE E CORRELAÇÃO COM ACHADOS BIOQUÍMICOS.

Vedolin L¹; Schwartz IVD^{2,3}; Komlos M¹; Schuch A³; Azevedo AC²; Vieira T²; Maeda, FK⁴; Marques da Silva AM⁴; Giugliani R^{2,3}

¹ Neuroradiology Department, Mãe de Deus Center and Hospital Mãe de Deus, Porto Alegre, Brazil;

² Medical Genetics Service, Hospital de Clínicas, Porto Alegre, Brazil;

³ Department of Genetics, Federal University of Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil;

⁴ Physics Department, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil.

Endereço para correspondência:

Leonardo M. Vedolin, MD

Av Nilo Peçanha, 550 ap 1301 – Bela Vista – 90410.000

Porto Alegre, Brasil

Telefone: 55.51.3331.9080

e-mail: leonardovedolin@hotmail.com

RESUMO

OBJETIVOS: Investigar a influência da idade e tempo de doença nos achados de ressonância magnética (RM) e de espectroscopia por ressonância magnética (ERM) nos pacientes com mucopolissacaridose (MPS) e testar a correlação das anormalidades bioquímicas com os achados de neuroimagem.

MATERIAIS E MÉTODOS: Sessenta pacientes com MPS tipos I (n=8), II (n=31), IV-A (n=4), e VI (n=17) realizaram RM e ERM (PRESS) do encéfalo em um aparelho de RM de 1.5 T. As variáveis de RM analisadas foram: (1) volume cerebral normalizado (VCN), (2) volume do líquido cefalorraquidiano (LCR) normalizado (VLCRN), (3) volume ventricular normalizado (VVN) e (4) carga lesional normalizada (CLN) na substância branca (SB) usando método de segmentação semi-automático e automático. Voxels foram posicionados na SB e na substância cinzenta (SC). Para a análise estatística foram correlacionados os achados de neuroimagem, bioquímica, idade e tempo de doenças, através dos coeficientes de correlação de Pearson e Spearman.

RESULTADOS: A mediana do início de doença foi de 20 meses. Pacientes com maior tempo de doença tiveram mais CLN na SB ($r=0.28$, $p=0.03$) e esta diferença foi maior na MPS tipo II ($r=0.44$, $p=0.02$). A relação entre os metabólitos na ERM, VCN, VLCRN e VVN não se correlacionaram com o tempo de doença e a idade dos pacientes ($p > 0.05$). Os achados de RM e as variáveis da ERM tanto na SB como na SC não se correlacionaram com o grau de deficiência enzimática ou com o nível de GAG na urina. Pacientes com MPS tipo II tiveram uma menor média do VCN ($p<0.001$).

CONCLUSÕES: As lesões na SB aumentam com o tempo de doença, principalmente nos pacientes com MPS II. Os achados de RM e ERM não se correlacionaram com o nível de GAG ou de deficiência enzimática. A atrofia cerebral foi mais acentuada nos pacientes MPS II.

INTRODUÇÃO

As mucopolissacaridoses (MPS) são um grupo de doenças genéticas lisossômicas de depósito, caracterizadas pela deficiência de uma das enzimas lisossômicas responsáveis pela degradação dos glicosaminoglicanos (GAG) (1). Existem 11 tipos de MPS com uma incidência combinada de um caso para 25.000. Em todos os tipos, as GAG parcialmente degradadas se acumulam nos lisossomos das células afetadas levando a uma deteriorização crônica e progressiva destas células. A expressão neurológica da doença varia de acordo com cada deficiência enzimática. Retardo mental é característico da MPS III e de formas graves das MPS I, II, e VII e esta condição é provavelmente multifatorial (1).

O manejo da MPS está mudando na medida em que opções terapêuticas como a terapia de reposição enzimática (TRE) e o transplante de medula óssea (TMO) são estudados em ensaios clínicos. Por exemplo, TRE é atualmente disponível para MPS I, II e VI (2-4). O objetivo da terapêutica deverá ser o tratamento precoce antes do aparecimento dos sintomas clínicos irreversíveis, para que se tenha bom resultado em longo prazo. Marcadores de atividade da doença serão necessários para o diagnóstico precoce, para o prognóstico e para monitorar o tratamento na MPS.

A ressonância magnética (RM) e a espectroscopia de prótons por RM (ERM) têm assumido um papel importante no diagnóstico das doenças metabólicas (5-7). Além disso, a avaliação quantitativa das lesões cerebrais está se tornando importante na monitorização das lesões e da resposta terapêutica, principalmente em ensaios clínicos. Avanços consideráveis na RM têm permitido a quantificação de várias lesões, entre elas, a atrofia cerebral, a carga lesional na substância branca (SB) e a ventriculomegalia. Além disso, o resultado combinado dos exames de imagem e da genética molecular tem o potencial de permitir um melhor entendimento da patofisiologia da doença.

Em relação à neuroimagem na MPS, resultados de vários estudos demonstraram que a atrofia cerebral, as lesões na SB e a hidrocefalia são freqüentemente observadas em pacientes com MPS (8-12). Além disso, as técnicas funcionais de RM como a ERM tem sido estudadas em pacientes com MPS (13).

Embora estes achados tenham sido descritos por mais de 20 anos, as evidências destes estudos foram baseadas em pequenas séries de casos, geralmente com pacientes apresentando fenótipo heterogêneo. Os efeitos da idade e do tempo de doença sobre os achados de RM são controversos. Além disso, a relação entre os achados de neuroimagem e dados bioquímicos não foram avaliados até o momento.

O objetivo deste estudo é correlacionar os achados de RM e ERM com o tempo de doença, idade e anormalidades bioquímicas em pacientes com MPS.

MATERIAL E MÉTODOS

População

De agosto de 2002 a agosto de 2006, foram selecionamos todos os pacientes com MPS do departamento de genética de nosso hospital. Destes, 70 pacientes tinham confirmação bioquímica de MPS e estavam aptos a participar do estudo. Dez pacientes foram excluídos devido à qualidade inadequada da imagem para pós-processamento e/ou os pacientes eram incapacitados de realizar RM (geralmente pacientes com comprometimento respiratório ou clinicamente instáveis). Os 60 pacientes restantes compuseram o grupo em estudo (8 com MPS I, 31 com MPS II, 4 com MPS IV-A e 17 com MPS VI). Todos os pacientes com MPS I apresentaram a forma atenuada da doença (MPS HS ou MPS S). Dos pacientes com MPS II, 17 tinha a forma grave e 14 a forma leve da doença. Quarenta e quatro pacientes eram do sexo masculino e dezesseis do sexo feminino. Todos os pacientes apresentaram manifestações clínicas típicas da doença, assim como diagnóstico bioquímico de MPS, confirmado através da deficiência da atividade enzimática (alfa-L-iduronidase para MPS I, iduronato sulfatase para MPS II, galactose 6-sulfatase para MPS IVA e n-acetilgalactosamina 4-sulfatase para MPS VI) e aumento das glicosaminoglicanas (GAG) urinárias. A deficiência enzimática foi medida em leucócitos e plasma para a MPS I e MPS II e somente nos leucócitos na MPS IV-A e MPS VI. A fim de excluir deficiência de múltiplas sulfatases, a atividade normal de pelo menos uma das outras sulfatases foi considerada necessária para o diagnóstico de MPS II, IV-A ou IV. Trinta e um pacientes estavam recebendo TRE (7 com MPS I, 16 com MPS II e 8 com MPS VI).

A idade de início foi definida como a idade em que o primeiro sintoma clínico foi detectado. Idade e tempo de doença no momento do exame de RM também foram avaliados. Devido à variação dos intervalos de normalidade de GAG e deficiência enzimática de acordo com o subtipo de MPS e idade, mediu-se a GAG urinária (primeira medida do dia) e padronizou-se o resultado utilizando o valor no limite superior do intervalo de normalidade como referência. O resultado da GAG urinária foi dividido por este valor de referência. Para determinação do nível enzimático, utilizou-se a mesma estratégia, mas escolheu-se o número no limite inferior do intervalo de normalidade. O estudo foi aprovado pelo comitê de ética e pesquisa da instituição e o consentimento informado foi obtido dos pacientes ou de seus representantes legais antes de serem submetidos às avaliações.

Aquisição dos dados

Todos os pacientes foram examinados com um aparelho de RM de 1.5T (*Symphony, Siemens, Erlangen, Germany*). O protocolo de RM incluiu cortes axiais paralelos a uma linha

que une as porções ântero-inferior e pósterio-inferior do corpo caloso; duas seqüências de pulso foram analisadas: (1) FLAIR (tempo de repetição de 9000 msec, tempo de eco de 114msec e tempo de inversão de 2500 msec) e (2) T2 (tempo de repetição de 4000 msec e tempo de eco de 99 msec). A espessura das imagens foi de 5 mm, o campo de visão (FOV) variou entre 180 a 230 mm e o tamanho dos pixels ficou entre 0.45 to 0.55 cm. Não foi utilizado contraste paramagnético.

A ERM com voxel único foi realizada no mesmo aparelho de RM com 1.5 T, usando-se a técnica PRESS (*point-resolved spectroscopy*) (TR/TE: 2000/30 ms). *Shimming* automático e supressão da água foram feitos e voxels de 8 ml foram posicionados em duas regiões, na substância branca profunda do lobo frontal direito e na substância cinzenta do córtex occipital posterior, na linha média (Figura 1).

Essas regiões são utilizadas de rotina para pesquisa no departamento com o objetivo de diminuir a variabilidade da mensuração, os efeitos de volume parcial com o LCR e com outras estruturas cerebrais. Um software do fabricante (*Siemens, Erlangen*) foi utilizado para analisar os picos de n-acetilaspártato (NAA), colina (Col), creatina (Cr) e mioinositol (ml). Valores integrais de ml em 3.56 ppm, Col em 3.25 ppm e NAA em 2.01 foram expressos como relação à intensidade de ressonância da Cr em 3.05 ppm. O pós-processamento da ERM foi realizado em uma estação de trabalho por dois pesquisadores (L.V. e M.K.) cegados para a idade, tipo da doença e estágio clínico dos pacientes.

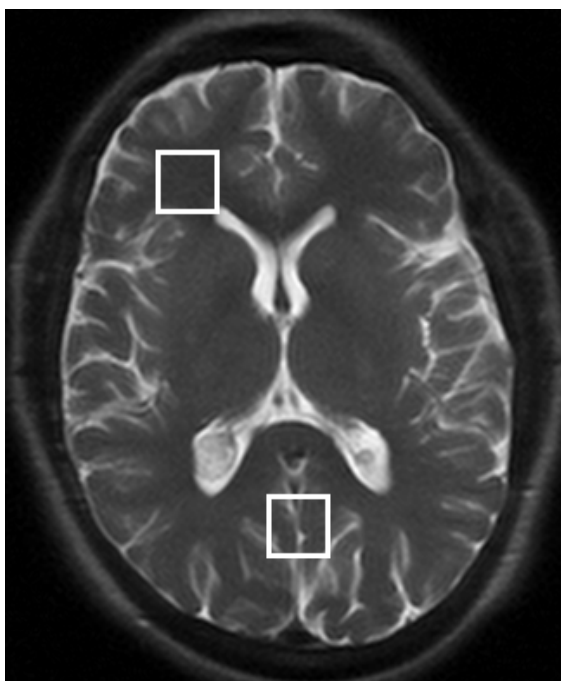


Figura 1. Exemplo da localização da ERM com voxel único. Sobreposto a uma imagem axial ponderada em T2, o quadrado branco mostra o volume de tecido cerebral estudado na ERM na substância branca (lobo frontal direito) e na substância cinzenta (córtex occipital posterior).

Análise dos dados

Para a análise das variáveis de RM mediram-se o volume cerebral normalizado (VCN), o volume do LCR normalizado (VLCRN), o volume ventricular normalizado (VVN) e a carga lesional normalizada (CLN).

Para o pré-processamento, segmentação e análise quantitativa utilizou-se o Image J (<http://rsb.info.nih.gov/ij>) do National Institute of Health (NIH). Esta ferramenta utiliza técnicas automáticas e semi-automáticas de segmentação. Os volumes foram quantificados em voxels usando o programa Voxel Counter do Image J.

Para normalização, a tábua externa do crânio foi definida como a margem periférica do volume estudado. Volumes normalizados corrigidos para diferentes tamanhos de crânio foram usados para análise estatística.

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

O VLCRN, VVN e CLN foram medidos utilizando-se uma técnica de segmentação automática. Um algoritmo em duas etapas foi realizado. Primeiramente, a estrutura que seria estudada foi delimitada por um pesquisador treinado (F.M.). Para o VLCRN e o VVN, foi usada uma imagem axial ponderada em T2. Para o volume de CLN, uma imagem axial FLAIR foi empregada para a realização das medidas. Logo após, a técnica de *threshold* foi usada nas estruturas para se obter o volume absoluto totais. O VVN foi medido nos ventrículos laterais de forma que o III e o IV ventrículos não foram incluídos na análise.

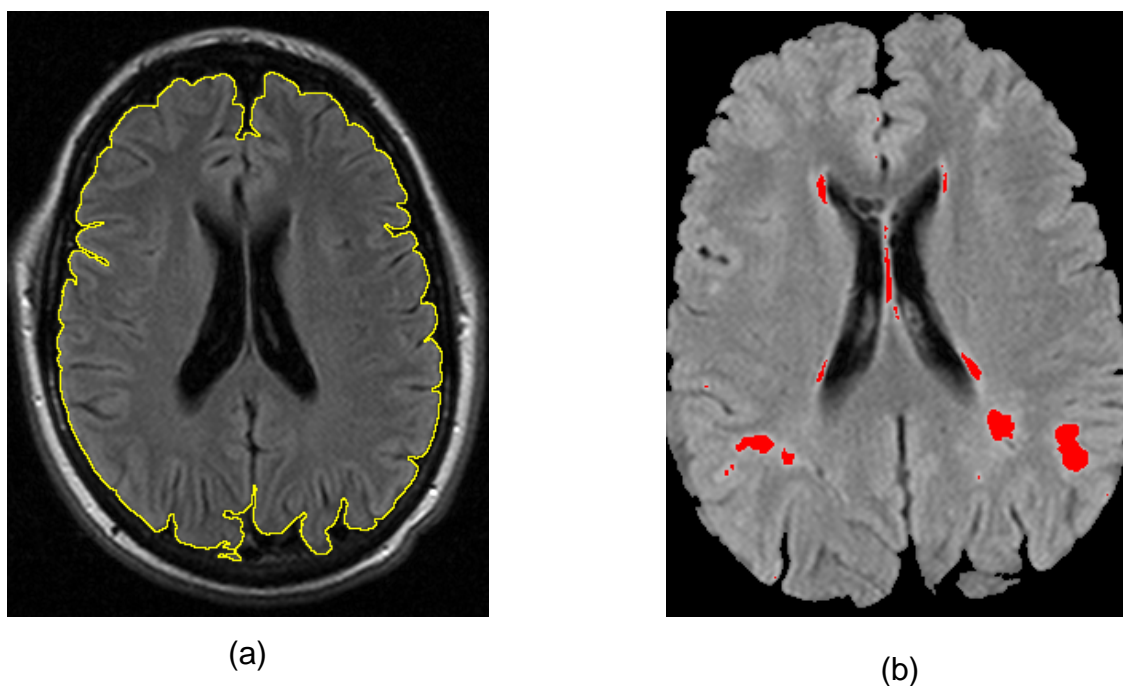


Figura 2. Resultados das análises de segmentação semi-automática e automática na quantificação do volume cerebral (a) e carga lesional na substância branca (b).

Análise estatística

A análise estatística foi realizada utilizando-se o programa SPSS for Windows 12 (SPSS, Chicago, Illinois). Estatísticas descritivas, incluindo média, mediana e desvio padrão dos dados clínicos, bioquímicos e de imagem foram calculadas. A correlação entre RM, ERM, idade e variáveis bioquímicas foram estudadas usando-se a correlação de Pearson (r) ou Spearman (r_s) de acordo com a distribuição dos dados. Para a comparação entre os grupos, ANOVA com teste de Turkey para análise *pos hoc* ou Kruskal-Wallis foram realizados, também de acordo com a curva de distribuição dos dados. O nível de significância para comparação entre os grupos e testes de correlação foi definido como $p < 0.05$.

RESULTADOS

As características demográficas, bioquímicas e achados de MR e ERM dos sessenta pacientes são demonstrados na Tabela 1. A maioria dos pacientes tinha MPS II (51,7%). A mediana do início da doença foi de 20 meses (± 20.53). A idade de início da doença variou de 0 a 80 meses, portanto todos os pacientes tinham menos de sete anos de idade no início dos sintomas. O paciente mais velho tinha 38 anos e MPS IS. Metade dos pacientes realizou o primeiro exame de RM com 10 anos ou mais (percentil 50 = 121 meses). Não houve diferença significativa na idade de início dos sintomas ou idade do paciente na primeira RM entre os tipos de MPS.

Tabela 1. Dados demográficos, clínicos e achados de imagem em 60 pacientes com MPS.

Idade de início	20 (± 20.5 , 0-84)
Tempo de doença	102 (± 73.8 , 8-415)
Idade na primeira RM	121 (± 78.8 , 31-463)
Nível urinário de GAGs	3.56 (± 1.86 , 0.35-10.42)
Nível enzimático	0.06 (± 0.11 , 0-8)
Volume cerebral normalizado	50.8 (± 6.25 , 35.4-69.5)
Volume ventricular normalizado	2.5 (± 3.70 , 0.2-22.4)
Volume de LCR normalizado	6.5 (± 3.55 , 1.5-15.1)
Carga lesional normalizada	2.41 (± 2.17 , 0.05-10.4)
SC NAA/Cr	2.19 (± 0.41 , 1.10-3.57)
SC Cho/Cr	0.52 (± 0.11 , 0.28-0.85)
SC ml/Cr	0.39 (± 0.10 , 0.17-0.67)
SB NAA/Cr	2.22 (± 0.61 , 1.47-4.69)
SB Cho/Cr	1.03 (± 0.19 , 0.36-1.42)
SB ml/Cr	0.46 (± 0.16 , 0.20-1.20)

Os números entre parênteses são (média ou mediana \pm DP, intervalo). A Idade de início, o tempo de doença e a idade na primeira RM são expressos em meses e mediana. Volumes fracionados do cérebro, dos ventrículos, do líquido céfalo-raquidiano (LCR) e de carga lesional são expressos em % e normalizados para o tamanho do crânio. Foram utilizadas as siglas: GAG para glicosaminoglicanas; SC, substância cinzenta; SB, substância branca; NAA, n-acetilaspártato; Cho, colina; Cr, creatina; ml, mioinositol.

A Tabela 2 mostra a correlação da RM e da ERM com a idade dos pacientes e tempo de doença. Pacientes com mais tempo de doença tiveram mais CLN na SB ($r_s=0.28$, $p=0.03$, Figura 3). Esta diferença foi mais pronunciada nos pacientes com MPS II ($r_s=0.44$, $p=0.026$, Figura 4) e não alteraram se TRE foi ou não utilizada ($r_s=0.37$, $p=0.04$ para os pacientes sem TRE e $r_s=0.39$, $p=0.04$ para os pacientes com TRE). VCN, VVN e VLNRN não se correlacionaram com o tempo de doença ou a idade dos pacientes ($p > 0.05$). Não houve

correlação também dos metabólitos (na SB ou SC), acumulação de GAG na urina ou nível enzimático com tempo de doença ou idade dos pacientes.

Tabela 2. Efeito do tempo nas variáveis de RM e ERM em 60 pacientes com MPS

Variável	Tempo de doença	Idade do paciente
Volume cerebral normalizado	$r=-0.17$, $p=0.19$	$r=-0.155$, $p=0.24$
Volume ventricular normalizado	$r_s=-0.05$, $p=0.66$	$r_s=-0.101$, $p=0.45$
Volume de LCR normalizado	$r_s=0.08$, $p=0.54$	$r_s=0.091$, $p=0.50$
Carga lesional normalizada	$r_s=0.28$, $p=0.03$	$r_s=0.206$, $p=0.13$
SC NAA/Cr	$r=-0.23$, $p=0.10$	$r=-0.192$, $p=0.17$
SC Cho/Cr	$r=0.21$, $p=0.12$	$r=0.243$, $p=0.08$
SC ml/Cr	$r=-0.24$, $p=0.07$	$r=-0.170$, $p=0.23$
SB NAA/Cr	$r=0.01$, $p=0.96$	$r=-0.068$, $p=0.66$
SB Cho/Cr	$r=0.18$, $p=0.23$	$R^2=0.216$, $p=0.15$
SB ml/Cr	$r=-0.21$, $p=0.16$	$R^2=-0.185$, $p=0.22$

r e r_s indicam coeficiente de correlação de Pearson e coeficiente de Spearman respectivamente. SC, substância cinzenta; SB, substância branca; NAA, n-acetilaspártato; Cho, colina; Cr, creatina; ml, mioinositol.

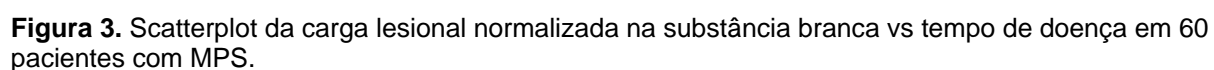


Figura 3. Scatterplot da carga lesional normalizada na substância branca vs tempo de doença em 60 pacientes com MPS.

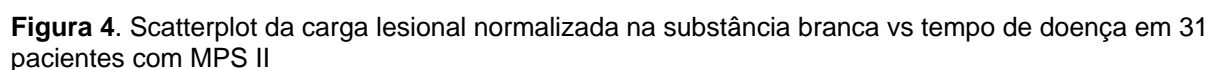


Figura 4. Scatterplot da carga lesional normalizada na substância branca vs tempo de doença em 31 pacientes com MPS II

Para estudar a relação entre as variáveis de neuroimagem e os achados bioquímicos, foi feita a correlação entre os achados de RM, ERM, GAG e o nível enzimático. Os achados

de RM e as variáveis da ERM tanto na SB quanto na SC não se correlacionaram com o grau de diminuição do nível enzimático ou nível de GAG urinário, estando o paciente em TRE ou não.

A Tabela 3 mostra a correlação dos achados de RM e ERM entre os subtipos de MPS. Devido ao pequeno número de pacientes, o grupo de MPS IV-A foi excluído da análise por subgrupos. Pacientes com MPS II tiveram a menor média de VCN ($p < 0.001$). Não houve diferença entre os metabólitos da ERM, VVN, VLCRN e CLN e os diferentes tipos de MPS (Figura 5).

Tabela 3. Correlação dos achados de RM e ERM entre os tipos de MPS.

Variável	MPS I	MPS II	MPS VI	P value
Volume cerebral normalizado	54.4 (± 8.5)	48.1 (± 5.9)	52.9 (± 3.3)	0.004*
Volume ventricular normalizado	3.1 (± 4.8)	2.6 (± 4.3)	2.1 (± 1.4)	0.807
Volume de LCR normalizado	7.2 (± 3.8)	6.6 (± 3.6)	5.8 (± 3.0)	0.626
Carga lesional normalizada	2.7 (± 2.0)	2.3 (± 2.3)	2.4 (± 2.2)	0.856
SC NAA/Cr	1.9 (± 0.15)	2.1 (± 0.44)	2.3 (± 0.41)	0.126
SC Cho/Cr	0.52 (± 0.09)	0.50 (± 0.12)	0.56 (± 0.12)	0.265
SC ml/Cr	0.38 (± 0.08)	0.41 (± 0.11)	0.35 (± 0.08)	0.141
SB NAA/Cr	2.02 (± 0.21)	2.15 (± 0.46)	2.3 (± 0.9)	0.514
SB Cho/Cr	1.12 (± 0.19)	1.04 (± 0.18)	0.94 (± 0.22)	0.174
SB ml/Cr	0.45 (± 0.07)	0.46 (± 0.11)	0.39 (± 0.14)	0.262

Os números entre parênteses significam (média \pm DP). Volume fracionado do cérebro, ventrículos, líquido céfalo-raquidiano (LCR) e de carga lesional são expressos em % e normalizados para o tamanho do crânio. Metabólitos de ERM são expressos com relação à creatina. SC, substância cinzenta; SB, substância branca; NAA, n-acetilaspártato; Cho, colina; Cr, creatina; ml, mioinositol. * ANOVA na análise *post hoc*

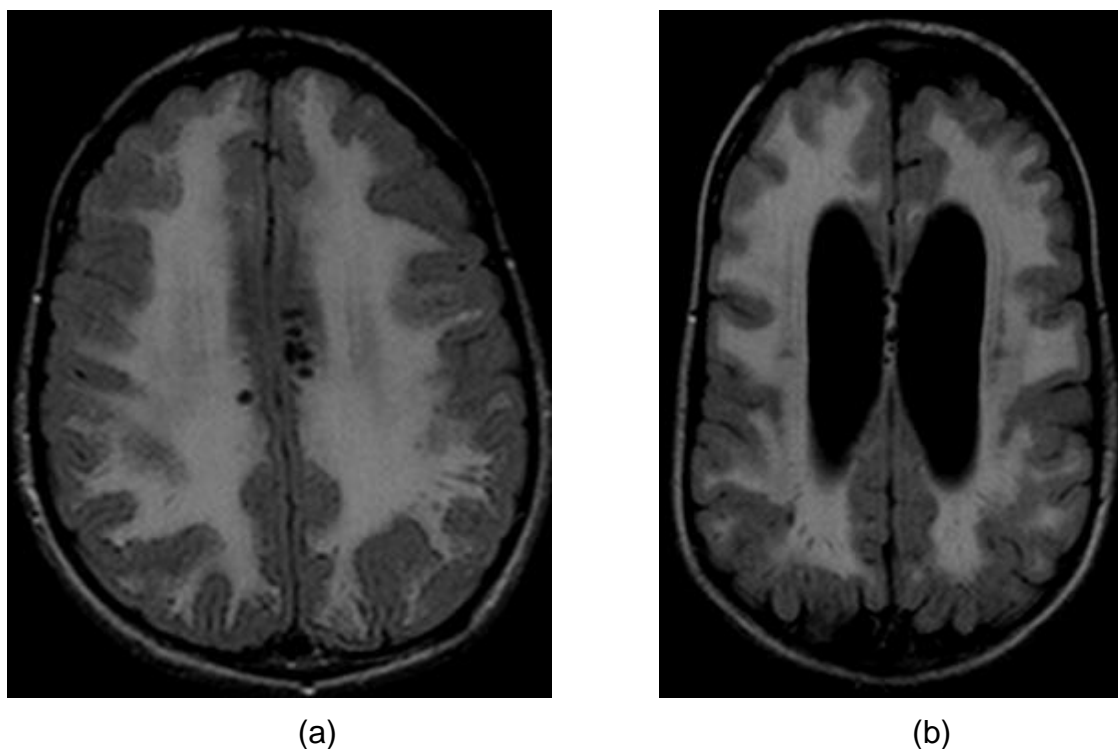


Figura 5. Lesões na substância branca de pacientes com MPS. Exemplos de extensas lesões em pacientes com MPS II (Figura 5a) e MPS VI (Figura 5b).

DISCUSSÃO

A MPS representa um grupo heterogêneo de doenças que freqüentemente causam disfunção neuropsicomotora em crianças (1). O diagnóstico da doença é inicialmente suspeitado pela história clínica e exame físico confirmado por exames específicos, na maioria das vezes, bioquímicos e genéticos. Mesmo com a necessidade de análise laboratorial para confirmação diagnóstica, os exames de neuroimagem são importantes para caracterizar as lesões cerebrais em pacientes com a doença (8-14). Em casos duvidosos, a RM também é importante para excluir outra doença metabólica (15). Além disso, o método pode ser usado para monitorizar a progressão da doença e a resposta terapêutica, principalmente em ensaios clínicos .

Apesar de várias descrições sobre os achados de RM em pacientes com MPS, estes resultados basearam-se em pequenas séries de casos, com amostra heterogênea de pacientes e sem análise criteriosa de subgrupos (10, 11, 17-23). Também a maioria das variáveis foi analisada subjetivamente e nenhum estudo utilizou técnicas quantitativas para avaliar as lesões cerebrais de pacientes com MPS. Além disso, a correlação entre neuroimagem, alterações bioquímicas e sintomas neurológicos é controversa.

Neste estudo, analisou-se a RM e ERM em 60 pacientes com MPS usando técnicas automáticas e semi-automáticas. Pelo que se tem conhecimento, esta é a maior série de casos descrevendo esses achados. As principais conclusões são as seguintes: 1) lesões na SB aumentaram com o tempo de doença, principalmente na MPS II; 2) os metabólitos da ERM, volume cerebral, ventriculomegalia e volume de LCR não mudaram com o tempo de doença; 3) os níveis de GAG e enzima não se correlacionaram com os achados de MR e ERM; 5) o volume cerebral foi menor nos pacientes MPS II.

Em relação aos dados demográficos, dois achados interessantes foram encontrados. Inicialmente, todos os pacientes iniciaram a doença com menos de sete anos de idade. Pode-se concluir que a maioria, ou eventualmente todos os pacientes com a doença, inicia o quadro antes desta idade, principalmente porque as alterações somáticas são evidentes nas crianças pequenas. Uma exceção poderia ser os pacientes com MPS III (grupo não incluído neste estudo) que freqüentemente se apresentam com achados neurológicos sem, entretanto, apresentarem comprometimento somático importante. Em segundo lugar, a maioria dos pacientes foi submetida ao primeiro exame de RM após os 10 anos de idade, tardiamente no curso da doença. Este é um dado importante a ser discutido porque se a RM será usada na monitorização da progressão da doença ou como marcador de resposta ao tratamento, deve-se realizar a RM mais precocemente. Uma das razões para o atraso na realização do exame pode ter sido o local de origem dos pacientes, freqüentemente de estados ou países distantes do centro de pesquisa.

Diferentemente dos achados encontrados por Parsons *et al.* (24) que estudaram cinco pacientes com MPS II, os dados do presente estudo mostraram que a carga de lesões na SB no FLAIR aumenta com o tempo de doença. A causa dessa lesão na SB não está totalmente esclarecida. Estudos histológicos demonstram gliose, perda neuronal e de mielina no cérebro de pacientes com a doença e em modelos animais. Como a lesão extensa na SB é um achado freqüente em muitas doenças metabólicas, a MPS necessita ser diferenciada das outras leucodistrofias. Além disso, como as variáveis de RM, incluindo as lesões na SB, são potencialmente úteis como desfecho em ensaios clínicos, o efeito da idade ou tempo de doença devem ser lembrados como potencial viés de confusão.

O aumento das lesões na SB como a duração da doença também é importante porque indica que a neuropatologia na SB poderia ser um fenômeno progressivo. Evidências atuais sugerem que dendritogênese ectópica, distopia neuroaxonal e morte de neurônios poderiam ser responsáveis pela disfunção celular dos pacientes com MPS (28-30). Além da deposição de GAG, gangliosídeos (GM2 e GM3) também acumulam nos cérebros de pacientes com MPS. O interessante é que a acumulação de gangliosídeos tem sido encontrada nos tipos de MPS que se apresentam com retardo mental (1). Embora não se possa provar esta

correlação neste estudo, a acumulação de gangliosídeos poderia estar envolvida nas lesões da SB em pacientes com MPS.

Os dados mostraram que os metabólitos da ERM, volumes cerebral, ventricular e de LCR não foram afetados pelo tempo de doença ou idade dos pacientes. Essa conclusão baseou-se em técnicas de segmentação por RM na tentativa de redução de potenciais vieses de aferição. Até onde se sabe, estes resultados não foram publicados previamente na literatura. Eles são importantes, pois demonstram que a atrofia cerebral e a hidrocefalia não ocorrem necessariamente devido ao envelhecimento. Talvez outros marcadores relacionados ao genótipo, por exemplo, possam estar envolvidos no processo de neurodegeneração. Estes marcadores podem ser úteis no planejamento de novas formas de tratamento.

Estudos histopatológicos mostraram que os GAG se acumulam nas meninges e são uma causa potencial de hidrocefalia (1). Para testar esta possível associação, comparou-se o nível de GAG com o volume ventricular e do LCR. Entretanto nossos dados não mostraram correlação entre estas variáveis. Este fato indica que é possível que outras variáveis possam causar aumento dos ventrículos e dos sulcos corticais. A hipertensão venosa, por exemplo, poderia ser uma das causas. Sabe-se que a obstrução de veias cerebrais é considerada uma causa de hidrocefalia comunicante em pacientes com anormalidades na base do crânio (14). Tem sido proposto que o aumento ventricular é resultante da diminuição do retorno venoso devido à disostose na base do crânio. Como tanto a hidrocefalia como a disostose ocorrem em pacientes com MPS, esta poderia ser uma possível causa de aumento ventricular. Novos estudos com medida de fluxo venoso são necessários para confirmar essa associação.

Neste estudo, um menor nível enzimático não teve correlação com as alterações na RM e de ERM. Como existem evidências de que um menor nível enzimático é considerado um marcador de atividade da doença, esperava-se encontrar uma correlação positiva entre o nível enzimático e algumas variáveis de imagem como a carga lesional na SB, a redução da relação NAA/Cr e o aumento da relação ml/Cr na ERM (24,25). Entretanto esta hipótese não foi confirmada. A correlação entre genótipo, a quantidade de enzima residual e os sintomas tem sido estudada em várias doenças lisossômicas, incluindo a MPS. Embora a atividade enzimática residual possa ser um potencial marcador de doença, os resultados na literatura são controversos. Azevedo *et al.* (27) não encontraram correlação da atividade enzimática com os sintomas clínicos em 28 pacientes com MPS VI. Especula-se que outras variáveis como o tipo de substrato acumulado e o perfil genético devam estar envolvidas na patogenia das lesões no SNC (25, 27).

A atrofia cerebral é comum na MPS e o diagnóstico desta entidade reflete perda axonal e dano irreversível (9, 10, 13, 14). Além da perda neuronal, outros fenômenos como

dendritogênese ectópica, distopia neuroaxonal e ativação microglial têm sido descritos na MPS (28-30). Evidências sugerem que a atrofia seja mais comum nos tipos I, II e III (9,10). Os resultados deste estudo confirmam que o volume cerebral é menor nos pacientes com MPS II. Como nenhum paciente da amostra tinha a forma grave da MPS I (MPS IH), os valores de volume cerebral encontrados no tipo I refletem o predomínio das formas intermediária e leve na amostra. Neste estudo, foram incluídos oito pacientes com a forma intermediária (Hurler-Scheie) ou com a forma leve (Scheie). Nenhum paciente tinha a forma grave da doença (Hurler). Um maior volume cerebral em pacientes com MPS VI não surpreende, já que a disfunção neurológica não é um achado freqüente neste tipo de MPS.

Evidências de séries de casos sugerem que lesões na SB e hidrocefalia são mais proeminentes em MPS I e II (9, 10). Segundo Seto *et al.* (9) a ventriculomegalia é mais grave nos tipos I e II. Na série de Lee *et al.* (10) o achado foi mais freqüente em pacientes com MPS I. Comparando os subtipos de MPS, não se encontrou diferença significativa entre lesões na SB ou ventriculomegalia nos pacientes MPS I e II quando comparados aos pacientes com MPS VI. Embora o envolvimento cerebral em pacientes com MPS VI seja considerado infreqüente, os resultados do presente estudo indicam que lesões graves na SB e hidrocefalia também podem ser marcantes neste tipo de MPS.

Discrepância entre os achados de neuroimagem e fenótipo clínico ocorre em outras doenças metabólicas como na doença de Alexander, leucoencefalopatia macrocefálica com cistos subcorticais e leucoencefalopatia associada à distrofia muscular congênita (13, 14, 31). Recentemente, Walkley *et al.* (32) descreveram depósito lisossômico anormal em neurônios e células gliais num modelo animal de MPS VI. Os autores também mostraram uma quantidade anormal de gangliosídeos (GM2 e GM3) nestas células. Evidências anteriores indicavam que este substrato estava presente nas formas que apresentavam comprometimento neurológico grave como a MPS IS, II e III (1). Novos estudos são necessários para melhor entender a correlação entre o acúmulo de gangliosídeos, achados de RM e comprometimento neurológico nos pacientes com MPS VI.

Concluindo, este estudo demonstrou que lesões na SB aumentam com o tempo da doença. Não houve correlação entre as anormalidades bioquímicas e achados de neuroimagem. Pacientes com MPS VI têm aumento ventricular e lesões na SB. Novos estudos com metodologia longitudinal e análise regional do cérebro podem trazer novas evidências para o entendimento da história natural desta doença progressiva.

REFERÊNCIAS

7.1

8 CONSIDERAÇÕES GERAIS E PERSPECTIVAS

A RM é o exame de neuroimagem mais importante na investigação de pacientes com doenças metabólicas do SNC. A técnica tem alta sensibilidade para detectar alterações morfológicas e funcionais e auxilia na caracterização das lesões, monitorização da progressão e da resposta terapêutica. Avanços sugerem que a RM também será utilizada no diagnóstico precoce de várias doenças.

Este estudo analisou o potencial da RM e da ERM na investigação de pacientes com MPS. Os resultados demonstraram que existe correlação entre achados de RM e presença de disfunção cognitiva em pacientes com MPS II. Além disso, concluiu-se que as lesões na SB aumentam com a duração da doença, sugerindo que algum processo neurodegenerativo em progressão possa estar se desenvolvendo na SB de

pacientes afetados. Demonstrou-se também que não existe correlação entre os achados de RM, ERM e anormalidades bioquímicas como o nível de GAG urinário ou atividade enzimática residual. Outra conclusão importante é que pacientes com MPS VI apresentam alterações na RM que sugerem comprometimento grave como hidrocefalia e lesões na SB.

Estes resultados comprovam que a RM é sensível para demonstrar o comprometimento do SNC na MPS. Sugerem que a técnica possa ser utilizada no futuro como marcador de doença e eventualmente de resposta terapêutica em ensaios clínicos. Entretanto novos estudos deverão ser realizados para investigar a associação de achados de imagem com substratos específicos e genótipo. A análise de subgrupos de pacientes pode indicar novos marcadores de enfermidade. Estas evidências serão fundamentais para o melhor entendimento da fisiopatogenia da doença e do desenvolvimento de novas formas de tratamento.

9 ANEXOS

Artigos publicados sobre mucopolissacaridose.

1. "Correlation of MRI and MR Spectroscopy findings with cognitive impairment in mucopolysaccharidosis II", na American Journal of Neuroradiology, 2007 (Jun/Jul).
2. "Prospective study of 11 Brazilian patients with mucopolysaccharidosis", no Jornal de Pediatria, 2006;82:273-8

Trabalhos sobre mucopolissacaridose apresentados em eventos científicos no país.

1. “Ressonância Magnética e Espectroscopia de prótons como marcadores de difusão cerebral em pacientes com Mucopolissacaridose tipo II”, no Congresso Brasileiro de Radiologia, de 12 à 14 de Outubro de 2006, em Curitiba, PR.
2. “Terapia de Reposição enzimática intra-tecal em paciente com mucopolissacaridose tipo I e compressão medular sintomática”, no Congresso Brasileiro de Genética Médica, de 31 de Maio à 3 de Junho de 2006, em Guarujá, SP.
3. “Ressonância Magnética e Espectroscopia de Prótons na investigação de pacientes com Mucopolissacaridose”, na Jornada Paulista de Radiologia, de 20 à 23 de Abril de 2006, em São Paulo, SP.
4. “Alterações craniofaciais nas mucopolissacaridoses”, na Jornada Sul de Radiologia, de 8 à 10 de Setembro, em Porto Alegre, RS.

Trabalhos sobre mucopolissacaridose apresentados em eventos científicos no exterior.

1. “CSF behavior during intra-thecal enzyme replacement therapy in a patient with MPS I and spinal cord compression”, no 11th International Congress of Human Genetics, de 6 à 10 de Agosto de 2006, em Brisbane, Australia.
2. “A Follow-up of 20 Brazilian patients with Hunter syndrome in a medical genetics service: preliminaries results”, no SSIEM 41th Annual Symposium, de 31 de Agosto à 3 de Setembro de 2004, em Amsterdam, Netherland.
3. “Progression of muscle-skeletal abnormalities in 21 Brazilian patients with mucopolysaccharidosis type II followed at the Hospital de Clinicas de Porto Alegre, RS, Brazil”, no Simpósio Internacional de MPS, em Mainz, Germany, em Junho de 2004.
4. “A prospective observational evaluation of 20 Brazilian MPS II patients in a Medical Genetics Service: preliminaries results”, no Simpósio Internacional de MPS, em Mainz, Germany, em Junho de 2004.
5. “Cerebral involvement in mucopolysaccharidosis type II (MPS II): Association of Brain MRI and clinical manifestations”, no World Lysosomal Disease Research Network Symposium, de 13 à 15 de MAio de 2004, em Minneapolis, Minnesota.