

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS –GRADUAÇÃO
EM SAÚDE DA CRIANÇA E DO ADOLESCENTE**

**TRATAMENTO INOVADOR DA COMPRESSÃO
MEDULAR COM REPOSIÇÃO ENZIMÁTICA
INTRATECAL NAS MUCOPOLISSACARIDOSES
TIPOS I E VI: RELATO DE UMA SÉRIE DE CASOS**

TESE DE DOUTORADO

MARIA VERÓNICA MUÑOZ ROJAS

Porto Alegre, Brasil

2010

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS –GRADUAÇÃO
EM SAÚDE DA CRIANÇA E DO ADOLESCENTE**

**TRATAMENTO INOVADOR DA COMPRESSÃO
MEDULAR COM REPOSIÇÃO ENZIMÁTICA
INTRATECAL NAS MUCOPOLISSACARIDOSES
TIPOS I E VI: RELATO DE UMA SÉRIE DE CASOS**

TESE DE DOUTORADO

MARIA VERÓNICA MUÑOZ ROJAS

ORIENTADOR: Prof. Dr. Roberto Giugliani

CO-ORIENTADORA: Dra. Márcia Raymundo

A apresentação desta tese é exigência do Programa de Pós-Graduação em Saúde da Criança e do Adolescente, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, para obtenção do título de Doutor.

Porto Alegre, Brasil

2010

R741t Rojas, Maria Verónica Muñoz
Tratamento inovador da compressão medular com reposição enzimática intratecal nas mucopolissacaridoses tipos I e VI: Relato de uma série de casos / Maria Verónica Muñoz Rojas ; orient. Roberto Giugliani ; co-orient. Márcia Raymundo. – 2010.
129 f.

Tese (doutorado) – Universidade Federal Rio Grande do Sul.
Faculdade de Medicina. Programa de Pós-Graduação em Saúde da Criança e do Adolescente. Porto Alegre, BR-RS, 2010.

1. Mucopolissacaridose I 2. Mucopolissacaridose VI 3. Terapia de reposição de enzimas 4. Líquido cefalorraquidiano 5. Injeções espinhais
I. Giugliani, Roberto II. Raymundo, Márcia III. Título.

NLM: WD 205.5.C2

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

FACULDADE DE MEDICINA

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE DA CRIANÇA E DO
ADOLESCENTE**

ESTA DISSERTAÇÃO FOI DEFENDIDA PUBLICAMENTE EM:

16/12/2010

E, FOI AVALIADA PELA BANCA EXAMINADORA COMPOSTA POR:

Profa. Dra. Ursula da Silveira Matte
Hospital de Clínicas de Porto Alegre e PPGSCA/UFRGS

Prof. Dr. José Roberto Goldim
Hospital de Clínicas de Porto Alegre e PPGCM/UFRGS

Prof. Dr. Fernando Kok
Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo

DEDICATÓRIA

Aos pacientes com mucopolissacaridose e suas famílias, em especial àquelas que ousaram dar um passo à frente rumo ao desconhecido na esperança de encontrar novas perspectivas e ampliar os horizontes próprios e alheios.

AGRADECIMENTOS

Ao meu marido, Eduardo Lewis, pelo apoio e incentivo permanentes, pela compreensão e companheirismo, por estar presente quando eu não podia estar.

Ao Prof. Dr. Roberto Giugliani, orientador desta tese, por ter me envolvido no universo das doenças de depósito lisossômico, por me incentivar a ousar e pelas oportunidades oferecidas.

À Prof. Dra. Márcia Mocellin Raymundo, co-orientadora, pelo aprendizado constante, pelas discussões enriquecedoras e pelo carinho.

À enfermeira Taiane Vieira, sempre presente, sempre disponível e sempre amiga.

À Dra. Laura Jardim, ao Dr. Ronaldo Costa, à Dra. Simone Fagundes e à Dra. Ângela John, parceiros nesta caminhada, pela realização de procedimentos, avaliações e exames e pelas importantes discussões e análises compartilhadas.

À Dra. Dafne Horovitz pela incansável contribuição no crescimento deste projeto, pela preocupação com os pacientes e pelo aprendizado em momentos delicados.

Aos amigos e colegas do Serviço de Genética Médica do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, pela contribuição logística e emocional, principalmente à Dra. Louise L. Pinto, à Enfermeira Andressa Federhen, ao Juarez Huve, ao Régis Guidobono, à Liliane Koester, à Karlla Jesuino, ao Célio Rafaelli e às meninas da secretaria.

Ao Dr. Emil Kakkis e à Dra. Patricia Dickson pelas pesquisas conduzidas e pela concepção do projeto.

Ao Dr. Carlos Ruchaud, pela compreensão e apoio para conclusão desta tese.

À Dra. Isabel Bretas e ao Diego Rodrigues, pelo ajuda permanente, rápida e bem humorada, na busca por literatura relacionada.

Ao CNPq, pela bolsa e pelo apoio financeiro.

À CAPES, pelo apoio financeiro.

À Fundação Médica do Rio Grande do Sul, pelo apoio recebido.

A meus pais, Héctor e Juany, que me ensinaram com amor incondicional que a glória não consiste em não cair mas em levantar-se todas as vezes que for necessário.

A meus irmãos Sandra e Pablo, sempre presentes na minha vida, pelo exemplo e pela admiração que lhes tenho.

A meu filho, Guilherme, pela paciência e compreensão e por dar sentido a tudo.

EPÍGRAFE

Muitos dos fracassos da vida são pessoas que não perceberam o quão perto elas estavam do êxito quando elas desistiram.

Thomas Edison

RESUMO

As mucopolissacaridoses apresentam uma história natural progressiva, causada por defeitos no metabolismo dos glicosaminoglicanos. Frequentemente graves, as mucopolissacaridoses encurtam de forma considerável a expectativa de vida do paciente. Apesar de que em muitos casos a função intelectual é normal, morbidade neurológica considerável pode ser causada por compressão medular secundária ao acúmulo de glicosaminoglicanos nas meninges. O tratamento deste problema pode requerer a descompressão medular através de laminectomia cervical. A terapia de reposição enzimática endovenosa, para o tratamento de mucopolissacaridose, reduz o acúmulo lisossômico e alivia muitos dos sintomas da doença, porém não oferece benefício direto para o sistema nervoso central uma vez que não atravessa a barreira hemato-encefálica. Esta limitação da reposição enzimática endovenosa levou alguns pesquisadores a trabalhar com uma nova opção de via de liberação medicamentosa de alcance direto no sistema nervoso central, aproveitando o extenso contato que existe entre o líquido cefaloraquidiano e as meninges e com as granulações aracnoideas, para o tratamento de algumas doenças de depósito lisossomal. Estudos em modelos animais têm sido conduzidos e com resultados promissores. Este trabalho se propõe a estudar uma nova via de administração da enzima recombinante, diretamente no espaço liquórico que foi utilizada em dois pacientes com MPS I e em um paciente com MPS VI, com acesso a esta terapêutica através de uso compassivo individual aprovado pelo Comitê de Ética, no Hospital de Clínicas de Porto Alegre. Até então, apenas estudos animais haviam sido realizados abordando esta via de acesso em doenças de depósito lisossomal e estes pacientes foram os primeiros indivíduos com MPS no mundo a receber terapia de reposição intratecal para o tratamento de compressão medular sintomática por depósito de glicosaminoglicanos. Em 2005 um paciente adulto com MPS I apresentando compressão medular foi incluído em um protocolo de terapia de reposição enzimática intratecal por uso compassivo no Hospital de Clínicas de Porto Alegre. Em 2006 uma menina com MPS I apresentando compressão cervical medular sintomática também recebeu terapia de reposição enzimática intratecal por uso compassivo no Hospital de Clínicas de Porto Alegre. Em 2007 um menino com MPS VI e com compressão medular cervical também foi tratado através de reposição enzimática intratecal por uso compassivo neste mesmo hospital.

Palavras-chave: Compressão da Medula Espinhal. Doenças de Depósito Lisossômico. Ensaio de Uso Compassivo. Injeções Intra-Espinhal. Mucopolissacaridose I. Mucopolissacaridose VI. Terapia de Reposição Enzimática.

ABSTRACT

The mucopolysaccharidoses present a progressive natural course caused by defects on glycosaminoglycan degradation pathways. Usually severe, the mucopolysaccharidoses considerably shorten patient lifespan. Although in many cases the cognitive function is preserved, considerable neurological morbidity can be present due to spinal cord compression which is secondary to glycosaminoglycan storage in the meninges. Treatment for this complication usually requires surgical intervention with cervical laminectomy for thickened meninges removal. Enzyme replacement therapy used for the treatment of mucopolysaccharidoses reduces lysosomal storage and ameliorates many somatic symptoms but does not provide any direct benefit to central nervous system as the enzyme does not cross the blood-brain-barrier. Due to this limitation of intravenous enzyme replacement therapy some researchers have been working with an alternative option of enzyme delivery with direct action on central nervous system through the extensive close contact provided by cefalo-spinal fluid and meninges and arachnoid villousities, to the treatment of some lysosomal disorders. Animal model studies have been conducted and some promising results have been achieved. This study intends to present an alternative route for the administration of a recombinant enzyme, directly in the cefalo-spinal fluid, which was used in two patients with mucopolysaccharidosis I and one patient with mucopolysaccharidosis VI. These patients gained access to this therapy by individual compassionate use enrollment approved by local Ethics Board at Hospital de Clínicas de Porto Alegre. So far, only animal model trials had been conducted with the use of this administration route in lysosomal storage diseases, and these were the first three patients with mucopolysaccharidoses and cord compression to receive intrathecal enzyme replacement therapy in the world. In 2005, an adult mucopolysaccharidosis I patient presenting cervical cord compression was enrolled in a compassionate use trial of intrathecal enzyme replacement therapy, at the Hospital de Clínicas de Porto Alegre. In 2006, a girl with mucopolysaccharidosis I presenting spinal cord compression was also enrolled in a compassionate use trial of intrathecal enzyme replacement therapy, at the Hospital de Clínicas de Porto Alegre. In 2007, a boy with mucopolysaccharidosis VI and cord compression was enrolled in compassionate use trial of intrathecal enzyme replacement therapy in the same hospital.

Key-words: Spinal Cord Compression. Lysosomal Storage Diseases. Compassionate Use Trials. Spinal Injections. Mucopolysaccharidosis I. Mucopolysaccharidosis VI. Enzyme Replacement Therapy.

Title: Innovative Treatment of Cord Compression with intrathecal Enzyme Replacement Therapy in Mucopolysaccharidoses I and VI: Report of a Case Series.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 Classificação dos diferentes tipos de mucopolissacarídeos (pág. 19)

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

6MWT – Teste de Caminhada de 6 Minutos
12MWT – Teste de Caminhada de 12 Minutos
ANVISA – Agência de Vigilância Sanitária
ARSB – Arilsulfatase B
DDL – Doença de Depósito Lisossômico
DNA – Ácido Desoxirribonucléico
EIM – Erros Inatos do Metabolismo
EMA – *European Medicines Agency*
EV – Endovenoso(a)
FDA – *Food and Drug Administration*
FVC – Capacidade Vital Forçada
GAG – Glicosaminoglicanos
HCPA – Hospital de Clínicas de Porto Alegre
HGMD – *Human Gene Mutation Database*
HSCT – Transplante de Células Tronco Hematopoiéticas
IDDD – Dispositivo de Administração Intratecal de Medicamento
IDUA – α -L-iduronidase
IgG – Imunoglobulina G
IT – Intratecal
LCR – Líquido Céfalo Raquidiano
LINCL – Lipofucinose ceróide neuronal infantil tardia
MIP – Pressão Inspiratória Máxima
MPS – Mucopolissacaridose
MPS I – Mucopolissacaridose Tipo I
MPS II – Mucopolissacaridose Tipo II
MPS III A – Mucopolissacaridose Tipo III A
MPS III B – Mucopolissacaridose Tipo III B
MPS III C – Mucopolissacaridose Tipo III C
MPS III D – Mucopolissacaridose Tipo III D

MPS IV A – Mucopolissacaridose Tipo IV A
MPS IV B – Mucopolissacaridose Tipo IV B
MPS VI – Mucopolissacaridose Tipo VI
MPS VII – Mucopolissacaridose Tipo VII
MPS IX – Mucopolissacaridose Tipo IX
OTL – Otorrinolaringológicas
rhASB – N-Acetilgalactosamino-4-Sulfatase recombinante humana
rhHNS – Sulfamidase recombinante humana
rhIDU – Iduronidase recombinante humana
rhSGSH – Sulfamidase recombinante humana
rhTPP1 – Tripeptidil Peptidase recombinante humana
RM – Ressonância Magnética
SNC – Sistema Nervoso Central
SSEP – Potencial Evocado Somato Sensitivo
TMO – Transplante de Medula Óssea
TRE – Terapia de Reposição Enzimática
UCB – Células de Sangue de Cordão Umbilical
uGAG – Glicosaminoglicanos Urinários
VVM – Ventilação Voluntária Máxima

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	17
1.1 OBJETIVOS	23
1.2 REVISÃO DA LITERATURA	24
1.2.1 MUCOPOLISSACARIDOSE I (MPS I)	24
1.2.2 MUCOPOLISSACARIDOSE VI (MPS VI)	39
1.2.3 TERAPIA INTRATECAL	49
2. MÉTODOS	55
2.1 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO	55
2.2 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO	56
2.3 ANÁLISE DOS DADOS	56
2.4 TERMO DE COMPROMISSO	56
2.5 LOGÍSTICA	57
3. RESULTADOS	58
3.1 ARTIGO 1: PACIENTE ADULTO COM MPS I	60
3.2 ARTIGO 2: PACIENTE COM MPS VI	67
3.3 ARTIGO 3: PACIENTE PEDIÁTRICO COM MPS I	72
3.4 OUTROS ESTUDOS	84
4. CONSIDERAÇÕES FINAIS	87
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	91
6. ANEXOS	108

1. INTRODUÇÃO

As mucopolissacaridoses (MPS) constituem um grupo de doenças genéticas causadas por defeitos no metabolismo dos glicosaminoglicanos (GAG, previamente chamados de mucopolissacarídeos). As MPS são um grupo de “erros inatos do metabolismo” (EIM), classificados como “doenças de depósito lisossomal” (DDL), uma vez que a degradação dos GAG ocorre dentro dos lisossomos.

Os GAG são longos polímeros lineares de carboidratos complexos que são modificados após sua síntese pela adição de um sulfato nos terminais de oxigênio e nitrogênio. Estes polímeros se ligam à proteínas centrais para formar os proteoglicanos. Os proteoglicanos são responsáveis por uma grande variedade de funções fundamentais no organismo. Eles formam o componente principal da substância que compõe os ossos, cartilagem e o espaço tecidual intersticial. Os GAG também são encontrados no fluido lubrificante nos espaços articulares provendo a resiliência e a absorção do impacto características da cartilagem articular. Ainda, os GAG formam parte da superfície celular aderente onde os fatores de crescimento se ligam e se concentram. Todos os tecidos necessitam de proteoglicanos e GAG para sua estrutura e função, refletindo as complicações devastadoras decorrentes da deficiência de uma das enzimas requeridas na sua degradação (KAKKIS, 2002). Os GAG principais são o sulfato de condroitina, o heparan sulfato, o dermatan sulfato, o queratan sulfato e o ácido hialurônico. (WALKER et al, 1994). Atualmente, há 11 enzimas conhecidas que participam do catabolismo dos GAG. A deficiência de qualquer uma delas, devido a uma alteração no gene correspondente, causa um dos sete tipos específicos de MPS que são conhecidos (GIUGLIANI et al, 2010; MUENZER et al, 2009; PASTORES et al, 2007). A ausência ou deficiência desta atividade enzimática resulta no acúmulo lisossômico de moléculas de GAG parcialmente degradadas. Estes lisossomos vão se distendendo dentro da célula e interferem com seu funcionamento normal.

A análise da excreção urinária de GAG (uGAG) foi o primeiro método diagnóstico disponível para MPS e continua sendo utilizado como teste diagnóstico preliminar. Os uGAG estão quantitativamente elevados em praticamente todos os casos de MPS, embora a ocorrência de níveis normais não permita descartar o diagnóstico em pacientes com quadro sugestivo

(GIUGLIANI et al, 2010) e a cromatografia ou eletroforese podem ser usadas para identificar qual o tipo de GAG em excesso, auxiliando a definir quais enzimas deverão ser inicialmente testadas (LEISTNER e GIUGLIANI, 1998). O diagnóstico definitivo deve ser realizado através da dosagem enzimática específica para cada MPS. Uma vez que as enzimas lisossômicas estão presentes em todas as células exceto nos eritrócitos maduros, a deficiência enzimática pode ser determinada em vários tipos celulares e fluidos corporais. A identificação do genótipo pode ser importante para prever o fenótipo em alguns casos, auxiliando na decisão terapêutica, para possibilitar o aconselhamento genético na família e para auxiliar no diagnóstico pré-natal (GIUGLIANI et al, 2010). No entanto, as mutações no DNA responsáveis pelas MPS tem ampla heterogeneidade e muitas vezes são mutações privadas à uma única família, limitando a abrangência deste recurso complementar (KASPER et al, 2010; NEUFELD e MUENZER, 2001).

Algumas manifestações clínicas das MPS acredita-se ser resultado direto do acúmulo de GAG nos tecidos, tais como as características faciais, espessamento da pele, opacificação da córnea e as visceromegalias. Outras manifestações tais como a deficiência mental, deficiência do crescimento e displasia esquelética parecem ser resultantes da função celular defeituosa e as contraturas articulares, assim como as hérnias, indicam a interferência dos GAG acumulados em outros substratos metabólicos tais como o colágeno e a fibronectina. As várias MPS conhecidas são causadas por deficiências enzimáticas distintas e resultam no acúmulo de diferentes moléculas degradadas. De forma geral, acredita-se que a degradação inadequada do heparan sulfato esteja fortemente relacionado à deficiência mental enquanto a degradação inadequada do dermatan sulfato, sulfato de condroitina e queratan sulfato com anormalidades mesenquimais (WALKER et al, 1994). O fenótipo clínico do paciente com MPS depende da distribuição e *turnover* do GAG específico que está comprometido (NEUFELD e MUENZER, 2001). O metabolismo do heparan e dermatan sulfato é afetado por deficiência enzimática na MPS I, MPS II e MPS VII e está associado com anormalidades clínicas em importantes órgãos como o cérebro, tecidos moles e tecido conectivo, tais como osso e cartilagem. O metabolismo do dermatan sulfato está comprometido na MPS VI e é associado com acúmulo de GAG em tecido conectivo e tecidos moles. O metabolismo do heparan sulfato é defeituoso nas MPS IIIA, B, C e D e é associado com o predomínio de doença cerebral. O metabolismo do queratan sulfato é afetado na MPS IVA e IVB e leva à doença predominantemente em tecido conectivo, esqueleto e cartilagem, mas acúmulo na

córnea, macrófagos e válvulas cardíacas também ocorre. A degradação deficiente do ácido hialurônico ocorre na MPS IX, forma rara de MPS (KAKKIS, 2002).

A maioria das MPS são subdivididas em dois ou três fenótipos clínicos, variabilidade que parece estar sob a influência de diferentes combinações alélicas e seus efeitos na proteína. Com exceção da MPS II, que apresenta herança ligada ao X, todos os outros tipos de MPS são autossômicas recessivas (**Tabela 1**). As MPS apresentam uma história natural progressiva. Frequentemente graves, as MPS encurtam de forma considerável a expectativa de vida do paciente, causando perda significativa na qualidade de vida.

Tipo	Epônimo	Lócus	Enzima	Herança	GAG
MPS I H MPS I HS MPS I S	Sd. Hurler Sd. Hurler-Scheie Sd. Scheie	4p16.3 4p16.3 4p16.3	α -L-iduronidase α -L-iduronidase α -L-iduronidase	AR AR AR	DS e HS DS e HS DS e HS
MPS II grave MPS II atenuado	Sd. Hunter (grave) Sd. Hunter (atenuado)	Xq28 Xq28	Iduronato sulfatase Iduronato sulfatase	LX LX	DS e HS DS e HS
MPS III A MPS III B MPS III C MPS III D	Sd. Sanfilippo A Sd. Sanfilippo B Sd. Sanfilippo C Sd. Sanfilippo D	17q25.3 17q21 8p11.1 17q14	Sulfamidase α -N-Acetil-glucosaminidase Acetil-CoA N-Acetil-glucosamino-6- sulfatase	AR AR AR AR	HS HS HS HS
MPS IV A MPS IV B	Sd. Morquio A Sd. Morquio B	16q24.3 3p21.33	Galactose-6-sulfatase β -galactosidase	AR AR	QS e SC QS
MPS V	Não é mais usado	–	–	–	–
MPS VI	Sd. Maroteaux- Lamy	5q13-q14	Arilsulfatase B	AR	DS
MPS VII	Sd. Sly	7q21.11	β -glucuronidase	AR	DS, HS, SC
MPS VIII	Não é mais usado	–	–	–	–
MPS IX	–	3p21.2- p21.3	Hialuronidase	AR	H

Tabela 1 – Classificação dos diferentes tipos de mucopolissacaridoses

MPS: mucopolissacaridose; Sd: síndrome; AR: autossômico recessivo; LX: ligado ao X; GAG: glicosaminoglicano; DS: dermatan sulfato; HS: heparan sulfato; QS: queratan sulfato; SC: sulfato de condroitina; H: ácido hialurônico.

Apesar de que em muitos casos a função intelectual é normal ou próxima do normal, morbidade neurológica considerável pode ser causada por compressão medular secundária ao acúmulo de GAG nas meninges. O acúmulo meníngeo também pode obstruir a reabsorção de líquido céfalo-raquidiano (LCR) levando a um quadro de hidrocefalia comunicante com rápido declínio de desenvolvimento e/ou cefaleias debilitantes. O tratamento destes problemas com frequência requer a implantação de derivações ventrículo-peritoneais para alívio da hipertensão intra-craniana e descompressão medular através de laminectomia cervical, removendo as meninges espessadas. O tratamento multidisciplinar do paciente é essencial para o manejo adequado das várias complicações sistêmicas (MUENZER et al, 2009; PASTORES et al, 2007).

Os tratamentos sintomáticos são paliativos e têm impacto mínimo na progressão da doença. Ao contrário, a terapia de reposição enzimática (TRE) utilizando enzimas recombinantes produzidas laboratorialmente através de engenharia genética vem permitindo o tratamento causal de várias doenças de depósito lisossômico. As enzimas utilizadas para o tratamento da MPS I, MPS II e MPS VI são produzidas através de linhagem celular humana ou animal, e são modificadas e purificadas para administração endovenosa no paciente. A TRE endovenosa tornou-se comercialmente disponível para o tratamento de pacientes com MPS I em 2003, com MPS VI em 2005 e com MPS II em 2006 (FDA; EMEA; ANVISA). Utilizada uma vez por semana, a enzima recombinante para MPS I (laronidase), MPS VI (galsulfase) e MPS II (idursulfase), reduz o acúmulo lisossômico e alivia muitos dos sintomas da doença. No Brasil, um grande número de Centros, incluindo serviços das cinco regiões do país, já têm experiência com TRE para MPS I, MPS II e MPS VI. Essa experiência foi adquirida com o tratamento assistencial de pacientes e também com a participação de alguns grupos em ensaios clínicos envolvendo TRE para essas doenças, de tal forma que somados os três tipos de MPS, mais de 250 pacientes já foram tratados com TRE em nosso país (GIUGLIANI et al, 2010). Porém a TRE endovenosa não oferece benefício direto para o sistema nervoso central (SNC) uma vez que a enzima não atravessa a barreira hemato-encefálica (DICKSON et al, 2007; DICKSON et al, 2010; HEMSLEY et al, 2009a; KAKKIS et al, 2004; MUENZER et al, 2009; TOLAR e ORCHARD, 2008; WRAITH e CLARKE, 2006).

A limitação da TRE endovenosa levou alguns pesquisadores a considerar uma nova opção de via de liberação medicamentosa de alcance direto no sistema nervoso central para o

tratamento de algumas DDL. O contato extenso que o LCR tem com as meninges e com o córtex cerebral permite um vasto alcance topográfico da superfície do SNC, em especial se a enzima for capaz de se difundir além da camada superficial ependimária. Da mesma forma o contato do LCR com as meninges cervicais e as granulações aracnoideas é potencialmente ideal para o tratamento de complicações tais como compressão medular (KAKKIS et al, 2004). Estudos em modelo canino natural de MPS I serviram para testar a habilidade da TRE tratar o cérebro, a medula e as meninges em MPS I com administração intratecal (IT) de rhIDU (DICKSON et al, 2007; KAKKIS et al, 2004).

JUSTIFICATIVA

Considerando que o depósito de GAG nas meninges é causado pela deficiência de enzimas específicas que não atravessam a barreira hemato-encefálica quando administradas por via endovenosa, e considerando que apenas estudos animais foram realizados até então abordando esta via de acesso em DDL, este trabalho se propõe a estudar esta nova via de administração da enzima recombinante, diretamente no espaço liquórico através de punção lombar, alcançando as estruturas intradurais.

Este estudo é inovador e apresenta uma forma de administração terapêutica nova enfatizando a dinâmica translacional da assistência para a pesquisa clínica.

1.1 OBJETIVOS

- 1) Avaliar a evolução dos sinais e sintomas relacionados com a compressão medular após o tratamento enzimático intratecal de laronidase e galsulfase, em dois pacientes com MPS I e um paciente com MPS VI, respectivamente, utilizando parâmetros clínicos, de imagem e neurofisiológicos;
- 2) Avaliar a segurança da aplicação intratecal de laronidase e de galsulfase em dois pacientes com MPS I e um paciente com MPS VI, respectivamente, que apresentam quadro de compressão medular;
- 3) Descrever o impacto do uso intratecal como via alternativa em dois pacientes portadores de MPS I e um paciente com VI, refratários ao tratamento convencional.

1.2 REVISÃO DA LITERATURA

1.2.1 Mucopolissacaridose I (MPS I)

A mucopolissacaridose tipo I (MPS I) é uma doença de depósito lisossômico, crônica, progressiva e multisistêmica, causada pela deficiência da atividade da enzima α -L-iduronidase (IDUA). O gene da IDUA está localizado no cromossomo 4p16.3 e é formado por 19 kilobases incluindo 14 exons (SCOTT et al, 1991). Esta doença apresenta considerável variabilidade clínica durante o seu curso, reflexo, em parte, da variação da medida da atividade enzimática associada a diferentes mutações (HIRTH et al, 2007; PASTORES et al, 2007). A IDUA está envolvida na degradação dos GAG heparan sulfato e dermatan sulfato e sua deficiência resulta em acúmulo intracelular destes GAG (WEISSTEIN et al, 2004).

Por se tratar de uma doença autossômica recessiva o risco de recorrência para um casal com um filho com MPS I, é de 25% para cada nova gestação. Devido à grande variabilidade clínica e das diferentes idades de início dos sintomas, o risco de recorrência familiar é grande, mesmo antes da confirmação do diagnóstico do primeiro filho. O aconselhamento genético tem por objetivo fornecer orientação sobre risco de recorrência da doença, diagnóstico pré-natal, tratamentos disponíveis e todas as informações necessárias que auxiliem nas escolhas reprodutivas. Em uma família com histórico anterior de MPS I, o diagnóstico pré-natal de uma gestação em curso pode ser feito através de biópsia de vilosidades coriônicas ou de células do líquido amniótico, durante o primeiro ou segundo trimestre de gestação, seja por dosagem enzimática ou, quando as mutações já são conhecidas, por genotipagem (PANTELIADIS et al, 2003).

A MPS I tem sido classificada em três síndromes, de acordo com seu espectro de gravidade (MOORE et al, 2008 NEUFELD e MUENZER, 2001; PASTORES et al, 2007; SOLIMAN et al, 2007; WRAITH et al, 2007):

- Síndrome de Hurler: consiste no fenótipo mais grave da MPS I, envolvendo atraso no desenvolvimento cognitivo, características faciais grosseiras, hepatoesplenomegalia, insuficiência respiratória, valvulopatia cardíaca, otite

média recorrente, opacificação de córnea e manifestações esqueléticas chamadas de disostose múltipla e rigidez e contraturas articulares. Os sintomas surgem logo após o nascimento e progridem rapidamente. A maior parte dos pacientes morre na primeira década de vida.

- Síndrome de Hurler-Scheie: o fenótipo também se manifesta na infância, porém com gravidade intermediária quando comparado ao fenótipo Hurler. Os sintomas somáticos reduzem a expectativa de vida para a segunda ou terceira década de vida.
- Síndrome de Scheie: forma mais atenuada de MPS I. Os sintomas surgem mais tardiamente e progridem de forma lenta. Os pacientes apresentam inteligência normal e sobrevivem até a idade adulta.

Devido à alta heterogeneidade da MPS I e à sobreposição de sintomas nos pacientes, muitos autores consideram que o mais adequado é classificar os pacientes em forma atenuada e forma grave da doença. (MATTE et al, 2003; VIJAY e WRAITH, 2005).

Aproximadamente 120 mutações no gene da IDUA já foram identificadas (HGMD) e acredita-se que a causa subjacente para a ampla variação do fenótipo nos pacientes com MPS I está relacionada ao nível residual da atividade enzimática nas células, o qual reflete uma elevada heterogeneidade molecular das mutações no gene da IDUA (MATTE et al, 2001; MATTE et al, 2003). Os testes clínicos e laboratoriais, enquanto úteis para a confirmação do diagnóstico, não podem detectar pequenas diferenças na atividade enzimática residual, não permitindo, portanto, prever a gravidade da doença. Fatores como a idade de início dos sintomas, a presença de duas mutações nulas e de características clínicas específicas, como giba e atraso no desenvolvimento, são necessários para designar a doença de maneira mais precisa. A compreensão da relação entre o genótipo e o fenótipo tem sido dificultada pela existência de um amplo número de mutações que são frequentemente restritas à uma única família, somada a presença de sequências variantes não patogênicas na população em geral que podem afetar a expressão do gene (PASTORES et al, 2007; TERLATO e COX, 2003). As mutações Q70X e W402X quando em homozigose ou em combinação com outro alelo deletério têm sido associadas à manifestação grave da doença. Descritas como alelos nulos, ambas têm mostrado produção não-detectável de IDUA (FULLER et al, 2004; MATTE et al, 2001; MATTE et al, 2003; VIJAY e WRAITH, 2005). Outras duas mutações menos comuns

(R89Q e R89W) têm sido encontradas frequentemente em pacientes com fenótipo atenuado (PASTORES et al, 2007) As mutações W402X e P533R foram as mutações encontradas com maior frequência em estudos com pacientes brasileiros, dos quais aqueles apresentando genótipo P533R eram pacientes com fenótipo Hurler-Scheie (MATTE et al, 2001; MATTE et al, 2003). A ocorrência de mutações de parada prematura denominadas *stop-codon* causa, geralmente, um baixo nível intracelular de produção de polipeptídeos e atividade enzimática residual mínima, o que está relacionado à forma mais grave da doença (BROOKS et al, 2006; HEIN et al, 2004).

A MPS I, como a maioria das DDL, é herdada de forma autossômica recessiva (BROOKS et al, 2006; WEISSTEIN et al, 2004). Estimativas de incidência da doença variam aproximadamente de 1:100.000 nascidos vivos, para o fenótipo Hurler, até 1:800.000, para o fenótipo Scheie, sendo que a distribuição da MPS I entre homens e mulheres é semelhante (LOWRY et al, 1990; MEIKLE et al, 1999; POORTHUIS et al, 1999).

As manifestações mais frequentes desta doença multisistêmica incluem hepatoesplenomegalia, cardiopatia, características faciais grosseiras, opacificação de córnea, problemas respiratórios, perda auditiva, macroglossia, hérnia, hidrocefalia e disostose múltipla. Além disso, o acúmulo de GAG em estruturas rígidas e ligamentos paraespinhais aumenta o potencial de morbidade, tornando os pacientes com MPS I um grupo com risco elevado para complicações na coluna cervical (ALLEN, 2004; BREDENKAMP et al, 1992; CIMAZ et al, 2006; HITE et al, 2000; LANZL e LEROY, 2008; PASTORES et al, 2007; WALKER et al, 1994; WEISSTEIN et al, 2004). Os pacientes com síndrome de Hurler também apresentam retardo mental, ao contrário dos pacientes com síndrome de Scheie, os quais podem apresentar inteligência, além de estatura normais. A maioria dos pacientes graves não tratados evolui a óbito, em média, antes dos dez anos de idade devido a complicações relacionadas a dano cerebral ou problemas cardiorrespiratórios (BOELEN, 2006; WEISSTEIN et al, 2004).

Geralmente as crianças se desenvolvem normalmente até os seis meses de idade, quando as anormalidades esqueléticas começam a aparecer. Estas anormalidades são causadas por uma ossificação endocondrial e intramembranosa desordenada e pela infiltração de GAG em ligamentos, em tendões, nas cápsulas articulares e outros tecidos. Frequentemente os

pacientes apresentam gibosidade na coluna (“giba”) devido à cifose dorsolombar. Em torno dos 9 meses, outras anormalidades esqueléticas como esterno proeminente e testa protraída, começam a aparecer. Aos dois ou três anos, o crescimento físico é lento e as deformidades esqueléticas continuam aparecendo. O paciente pode apresentar genu valgo devido à uma ossificação rudimentar na margem lateral da epífise proximal da tíbia. Ainda, pés planos e pequenos, dedos alargados com deformidades podem também estar presentes. Déficits sensoriais como opacificação de córnea e comprometimento auditivo estão presentes na maioria dos pacientes (BJORAKER et al, 2006).

A idade de início dos sintomas e a idade de diagnóstico em pacientes Hurler-Scheie é de, em média, 2 anos e 6,5 anos, respectivamente, enquanto nos pacientes com Scheie a média de idade de aparecimento dos sintomas e de idade ao diagnóstico é 4,2 anos e 13,3 anos, respectivamente. As manifestações clínicas mais frequentes nos pacientes com a forma atenuada são rigidez esquelética, opacificação de córnea, problemas recorrentes em ouvidos, nariz e garganta, hérnia umbilical e déficit auditivo. Entre as manifestações esqueléticas encontradas as mais frequentes são rigidez articular, mãos em garra, face grosseira, cifose, escoliose e lordose. Síndrome do túnel do carpo, compressão da coluna cervical, degeneração da substância branca e depósito periventricular também são encontrados. Os problemas cardíacos mais frequentes são regurgitação das válvulas mitral e aórtica. Obstrução das vias aéreas, dificuldade respiratória e infecções respiratórias recorrentes são os problemas respiratórios mais encontrados (VIJAY e WRAITH, 2005).

A compressão medular é uma complicação clínica que pode ocorrer nas MPS e acredita-se que os principais mecanismos envolvidos sejam (1) a infiltração e depósito de GAG não degradado nos tecido moles, causando compressão mecânica, e (2) anormalidades e subluxação vertebrais congênitas (BRILL et al, 1978; KAUFMAN et al, 1982; MUT et al, 2005). Esta complicação inclusive já foi relatada em uma paciente com MPS I que aos 2 anos recebeu HSCT, permitindo-lhe uma melhora importante da sintomatologia sistêmica da doença mas que aos 8 anos de idade apresentou mielopatia cervical compressiva com necessidade de intervenção cirúrgica (KACHUR e DEL MAESTRO, 2000). Há, pelo menos, outros sete casos de MPS I com compressão medular sintomática descritos na literatura: cinco pacientes descritos com a forma atenuada (dois pacientes Scheie, com 59 e 55 anos de idade, e três pacientes Hurler-Scheie, com 16 anos, 22 anos e 25 anos de idade) e dois pacientes descritos

com a forma grave da doença (Hurler) com quatro e sete anos de idade (BRILL et al, 1978; KAUFMAN et al, 1982; KENNEDY et al, 1973; KHAN et al, 2003; PAULSON et al, 1974; SOSTRIN et al, 1977). Dos sete casos supracitados, seis foram submetidos à intervenção cirúrgica e destes, cinco apresentaram melhora clínica após o procedimento e um (Hurler-Scheie) faleceu durante a intubação (KACHUR e DEL MAESTRO, 2000).

Em um estudo com 17 pacientes com MPS I concluiu-se que há uma correlação entre o fenótipo bioquímico, as manifestações clínicas e os achados radiológicos nas variações de MPS I. Enquanto os pacientes com síndrome de Hurler apresentaram face grosseira, giba, atividade muito baixa da IDUA em leucócitos e níveis muito altos de excreção de GAGs na urina, os pacientes com síndrome de Scheie apresentaram estatura normal, rigidez articular, atividade da IDUA deficiente porém detectável em leucócitos e aumento moderado da excreção urinária de GAG (BASSYOUNI et al, 2000).

Devido ao comprometimento de vários órgãos e tecidos, os pacientes com MPS I frequentemente necessitam de intervenções cirúrgicas, as quais estão associadas a um alto índice de complicações (ARD et al, 2005; ARN et al, 2009; BREDENKAMP et al, 1992). Um estudo com 544 pacientes com MPS I mostrou que cada paciente da amostra necessitou, em média, de 3 a 4 cirurgias. Este mesmo estudo mostrou que 22%, 44% e 54% dos pacientes aos 18 meses, 4 anos e 10 anos de idade haviam sido submetidos a duas ou mais cirurgias, respectivamente, e que antes do diagnóstico de MPS, os pacientes Hurler, Hurler-Scheie e Scheie haviam realizado pelo menos 1 cirurgia em 36%, 46% e 63% dos casos (ARN et al, 2009). As intervenções cirúrgicas mais frequentes costumam ser a miringotomia (e os procedimentos relacionados), herniorrafia, tonsilectomia e adenoidectomia (ARN et al, 2009; BREDENKAMP et al, 1992). A manutenção das vias aéreas e a intubação endotraqueal durante a anestesia é frequentemente difícil: os pacientes geralmente apresentam infiltração e espessamento generalizado dos tecidos moles, a orofaringe pode ser obstruída por macroglossia com ou sem hipertrofia de amígdalas. As vias aéreas também se encontram estreitadas por espessamento das membranas mucosas, hipertrofia de adenoides e tecido granulomatoso redundante, limitando a visualização das vias aéreas superiores nestes pacientes. Infecções crônicas pioram o estreitamento das vias aéreas e resultam na presença de secreção copiosa e espessa, que associada à limitação de movimento encontrada na articulação temporomandibular e cervical, em pacientes com pescoço curto frequentemente

frustram a tentativa de intubação, a qual geralmente é necessária durante a anestesia (BREDENKAMP et al, 1992; VIJAY e WRAITH, 2005; WALKER et al, 1994). O tipo de MPS tem importante implicação no grau de dificuldade esperada na via aérea, sendo que as crianças com síndrome de Hurler, ou forma grave de MPS I costumam apresentar o maior grau de dificuldade. A intubação costuma ficar cada vez mais difícil à medida que a idade do paciente aumenta e a indução anestésica repetida está associada com mais complicações (BREDENKAMP et al, 1992; WALKER et al, 1994).

O cuidado de pacientes com MPS I requer avaliações periódicas, tratamento de suporte e manejo de uma variedade de complicações sistêmicas. Por causa da complexidade e da raridade desta doença os pacientes são tratados mais adequadamente com o apoio de uma equipe de saúde multidisciplinar que reúna diversas especialidades médicas como cardiologia, pneumologia, anestesia, ortopedia, otorrinolaringologia, oftalmologia, neurocirurgia, entre outros, bem como profissionais da fisioterapia, terapia ocupacional, psicologia, fonoaudiologia (MUENZER et al, 2009).

Desde 1980, o Transplante de Células Tronco Hematopoiéticas (*HSCT*) tem sido empregado como tratamento para a Síndrome de Hurler (HOBBS et al, 1981), primeiramente utilizando medula óssea (TMO) e mais recentemente utilizando sangue de cordão umbilical (UCB) (MUENZER et al, 2009; WRAITH et al, 2007). A correção bioquímica e a melhora clínica decorrentes do HSCT depende da habilidade das células hematopoiéticas em se enxertar e distribuir como células da micróglia no cérebro, macrófagos alveolares nos pulmões e células de Kupffer no fígado, que então possibilitam a “correção-cruzada”, fenômeno através do qual a proximidade de células normais funcionando como fonte de atividade enzimática normal é capaz de corrigir as consequências da deficiência enzimática nas células vizinhas (MUENZER et al, 2009; NEUFELD e FRATANTONI, 1970; PRASAD e KURTZBERG, 2010). O número estimado de pacientes com Hurler que realizaram HSCT ultrapassa 500 (TOLAR e ORCHARD, 2008). Quando realizado com sucesso, o HSCT pode prevenir ou reverter muitas, mas não todas as manifestações clínicas da MPS I grave. Para tanto, o HSCT precisa ser realizado precocemente no curso da doença, antes que a deterioração mental comece (GUFFON et al, 1998; PETERS e STEWARD, 2003; STABA et al, 2004; SOUILLET et al, 2003; WHITLEY et al, 1993;). Os melhores resultados clínicos e de desenvolvimento são observados quando o HSCT é realizado em pacientes com coeficiente

de desenvolvimento >70 e com menos de 2 anos de idade no momento do transplante (MUENZER et al, 2009). O HSCT aumenta a expectativa de vida e causa uma melhora em muitas anormalidades sistêmicas (VELLODI et al, 1997). Entre os efeitos positivos desta terapia encontram-se a diminuição da hepatoesplenomegalia e das complicações cardiopulmonares, melhora da audição e do crescimento e desenvolvimento psicomotor, além de estar associado à preservação das funções cognitivas. A hidrocefalia também é prevenida ou estabilizada (BOELENS, 2006; BRAUNLIN et al, 2006; CLARKE, 2008; LÜCKE et al, 2007; PRASAD e KURTZBERG, 2010; WEISSTEIN et al, 2004; WRAITH et al, 2007). O HSCT parece não ter efeito sobre as anormalidades esqueléticas (TAYLOR et al, 2008), sobre a valvulopatia cardíaca e no comprometimento do olho (WRAITH et al, 2007). O recrutamento de um doador compatível na família para o nem sempre é possível e a procura por um doador não relacionado pode demorar meses. A alternativa terapêutica utilizando sangue de cordão umbilical (UCB) de doadores não relacionados ao paciente parece apresentar uma melhor “pega” em comparação a outras fontes de células precursoras, como a medula óssea, além de aumentar as possibilidades de encontrar um doador compatível. Independente da fonte de células precursoras, crianças que são submetidas ao transplante mais cedo apresentam maiores benefícios (STABA et al, 2004). Apesar dos índices de sucesso do HSCT terem melhorado nos últimos anos, o procedimento possui um risco significativo de morbimortalidade. Os índices de sobrevida após um transplante variam entre 50% e 85% (BOELENS et al, 2007; BOELENS et al, 2009; PETERS et al, 1996; PETERS et al, 1998; PRASAD et al, 2008; SOUILLET et al, 2003; STABA et al, 2004; VELLODI et al, 1997) Dados recentes indicam índice de sobrevida de 77.3% e 74.5% em 1 e 5 anos após UCB de doadores aparentados e não aparentados, em pacientes com Hurler, e 75% de índice de sobrevida livre de eventos (*event free survival*) nesta amostra de pacientes comparado ao índice de sobrevida livre de eventos de 60% após HSCT (PRASAD e KURTZBERG, 2010).

O uso da TRE em associação ao HSCT por um breve período de tempo vem ganhando espaço nos últimos anos e estima-se que mais de 118 pacientes já foram tratados usando esta combinação terapêutica (ARN et al, 2010; TOLAR e ORCHARD, 2008). A justificativa principal é proporcionar uma melhor condição física ao paciente enquanto se procura um doador compatível. A associação das duas terapias tem se mostrado segura e eficaz e pode melhorar os índices de sucesso do HSCT diminuindo os riscos de morbimortalidade, em particular nos pacientes mais gravemente comprometidos, por diminuir as complicações

relacionadas à doença de base já que a obstrução de vias aéreas e a função cardíaca podem melhorar tornando o paciente mais preparado para tolerar o HSCT (COX-BRINKMAN et al, 2006; GREWALD et al, 2005; PRASAD e KURTZBERG, 2010; SONI et al, 2007; TOLAR e ORCHARD, 2008; TOLAR et al, 2008). Outra possível indicação é para aqueles pacientes submetidos ao HSCT com doador heterozigoto ou com quimerismo desfavorável (MUENZER et al, 2009). É possível, ainda, que os resultados limitados que o HSCT apresenta na doença esquelética sejam melhorados com a associação com TRE (WRAITH, 2001). Apesar da experiência com estes pacientes ainda ser limitada (MUENZER et al, 2009) existe uma forte tendência ao uso desta associação terapêutica, havendo passado de 6% dos pacientes com MPS I transplantados, até 2003, para >90% dos pacientes com MPS I transplantados no período de 2007 a 2009 (ARN et al, 2010).

A TRE é um tratamento potencial para DDL que foi demonstrado inicialmente *in vitro*, em fibroblastos cultivados de pacientes com MPS (FRANTANTONI et al, 1968). Pouco mais de duas décadas depois foi realizada a primeira demonstração clínica de sucesso utilizando a TRE em pacientes com a doença de Gaucher (BARTON et al, 1991) e somente três décadas depois da correção enzimática *in vitro* foi possível a primeira TRE em pacientes com MPS (KAKKIS et al, 2001; SIFUENTES et al, 2007). Este intervalo de cerca de 30 anos parece ter sido necessário para que a ciência conseguisse agrupar o conhecimento e os meios necessários para entender as enzimas e os substratos envolvidos, a biologia e o papel dos receptores, os modelos animais e a complexidade clínica das MPS (DESNICK, 2004; KAKKIS, 2002).

A clonagem de DNA complementar codificando α -L-Iduronidase, levou à produção de α -L-Iduronidase recombinante humana (rhIDUA). O modelo animal canino de MPS I foi descoberto originalmente na raça Sabujo de Plot (*Plott hound*) e a colônia atual tem um cruzamento com a raça Beagle. Este modelo canino apresenta uma mutação no sítio de *splice* doador no intron 1 que leva a um genótipo nulo, sem produção detectável da enzima (MENON et al, 1992). Estudos com modelo animal canino com MPS I mostraram que a administração endovenosa de rhIDUA tem distribuição somática e é capaz de reduzir o acúmulo lisossômico em vários tecidos, havendo *clearance* do acúmulo hepático e diminuição da excreção urinária de GAG em duas semanas (KAKKIS et al, 1996; SHULL et al, 1994; WRAITH, 2001). Utilizando, ainda, este modelo canino, um estudo mostrou que a

administração semanal da enzima tem resultados superiores à administração contínua de rhIDUA (PASSAGE et al, 2009). Outros estudos com modelo animal murino (CLARKE et al, 1997; TURNER et al, 2000) e felino (KAKKIS et al, 2001) também foram realizados.

Os estudos clínicos posteriores e que culminaram com a aprovação desta medicação foram:

- Estudo clínico fase I/II: iniciado em dezembro de 1997 pela BioMarin Pharmaceutical (Novato, CA, USA) e conduzido por KAKKIS e colaboradores, incluiu 10 pacientes com MPS I, com idades entre 5 e 22 anos, tratados com rhIDUA (laronidase), com dose de 125.000 U/kg (corresponde a 0,58 mg/kg), por via endovenosa, uma vez por semana, durante 52 semanas. Os pacientes foram avaliados com exames basais (antes do início do tratamento), e com 6, 12, 26 e 52 semanas, através de exames clínicos detalhados, exame de ressonância magnética do crânio e do abdome, ecocardiografia, medidas da mobilidade articular, polissonografia, avaliações laboratoriais, dosagem da atividade enzimática de α -L-Iduronidase em leucócitos e excreção de uGAGs. Os resultados deste estudo mostraram que a hepatomegalia diminuiu de forma significativa em todos os pacientes e que o tamanho hepático foi normalizado para o peso e estatura corporal em oito dos dez pacientes, na semana 26. O índice de crescimento em estatura e peso havia aumentado em média 85% e 131% respectivamente, na semana 52, em 6 pacientes pré-púberes. A amplitude articular média máxima de flexão de ombro e extensão de cotovelo aumentou de forma significativa. O número de episódios de apneia e hipopneia durante o sono diminuiu 61%. A classe funcional, pela *New York Heart Association*, melhorou em uma ou duas classes em todos os pacientes. A excreção de uGAGs diminuiu após 3 ou 4 semanas de tratamento; a redução média foi de 63% comparado com os valores basais, na semana 52. Cinco pacientes apresentaram urticária transitória durante as infusões. Anticorpos séricos anti α -L-Iduronidase foram detectados em quatro pacientes. Em conclusão, os autores descreveram que em pacientes com MPS I, o tratamento com α -L-Iduronidase recombinante humana reduz o acúmulo lisossômico hepático e melhora algumas das manifestações clínicas da doença. Este estudo não foi desenhado para avaliar a eficácia da TRE na deficiência mental de pacientes com síndrome de Hurler e a maioria dos pacientes incluídos neste estudo não apresentavam déficit cognitivo (KAKKIS et al, 2001).

- Estudo clínico fase II/III: estudo randomizado, duplo cego, controlado por placebo e multinacional, sobre a TRE com rhIDUA (laronidase) em pacientes com MPS I, tinha por objetivo confirmar a eficácia e a segurança do uso de rhIDUA em pacientes com MPS I. Este estudo envolveu 45 pacientes com MPS I, na maioria classificados como Hurler-Scheie (classificação: Hurler 1/45; Hurler-Scheie 37/45 e Scheie 7/45), que foram randomizados para receber ou 100 U/kg (corresponde a 0,58 mg/kg) de laronidase, ou de placebo, por via endovenosa, uma vez por semana, durante 26 semanas. Os *endpoints* primários de eficácia compararam a mudança em média, do exame basal em comparação com o exame da semana 26, entre os dois grupos (o tratado com laronidase e o tratado com placebo), na porcentagem prevista na capacidade vital forçada (FVC) e na distância percorrida no teste de caminhada de 6 minutos (6MWT), utilizando o teste de Wilcoxon (*Wilcoxon rank sum test*). Dos 45 pacientes envolvidos, 22 receberam laronidase e 23 receberam placebo. Os dois grupos de pacientes apresentavam características semelhantes no exame basal. Depois de 26 semanas de tratamento os pacientes que receberam laronidase, quando comparados com os pacientes que receberam placebo, mostraram uma melhora média de 5,6 pontos percentuais na FVC normal prevista (mediana 3,0; P= 0.009) e 38,1 metros de distância na 6MWT (mediana 38,5; P= 0.066; P= 0.039, análise de covariância). O uso de laronidase também reduziu de forma importante a hepatomegalia e a excreção urinária de GAGs e, nos pacientes mais graves, melhorou a apneia/hipopneia e flexão do ombro. A laronidase foi bem tolerada e praticamente todos os pacientes recebendo a enzima desenvolveram anticorpos IgG, sem efeito clínico aparente. Em conclusão, os autores deste artigo referem que em pacientes com MPS I, o uso de laronidase melhora a função respiratória e a capacidade física de forma significativa, reduz o acúmulo de GAG e tem um perfil de segurança favorável (WRAITH et al, 2004).

Em seguida, em 2005, dois trabalhos foram publicados com revisão dos resultados dos estudos clínicos e dos resultados iniciais das fases de extensão, assim como experiências anedóticas do uso de laronidase fora do ambiente de estudo clínico (WRAITH, 2005; WRAITH et al, 2005). Posteriormente, em 2007, Sifuentes et al, publicaram um estudo de acompanhamento de 5 dos 10 pacientes do estudo fase I/II, e que avaliou o efeito da terapia durante o período de 6 anos. Estes dados correspondem aos dados de eficácia de

acompanhamento de mais longa duração em pacientes com MPS I recebendo laronidase e mostra estabilização e melhora clínica, a longo prazo, nestes pacientes. Dos 5 pacientes acompanhados, 4 foram classificados como Hurler-Scheie e 1 paciente foi classificado como Scheie. As avaliações realizadas neste estudo foram as mesmas daquelas originalmente utilizadas no estudo fase I/II e incluem dosagem de uGAG, ressonância magnética de abdome, crânio e coluna cervical, raio X de tórax, ecocardiografia, eletrocardiograma, antropometria, exame neurológico, questionário de qualidade de vida e avaliações de segurança. Os resultados encontrados mostraram que após 6 anos de tratamento com laronidase, a excreção urinária de uGAGs diminuiu 76%, a amplitude máxima de movimento dos ombros se manteve estável ou melhorou, alcançando uma média 33,3 (D) e 25,0 (E) graus de melhora na flexão e 34,0 (D) e 27,3 (E) graus de melhora na extensão; a apneia do sono diminuiu em 4 dos 5 pacientes e o índice do tamanho das vias aéreas melhorou; as avaliações de doença cardíaca mostraram que não houve progressão até falência cardíaca ou cor pulmonale, mas as valvulopatias graves pré-existentes pioraram em alguns pacientes; foi observado um crescimento substancial nos pacientes pré-púberes, com ganho de 33 cm (27%) em altura e ganho de 31 kg (105%) no peso; e os pacientes relataram, em geral, melhor habilidade para realizar as atividades normais da rotina diária. Com estes resultados, os autores concluem que os múltiplos parâmetros da doença estudados evoluíram com melhora contínua, estabilização ou discreta piora, durante o tratamento com laronidase e que este estudo representa a primeira evidência de que a laronidase pode estabilizar ou reverter muitos sinais da doença MPS I durante terapia de longo prazo e que o tratamento, antes do desenvolvimento de doenças cardíaca e esquelética graves pode levar a resultados melhores (SIFUENTES et al, 2007).

Ainda em 2007, foi publicado um estudo de 20 crianças com MPS I e menos de 5 anos de idade em TRE com laronidase. Este foi um estudo prospectivo, aberto e multinacional, no qual 16 pacientes com síndrome de Hurler e 4 com síndrome de Hurler-Scheie foram selecionados para receber tratamento endovenoso com laronidase 100 U/kg (0.58 mg/kg) semanalmente durante 52 semanas. Quatro pacientes foram submetidos ao aumento de dose para 200 U/kg durante as últimas 26 semanas devido a níveis elevados de uGAG na semana 22. O objetivo primário do estudo era avaliar a segurança do uso de laronidase em pacientes pediátricos jovens com comprometimento grave de MPS I. Para tanto, o critério de avaliação utilizado foi a monitorização dos relatos de eventos adversos (EAs), exame físico, exames

bioquímicos, parâmetros hematológicos, análise urinária, sinais vitais e eletrocardiograma. Os objetivos secundários do estudo eram avaliar a farmacodinâmica e a eficácia do uso de laronidase nesta população pediátrica e para tanto foram utilizadas as seguintes avaliações: títulos de anticorpos (IgG), estudos de farmacocinética, uGAG, medida de tamanho de fígado, *status* cardíaco, obstrução de vias aéreas superiores durante o sono, velocidade de crescimento, avaliação global do investigador e desenvolvimento mental. Este estudo mostra que a laronidase foi bem tolerada em ambas doses; os níveis de uGAG diminuíram ~50% na semana 13 de tratamento e 61,3% na semana 52. Esta diminuição foi mais importante nos pacientes com níveis mais baixos de anticorpos e naqueles que receberam 200 U/kg; a borda hepática diminuiu 69,5%, à palpação, nos pacientes com fígado palpável no baseline e na semana 52; a proporção de pacientes com hipertrofia ventricular esquerda diminuiu de 53% para 17%; a avaliação global dos estudos de sono revelou melhora ou estabilização em 67% dos pacientes, e o índice apneia/hipopneia diminuiu em 5,8 eventos por hora (-8,5%) naqueles com valores alterados no *baseline*; os pacientes mais jovens, com síndrome de Hurler (<2,5 anos) e todos os pacientes com síndrome de Hurler-Scheie (n=4) mostraram uma trajetória normal de desenvolvimento mental durante um ano de duração do estudo. Este estudo sugere que a laronidase é bem tolerada e resulta em benefícios clínicos para os pacientes com mucopolissacaridose I grave e com menos de 5 anos de idade (WRAITH et al, 2007).

Uma vez estabelecida a dose e o regime padrão do uso de laronidase (0,58 mg/kg/semana), conforme os estudos clínicos realizados, foi conduzido um estudo clínico randomizado, de rótulo aberto, multinacional de otimização de dose para avaliar se uma dose ou regime alternativo poderia fornecer melhor redução do acúmulo lisossômico de GAG. O efeito farmacodinâmico e a segurança da dose de laronidase aprovada para uso foi comparada com 3 regimes alternativos: (i) 1,2 mg/kg a cada duas semanas; (ii) 1,2 mg/kg/semana; (iii) 1,8 mg/kg a cada duas semanas) em 33 pacientes com MPS I. Não houve diferença significativa na redução dos níveis de excreção de uGAG entre os quatro regimes de tratamento e nem na redução do volume hepático. Todos os regimes de dose de laronidase apresentaram perfil de segurança aceitável. Reação associada à infusão foi o evento adverso relacionado à droga mais frequente sendo que o grupo de pacientes recebendo a dose padrão foi o grupo que apresentou a incidência mais baixa de eventos adversos relacionados à laronidase (38% vs. 63-75%) e reações associadas à infusão (25% VS. 25-63%). A dose aprovada de laronidase (0,58 mg/kg/ semana) foi o esquema que resultou na redução quase máxima de uGAG e a melhor

relação risco benefício. O esquema 1,2 mg/kg a cada duas semanas foi considerado uma alternativa plausível para pacientes com dificuldade de receber as infusões semanais apesar dos efeitos a longo prazo deste regime não serem conhecidos (GIUGLIANI et al, 2008).

Em 2009, foram publicados os resultados da extensão do estudo fase II/III com acompanhamento de 4 anos desta população de pacientes. Cerca de 90% dos pacientes (40/45) que completaram o estudo fase II/III, receberam ao menos 80% das infusões agendadas e assim como nos estudos anteriores, foi observado que os níveis de uGAG diminuíram nas primeiras 12 semanas e o tamanho hepático diminuiu no primeiro ano de tratamento. A porcentagem prevista de FVC permaneceu estável e a distância percorrida no 6MWT aumentou 31.7 ± 10.2 metros nos dois primeiros anos, com ganho final de $17.1 \pm 16,8$ metros. Melhora no índice de apneia/hipopneia (diminuição de $7,6 \pm 4,5$ eventos por hora entre os pacientes com apneia basal significativa) e na flexão dos ombros (aumento de $17,4^\circ \pm 3,6^\circ$) foram mais rápidos no dois primeiros anos de terapia. Melhora no Questionário Pediátrico de Saúde/ Questionário de Avaliação de Saúde com Índice de Deficiência (*Child Health Assessment Questionnaire/ Health Assessment Questionnaire disability index*), mostrando melhora clinicamente significativa nas atividades da vida diária, foram graduais e mantidas durante o período de tratamento. As infusões com laronidase foram bem toleradas, em geral, exceto em um paciente que apresentou reação anafilática. Reações associadas à infusão ocorreram em 53% dos pacientes e foram na maioria leves e de fácil manejo, e diminuíram consideravelmente após 6 meses. Noventa e três por cento dos pacientes apresentaram anticorpos anti laronidase e 29% dos pacientes foram soronegativos no final do estudo. Com estes resultados os autores concluíram que o uso de laronidase em pacientes com a forma atenuada de MPS I (Hurler-Scheie e Scheie) é seguro e traz benefícios clínicos de longo prazo e ressalta a importância da magnitude e cronologia do efeito do tratamento. Os autores reforçam, ainda, que o diagnóstico e terapêutica precoce maximizam os resultados do tratamento (CLARKE et al, 2009).

Além destes estudos há diversos relatos de casos isolados mostrando os resultados da TRE em pacientes com MPS I com diferentes graus de comprometimento clínico e fenótipos de gravidade (ANBU et al, 2006; ARORA et al, 2007; COPPA et al, 2010; COX-BRINKMAN et al, 2007a; COX-BRINKMAN et al, 2007b; GABRIELLI et al, 2010; HIRTH et al, 2007; KLOSKA et al, 2005; LIN et al, 2005; SARDÓN et al, 2005; SOUTAR et al, 2006;

THOMAS et al, 2009; TOKIC et al, 2007; TYLKI-SZYMANSKA et al, 2010; VALAYANNOPOULOS et al, 2010; WEGRZYN et al, 2007). Especificamente abordando o impacto da TRE no sistema cardíaco, há um estudo de 5 pacientes que receberam TRE por até 7 anos com resolução da hipertrofia ventricular esquerda (presente antes da TRE) em todos os casos e com manutenção da função miocárdica normal. As válvulas mitral e aórtica permaneceram espessadas e, em alguns casos, apresentaram piora e regurgitação. Estes achados indicam que a TRE a longo prazo parece ter um efeito benéfico no miocárdio porém as válvulas cardíacas parecem não responder a esta terapia (BRAUNLIN et al, 2006). Em relação aos achados oftalmológicos em pacientes em TRE, os achados oculares permanecem estáveis na maioria dos pacientes recebendo laronidase, no entanto, a reposição enzimática não parece prevenir a progressão das alterações em córnea e disco óptico, o que acaba piorando a acuidade visual (PITZ et al, 2007).

A bula da laronidase (Aldurazyme®) aprovada pelo FDA em 2003 (NDC 58468-70070-1) (FDA), diz que este medicamento está indicado para pacientes com as formas Hurler e Hurler-Scheie da mucopolissacaridose tipo I e para pacientes com a forma Scheie que apresentem sintomas de moderados a graves. A EMEA também aprovou o uso de laronidase em 2003 (EMEA). No Brasil, a laronidase foi registrada em 2005 (ANVISA) e atualmente está aprovada em mais de 40 países para tratamento de aspectos não-neurológicos da MPS I (PASTORES et al, 2007). A incapacidade da laronidase alcançar o sistema nervoso central na dose preconizada limita seu uso no tratamento de doença neurológica em pacientes com a forma grave e neurodegenerativa da doença (fenótipo Hurler), e, por isso a indicação de uso é para o tratamento dos sintomas não neurológicos. Não é esperado que a TRE resolva todos os problemas desta doença complexa e cirurgias ortopédicas e neurocirurgias provavelmente serão necessárias, especialmente por pacientes que iniciarem a TRE quando a doença já estiver em um estágio relativamente avançado (MUENZER et al, 2009; WRAITH, 2001). No Brasil, a TRE está indicada para o tratamento de pacientes com MPS I de qualquer idade que tenham o diagnóstico confirmado, que sejam sintomáticos e que apresentem pelo menos uma manifestação clínica que responda ao tratamento com TRE (GIUGLIANI et al, 2010; MARTINS et al, 2009).

Apesar das limitações inerentes aos tratamentos, o HSCT e a TRE são as únicas terapias que podem mudar o curso natural da doença em pacientes com MPS. O HSCT envolve riscos de

mortalidade à curto prazo e de morbidade tardia mas oferece a chance de suprimento enzimático decorrente das células enxertadas normais pelo resto da vida. O HSCT é capaz de prover benefícios neurológicos e cognitivos. Há consenso geral de que quanto mais cedo o paciente é diagnosticado e tratado, melhor é o prognóstico (PRASAD e KURTZBERG, 2010).

Uma ampla amostra da população mundial de pacientes com MPS I é representada através do Estudo de Registro MPS I. Este estudo é global e observacional e foi estabelecido para caracterizar o curso da doença e seus desfechos clínicos em pacientes com MPS I recebendo, ou não, TRE. As informações geradas por este estudo representam um importante instrumento potencial para melhorar o conhecimento sobre a doença e facilitar as decisões baseadas em evidências sobre a melhor forma de monitorar, avaliar e tratar os indivíduos afetados e propõe um esquema de recomendações mínimas de avaliação de pacientes com MPS I em TRE, ou não (ANEXO 1) (PASTORES et al, 2007).

1.2.2 Mucopolissacaridose VI (MPS VI)

A Mucopolissacaridose tipo VI, ou Síndrome de Maroteaux-Lamy (MPS VI; OMIM # 253200), é uma doença genética, autossômica recessiva, causada pela deficiência da enzima N-acetilgalactosamina-4-sulfatase, ou arilsulfatase B (ARSB), inicialmente descrita em 1963 por Pierre Maroteaux e Maurice Lamy (MAROTEAUX et al, 1963). Essa enzima é uma hidrolase lisossomal responsável pela retirada de um grupamento sulfato do dermatan sulfato e sulfato de condroitina, que quando degradados parcialmente acumulam-se nos lisossomos, perturbando a fisiologia celular normal (GIUGLIANI et al, 2007).

De modo geral, a MPS VI apresenta um amplo espectro clínico desde formas lentamente progressivas até rapidamente progressivas (BROOKS et al, 2005; SWIEDLER et al, 2005). A displasia esquelética característica inclui baixa estatura, disostose múltipla e doença articular degenerativa. A forma rapidamente progressiva pode ter início ao nascimento e apresentar níveis de uGAG elevados (geralmente >100 $\mu\text{g}/\text{mg}$ creatinina), disostose múltipla grave, baixa estatura e evolui para o óbito antes de alcançar a segunda ou terceira décadas de vida. Outra forma com progressão mais lenta também é descrita e costuma ter início clínico mais tardio, uGAG leve ou moderadamente elevados (geralmente <100 $\mu\text{g}/\text{mg}$ creatinina), disostose múltipla leve e o óbito costuma ocorrer durante a quarta ou quinta décadas de vida. Outros achados clínicos que podem estar presente são: doença cardíaca valvular, função pulmonar reduzida, hepatoesplenomegalia, sinusite, otite média, perda auditiva, apneia do sono, opacificação da córnea, síndrome do túnel do carpo e hérnias inguinais e umbilical (GIUGLIANI et al, 2007; LAKHOTIA et al, 2004; TAN et al, 1992; VIJAYALAKSHMI, 2002, VALAYANNOPOULOS et al, 2010). Apesar da maioria dos pacientes serem classificados como portadores da forma grave, rapidamente progressiva, ou atenuada, lentamente progressiva, uma forma intermediária também já foi descrita (WICKER et al, 1991) e é importante lembrar que as manifestações clínicas formam um leque abrangente de gravidade. O comprometimento cognitivo não é uma característica da doença, mas o sistema nervoso central também pode ser comprometido, principalmente por compressão da medula cervical, causada por instabilidade da coluna cervical, espessamento das meninges e/ou estenose óssea, hidrocefalia comunicante, atrofia do nervo óptico e cegueira (VALAYANNOPOULOS et al, 2010).

A incidência estimada para a MPS VI varia entre 1:43.261 nascimentos na população de imigrantes turcos na Alemanha (BAEHNER et al, 2005) e 1:1.505.160 nascimentos na Suécia (MALM et al, 2008). A MPS VI foi considerada uma das MPS mais raras (MEIKLE et al, 1999) na Irlanda do Norte, em mais de 800.000 nascimentos, ao longo de 25 anos (NELSON, 1997) e no Canadá, com dados de 24 anos, em mais de 1.000.000 de nascimentos (APPLEGARTH et al, 2000) não foi encontrado nenhum caso de MPS VI. Os estudos epidemiológicos disponíveis se baseiam na identificação de pacientes sintomáticos e provavelmente refletem uma subestimativa da real prevalência da doença ao nascimento, a qual só será conhecida quando a triagem neonatal de MPS VI for realizada (VALAYANNOPOULOS et al, 2010). A frequência relativa da MPS VI quando comparada às demais MPS varia de 2-4% de todas as MPS na Escandinávia (MALM et al, 2008), 3% na Holanda (POORTHUIS et al, 1999), 16% em Portugal (PINTO et al, 2004) e 18,5% no Brasil (COELHO et al, 1997), indicando que no Brasil a MPS VI é a MPS mais frequente na população junto com a MPS I (ALBANO et al, 2000; COELHO et al, 2001). A mutação 1533del23 é frequentemente encontrada na população brasileira, em cerca de 23% dos alelos, e esta mutação também é encontrada em pacientes portugueses com MPS VI, mas ainda não há estudos incluindo populações maiores e mais representativas do Brasil para se estimar uma incidência ou prevalência mais aproximadas da doença ou da frequência desta mutação (PETRY et al, 2003; PETRY et al, 2005).

O gene que codifica a enzima ARSB, deficiente na MPS VI, foi mapeado no cromossomo 5q13-5q14 (LITJENS et al, 1989), apresenta 8 éxons e resulta numa enzima com 533 aminoácidos (PETERS et al, 1990). Já foram descritas mais de 133 mutações causando MPS VI, sendo que a vasta maioria (n=100) são mutações *missense* ou *nonsense* (HGMD). O amplo espectro de manifestações clínicas presente na MPS VI provavelmente reflete as diferentes mutações relacionadas com a doença (BRADFORD et al, 2002; KARAGEORGOS et al, 2007; PETERS et al, 1990; PETRY et al, 2003; PETRY et al 2005; WICKER et al, 1991; YANG et al, 2001).

Os pacientes com MPS VI apresentam uma variabilidade ampla de sintomas em diversos órgãos e sistemas e acredita-se que existe uma correlação inversa entre a atividade residual da enzima e os sintomas apresentados (LITJENS and HOPWOOD, 2001).

O crescimento e desenvolvimento físicos podem ser normais nos primeiros anos de vida, estagnando ao redor dos 6 ou 8 anos (GIUGLIANI et al, 2007). Devido à infiltração de GAG os indivíduos afetados ficam com características faciais grosseiras e apresentam, em geral, o tronco curto, gibosidade toracolombar, mãos e pés infiltrados, e alterações osteoarticulares, que podem estar associadas à síndrome do túnel do carpo e contraturas tipo Dupuytren (CARDOSO-SANTOS et al, 2008; LEVIN et al, 1997, MUSHARBASH, 2002).

A maioria dos pacientes com MPS VI apresentam desenvolvimento intelectual normal, ao contrário dos pacientes com MPS I grave ou MPS II grave (NEUFELD e MUENZER, 2001). Radiologicamente parece haver um volume cerebral maior em pacientes com MPS VI do que em pacientes com outros tipos de MPS e lesões extensas em substância branca e aumento ventricular podem ser encontrados em alguns destes pacientes (VEDOLIN et al, 2007). Não se sabe porquê os pacientes com MPS VI são poupados de problemas no desenvolvimento neurológico cognitivo mas a ausência de acúmulo de heparan sulfato, presente na MPS I, MPS II, MPS III e MPS VII é provavelmente importante (VALAYANNOPOULOS et al, 2010). Apesar dos pacientes não apresentarem deficiência mental como consequência direta da doença, as aquisições cognitivas podem ser prejudicadas pelo déficit auditivo, visual e limitações físicas próprias da MPS VI.

Os pacientes com MPS VI apresentam tendência ao aparecimento de glaucoma (50%) e opacidade de córneas (95%), que podem ser tratados especificamente com medicações e transplante de córnea, respectivamente (ASHWORTH et al, 2006). O espessamento da córnea pode resultar na aferição falsamente elevada da pressão intraocular (pseudoglaucoma) e dificultar a visualização da retina (CANÊDO et al, 2006; MARINHO et al, 2007). Cerca de 50% dos pacientes apresentam alterações no nervo óptico com papiledema leve a moderado e 15% apresenta atrofia do nervo óptico. Estas alterações ocorrem por depósito de GAG nas células ganglionares do nervo óptico e/ou por compressão do nervo óptico, por espessamento da dura ou estreitamento ósseo ao longo do trato deste nervo (ALROY et al, 1999; CASANOVA et al, 2001; COLLINS et al, 1990; VALAYANNOPOULOS et al, 2010).

Entre as alterações otorrinolaringológicas (OTL) frequentemente encontradas estão os problemas auditivos, a otite média e a obstrução oral, faríngea e de vias aéreas superiores. A hipoacusia é geralmente mista com componente condutivo, secundário à otite média e a

deformidades dos ossículos, e com componente neurosensorial (BREDENKAMP et al, 1992; SIMMONS et al, 2005; VALAYANNOPOULOS et al, 2010). Os pacientes com MPS VI apresentam depósito progressivo de GAG em nasofaringe, orofaringe, hipofaringe e laringe, macroglossia, hipertrofia de amígdalas e adenoides (LEIGHTON et al, 2001; SHIH et al, 2002) e costumam cursar com secreção espessa e abundante em vias aéreas que por ocluir a drenagem dos seios da face e o bloqueio das tubas de Eustáquio, acabam predispondo os pacientes à rinite, sinusites e otite média e juntamente com as incursões diafragmáticas limitadas, decorrentes de hepatoesplenomegalia e cifoescoliose, culminam em infecções respiratórias recorrentes (LEIGHTON et al, 2001; WALKER et al, 1994).

Os pacientes com MPS VI podem apresentar também hiperplasia gengival, defeitos condilares e dentes inclusos e impactados (ALPÖZ et al, 2006). Estas alterações podem contribuir para dificuldades alimentares dos pacientes e podem aumentar a morbidade relacionada a procedimentos intervencionistas.

A apneia obstrutiva do sono, secundária à obstrução das vias aéreas, é uma complicação frequente na MPS VI (AZEVEDO et al, 2004; LEIGHTON et al, 2001), e deve ser avaliada através de polissonografia (VALAYANNOPOULOS et al, 2010). Os pacientes com MPS VI podem apresentar características de doença pulmonar obstrutiva e restritiva. A doença pulmonar obstrutiva é decorrente do estreitamento das vias brônquicas e de traqueobroncomalácia enquanto a doença pulmonar restritiva se deve à caixa torácica pequena e rígida, distensão abdominal combinado com cifose, escoliose e aumento da lordose lombar (SEMENZA e PYERITZ, 1988; SHIH et al, 2002). Estas alterações resultam em complicações tais como episódios recorrentes de pneumonia.

O envolvimento cardíaco é frequente na MPS VI, sendo responsável por parte importante da morbimortalidade associada à doença (AZEVEDO et al, 2004; WIPPERMANN et al, 1995). As válvulas mitral (96%), tricúspide (71%) e aórtica (43%) podem ficar estenóticas ou insuficientes, podendo apresentar regurgitação em diversos graus (AZEVEDO et al, 2004; TAN et al, 1992). Também foram descritas cardiomiopatia e falência cardíaca em um bebê de 5 meses, com MPS VI (HAYFLICK et al, 1992), e fibroelastose endocárdica com insuficiência cardíaca em um bebê de 9 meses com MPS VI (MILLER e PARTRIDGE, 1983). A maioria dos indivíduos com a doença evolui para óbito na 2ª ou 3ª década de vida

sendo a principal causa a falência cardíaca, muitas vezes secundária à obstrução respiratória crônica.

A compressão da medula espinhal é uma das principais características da MPS VI. Depósito de GAG na duramáter e nos ligamentos de sustentação, cifoescoliose e estenoses ósseas são relacionadas na etiologia da compressão medular em diferentes regiões da coluna (BACCHUS e PETERSON, 1980; KACHUR e DEL MAESTRO, 2000; PETERSON et al, 1975; SHERIDAN et al, 1992; SOSTRIN et al, 1977; TAMAKI et al, 1987; THORNE et al, 2001; VOUGIOUKAS et al, 2001; YOUNG et al, 1980). Acredita-se que todos os pacientes com MPS VI apresentem algum grau de anormalidade cervical (TAMAKI et al, 1987; THORNE et al, 2001). A estenose do canal espinhal nem sempre é acompanhada de mielopatia e portanto não há indicação de cirurgia decompressiva profilática, mantendo a intervenção cirúrgica sob consideração quando houver mielopatia (THORNE et al, 2001). No entanto, a cirurgia em pacientes com MPS VI pode ser complicada devido à problemas cardiorrespiratórios associados à dificuldade de manejo dos problemas da coluna. Estes pacientes podem necessitar de colete no pré e no pós operatório, traqueostomia e fusão óssea nos casos de instabilidade da coluna ou de descompressão, para prevenir deformidades pós laminectomia naqueles pacientes com instabilidade ou naqueles que ainda estão em crescimento (MUT et al, 2005; THORNE et al, 2001). A maioria (90%) dos pacientes com MPS VI com menos de 15 anos de idade submetidos à laminectomia cervical ou cervicotorácica desenvolveram posteriormente deformidade cifótica da coluna, e nenhum paciente adulto, na mesma situação, desenvolveu esta complicação (THORNE et al, 2001; YASUOKA et al, 1982). Alguns dos relatos de pacientes com MPS VI e compressão medular na literatura incluem um paciente de 18 anos que evoluiu com mielopatia compressiva na coluna cervical, torácica e lombar por hipertrofia do ligamento amarelo (MUT et al, 2005), uma paciente de 23 anos que no terceiro trimestre de gestação evoluiu com compressão medular cervical por espessamento da dura máter (BACCHUS e PETERSON, 1980; PETERSON et al, 1975; SOSTRIN et al, 1977), uma paciente de 41 anos com mielopatia cervical compressiva cujo quadro neurológico evoluiu em três fases distintas: (1) dor e formigamento nas pernas durante a primeira gestação, aos 23 anos, e que pode ter sido decorrente de edema do tecido conectivo da medula espinhal pelas mudanças hormonais; (2) depois de 10 anos, hidrocefalia associada a ataxia de marcha, diminuição da acuidade visual e letargia, que pode ter sido decorrente de espessamento das meninges e (3) tetraparesia

espástica, aos 39 anos, por paquimeninge cervical (YOUNG et al, 1980). Ainda há o relato de um paciente masculino com MPS VI e 36 anos de idade, que evoluiu com mielopatia compressiva por espessamento difuso da dura máter cervical (TAMAKI et al, 1987), uma menina de 6 anos que apresentou hidrocefalia comunicante e estenose do canal lombar, causados provavelmente por depósito de GAG na pia aracnoide o que aumentou a resistência de absorção do LCR e levou ao aumento da pressão intracraniana e hidrocefalia, e por depósito de GAG no ligamento amarelo e tecidos adjacentes, levando à estenose do canal lombar (SHERIDAN et al, 1992). Ainda, o relato de uma menina de 14 anos que em um período de 2 anos apresentou e foi tratada por lesão secundária à compressão dos nervos ópticos, hidrocefalia comunicante e tetraparesia espástica progressiva e que apresentava alterações degenerativas da articulação atlantoaxial com processo odontoide normal, estenose óssea e hipertrofia do ligamento amarelo (VOUGIOUKAS, et al, 2001). A experiência publicada, do grupo do *Royal Manchester Children's Hospital*, da Inglaterra, relata que em 10 anos eles acompanharam 9 pacientes com MPS VI, dos quais 6 apresentaram evidência radiológica de compressão medular e destes, quatro necessitaram de intervenção cirúrgica para alívio dos sintomas (idades: 7 anos, 11 anos, 14 anos e 16 anos), sendo que destes quatro, três pacientes (menores de 15 anos) realizaram também a fusão óssea para prevenção de deformidade pós-laminectomia em pacientes em crescimento (THORNE et al, 2001). A frequência de mielopatia cervical com instabilidade atlantoaxial ou compressão medular cervical e sua relação com a TRE em pacientes com MPS VI não é conhecida. Entre 141 pacientes com MPS VI, participantes do Programa de Vigilância Clínica da BioMarin, foram encontrados 37% (10/27) com menos de seis anos de idade, que haviam recebido pelo menos uma infusão de TRE, e com compressão cervical documentada por exames de ressonância magnética, independente do momento do tratamento (HENDRIKSZ, et al, 2010). Todos os pacientes com MPS VI com compressão medular sintomática relatados apresentavam condições clínicas que permitiram a intervenção cirúrgica e apresentaram uma boa resposta ao tratamento.

Quando se suspeita clinicamente de MPS VI, o diagnóstico deve ser confirmado pela redução da atividade da enzima ARSB em leucócitos e/ou fibroblastos cultivados a partir de biópsia de pele (HWU et al, 1991) e geralmente se encontra abaixo de 10% do limite inferior da normalidade (BROOKS et al, 2005). O diagnóstico também pode ser confirmado através da

genotipagem e detecção da mutação causal. O diagnóstico pré-natal se baseia primariamente na atividade enzimática de ARSB reduzida e pode, ainda, ser corroborada pela genotipagem fetal quando as mutações familiares já são conhecidas. O teste diagnóstico pré-natal pode ser conduzido em células fetais viáveis de vilosidade coriônica, células cultivadas do líquido amniótico ou via cordocentese, e se limita às famílias que têm histórico prévio de um filho afetado com MPS VI (CIVALLERO et al, 2006; VALAYANNOPOULOS et al, 2010).

O atendimento de pacientes com MPS VI, assim como das demais MPS, deve ser realizado por equipe multidisciplinar, já que é uma doença multissistêmica. Na área otorrinolaringológica, devem ser realizados de rotina exames de triagem para verificação da acuidade auditiva. A fisioterapia respiratória também é um recurso importante no controle de infecções respiratórias de repetição, por vezes sendo necessária associar a procedimentos cirúrgicos (tonsilectomias, adenoidectomias e traqueostomia). Na área oftalmológica, a tonometria ocular e a medida da acuidade visual também devem ser realizadas de rotina. Cirurgias podem ser necessárias, como para a correção das hérnias, derivação ventriculoperitoneal e valvuloplastias. Sempre deve ser considerado o risco cirúrgico relacionado à anestesia, devido, principalmente, à dificuldade de intubação endotraqueal neste grupo de pacientes (CASANOVA et al, 2001; GIUGLIANI et al, 2007; SHINHAR et al, 2004; VALAYANNOPOULOS et al, 2010; WALKER et al, 2003; WRAITH, 1995).

O transplante de células tronco hematopoiéticas (HSCT) foi utilizado em poucos pacientes com MPS VI nos últimos 24 anos (ALVARO et al, 1998; HERSKHOVITZ et al, 1999; HITE et al, 1997; LANGE et al, 2006; LEE et al, 2000; PETERS e STEWARD, 2003; PRASAD e KURTZBERG, 2010; WANG et al, 2008). Os resultados mostram que os níveis enzimáticos de ARSB e os níveis de uGAG melhoram enquanto as alterações esqueléticas continuam sendo complicadas de corrigir ou estabilizar. As indicações de HSCT esbarram no risco de mortalidade associada ao procedimento, à morbidade da doença crônica enxerto vs hospedeiro e à dificuldade de obter doadores HLA compatíveis ótimos ou adequados (VALAYANNOPOULOS et al, 2010). No Brasil foi encontrada uma taxa de mortalidade de 50% nos pacientes com MPS submetidos ao transplante (LANGE et al, 2006). Entre 1982 e 2007 houve 45 pacientes com MPS VI ao redor do mundo que se submeteram ao transplante, incluindo pacientes dos Estados Unidos, Arábia Saudita, Brasil, Inglaterra, China, Austrália e

Japão, registrados no Centro Internacional de Pesquisa De Transplante de Células Sanguíneas e Medula (*Center for International Blood and Marrow Transplant Research – CIBMTR*) e a taxa de sobrevida de 1 ano destes pacientes foi 67% (95% IC: 53-80) (VALAYANNOPOULOS et al, 2010). Atualmente, a indicação de HSCT é considerada uma opção terapêutica em pacientes com MPS VI apenas quando o paciente não responde ou é intolerante à TRE (HARMATZ, 2008; PRASAD e KURTZBERG, 2010). Recentemente, um paciente com MPS VI de 22 anos de idade, que havia recebido HSCT aos 18 meses de idade e que apresentava pega total após 20 anos do procedimento, e que apesar de não apresentar apneia do sono, cardiomiopatia ou alterações endócrinas evoluiu com deficiência de crescimento linear significativa e opacificação corneana progressiva, recebeu TRE na dose padrão e após uma única infusão endovenosa de galsulfase os níveis de uGAG foram significativamente reduzidos, sugerindo que talvez a TRE possa prover um melhor resultado clínico para os pacientes com MPS VI transplantados (WHITLEY e UTZ, 2010).

Além das tentativas com HSCT, o tratamento da MPS VI envolvia, até então, basicamente medidas de apoio clínico e cirúrgico (GIUGLIANI et al, 2007). A TRE aparece neste contexto como uma forma mais segura de terapia específica para MPS VI. A TRE é realizada através de uma forma recombinante da N-acetilgalactosamina 4-sulfatase humana sintetizada por engenharia genética a partir de células de ovário de hamster chinês pelo laboratório BioMarin Pharmaceutical, Novato, CA (AUCLAIR et al, 2003; FULLER et al, 1998). A medicação denominada quimicamente de galsulfase e comercialmente de naglazyme é administrada por via intravenosa com o objetivo de fornecer ao organismo dos indivíduos com MPS VI uma forma ativa da enzima que a têm em qualidade ou quantidade insuficiente.

Os estudos para desenvolvimento da TRE em MPS VI iniciaram com investigações *in vitro*, mostrando que a enzima ativa podia ser produzida em células de ovário de hamster chinês de forma a sofrer endocitose eficiente por células em cultura (fibroblastos com receptores específicos), resultando na correção do defeito enzimático (FULLER et al, 1998). As pesquisas evoluíram para estudos *in vivo*, em modelos animais naturais (gatos), que mostraram uma melhora importante de alguns sinais relacionados à doença (AUCLAIR et al, 2003; BIELICKI et al, 1999; TUNNER et al, 1999; KAKKIS, 2002). Os resultados destes estudos com TRE em modelo animal mostraram diminuição do depósito de GAG em órgãos e aumento da mobilidade articular em gatos jovens (CRAWLEY et al, 1996, YOGALINGAM

et al, 1999). Em gatos tratados desde o nascimento houve prevenção ou lenta progressão da doença esquelética relacionada à MPS VI (AUCLAIR et al, 2003; YOGALINGAM et al, 1999). O tratamento não foi efetivo com relação ao acúmulo de GAG em queratócitos corneanos e em cartilagens (BIELICHI et al, 1999; YOGALINGAM et al, 1999). Outro estudo com TRE em gatos com MPS VI demonstrou um efeito positivo no desenvolvimento ósseo dos animais jovens tratados precocemente (BYERS et al, 1997; YOGALINGAM et al, 1999). Um problema demonstrado em alguns desses estudos é a resposta imune do organismo à terapia com a enzima, que pode levar a efeitos adversos, como reações de hipersensibilidade, podendo chegar à anafilaxia e à inativação ou degradação enzimática, prejudicando em muito a eficácia da terapia (BROOKS et al, 1997; TURNER et al, 1999). A partir dos estudos realizados em modelos animais foram realizados os estudos em humanos conforme descrito a seguir.

- Estudo de fase I/II: foi realizado utilizando duas doses diferentes de medicação, 1mg/kg e 0,2mg/kg em infusões semanais em seis pacientes com MPS VI por 48 semanas. A partir deste estudo demonstrou-se que a medicação foi bem tolerada (não houve eventos adversos sérios relacionados à medicação) com melhora mais expressiva nos pacientes que receberam a dose mais alta de Galsulfase. O principal parâmetro de melhora foi a redução da excreção de GAG pela urina (KAKKIS et al, 2002; HARMATZ et al, 2004). A excreção dos GAG urinários estaria correlacionada com a morbimortalidade associada a doença entendendo-se uma diminuição desta excreção como uma boa resposta ao tratamento (SWIEDLER et al, 2005).
- Estudo de fase II: foi realizado utilizando a dose estabelecida no estudo anterior de 1mg/kg em 10 pacientes com MPS VI por 48 semanas com infusões semanais intravenosas de Galsulfase. Além de confirmar os resultados do estudo de fase I/II este estudo demonstrou uma melhora na capacidade de subir escadas e melhora no teste da caminhada de 12 minutos além de uma sensação de melhora na rigidez e dor articular (HARMATZ et al, 2005).
- Estudo de fase III: foi realizado utilizando a mesma dose e forma de administração do estudo de fase II com 39 pacientes por 24 semanas ratificando os mesmos resultados do estudo anterior com melhora na resistência geral medida através do teste da caminhada de 12 minutos e de subir escadas, redução da excreção de GAG na urina e boa tolerabilidade (HARMATZ et al, 2006).

Dos 54 pacientes que participaram dos estudos clínicos supra-citados, até o seu término, 53 desenvolveram anticorpos específicos para a Galsulfase sem uma correlação direta com a excreção de GAG na urina ou com a melhora clínica por eles apresentada (GIUGLIANI et al, 2007).

Em maio de 2005, a galsulfase foi aprovada para comercialização e uso nos Estados Unidos com o nome comercial de Naglazyme (FDA), em janeiro de 2006 recebeu a aprovação para uso e comercialização pela Comunidade Europeia (EMEA) e a Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA - aprovou o seu uso no Brasil em 2009 (ANVISA).

1.2.3 Terapia intratecal

A terapia intratecal (IT) emergiu como uma opção terapêutica para o manejo da dor em pacientes que não alcançavam bom resultado através das outras possibilidades de tratamento disponíveis ou naqueles que apesar de apresentar boa resposta no alívio da dor com o uso de analgésicos em alta dose enteral ou parenteral, apresentavam efeitos colaterais inaceitáveis (SMITH et al, 2008). Os registros científicos relatam o início do uso da anestesia geral a Crawford Williamson Long, em 1842, e a criação do método de anestesia regional através do bloqueio subaracnoideo ao Dr. August Karl Gustav Bier, em 1898 na Alemanha (REIS, 2008) e ao Dr. Otojiro Kitagawa em 1901, no Japão (MATSUKI, 1983). Somente em 1976 foi demonstrada analgesia eficaz com opióides intratecais em modelo animal (rato)(YAKSH e RUDY, 1976) e logo depois, em 1979 foi relatado o tratamento intratecal com morfina em uma série de pacientes oncológicos com dor (WANG et al, 1979). No entanto foi no final dos anos 1980, com a disponibilidade de novos aparatos e tecnologias, associadas à maior variedade de agentes analgésicos e coanalgésicos, que as infusões IT realmente expandiram sua atuação na administração medicamentosa por esta via (SMITH et al, 2008).

Anos mais tarde, a necessidade de alcançar o sistema nervoso central para o tratamento específico de doenças que o afetam e para as quais não se obtém alcance através de medicamentos administrados por outras vias, fez com que vários grupos de pesquisadores conduzissem estudos utilizando a administração de fármacos novos por esta via.

Assim, estudos em modelos animais, usando ratos saudáveis e camundongos com lipofucinose ceróide neuronal infantil tardia (LINCL), doença de Krabbe e MPS I demonstraram liberação cerebral apropriada de enzima recombinante após injeções intraventriculares no cérebro (BELICHENKO et al, 2005; CHANG et al, 2008; LEE et al, 2007). Após injeção intraventricular única no ventrículo lateral direito do cérebro de ratos, a enzima recombinante de alfa-iduronidase (rhIDU) parece penetrar através da camada endimária por vários milímetros, difundir-se pelo tecido cerebral e permanecer nos neurônios dentro de estruturas vesiculares que parecem ser lisossomos (BELICHENKO et al, 2005). Estudo em modelo animal de camundongo sintomático com doença de Krabbe observou que uma injeção intraventricular cerebral única de galactocerebrosidase recombinante murina (rmGALC) resultou em distribuição cerebral e cerebelar de GALC e

aumento da sobrevivência dos camundongos tratados (LEE et al, 2007). A injeção da protease lisossômica recombinante humana tripeptidil peptidase 1 (rhTPP1) em camundongos com LINCL utilizando uma cânula intraventricular implantada nos ventrículos laterais do cérebro dos animais e conectada através de um cateter a uma bomba osmótica implantada no subcutâneo do flanco esquerdo dos mesmos, mostrou a liberação da enzima para várias regiões cerebrais, diminuição da neuropatologia e do tremor dos camundongos tratados (CHANG et al, 2008).

A MPS IIIA (síndrome de Sanfilippo) é uma doença neurodegenerativa caracterizada por regressão neurológica e problemas comportamentais, onde a redução de atividade de sulfamidase resulta no acúmulo intracelular de heparan sulfato, sendo o cérebro o sítio primário de doença. O primeiro estudo realizado para estudar o efeito da administração intracerebral de sulfamidase recombinante humana (rhSGSH) no camundongo MPS IIIA mostrou que a enzima injetada diretamente no cérebro dos animais com idades de 6, 12 ou 18 semanas, resulta na diminuição de vacúolos e de gliose cerebral e atrasa o aparecimento de lesões neurodegenerativas ubiquitina positivas nos animais tratados e sacrificados com 24 semanas de vida. No entanto, este estudo mostrou que os esferoides axonais ubiquitina positiva detectáveis a partir de 6 semanas de idade não foram alterados em nenhum camundongo independente da idade ao tratamento, sugerindo a irreversibilidade destas lesões e corroborando a importância do diagnóstico e intervenção precoce da MPS IIIA (SAVAS et al, 2004). A administração de rhSGSH pelo líquido, através de injeções repetidas na cisterna magna cerebromedular do camundongo com MPS IIIA foi realizada, então, para estudar o efeito no sistema nervoso central e na função comportamental destes animais. Neste estudo foi encontrada uma redução dose dependente nos níveis de heparan sulfato no cérebro (até 62% de redução) e na medula espinhal (até 71% de redução), redução da formação de vesículas lisossômicas em vários tipos celulares com número menor de esferoides axonais ubiquitina positiva e melhora no padrão comportamental, especialmente naqueles animais tratados com maior frequência e com doses mais altas (HEMSLEY et al, 2007). No ano seguinte, este mesmo modelo animal de MPS IIIA foi utilizado para determinar a eficácia da administração de rhSGSH no LCR através dos ventrículos laterais, terceiro e quarto ventrículos como local da injeção, e não a cisterna cerebromedular utilizada previamente. Os resultados encontrados mostraram que a administração de rhSGSH é eficaz na redução do depósito lisossômico e na neuropatologia da MPS IIIA alcançando porções mais centrais do cérebro através da injeção nos ventrículos laterais quando comparado com a injeção na

cisterna cerebromedular (HEMSLEY et al, 2008). A seguir, e usando o mesmo modelo murino de MPS IIIA, foi realizado um estudo para avaliar a eficácia da TRE endovenosa associada à TRE através do LCR, de rhSGSH, no comportamento, níveis de depósito de heparan sulfato e outros sinais de neuropatologia destes animais. Este estudo foi realizado usando a TRE endovenosa semanal em animais a partir do nascimento até 6 semanas de idade e da TRE pelo LCR, quinzenalmente, a partir das 6 semanas de vida até 18 semanas. Os animais foram divididos em 5 braços de tratamento, da seguinte forma: (1) camundongos normais recebendo solução salina EV e solução salina no LCR; (2) camundongos MPS IIIA recebendo solução salina EV e solução salina no LCR; (3) camundongos MPS IIIA recebendo solução salina EV e rhSGSH no LCR; (4) camundongos MPS IIIA recebendo rhSGSH EV e solução salina no LCR; e (5) camundongos MPS IIIA recebendo rhSGSH EV e rhSGSH no LCR. Os camundongos que receberam a terapia combinada (grupo 5) apresentaram melhora clínica e redução do depósito de heparan sulfato semelhante àquele apresentado pelos camundongos que receberam TRE apenas através do LCR (grupo 3). Redução na micro e astrogliose e atraso no aparecimento de lesões ubioquitina positivas foi observado nos dois grupos. Um terceiro grupo de camundongos que receberam apenas o tratamento EV (grupo 4) não apresentaram melhora clínica ou neuropatológica. Os autores concluíram que os efeitos da administração de rhSGSH pelo LCR resultam em mudanças neuropatológicas no cérebro de camundongo com MPS IIIA, as quais podem ser prevenidas, retardadas ou revertidas, resultando em melhores parâmetros clínicos (HEMSLEY et al, 2009a). A partir destes resultados em modelo animal murino, este grupo de pesquisadores conduziu um estudo de curta duração, em modelo canino de MPS IIIA, com administração intra cisterna cerebromedular de rhSGSH, para examinar a absorção, o padrão de distribuição e os efeitos metabólicos iniciais deste tratamento, no sistema nervoso central. A rhSGSH foi injetada em três cães adultos com MPS IIIA, ou duas vezes com 4 dias de intervalo, ou uma vez por semana por até 4 semanas. Os cães foram sacrificados 24 h após a última injeção juntamente com três cães não tratados, sendo dois animais com MPS IIIA e um cão normal, que serviram de grupo controle. A administração da enzima nos três cães tratados resultou em distribuição enzimática ampla tanto em camadas superficiais quanto profundas do cérebro e reduziu a quantidade de heparan sulfato. De forma geral, este estudo sugere que a administração enzimática intra cisterna cerebromedular em cães com MPS IIIA leva à oferta de quantidade terapêutica de rhSGSH aos tecidos neuronais destes animais (HEMSELY et al, 2009b).

Ao mesmo tempo que os estudos com modelos animais com MPS IIIA estavam em curso, estudo com modelo animal canino com MPS I eram realizados por outro grupo de pesquisadores (DICKSON et al, 2007; DICKSON et al, 2010; KAKKIS et al, 2004). Estudos em cães com MPS I serviram para testar a habilidade da TRE em tratar o cérebro, a medula e as meninges em MPS I, com administração intratecal (IT) de rhIDU, através da cisterna magna, em doses semanais, mensais ou trimestrais. Isto resultou em uma média de 23 e 300 vezes os níveis normais de iduronidase no cérebro e nas meninges, respectivamente, 48 horas após a administração intraventricular. O tratamento também resultou na normalização dos níveis de GAG no cérebro em todos os cães tratados (n=19) e na melhora da patologia das células neuronais e gliais após 3 ou 4 injeções. Um cão recebeu avaliação neurológica antes e depois do tratamento. A marcha e os reflexos melhoraram após as quatro infusões mensais. Os cães apresentaram meningite moderada após o final do tratamento, porém o tecido cerebral não demonstrou estar envolvido. Os cães apresentam um sistema imune robusto e a enzima é produzida para uso humano, por quem deve ser melhor tolerada, segundo os autores do estudo. Um cão que foi submetido à imunossupressão prévia à TRE intratecal apresentou redução importante do infiltrado. Também, alguns animais apresentaram reações adversas imediatamente após a administração enzimática intratecal. Durante a recuperação anestésica, a maioria dos cães apresentou algum grau de hiperventilação seguida, em alguns casos, por tremor muscular e convulsão. As convulsões foram facilmente manejadas com diazepam endovenoso e ocorreram em até 1 hora após a injeção intratecal. A recuperação parece ser completa sem efeitos adversos demonstráveis (DICKSON et al, 2007; KAKKIS et al, 2004). Posteriormente, foram estudados 20 cães com MPS I, utilizando rhIDUA, que foram divididos em 5 grupos, conforme segue: (1) cães adultos tratados com TRE EV e TRE intraventricular – tratamento combinado adulto; (2) cães adultos tratados apenas com TRE EV – tratamento EV padrão adulto; (3) cães filhotes tratados com TRE EV 0,58mg/kg e TRE intraventricular – tratamento combinado com EV padrão precoce; (4) cães filhotes tratados com TRE EV 0,58 mg/kg – tratamento EV padrão precoce; e (5) cães filhotes tratados com TRE EV 1,57 mg/kg – tratamento EV em dose alta precoce. O estudo foi conduzido com a administração de rhIDUA intraventricular a cada 3 meses e administração EV semanal, em cães adultos com idades entre 12 e 15 meses e em cães filhotes com idades entre 2 e 23 dias, durante aproximadamente 15 meses e o objetivo do estudo era determinar se o tratamento intraventricular a longo prazo poderia estabilizar ou reverter os sinais clínicos da compressão medular em animais tratados na vida adulta, e já com manifestações de doença neurológica,

ou logo após o nascimento e antes do estabelecimento de alterações neurológicas associadas à compressão medular, quando comparados com cães MPS I controle, pareados por idade, e sem tratamento enzimático ou apenas com tratamento enzimático EV. Os resultados encontrados mostraram que o tratamento combinado de TRE EV associado à TRE intraventricular com rhIDUA (grupos 1 e 3) foi mais eficaz do que o uso de TRE EV (grupos 2, 4 e 5) no tratamento do depósito lisossômico nas meninges, e que o tratamento combinado precoce (grupo 3) normalizou os níveis de GAG nas meninges e demonstrou ausência histológica de vacúolos de depósito nos animais estudados. Ainda, todos os cães adultos que receberam TRE EV isolado ou associado à TRE intraventricular apresentavam compressão medular aos 12-15 meses de idade, evidenciado por exame de ressonância magnética (RM) e secundária à protrusão de discos espinhais no canal medular. A compressão medular também foi observada em 3 dos 4 cães filhotes que receberam TRE EV padrão e em 2 dos 3 cães filhotes que receberam TRE EV associada à TRE intraventricular. Nenhum dos 4 cães filhotes tratados com dose alta de TRE EV apresentou compressão medular na idade de 12-18 meses sugerindo que a dose alta de enzima EV possibilitou a prevenção da compressão medular secundária à protrusão dos discos espinhais nestes animais (e não por depósito de GAG nas meninges) apesar dos dados não excluírem a possibilidade de haver um viés relacionado à idade, já que os animais deste grupo foram estudados por RM em idade mais precoce (12 meses versus 12-18 meses) (DICKSON et al, 2010). Apesar de estes estudos terem demonstrado que a TRE intraventricular reduz o acúmulo de GAG no cérebro de cães com MPS I, não se sabe se este efeito melhora o funcionamento do mesmo, incluindo efeitos secundários do acúmulo de GAG na saúde celular. Assim, foi estudada a expressão de genes neuronais como meio de avaliar o seu funcionamento em cães com MPS I tratados com TRE intraventricular. Estes cães receberam 0,05 mg/kg TRE intraventricular, diretamente na cisterna magna, uma vez a cada três meses, começando a partir de 12 a 112 dias de vida e mantendo o tratamento até 56 – 80 semanas de vida, em associação com TRE endovenosa. Neste estudo foram incluídos quatro cães normais (heterozigotos para MPS I) e oito cães com MPS I, dos quais quatro (4/8) receberam a intervenção e os outros quatro (4/8) serviram de controle. Os resultados encontrados mostram que a expressão gênica no córtex cerebral frontal dos cães com MPS I está comprometida e afeta vias cerebrais críticas. Os autores acreditam que a intervenção precoce com TRE intraventricular associada a TRE EV pode melhorar a expressão gênica dos neurônios corticais em cães com MPS I, mas ressaltam que o estudo tem fatores limitadores como o “n” pequeno, o alto número de transcritos caninos com

função ainda não esclarecida e a heterogeneidade na idade e sexo do modelo canino (DICKSON et al, 2010).

A partir dos resultados dos estudos comentados acima e sabendo que todos os gatos com MPS VI tratados até o momento com N-acetilgalactosamina-4-sulfatase recombinante humana (rh ASB) endovenosa a partir dos 3 meses de idade desenvolvem anticorpos anti-rhASB circulantes, foi realizado um novo estudo. Utilizando o modelo animal felino de MPS VI, gatos com MPS VI (n=5) e gatos normais (n=2) foram submetidos a um regime de tolerização com ciclosporina e azatioprina, a partir dos 4 meses de idade, recebendo rhASB endovenoso em baixas doses (0,1 mg/kg), por um período de 22 dias. Após um período de 4 semanas de descanso receberam a dose habitual (1,0 mg/kg) de rhASB até a idade de 11 ou 17 meses. Outros 4 gatos normais receberam apenas as doses semanais de rhASB endovenoso. Dos 5 animais com MPS VI, 2 receberam adicionalmente 4 injeções semanais intraventricular de rhASB e estes exibiram menor quantidade de oligossacarídeos no líquido e menor vacuolização na duramáter. Os resultados encontrados neste estudo indicam que um índice relativamente alto de tolerização para rhASB pode ser alcançado nos gatos com MPS VI através de um regime de tolerização curto o que, por sua vez, poderia permitir a remoção de depósito lisossômico da duramáter com o uso intraventricular de rhASB (AUCLAIR et al, 2010).

Além destes, outros estudos preliminares utilizando a administração enzimática têm sido realizados utilizando modelos animais de DDL, como gatos com MPS I (HASKINS et al, 2007) e cães com fucosidose (BIELICKI et al, 2000). Este nível de interesse investigativo reflete o potencial da abordagem intratecal como opção terapêutica viável para o tratamento de DDL com envolvimento do sistema nervoso central (HEMSLEY et al, 2009a).

2. MÉTODOS

Trata-se de um estudo de três casos histórico, que tem por objetivo avaliar a segurança e a eficácia da laronidase intratecal para o tratamento de compressão medular em pacientes com MPS I e de galsulfase intratecal no tratamento de compressão medular em pacientes com MPS VI. A habilidade terapêutica da enzima intratecal com relação à compressão medular, foi avaliada através da revisão dos prontuários médicos dos pacientes, de exames clínicos minuciosos, exames de neuroimagem e outros estudos. Este estudo foi desenvolvido no Hospital de Clinicas de Porto Alegre.

2.1 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO:

Foram elegíveis para o estudo pacientes com MPS I e MPS VI que apresentaram compressão medular e que receberam laronidase intratecal para o tratamento de compressão medular em pacientes com MPS I e galsulfase intratecal no tratamento de compressão medular em pacientes com MPS VI.

Os critérios de inclusão foram:

- 1) Ter recebido laronidase intratecal para o tratamento de compressão medular em pacientes com MPS I e galsulfase intratecal no tratamento de compressão medular em pacientes com MPS VI.

Estes pacientes deveriam ter:

- a) Diagnóstico de MPS I, documentado através de baixa atividade enzimática de α -L-iduronidase no plasma/leucócitos ou fibroblastos e diagnóstico molecular de MPS I (duas mutações patogênicas no gene da α -L-iduronidase) ou níveis elevados de dermatan e heparan sulfato na urina; OU
- b) Diagnóstico de MPS VI, documentado através de baixa atividade enzimática de arilsulfatase B em leucócitos ou fibroblastos e atividade enzimática normal de outra sulfatase e diagnóstico molecular de MPS VI (duas mutações

patogênicas no gene da arilsulfatase B) ou níveis elevados de dermatan sulfato na urina;

- c) E pelo menos dois dos seguintes critérios:
- i. Compressão medular espinhal sintomática;
 - ii. Evidência de compressão medular no SSEP;
 - iii. Evidência de compressão medular em exames de neuroimagem.

2.2 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO:

Por se tratar de uma série de casos retrospectivos de uma doença rara, foram incluídos todos os pacientes que preencheram os critérios de inclusão. Não houve critérios de exclusão relacionados ao estudo.

2.3 ANÁLISE DOS DADOS

Neste estudo o paciente foi seu próprio controle para análise dos dados. As medidas objetivas foram utilizadas, quando aplicáveis, para fins de comparação entre os resultados de avaliação basal e avaliações posteriores. Os resultados obtidos na avaliação basal a respeito de informações clínicas, bioquímicas, exames de imagem, teste de caminhada, testes de função pulmonar foram comparados com os das avaliações posteriores. Todos os eventos adversos relatados pelos pacientes ao médico assistente e registrados no seu prontuário foram reportados.

2.4 TERMO DE COMPROMISSO:

Para este estudo os autores assinaram um Termo de Compromisso para Uso de Dados, sendo mantido o anonimato dos pacientes participantes na divulgação dos resultados (ANEXO 9).

2.5 LOGÍSTICA:

Os prontuários dos pacientes potencialmente elegíveis foram selecionados a partir do ambulatório de Mucopolissacaridoses do Hospital de Clínicas de Porto Alegre. A revisão dos prontuários e de todas as informações médicas disponíveis foi realizada pela Dra. Maria Verónica Muñoz Rojas.

3. RESULTADOS

Em 2005, um paciente adulto, brasileiro, com MPS I – Scheie, que nunca havia recebido TRE endovenosa com laronidase, apresentando compressão medular sintomática e que se recusou a realizar intervenção cirúrgica para descompressão por questões religiosas, foi incluído em um protocolo de TRE intratecal, uso compassivo, no Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), e se tornou o primeiro paciente com MPS no mundo a receber tal tratamento. Este paciente, cuja confissão religiosa era Testenhuma de Jeová, teve indicação de laminectomia devido à compressão medular já avançada, com consequente comprometimento de seus movimentos. Contudo, devido à sua crença, o paciente somente aceitava submeter-se à cirurgia de laminectomia caso lhe fosse assegurado que não seria utilizado sangue em nenhuma hipótese (ANEXO 2). Por outro lado, a equipe cirúrgica também impôs sua exigência de que somente realizaria a cirurgia caso o paciente concordasse com o uso de sangue, se necessário (ANEXOS 3 e 4). Este impasse levou à busca de alternativas pela equipe assistencial para atender da melhor forma possível ao paciente, sendo respeitada sua crença. A alternativa encontrada foi a administração IT de laronidase como uso compassivo, que se caracteriza como uma última ou única alternativa de tratamento para a condição de um determinado paciente, uma vez que os tratamentos consagrados não tenham sido eficazes (GOLDIM, 2008). Este protocolo foi conduzido pelo Serviço de Genética Médica do HCPA e foi aprovado pelo Comitê de Ética local (04-403) (ANEXOS 5-7). Em 2006, uma menina de 9 anos de idade, brasileira e com MPS I – Hurler-Scheie, que já estava em TRE endovenoso havia cerca de 18 meses, apresentou compressão cervical medular sintomática com indicação cirúrgica de laminectomia, porém sem condições clínicas de ser submetida a tal procedimento em decorrência de riscos inaceitáveis à vida da paciente. Esta paciente também recebeu TRE intratecal, por uso compassivo aprovado pelo Comitê de Ética local (06-586), no HCPA, e se tornou a primeira criança com MPS no mundo a receber este tratamento. Em 2007, um menino de 7 anos de idade, brasileiro e com MPS VI e com compressão medular cervical sintomática, que nunca havia recebido TRE endovenosa, se tornou o primeiro paciente com MPS VI no mundo a receber TRE intratecal com galsulfase, através de uso compassivo aprovado pelo Comitê de Ética local (06-529), no HCPA.

No caso destes pacientes, as enzimas recombinantes foram diluídas em solução de Elliotts

B[®], um tampão também utilizado como diluente de quimioterápicos de uso intratecal, e que eleva o pH da solução enzimática prevenindo os efeitos colaterais da solução enzimática ácida. Para avaliação e acompanhamento destes pacientes foram utilizados exames de imagem, teste de caminhada (6MWT e 12MWT), provas de função pulmonar, assim como avaliações clínicas e bioquímicas. Após uma série de injeções intratecais, administradas por punção lombar, os pacientes com MPS I apresentaram melhora significativa nos sinais e sintomas da compressão medular e nos exames complementares, sem haver reação à infusão ou eventos adversos maiores. No caso do paciente com MPS VI a resposta às injeções intratecais mostrou resultados paradoxais de melhora em alguns parâmetros e piora em outros, principalmente após a associação da terapia IT com TRE endovenosa, o que levou à complementação terapêutica com intervenção cirúrgica e fixação da coluna cervical. Os dados relacionados à descrição dos casos clínicos, avaliações realizadas em cada um destes pacientes, detalhamento do procedimento de intervenção com terapia intratecal com enzima específica para cada caso, os resultados encontrados e a discussão dos resultados obtidos, estão apresentados em forma de três artigos, conforme segue. Destes artigos, dois já foram publicados (artigo 1 e 2) e o terceiro artigo foi submetido (ANEXO 8) e está em fase de avaliação (artigo 3).

3.1 ARTIGO 1: PACIENTE ADULTO COM MPS I

© 2008 Wiley-Liss, Inc.

American Journal of Medical Genetics Part A 146A:2538–2544 (2008)

Clinical Report

Intrathecal Enzyme Replacement Therapy in a Patient With Mucopolysaccharidosis Type I and Symptomatic Spinal Cord Compression

Maria-Veronica Munoz-Rojas,^{1*} Taiane Vieira,¹ Ronaldo Costa,² Simone Fagundes,² Angela John,² Laura Bannach Jardim,¹ Leonardo M. Vedolin,³ Marcia Raymundo,⁴ Patricia I. Dickson,⁵ Emil Kakkis,⁶ and Roberto Giugliani¹

¹Hospital de Clinicas de Porto Alegre, Medical Genetics Service, Porto Alegre, Brazil

²Hospital de Clinicas de Porto Alegre, Pulmonary Diseases Service, Porto Alegre, Brazil

³Hospital Mae de Deus, Neuroradiology Department, Porto Alegre, Brazil

⁴Hospital de Clinicas de Porto Alegre, Research and Postgraduate Group, Porto Alegre, Brazil

⁵UCLA Medical Center, Division of Medical Genetics, Los Angeles, California

⁶BioMarin Pharmaceuticals Inc., Novato, California

Received 6 April 2007; Accepted 30 January 2008

In mucopolysaccharidosis I, deficiency of α -L-iduronidase can cause spinal cord compression (SCC) due to storage of glycosaminoglycans (GAGs) within the cervical meninges. As intravenous enzyme replacement therapy (ERT) is not likely to provide enzyme across the blood–brain barrier, standard treatment for this complication is usually surgical, which has a high morbidity and mortality risk. We report on the use of intrathecal (IT) laronidase in a MPS I patient with SCC who refused the surgical treatment. Assessments were performed at baseline, with clinical and biochemical evaluations, 4-extremity somatosensory evoked potentials, 12 min walk test and MRI studies of the CNS. Changes on these parameters were evaluated after 4 IT infusions of laronidase administered monthly via lumbar puncture. To our knowledge, this was the first MPS patient who received IT ERT. No major adverse events were observed. There were no clinically significant changes in serum chemistries. CSF GAG results revealed pretreatment values slightly above

normal standards: 13.3 mg/L (NV < 12 mg/L) which after IT laronidase infusions were within normal levels (10.3 mg/L). 12MWT presented a 14% improvement, with better performance on stability and gait control. Maximum voluntary ventilation showed 55.6% improvement considering the percentage of predicted (26.7% at baseline compared to 41.9%); Maximum Inspiration Pressure improved 36.6% of predicted (26.8% at baseline to 36.7%); Pulmonary diffusion improved 17.6% of predicted %. In conclusion, although the improvement observed in this case with IT laronidase should be confirmed in further patients, this procedure seems to be a safe treatment for SCC in MPS I. © 2008 Wiley-Liss, Inc.

Key words: intrathecal treatment; lysosomal storage diseases; mucopolysaccharidosis; mucopolysaccharidosis I; Scheie syndrome; α -L-iduronidase; enzyme replacement therapy; spinal cord compression

How to cite this article: Munoz-Rojas M-V, Vieira T, Costa R, Fagundes S, John A, Jardim LB, Vedolin LM, Raymundo M, Dickson PI, Kakkis E, Giugliani R. 2008. Intrathecal enzyme replacement therapy in a patient with mucopolysaccharidosis type I and symptomatic spinal cord compression. *Am J Med Genet Part A* 146A:2538–2544.

INTRODUCTION

The mucopolysaccharidoses (MPS) are a group of inherited metabolic diseases resulting from the deficiency of lysosomal enzymes involved in the breakdown of mucopolysaccharides, also known as glycosaminoglycans (GAG). In MPS I, the deficiency of alpha-L-iduronidase (IDUA) leads to the accumulation of dermatan sulfate and heparin sulfate throughout the body. Through mechanisms that are

incompletely understood, progressive storage of this material causes many ailments, including coarse

*Correspondence to: Maria-Veronica Munoz-Rojas, Medical Genetics Service, Hospital de Clinicas de Porto Alegre, Rua Ramiro Barcelos 2350, 90036-903 Porto Alegre, RS, Brazil.

E-mail: veronicamunozrojas@msn.com

Published online 15 September 2008 in Wiley InterScience (www.interscience.wiley.com)

DOI 10.1002/ajmg.a.32294

facial features with an enlarged tongue, difficulty breathing, dysostosis multiplex, joint problems, corneal clouding, hepatosplenomegaly, and neurologic dysfunction, including mental retardation in the severe form (Hurler syndrome). In the less severe forms of the disease (Hurler–Scheie and Scheie syndromes), intellectual function is near-normal to normal, but substantial neurologic morbidity can be caused by spinal cord compression from meningeal GAG storage. In all forms of MPS I, meningeal storage can also obstruct cerebrospinal fluid (CSF) reabsorption leading to high-pressure, communicating hydrocephalus and rapidly progressive developmental decline or debilitating headaches [Neufeld and Muenzer, 2001]. Specific treatment for MPS I is provided by intravenous enzyme replacement therapy (ERT) with laronidase, a genetically engineered analogue of IDUA produced in a immortalized cell line. However, the enzyme (at least in standard doses) does not cross the blood–brain barrier in significant quantity and therefore does not treat the CNS complications of the disease [Wraith et al., 2004; Wraith, 2005; Sifuentes et al., 2006]. Treatment of these problems often requires implantation of ventricular-peritoneal shunts to relieve CSF pressure or decompression of the cord using a cervical laminectomy with removal of thickened meninges.

In 2004, Kakkis et al., used an intrathecal ERT approach to treat CNS manifestations of a canine model of MPS I, achieving very high enzyme levels and noticeable reduction of GAG storage in the spinal meninges after four weekly doses of approximately 1 mg IT laronidase and no IV treatment [Kakkis et al., 2004]. Recently, Dickson et al. [2007] showed that IT laronidase can not only diffuse widely throughout the CNS and treat disease there, but also that it can work effectively with a clinically feasible injection frequency and dose, on the same canine animal model for MPS I. We report on the use of intrathecal ERT in an adult patient with MPS I and symptomatic spinal cord compression.

CLINICAL REPORT

Patient

The patient is an adult male, 8th offspring of 12 children (5 females and 7 males) born from a nonconsanguineous, young and healthy couple. One sister and one brother were also affected and already deceased. The patient was born through a normal delivery. At age 23 he was diagnosed as having MPS I—Scheie syndrome. His IDUA activity was 0.3 nm/ml/h in plasma (normal: >6.0), and 0.034 nmol/hr/mg protein in leukocytes (normal: 32–52). The molecular analysis of his *IDUA* gene showed he was a compound heterozygote, with a Q380R/R628P genotype. He had received a corneal transplant for corneal clouding. He had hypoacusia with chronic otitis media, hepatosplenomegaly with umbilical and

inguinal hernia, severe restrictive respiratory disease and severe obstructive sleep apnea treated with continuous positive airway pressure (CPAP). His standing height is ~155 cm, weight ~50 kg, and blood pressure is 110/60 mmHg. He had a cardiac murmur due to mild aortic and mitral insufficiency (known since the age of 38 years). His pulmonary artery systolic pressure was 55 mmHg. He had multiple joint contractures with carpal tunnel syndrome and dysostosis multiplex. Neurologic examination at age 38 years identified gait ataxia, with signs and symptoms of cord compression in the upper and lower limbs including numbness, tingling and pain. Unstable and progressive cord compression was confirmed on magnetic resonance imaging (MRI). After clinical, neurosurgical and radiologic evaluation he was counseled to undertake a standard, well-accepted neurosurgical procedure to remove the thickened meninges (laminectomy). He refused this approach as he was a Jehovah's Witness and the possibility of a blood transfusion associated to the surgical intervention could not be excluded. Since the patient presented with significant neurologic morbidity caused by spinal cord compression resulting from GAG storage and refused the standard surgical treatment, intrathecal enzyme replacement therapy (IT ERT) with recombinant laronidase was considered as an alternative therapy.

METHODS

After baseline evaluations, the patient received 4 intrathecal injections of 3 ml of α -L-iduronidase (approximately 1.74 mg of enzyme) at 1-month interval. This dose is equivalent to the lower dose used in the canine model [Kakkis et al., 2004]. The patient was assessed at baseline, immediately before each of the three subsequent IT injections, and after the fourth injection. Following strict IRB guidance, this patient was evaluated by several physicians to determine that he could safely undergo the study procedures, and a detailed informed consent form was signed prior to enrollment. Counseling regarding treatment options including surgical intervention and no medical intervention, was provided. The risks of the procedure were explained, including a risk of hyperventilation, seizure, meningitis, allergic reaction, infection, other unforeseen complications, and the possibility of death. The patient was free to withdraw from the study at any time. Baseline and outcome assessments were designed to determine both safety and efficacy of the procedure. The assessments that were performed at baseline and repeated before each of the following infusions, and also after the 4th infusion included the following:

- (a) Vital signs.
- (b) Subjective assessment at each visit, whereby the patient was asked to identify any symptoms as to their location, duration, frequency and severity;

- the use of medications was also recorded, including analgesics.
- (c) Twelve Minute Walk test: was performed as a modification of the 6 minute walk test according to American Thoracic Society guidelines [ATS statement, 2002]. The distance walked by the patient along a 30 m course in a long, flat, indoor hallway in 12 minute time was recorded.
 - (d) Twelve Minute Walk test: was performed as a modification of the 6 minute walk test according to American Thoracic Society guidelines [ATS statement, 2002]. The distance walked by the patient along a 30 m course in a long, flat, indoor hallway in 12 minute time was recorded.
 - (e) Serum biochemistry and hematologic studies included alkaline phosphatase, bilirubin, aspartate aminotransferase, alanine aminotransferase, protein, creatinine, urea, sodium, potassium, phosphorus, chloride, magnesium, calcium and glucose.
 - (f) Cerebrospinal fluid (CSF) was collected at every IT injection. Approximately 9 ml of CSF were withdrawn and evaluated for protein, glucose, cell counts and GAG levels. Sulfated glycosaminoglycans were assayed at a reference laboratory (Children's Hospital and Regional Medical Center, Seattle, WA, USA), using a dimethylene blue assay as previously published [Whitley et al., 1989].

The following evaluations were done at baseline and repeated in the 4th month of follow-up:

- (a) Somatosensory evoked potentials (SSEP) of the median nerve were conducted as described by Boor et al. [2000]. The patient was studied awake. The SSEP components for the median nerve enabled differentiation between nerve entrapment, and spinal cord compression. Latencies were recorded in milliseconds, or scored as absent. The patient was compared to the laboratory's age-matched normative data to determine whether the latencies qualify as normal, delayed, or absent.
- (b) Pulmonary Function Tests were performed by Jaeger Masterscreen Body[®] [Erich Jaeger GmbH, Hoechberg, Germany], with the patient in a standing position, according to the American Thoracic Society Standardization of Spirometry 1991 and 1995. Expiratory flows before and after bronchodilator were obtained with forced expiratory spirometry. Lung volumes were measured using a plethysmographic technique. Diffusing capacity was estimated by the single breath analysis with carbon monoxide. All values were expressed as absolute values and percent predicted, which was calculated according to age, sex, race and height.

Magnetic resonance imaging (MRI) studies were performed at baseline and repeated after the 2nd

and 4th injections. The patient underwent a baseline MRI of the brain and spine performed with a 1.5T clinical MRI scanner. It was performed with standard protocols in the sagittal, transverse and coronal planes, with roughly a 5 mm slice thickness. T1-weighted, T2-weighted and FLAIR images were obtained. The degree of cord compression as a percentage of the spinal canal diameter was assessed and recorded as the length of the compression and spinal segments involved. Brain abnormalities were graded in similar fashion as described by Seto et al. [2001].

Procedure

The patient was taken to a surgery unit and was placed on a cardiorespiratory monitor and continuous pulse oximetry. A peripheral intravenous catheter was placed in a superficial arm vein for administration of medication. The patient was premedicated with hydrocortisone, tenoxican and promethazine (~30 min prior to IT injection). A local anesthetic (lidocaine) was administered into the L4–L5 interspace. Roughly 9–10 ml of CSF was collected for laboratory evaluations through a lumbar puncture and a dose of 3 ml (~1.74 mg) of recombinant α -L-iduronidase plus 6 cm³ Elliotts B[®] artificial CSF solution (for a total volume of 9 ml) was administered (immediately following mixing) slowly over ~2 min via lumbar puncture into the L4–L5 interspace. The patient was monitored during enzyme administration for any adverse clinical reactions. After enzyme administration, the patient remained supine for a period of 1 hr with monitoring. He was observed overnight following the first IT infusion to monitor for possible adverse events or unexpected reactions.

After IT infusions 2–4 he was observed for a few hours after treatment. Recovery was uneventful for all infusions.

RESULTS

Safety Evaluations

A progressive increase in baseline heart rate during the 12MWT was noticed throughout the study. During the 4th IT laronidase dose, lumbar puncture was particularly difficult and minor bleeding was observed. No other adverse events were observed or reported during or following IT ERT with laronidase. CSF opening pressure was normal on all occasions; the highest value was at baseline (130 mmH₂O) and it decreased to 90 mm by the third LP (lowest) (Table I). No clinically significant changes were noticed on serum chemistries or CSF protein, glucose, or cell count (Table I). Blood levels of bilirubin, which were increased at baseline, normalized at the end of observation period.

TABLE I. Lumbar Puncture: Opening Pressure, and GAGs Concentration of CSF During IT ERT

	Opening pressure (NV: 130–195 mmH ₂ O)	GAG concentration (NV: <12 mg/L)
IT1	130	13.3
IT2	125	12.8
IT3	90	Insufficient sample
IT4	110	10.3

Clinical Results

At baseline, this patient reported significant gait disturbances, lower limb and lumbar pain, for which he used 900 mg of sodium dipirone daily, and numbness and tingling of all four extremities. He reported frequent falls requiring permanent assistance with walking. He reported difficulty rising from a seated position and with activities of daily living. After four IT laronidase treatments, he reported improvement in cord compression symptoms, including decreased numbness and tingling, increased stability when rising from a chair and when walking, and decreased need for pain medication (300 mg of sodium dipirone). Before IT ERT, neurological exam showed a mild paraparesis, of lower limbs. Muscle strength of hip flexion and knee extension were graded as 4; at Mingazzini tests, both lower limbs fell down 60° in 60 sec with a fall to 10 cm above the bed in 60 sec. Diffuse spasticity was seen, with bilateral ankle and right wrist clonus and absence of the cutaneo-plantar response. There was a total loss of vibration sense in both legs, with reduction in touch, pain and temperature sensations in the feet.

Following treatment with IT laronidase, his consistent right ankle clonus disappeared after the last IT infusion. Temperature sensation showed improve-

ment following the 3rd and 4th IT infusions. The remainder of the neurologic examination was unchanged. Kurtzke FSS and EDSS did not vary during the study period (Table II). His 12 MWT showed modest improvement from 509 m at baseline to 580 m after four IT infusions, and 14% improvement at 6 months from baseline. He also showed better performance on stability and gait control (Table III).

Other Results

The CSF GAG level before treatment was 13.3 mg/L, which is above the upper limit of normal (<12 mg/L) [Dickson P, personal information on local lab reference values]. The CSF sample retrieved immediately before the 4th IT laronidase infusion showed a normal GAG level at 10.3 mg/L.

Pulmonary function tests were performed at baseline and at the end of observation period (Table IV).

Among all parameters under analysis, three showed important improvements; Maximum Voluntary Ventilation (VVM) increased 55.6% of predicted (26.7% at baseline compared to 41.9%), Maximum Inspiration Pressure (MIP) improved 36.6% of predicted (26.8% at baseline to 36.7%), and pulmonary diffusion improved 17.6% of predicted % (TLCOcSB). SSEP studies demonstrated similar results when comparing baseline and post-IT ERT treatment evaluations.

Baseline MRI studies of the CNS showed severe lesions diffusely involving the white matter and multiple dilated perivascular spaces in the basal ganglia bilaterally (Fig. 1a). Hydrocephalus and brain atrophy were absent. Spinal MRI showed severe canal stenosis and cord compression (Fig. 1b). Follow-up studies performed during the

TABLE II. MPS I Patient Neurological Examination, and Kurtzke FSS and EDSS*, Before and After 4 IT ERT

Finding	Baseline	1st month and 2nd month	3rd month	4th month
Motor strength	Extended upper limbs: fall of 30° in 60 sec. Muscle strength graded 5 Mingazzini test: fall of 60° in 60 sec. Muscle strength graded 4	=	=	=
Tonus and reflexes	Spasticity, hyperactive reflexes, bilateral ankle clonus	=	=	Right ankle clonus has disappeared
Sensitive tests	Total vibratory sensation loss in lower limbs; and reduction in tactile sense: unable to discriminate thermal stimuli in right limbs	=	Improvement of thermal sensation (able to discriminate 90% of thermal stimuli in all limbs)	Improvement continues
FSS for pyramidal functions	3	3	3	3
FSS for cerebellar functions	0	0	0	0
FSS for sensory function	3	3	3	3
FSS for bowel and bladder function	1	1	1	1
EDSS	3.5	3.5	3.5	3.5

*Kurtzke Functional System Scores (FSS) were performed throughout. Only system scores of interest were presented (the others have scored zero); (=) unchanged.

TABLE III. Twelve Minute Walk Test Before and After 4 Monthly Intrathecal Laronidase Injections in a MPS I Patient Presenting Cord Compression

	Walking distance (m) 12 min	Heart rate: before/after test
Baseline (BL)	509	97/118
After IT 1	540	96/104
After IT 2	546	108/125
After IT 3	544	139/124
After IT 4	547	148/130
6 months after BL	580	140/135

2nd and 4th months showed no progression in white matter lesions or spinal stenosis.

DISCUSSION

Although preliminary, this pioneer intrathecal ERT treatment yielded promising results, as there were no significant adverse events, and some clinical and functional improvements were documented. Adverse events included a minor bleeding in the last lumbar puncture and an increase in baseline heart rate during 12MWT. There was no concomitant sign or symptom of cranial hypotension. All the other parameters—clinical, biochemical and imaging studies—were stable, indicating safe follow-up. Some results suggested that IT ERT was associated with both subjective and objective improvements. The patient had improvement in his gait and ability to rise when seated. Improvement in the 12MWT was notable for increased distance walked from 509 to 580 m (a 14% improvement), which was also noted at the 6 minute mark (251 m compared to 289 m). The increased baseline heart rate was not associated with abnormal arterial blood pressure changes measured before and after each IT infusion. Transthoracic Doppler echocardiogram and ECG did not show abnormalities other than mitral valve insufficiency. No oxygen desaturation was recorded. Motivational drive should be taken into account since patient was

very committed and excited with treatment results (Fig. 2).

Gait improved during treatment, and was steadier and less ataxic. Additionally, a reduction in joint and/or neuropathic pain was reported, along with a reduced need for pain medication. There were improvements in pulmonary diffusion tests and disappearance of right ankle clonus, a well-known sign of pyramidal dysfunction. Its disappearance (after being registered 4 times) can be interpreted as reduced spinal cord compression, due perhaps to less thickened and/or more flexible meninges. Less easily understandable are the lung diffusion results in the present case. They usually reflect either a direct effect on gas exchange in the alveoli or an increase in alveolar volume, which may be related to improvement in pulmonary mechanics. It is unlikely that intrathecal laronidase had reached the alveoli. The more likely interpretation is that improvement in lung diffusion was the result of an increase in the motor strength of respiratory muscles. However, the physiopathology of these findings remains to be understood.

Regarding serum chemistry values, the patient had a bilirubin level which was above normal at baseline. After the fourth IT ERT dose, this value normalized. This finding might have been due to a prior episode of chemical hepatitis secondary to pain medication, which was eventually resolved with the reduced intake. Alternatively, a possible small systemic circulation of the enzyme, injected through the lumbar puncture, and acting on liver tissue, should be considered. If this systemic circulation occurred it could be the result of a minimal blood–brain barrier crossing, or even entering through the needle tract. These are remote possibilities that can not be established, as pharmacokinetic studies during IT procedures were not performed.

The enzyme dose and the infusion intervals used for this pioneer laronidase IT ERT treatment were ~1.74 mg of enzyme (~3 ml of laronidase)

TABLE IV. Pulmonary Function Tests Before and After 4 Monthly Intrathecal Laronidase Injections in a MPS I Patient Presenting Cord Compression

Variable	Baseline results (% predicted)	Post-treatment result (% predicted)	% Change
FVC (l)	1.62 (43.6)	1.82 (49.1)	+0.2 (12.3)
FEV1 (l)	1.47 (45.6)	1.55 (48.4)	+0.08 (5.4)
FEV1/FVC (%)	90.61 (106.8)	85.18 (100.6)	-5.43 (6)
TLC (l)	3.36 (67.9)	3.18 (64.2)	-0.18 (5.4)
RV (l)	1.72 (137.1)	1.41 (110.5)	-0.31 (18)
ITGV (l)	2.62 (115)	2.35 (103.1)	-0.27 (10.3)
IC (l)	0.75	0.83	+0.08 (10.7)
TLCOc SB (ml/min/mmHg)	9.01 (31.7)	12.15 (43)	+3.14 (34.9)
MVV (L/min)	36.2 (26.7)	56.36 (41.9)	+20.16 (55.7)
MIP (kPa)	2.95 (26.8)	4.03 (36.7)	+1.08 (36.6)
MEP (kPa)	5.93 (42)	6.04 (42.9)	+0.11 (1.9)

FVC, forced vital capacity; FEV1, forced expiratory volume after 1 sec; TLC, total lung capacity; RV, residual volume; ITGV, intrathoracic gas volume; IC, inspiratory capacity; TLCOc SB, single breath carbon monoxide transfer factor; MVV, maximum voluntary ventilation; MPI, maximum inspiratory pressure; MEP, maximum expiratory pressure.

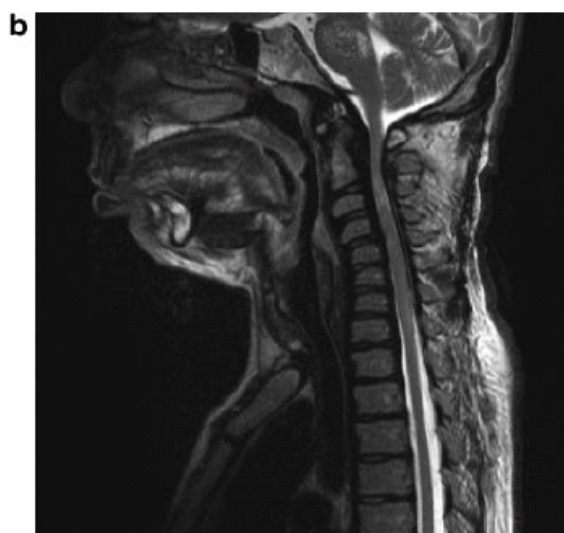
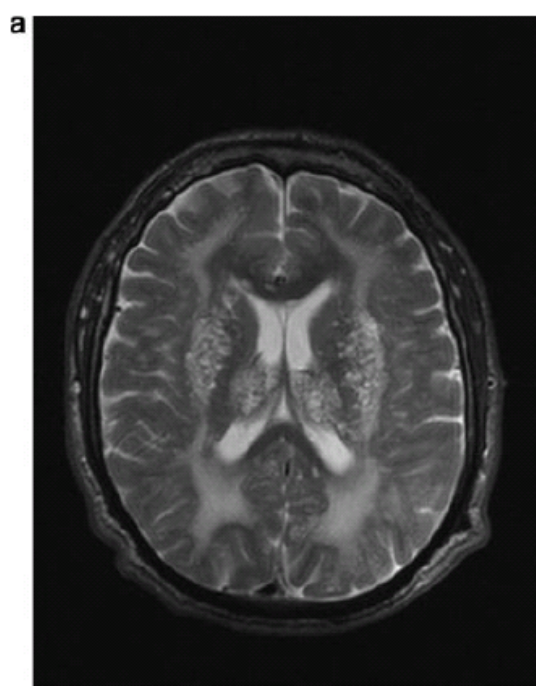


FIG. 1. **a:** Axial T2-weighted image shows diffuse WM lesions and multiple dilated perivascular spaces in the basal ganglia. **b:** Sagittal T2-weighted image shows severe spinal diffusely involving the cervical segment, odontoid dysplasia, dural thickening and cord compression.

at monthly intervals. Using this approach, this patient achieved a CSF GAG reduction of 22.5% and his CSF GAG levels normalized. CSF opening pressure was normal on all occasions, but it is noteworthy that the highest level was recorded at the first IT treatment, with values of 130 mmH₂O (~9.5 mmHg), and subsequently decreased, reaching the lowest pressure at the third IT treatment (90 mmH₂O or

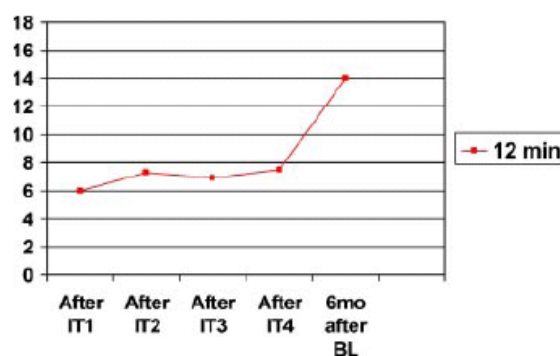


FIG. 2. Percent of change on 12MWT performance, compared to baseline.

~6.6 mmHg) (Table I). This decrease could mean that as the GAG storage on meninges was reduced, the CSF circulating area was increasing slightly allowing for lower pressure values. CSF glucose and protein values, as well as cell count, did not show significant changes. The high cell count on the fourth IT treatment was attributed to a difficult lumbar puncture accompanied by minor bleeding. The first dogs treated with IT ERT had developed an asymptomatic, moderate meningitis found on necropsy that was associated with a lymphocytic and plasmocytic infiltrate confined to the meninges, elevated CSF leukocyte counts, and elevated IDUA antibody levels. Two of these dogs suffered seizures, which responded to dialyzing the formulation buffer [Kakkis et al., 2004]. Using less frequent and/or low dose IT laronidase reduced or prevented the meningitis in dogs, and diluting laronidase 1/3 by volume in Elliotts B artificial CSF solution, prevented seizures, hyperventilation, or twitching that had occurred when using undiluted rhIDU solution [Dickson et al., 2007]. There was no evidence of meningitis, seizures, hyperventilation, twitching or any other adverse event in the present patient, who received diluted enzyme on a monthly basis.

In conclusion, although there are likely residual risks for complications in the absence of surgery, intrathecal laronidase injections through lumbar puncture is an emerging new therapy which appeared to be effective in this adult patient with attenuated MPS I in alleviating some signs and symptoms of spinal cord compression.

REFERENCES

- American Thoracic Society. 1995. Standardization of Spirometry—1994 Update. *Am J Respir Crit Care Med* 152:1107–1136.
- American Thoracic Society. 2002. ATS Statement: Guidelines for the six-minute walk test. *Am J Respir Crit Care Med* 166:111–117.
- Boor R, Miebach E, Bruhl K, Beck M. 2000. Abnormal somatosensory evoked potentials indicate compressive cervical myelopathy in mucopolysaccharidoses. *Neuropediatrics* 31: 122–127.

- Dickson P, McEntee M, Vogler C, Le S, Levy B, Peinovich M, Hanson S, Passage M, Kakkis E. 2007. Intrathecal enzyme replacement therapy: Successful treatment of brain disease via the cerebrospinal fluid. *Mol Genet Metabol* 91: 61–68.
- Kakkis E, McEntee M, Vogler C, Le S, Levy B, Belichenko P, Mobley W, Dickson P, Hanson S, Passage M. 2004. Intrathecal enzyme replacement therapy reduces lysosomal storage in the brain and meninges of the canine model of MPS I. *Mol Genet Metabol* 83:163–174.
- Neufeld EF, Muenzer J. 2001. The mucopolysaccharidoses. In: Schriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, editors. *The metabolic and molecular bases of inherited disease*. New York: McGraw-Hill. p 342152.
- Seto T, Kono K, Morimoto K, Inoue Y, Shintaku H, Hattori H, Matsuoka O, Yamano T, Tanaka A. 2001. Brain magnetic resonance imaging in 23 patients with mucopolysaccharidoses and the effect of bone marrow transplantation. *Ann Neurol* 50:79–92.
- Sifuentes M, Doroshov R, Hoft R, Mason G, Walot I, Diamant M, Okasaki S, Huff K, Cox GF, Swidler SJ, Kakkis ED. 2006. A follow-up study of MPS I patients treated with laronidase enzyme replacement therapy for 6 years. *Mol Genet Metabol* 90:171–180.
- Whitley CB, Ridnour MD, Draper KA, Dutton CM, Negila JP. 1989. Diagnostic test for mucopolysaccharidosis I. Direct method for quantifying excessive urinary glycosaminoglycan excretion. *Clin Chem* 35:374–379.
- Wraith JE. 2005. The first 5 years of clinical experience with laronidase enzyme replacement therapy for mucopolysaccharidosis I. *Expert Opin Pharmacother* 6:489–506.
- Wraith JE, Clarke LA, Beck M, Kolodny EH, Pastores GM, Muenzer J, Rapaport DM, Berger KI, Swidler SJ, Kakkis ED, Braakman T, Chadbourne E, Walton-Bowen K, Cox GF. 2004. Enzyme replacement therapy for mucopolysaccharidosis I: A randomized, double-blinded, placebo-controlled, multinational study of recombinant human α -L-iduronidase (laronidase). *J Pediatr* 144:581–588.
-

3.2 ARTIGO 2: PACIENTE COM MPS VI

ARTICLE IN PRESS

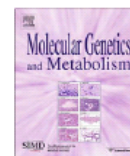
Molecular Genetics and Metabolism xxx (2009) xxx–xxx



Contents lists available at ScienceDirect

Molecular Genetics and Metabolism

journal homepage: www.elsevier.com/locate/ymgme



Intrathecal administration of recombinant human *N*-acetylgalactosamine 4-sulfatase to a MPS VI patient with pachymeningitis cervicalis

María Verónica Muñoz-Rojas^{a,b}, Dafne Dain Gandelman Horovitz^c, Laura Bannach Jardim^{d,e}, Marcia Raymundo^{a,f}, Juan Clinton Llerena Jr.^c, Tatiana de Sá Carneiro Pacheco de Magalhães^c, Taiane Alves Vieira^d, Ronaldo Costa^g, Emil Kakkis^h, Roberto Giugliani^{a,d,i,*}

^a Post Graduation Program in Child and Adolescent Health, UFRGS, Porto Alegre, RS, Brazil

^b Medical Department, Genzyme do Brasil, São Paulo, SP, Brazil

^c Instituto Fernandes Figueira/FIOCRUZ, Rio de Janeiro, RJ, Brazil

^d Medical Genetics Service, Hospital de Clínicas, Porto Alegre, RS, Brazil

^e Department of Internal Medicine, UFRGS, Porto Alegre, RS, Brazil

^f Research and Postgraduation Group, Hospital de Clínicas, Porto Alegre, RS, Brazil

^g Anesthesiology Service, Hospital de Clínicas, Porto Alegre, RS, Brazil

^h BioMarin Pharmaceutical Inc., Novato, CA, USA

ⁱ Department of Genetics, UFRGS, Porto Alegre, RS, Brazil

ARTICLE INFO

Article history:

Received 4 October 2009

Received in revised form 28 November 2009

Accepted 28 November 2009

Available online xxxxx

Keywords:

Pachymeningitis cervicalis

Mucopolysaccharidosis VI

Maroteaux–Lamy syndrome

Spinal cord compression

Intrathecal drug administration

Enzyme replacement therapy

ABSTRACT

In mucopolysaccharidosis VI, or Maroteaux–Lamy syndrome, deficiency of *N*-acetylgalactosamine 4-sulfatase leads to storage of glycosaminoglycans (GAGs) and MPS VI patients often develop spinal cord compression during the course of the disease due to GAG storage within the cervical meninges, requiring neurosurgical intervention, as intravenous (IV) enzyme replacement therapy (ERT) is not expected to cross the blood–brain barrier. We report the use of intrathecal (IT) recombinant human *N*-acetylgalactosamine 4-sulfatase (arylsulfatase B, or ASB) in a MPS VI child with spinal cord compression whose parents initially refused the surgical treatment. Assessments were performed at baseline, with clinical, neurological and biochemical evaluations, urodynamic studies and MRI of the CNS. Changes on these parameters were evaluated after IT infusions of ASB administered monthly via lumbar puncture (LP) in a IV ERT naive patient. To our knowledge, this was the first MPS VI patient who received IT ERT. Despite significant urodynamic improvement and some neurological amelioration, the patient developed worsening of walking capacity. After IV ERT was started, the patient presented with a generalized hypotonia and a life-saving surgical fixation of the neck was then performed. The results observed on this MPS VI patient suggest that instability of the cervical vertebrae could be unmasked by IV ERT as joint storage is reduced, and the decrease in neck stiffness and stability could confound the expected improvement of SCC manifestations following IT ERT. The study of further patients, if possible in a clinical trial setting, is needed to evaluate the potential of a non-surgical IT ERT treatment of SCC for MPS VI.

© 2009 Elsevier Inc. All rights reserved.

Introduction

Mucopolysaccharidosis VI (MPS VI) or Maroteaux–Lamy syndrome is an inherited metabolic disease, caused by the deficiency of *N*-acetylgalactosamine 4-sulfatase (arylsulfatase B, or ASB). In the absence of this enzyme, the stepwise degradation of the glycosaminoglycan (GAG) dermatan sulfate is blocked, resulting in intracellular accumulation of the substrate into the lysosomes, leading to a progressive disorder with multiple organ and tissue involve-

ment. This progressive storage causes many ailments and the clinical presentation of the disease presents a broad phenotype spectrum of severity. Although in MPS VI intellectual function is usually normal, substantial neurologic morbidity can be caused by spinal cord compression (SCC) caused by accumulation of intra-lysosomal GAG in the meninges and surrounding structures such as ligaments, and vertebral column deformities and stenosis. Also, in MPS, meningeal storage can obstruct cerebrospinal fluid (CSF) reabsorption, leading to high-pressure, communicating hydrocephalus and rapidly progressive developmental decline or debilitating headaches [1].

Specific treatment for MPS VI is provided by intravenous (IV) enzyme replacement therapy (ERT) with galsulfase, a genetically engineered analogue of ASB produced in a continuous cell line.

* Corresponding author. Address: Medical Genetics Service, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Rua Ramiro Barcelos 2350, 90036-903 Porto Alegre, RS, Brazil. Fax: +55 51 3359 8010.

E-mail address: rgiugliani@hcpa.ufrgs.br (R. Giugliani).

1096-7192/\$ - see front matter © 2009 Elsevier Inc. All rights reserved.

doi:10.1016/j.ymgme.2009.11.008

Please cite this article in press as: M.V. Muñoz-Rojas et al., Intrathecal administration of recombinant human *N*-acetylgalactosamine 4-sulfatase to a MPS VI patient with pachymeningitis cervicalis, Mol. Genet. Metab. (2009), doi:10.1016/j.ymgme.2009.11.008

However, the enzymes used in ERT in MPS do not cross in the blood–brain barrier in therapeutic quantity [2–4] and therefore, the standard of care for any neurologic complication of the CNS relies on surgical intervention, whenever feasible, such as implantation of ventriculo-peritoneal shunts to relieve CSF pressure for hydrocephalus, or cervical laminectomy and removal of thickened meninges in case of pachymeningitis cervicalis and spinal cord compression. If isolated motor abnormalities are present, then cervical instability or subluxation due to odontoid dysplasia combined with ligamentous laxity may be present and should be treated by vertebral fixation. These procedures can be successful but have a high risk of morbidity and mortality [5–9].

In 2004, Kakkis et al., used an intrathecal (IT) ERT approach to treat CNS manifestations in the canine model of MPS I, achieving very high enzyme levels and noticeable reduction of GAG storage in the spinal meninges after four weekly doses of 1.08 mg IT rhlDU and no IV treatment [10]. Dickson et al., showed that IT rhlDU can diffuse widely throughout the CNS and treat disease there effectively on the same canine animal model [11]. Subsequent work in the MPS VI feline model by Auclair, Hopwood and colleagues, has shown similar effects on enzyme penetration and reduction in meningeal storage [12]. The main potential value of this IT approach with regard to cord compression would be to reduce the posterior ligament thickening both in the cervical region and throughout the meninges, which could provide more space for the cord or nerve roots. The IT approach cannot effectively change cord compression due to bony stenosis or instability of the spine.

In 2008, Muñoz-Rojas et al. [13] reported the use of IT ERT in an adult patient with MPS I and symptomatic SCC who had not received IV ERT previously and who refused conventional laminectomy procedure. This patient received a series of monthly IT

injections, and the results achieved were very encouraging as they showed to be both safe and beneficial to this patient. Considering that IV ERT is not likely to cross the blood–brain barrier also in MPS VI, we investigated the use of IT recombinant human Galsulfase (rhASB-NaglazymeR) in a 7-year-old MPS VI patient, ERT naive, with SCC. To our knowledge, IT ERT has not been attempted previously in a patient with MPS VI.

Case report

The index patient was a male child, third offspring and second affected by MPS VI born to an unrelated couple. Delivery was normal (weight 3785 g, height 54 cm), first symptoms were noticed at 4 months (pulmonary infections, umbilical and inguinal hernia) and at age 6 months pectus carinatum was detected. Such presentation, the positive family history and a compatible profile of urinary GAGs prompted the diagnosis of MPS VI, which was confirmed by finding of low activity of arylsulfatase B in leukocytes of 5 nmol/h/mg protein (normal reference values: 72–176). His older MPS VI sister showed visual loss due to intracranial hypertension. She had a tracheostomy and developed lower limb paraplegia at age 13 years, and died at the age of 14 years from respiratory failure due to spinal cord compression (SCC).

The index patient presented cranial hypertension and symptoms related to SCC at a much younger age. Headaches and vomiting started at 4 years. At the time, he had an opening pressure of 60 cm H₂O, and a ventricular–peritoneal shunt was placed. At 5 years, he presented reduced strength and pain in the right leg. At 6 years he could only walk short distances, due to pain and decreased muscle strength in both lower limbs. MRI showed odontoid hypoplasia and a compressive myelopathy (Fig. 1A). Nine



Fig. 1. T2 weighted MRIs of cervical cord. (A) At baseline, age 6 years: odontoid hypoplasia; hyperintense tissue deposits posterior to the dens odontoid, squeezing the cord in the ventral portion of the dura sac (thick arrow); reduced height of the vertebral bodies; reduced amplitude of the spinal canal from the crano-vertebral junction to C4, with a small elongated area with hyperintense signal (thin arrow), suggestive of compressive myelopathy. (B) At age 7, after 5 intrathecal infusions: no significant changes when compared to previous exam; hyperintense signal slightly more evident. And (C) at age 8, performed 8 months after laminectomy: absent signaling in pedicles and posterior arches due to surgical material; widened laminectomies in superior cervical levels. Slight reduction in spinal canal in the crano-vertebral level; image compatible with compressive myelopathy sequela in C2–C4, and very thickened dura.

months later he stopped walking unaided, and a new exam revealed definite compressive myelopathy, plus urinary incontinence due to a spastic neurogenic bladder. Laminectomy was proposed but considered to be too risky by the neurosurgical team, due to his short neck and disproportionally large head. His family also refused the surgical treatment. Based on previous successful IT treatments in one MPS I patient [13] and in MPS I animal models [10,11] and ongoing MPS VI cat data [12], IT galsulfase was offered. The proposed experimental protocol was submitted and approved by the institutional ethics committee. Four IT infusions of 1.5 ml of galsulfase (Naglazyme[®], BioMarin Pharmaceutical, USA) the recombinant human *N*-acetylgalactosamine 4-sulfatase (rhASB) diluted with 3.0 ml of Elliotts B solution (QOL Medical, USA), were planned to be administered every month via lumbar puncture (LP) under sedation. The CSF volume withdrawn was equivalent to the total volume administered (4.5 ml), and the opening pressure was recorded. At baseline and immediately before each lumbar puncture, the following assessments were performed: neurological examination, scores of Kurtzke Expanded Disability Status Scale (EDSS) and Kurtzke Functional Systems Scales (FSS) [14,15], the motor scale of the American Spinal Injury Association (ASIA) [16], as well as the biochemical and hematological profile of blood and CSF. MRI of the cervical cord and urodynamic studies were also performed. Bladder and urethral function were assessed by standard techniques for pediatric urodynamic evaluation [17]. The evaluations were performed by the same investigator and equipment (Dynapack MPX 816, Dynamid).

Results

A summary of baseline and follow-up results is shown in Table 1.

The first IT infusion was performed when the patient was 7 years old (baseline or month zero), and was repeated in months 1, 2 and 3. During this period of IT infusions, the patient presented a slow, but apparent steady improvement in sensitivity and reflexes (Table 1). Whereas EDSS scores showed a slight improvement, FSS and ASIA motor scores turned slightly worse. Some systemic effects were also observed, such as reduction of hepatosplenomegaly, slight improvement of upper airway obstruction and reduced joint stiffness. In month 6, the urodynamic follow-up showed clinically significant increase in bladder capacity with reduction of detrusor hyperreflexia, increase in filling capacity and correction of the incontinence (maximum bladder capacity = 75 ml; pressure 15 cm H₂O – within normal values). Walking capacity, however, decreased progressively.

A reevaluation performed in month 7 concluded that a new set of intrathecal infusions may be beneficial. In month 8 the patient also started weekly IV ERT, which dramatically reduced hepatosplenomegaly and upper airway obstruction; further reduction of joint stiffness was also observed. A fifth IT infusion was performed 3 weeks after the start of IV ERT (almost in month 9). Over the next 2 weeks the patient developed diffuse hypotonia, loss of voluntary movements in the limbs and neck and trunk instability. MRI showed no additional changes (Fig. 1B). CSF analysis ruled out inflammatory reaction, infection or monoclonal bands. Given the

Table 1
Summary and chronology of clinical evaluations, interventions and adverse events.

Date	Neurological evaluation	FSS Kurtzke (worse to better: 39 to 0)	Kurtzke EDSS (worse to better: 10 to 0)	ASIA motor scale (worse to better: 10 to 100)	Urodynamic studies (Normal: bladder capacity (BC) ~ 140 ml ^a ; filling pressure (FP) < 40 cm H ₂ O; absent involuntary contractions)
Baseline, 1st IT	Walking short distances without aid. Neurological exam: generalized, severe spasticity and hyperreflexia, bilateral Babinski sign; MRC muscle strength of 2 in brachial biceps, 3 in deltoids and 4 in lower limbs; no vibration sense in four limbs; reduced light touch and pinprick sensation in left upper limb	10	5	68	BC 15 ml FP 87 to 106 cm H ₂ O (detrusor hyperreflexia)
Month 1, 2nd IT	Unable to walk without aid. Less spastic, less hyperreflexia	10	6	66	ND
Month 2, 3rd IT	Same motor findings. Return of the vibration sense in right shoulder; normal light touch and pinprick exam in all limbs	10	6	66	ND
Month 3, 4th IT	Same motor and sensitive findings. Subjective improvement of vesical incontinence	9	6	74	ND
Month 5					BC 75 ml FP 15 cm H ₂ O (less hyperreflexia)
Month 7	Walking only with aid. Worsening of spasticity, mainly in lower limbs. Quadriceps disuse hypotrophy. Enhanced reflexes remain the same. Striking improvement in sensitive examination: normal vibratory, light touch, pinprick and cinesthetic sensibilities in four limbs. Heat and cold sensations remain reduced (more than 50% of mistakes)	8	6,5	67	
October 8, 2007 – Months 8–9	<i>started intravenous weekly enzyme replacement therapy</i> Loss of cervical tone, worsening of tetraparesis. Intravenous ERT suspended Dec 20/2007. No changes in MRI or cerebrospinal fluid (CSF) examinations; negative for monoclonal antibodies in CSF. Corticosteroids for 2 weeks and neck immobilization with cervical collar				
Month 12 Month 15	<i>Intravenous ERT suspended for 3 weeks (December/2007 to January/2008)</i> Spinal Surgery with laminectomy and fixation				BC 25 ml FP 64 cm H ₂ O (worsening)
Month 18	Wheelchair bound, without cephalic tónus. Tetraparetic. Sensitive	10	9	56	

^a Corrected for patient's size, not for his age.

more profound motor findings without worsened sensory symptoms, we considered that new onset cervical instability might be the cause of worsened motor function. Temporary neck stabilization with a hard cervical collar on month 10, he improved and regained some muscle tone and motor function. Despite neck stabilization, sleep apnea became very severe and not justified by upper airway obstruction. Lifesaving laminectomy and neck fixation spinal decompression surgery was performed in month 12 (Table 1). Neurological examination performed on month 14 revealed some return of motor functions. There were better muscle tone, strength and diminished hyperreflexia; sensitivity was preserved. Sleep apnea was no longer observed.

Urinary function evaluation performed in month 15 showed decreasing bladder capacity and increased pressure (maximum bladder capacity = 25 ml, pressure 64 cm H₂O), although still better than baseline. A new MRI performed in month 20 showed an image compatible with compressive myelopathy sequela in C2–C4, and a very thickened dura (Fig. 1C).

Discussion

IV ERT has become available for the treatment of MPS VI and is currently considered the gold standard treatment for this condition [18]. However, IV ERT will not likely provide direct benefit to the central nervous system (CNS) or ameliorate spinal meningeal disease. A better approach to the later complication is needed as the morbidity and mortality of surgical intervention is considerable. Similar limitations regarding IV ERT, surgical burden and spinal cord compression have been encountered in MPS I. Studies with IT ERT in animal models of MPS I revealed good evidence on both safety and efficacy [10,11]. These studies prompted the use of IT ERT in a MPS I patient with a symptomatic spinal cord compression (SCC) who refused laminectomy [13]. Similarly, the natural feline model of MPS VI has been studied and used in pre-clinical research on ERT. These studies have shown that ERT is effective at reducing or eliminating pathology in most connective tissues in MPS VI cat [19]. Moreover, pathological evidence on the neuronal storage materials in this animal model have been presented [20], suggesting that similar deposits could also happen in humans. Proof of concept about the IT approach to treat at least the meningeal disease in MPS VI is underway, and preliminary results suggest that IT rhASB results in a reduction in the dura vacuolation in MPS VI cats [12].

The present MPS VI patient had a documented infiltration of the pachymeninges and a clinical picture of SCC. Facing his parents' refusal of surgical treatment, an IT experimental treatment was considered. During the first 90 days on a monthly IT infusion regimen, no evidence of infusion associated reactions were observed. Biochemical and hematological CSF findings remained stable, with no evidence of immune response, immune-mediated or chemical meningitis. SCC manifestations showed some changes during this phase. The walking ability, which worsened in the first month (up to the second infusion), stabilized afterwards. Some motor scores presented mild to negligible improvements (Table 1). Sensory losses and neurogenic bladder improved more consistently.

Two mechanisms have been observed for the development of spinal myelopathy in patients with MPS [7]. The first would be the infiltration of surrounding meninges causing mechanical cord compression usually occurring in combination with some degree of bony stenosis, leading to both sensory and motor function loss. We speculated that the small improvements in motor and sensory handicaps seen in the first phase of IT treatment could be related to the clearance of some meningeal storage material near the subarachnoid space.

The second mechanism refers to the vertebral abnormalities and subluxation caused by odontoid dysplasia (present in this patient) and ligamentous laxity. Hypoplasia or absence of the odon-

toid process with resultant C1–C2 subluxation, and angulations such as of the posterior arch of the atlas, with anterior compression of cord by the vertebral bodies of C2 and C3, [21–23]. We hypothesize that the sudden tetraplegia our patient suffered, was secondary to the cervical instability produced by the odontoid hypoplasia, plus an increase on cranio-cervical junction or vertebral joint mobility which could be related to the introduction of ERT. A similar case had been observed before in the first patient receiving ERT for MPS I, whose improved neck mobility and reduced stiffness at 6 months of treatment was followed by onset of subluxation and cord compression requiring surgical fusion (E. Kakkis, unpublished observation).

Pachymeningitis cervicalis was evident in our patient, both clinically and on spinal MRI. The cervical bone abnormality seemed to be stable and not clinically significant by the time of IT ERT first series of injections. Stability of the abnormal neck vertebrae could have been maintained by synovial storage that splinted the cervical vertebral joints. Once the patient was started on IT ERT several subtle improvement changes were progressively noticed on neurological examination except on walking ability. The sudden loss of motor function might have been the result of decreased vertebral joint storage and increased neck mobility which may have occurred following intravenous ERT. This could in turn have led to a secondary cervical instability and subluxation, resulting in selective anterior compression of motor pathways and consequently clinical motor loss. Even modest subluxation of a few mm could be clinically problematic as there was no room for movement in the stenotic cord space in this patient. Initially this effect was probably minimal as IT ERT would reach systemic distribution in an almost negligible amount and through patient's shunt, also explaining the systemic effects that were observed and reported previous to IV ERT. Once IV ERT was commenced, the effect on joints was more marked, leading to the profound onset of hypotonia. These sequential hypothetical processes would explain the apparently conflicting results presented by this child, who at first showed neurological improvements on sensitivity, reflexes and urodynamics, and later suffered a sudden motor loss.

Although decompressive surgery and neck fixation are still be considered the treatment of choice for SCC in MPS patients, in situations of high surgical risk or less advanced bone disease the IT ERT approach may be considered, as therapeutic or as adjunct therapy for the MPS types which have ERT available. In addition, IT ERT if proven to be useful through clinical studies, the ability to treat meningeal storage throughout CSF space and before substantial damage had occurred could make IT a better option in the prevention of cord compression. At this time, IT ERT should still be considered experimental and dose, dilution and regimen of IT ERT shall be discussed in a case-by-case manner. The severe adverse event experienced by this child raises some concern about the effect of GAGs clearance from paravertebral structures, increasing the range of vertebral movements and probably exposing the cord to an unstable spine. If a cervical subluxation, bony stenosis or similar external pathology is the major cause of cord compression, the patient would not likely benefit from IT ERT. IV ERT can actually unmask cervical vertebra which are unstable, leading to a scenario in which surgical intervention to stabilize the spine should be immediately undertaken. Finally, we can speculate that IT ERT can be used as an alternative approach for MPS VI patients presenting pachymeningitis cervicalis, provided that a neck stability – either surgical or orthotic – is previously obtained. In the case of the reported patient, a new series of IT infusions has begun now that the cervical junction has been surgically stabilized, as an attempt to improve urinary and hopefully motor function. Further follow-up on this MPS VI case and others, if possible on a clinical trial setting, should precede any general guidelines on IT enzyme replacement therapy in MPS VI.

Acknowledgments

The authors are grateful to QOL Medical for the donation of Ell-iots B solution used on the treatment of this patient. We are also thankful to Dr. Maria Angélica Lima, Dr. Luiz Eduardo Carelli, Dr. Lucia M. Costa Monteiro, Dr. Fábio Guarany, Dr. Simone Fagondes, Dr. Leonardo Vedolin and Dr. Daniela Giovanetti for clinical support and medical evaluations on this case.

References

- [1] E.F. Neufeld, J. Muenzer, The mucopolysaccharidosis, in: C.R. Scriver, A.L. Beaudet, W.S. Sly, D. Valle, B. Childs, K.W. Kinzler, B. Vogelstein (Eds.), *The Metabolic and Molecular Basis of Inherited Disease*, vol. III, eighth ed., Mc Graw-Hill, Medical Publishing Division, 2001, p. 3421.
- [2] J.E. Wraith, L.A. Clarke, M. Beck, E.H. Kolodny, G.M. Pastores, J. Muenzer, D.M. Rapoport, K.I. Berger, S.J. Swiedler, E.D. Kakkis, T. Braakman, E. Chadbourne, K. Walton-Bowen, G.F. Cox, Enzyme replacement therapy for mucopolysaccharidosis I: a randomized, double blinded, placebo-controlled, multinational study of recombinant human alpha-L-iduronidase (aronidase), *J. Pediatr.* 144 (5) (2004) 581–588.
- [3] J.E. Wraith, The first 5 years of clinical experience with laronidase enzyme replacement therapy for mucopolysaccharidosis I, *Expert Opin. Pharmacother.* 6 (3) (2005) 489–506.
- [4] M. Sifuentes, R. Doroshov, R. Hoff, G. Mason, I. Walot, M. Diamant, S. Okazaki, K. Huff, G.F. Cox, S.J. Swiedler, E.D. Kakkis, A follow-up study of MPS I patients treated with laronidase enzyme replacement therapy for 6 years, *Mol. Genet. Metab.* 90 (2) (2007) 171–180.
- [5] P. Kennedy, M. Swash, M.F. Dean, Cervical cord compression in mucopolysaccharidosis, *Dev. Med. Child Neurol.* 15 (2) (1973) 194–199.
- [6] H.H. Kaufman, H.S. Rosenberg, C.I. Scott, Y.Y. Lee, J.L. Pruessner, I.J. Butler, Cervical myelopathy due to dural compression in mucopolysaccharidosis, *Surg. Neurol.* 17 (6) (1982) 404–410.
- [7] E. Kachur, R. Del Maestro, Mucopolysaccharidoses and spinal cord compression: case report and review of the literature with implications of bone marrow transplantation, *Neurosurgery* 47 (1) (2000) 223–228.
- [8] V.I. Vougioukas, A. Berlis, M.V. Kopp, R. Korinthenberg, J. Spreer, V. van Velthoven, Neurosurgical interventions in children with Maroteaux-Lamy syndrome. Case report and review of the literature, *Pediatr. Neurosurg.* 35 (1) (2001) 35–38.
- [9] M. Mut, A. Cila, K. Varli, N. Akalan, Multilevel myelopathy in Maroteaux-Lamy syndrome and review of the literature, *Clin. Neurol. Neurosurg.* 107 (2005) 230–235.
- [10] E. Kakkis, M. McEntee, C. Vogler, S. Le, B. Levy, P. Belichenko, W. Mobley, P. Dickson, S. Hanson, M. Passage, Intrathecal enzyme replacement therapy reduces lysosomal storage in the brain and meninges of the canine model of MPS I, *Mol. Genet. Metab.* 83 (2004) 163–174.
- [11] P. Dickson, M. McEntee, C. Vogler, S. Le, B. Levy, M. Peinovich, S. Hanson, M. Passage, E. Kakkis, Intrathecal enzyme replacement therapy: successful treatment of brain disease via the cerebrospinal fluid, *Mol. Genet. Metab.* 91 (1) (2007) 61–68.
- [12] D. Auclair et al., Repeated intrathecal injections of recombinant human 4-sulphatase remove dural storage in mature mucopolysaccharidosis VI cats primed with a short-course tolerisation regimen, *Mol. Genet. Metab.* (2009), doi:10.1016/j.ymgme.2009.10.002.
- [13] M.V. Muñoz-Rojas, T. Vieira, R. Costa, S. Fagondes, A. John, L.B. Jardim, L.M. Vedolin, M. Raymundo, P.I. Dickson, E. Kakkis, R. Giugliani, Intrathecal enzyme replacement therapy in a patient with mucopolysaccharidosis type I and symptomatic spinal cord compression, *Am. J. Med. Genet.* 146A (19) (2008) 2538–2544.
- [14] J.F. Kurtzke, Rating neurologic impairment in multiple sclerosis: an expanded disability status scale (EDSS), *Neurology* 33 (11) (1983) 1444–1452.
- [15] J.F. Kurtzke, Origin of DSS: to present the plan, *Mult. Scler.* 13 (1) (2007) 120–123.
- [16] M.M. Priebe, W.P. Waring, The interobserver reliability of the revised American Spinal Injury Association standards for neurological classification of spinal injury patients, *Am. J. Phys. Med. Rehabil.* 70 (5) (1991) 268–270.
- [17] W. Kaplan, Urodynamics of the lower and upper urinary tract, in: A.B. Belman, L.R. King, S.A. Kramer (Eds.), *Clinical Pediatric Urology*, fourth ed., Martin Dunitz Ltd, London, 2002, pp. 409–423.
- [18] R. Giugliani, P. Harmatz, J.E. Wraith, Management guidelines for mucopolysaccharidosis VI, *Pediatrics* 120 (2) (2007) 405–418.
- [19] S. Byers, A.C. Crawley, L.K. Brumfield, J.D. Nuttall, J.J. Hopwood, Enzyme replacement therapy in a feline model of MPS VI: modification of enzyme structure and dose frequency, *Pediatr. Res.* 47 (6) (2000) 743–749.
- [20] S.U. Walkley, M.S. Thrall, M.E. Haskins, T.W. Mitchell, D.A. Wenger, D.E. Brown, S. Dial, H. Seim, Abnormal neuronal metabolism and storage in mucopolysaccharidosis type VI (Maroteaux-Lamy) disease, *Neuropathol. Appl. Neurobiol.* 31 (5) (2005) 536–544.
- [21] M.E. Blaw, L.O. Langer, Spinal cord compression in Morquio-Brailsford's disease, *J. Pediatr.* 74 (1969) 593–600.
- [22] C.B. Brill, J.S. Rose, L. Godmilow, S. Skdower, J. Willner, K. Hirschhorn, Spastic quadriplegia due to C1–C2 subluxation in Hurler syndrome, *J. Pediatr.* 92 (1978) 441–443.
- [23] S.L. Wald, H.H. Schmidek, Compressive myelopathy associated with type VI mucopolysaccharidosis (Maroteaux-Lamy syndrome), *Neurosurgery* 14 (1984) 83–88.

3.3 ARTIGO 3: PACIENTE PEDIÁTRICO COM MPS I

Case Report

Treatment of spinal cord compression due to mucopolysaccharidosis I with intrathecal enzyme replacement therapy: Initial pediatric experience

Running title: Intrathecal enzyme therapy for spinal cord compression in MPS I

Patricia Dickson, M.D.¹; M^a Verónica Muñoz-Rojas, M.D., Ms.C.²; Agnes Chen, M.D.^{1,3}; David Naylor, M.D., Ph.D.³; Adam Jonas, M.D.¹; Ronaldo Costa, M.D.⁴; Simone Fagundes, M.D., Ph.D.⁴; Laura Jardim, M.D., Ph.D.²; Leonardo Vedolin, M.D., Ph.D.⁵; Taiane Vieira, Ms.C.²; Ângela Beatriz John, M.D., Ms.C.⁴; Marcia Raymundo, Ms.C., Ph.D.⁶; Anton Mlikotic, M.D.⁷; Dale Swift, M.D.⁸; Gretchen Eames, M.D.⁹; Alla Victoroff, P.A.¹; and Roberto Giugliani, M.D., Ph.D.²

From the ¹Department of Pediatrics, Harbor-UCLA Medical Center, Torrance, California; ²Medical Genetics Service, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, RS, Brazil; ³Department of Neurology, Harbor-UCLA Medical Center, Torrance, California; ⁴Pulmonary Diseases Service, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, RS, Brazil; ⁵Neuroradiology Department, Hospital Moinhos de Vento, Porto Alegre, RS, Brazil; ⁶Research and Postgraduation Group, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, RS, Brazil; ⁷Department of Radiology, Harbor-UCLA Medical Center, Torrance, California; ⁸Neurosurgeons for Children, Dallas, Texas; and ⁹Cook Children's Hospital, Hematology/Oncology Group, Fort Worth, Texas.

Correspondence to: Patricia Dickson, M.D.
LABioMed at Harbor-UCLA, 1124 W. Carson St, E-4, Torrance, CA 90502
Phone (310) 222-4145
Fax (310) 782-2999
pdickson@ucla.edu (may publish)

Key words: mucopolysaccharidosis; intrathecal; enzyme replacement therapy; lysosomal storage disease; spinal cord compression

Funding disclosure: Nursing support was provided by the Harbor-UCLA General Clinical Research Center (NIH grant M01-RR00425). Support for treatment of Patient 1 provided by the Ryan Foundation for MPS children (to P. Dickson), with enzyme donated by Genzyme Corp. (Boston, MA). Support for treatment of Patient 2 provided by the Fundacao Medica do RS and FIPE-HCPA (to R. Giugliani).

This work was originally presented in abstract form at the American Society of Human Genetics 57th annual meeting in San Diego, CA, October 23-27, 2007, at the at the WORLD Lysosomal Storage Disease Network symposium, Las Vegas, NV, February 2008, at the Society for Inherited Metabolic Disorders 2008 annual meeting, Pacific Grove, CA, March 2-5, 2008, and at the 9th Interantional MPS Symposium, Vancouver BC, June 2008.

ABSTRACT

Spinal cord compression due to dural thickening occurs in mucopolysaccharidosis I, a genetic disorder due to deficiency of the lysosomal enzyme alpha-L-iduronidase. Two children with mucopolysaccharidosis I and spinal cord compression received five or ten doses of intrathecal recombinant human alpha-L-iduronidase via lumbar puncture. Improvement of some symptoms and signs of cord compression, including disappearance of numbness and tingling of the lower extremities, improved hand use, improved lower extremity sensation, and improved walking ability occurred in one or both children. Spinal magnetic resonance imaging was unchanged. Cerebrospinal fluid leukocytosis developed in one patient, without meningeal signs. This responded to steroids. Both children showed improvement in the signs and symptoms of spinal cord compression. Further study is needed to determine the role of intrathecal enzyme therapy in the treatment of spinal cord compression due to mucopolysaccharidosis I.

INTRODUCTION

Mucopolysaccharidosis I (MPS I) is an inherited lysosomal storage disease due to deficiency of the enzyme, alpha-L-iduronidase. Spinal cord compression in these patients is due to extradural compression from thickened spinal ligaments as well as dural compression from meninges thickened by lysosomal storage. Treatment of spinal cord compression requires surgical decompression, occasionally of multiple levels, and may recur years after surgery is performed.

Recently, intrathecal delivery of enzyme replacement therapy has been tested as a way to introduce enzyme replacement therapy past the blood-brain barrier.^{1-3,5} A clinical trial is currently underway. We describe below two pediatric patients with MPS I and spinal cord compression not in this trial treated with intrathecal enzyme replacement therapy.

CASE REPORTS

Patient 1

A 14 year old girl with MPS I (Hurler-Scheie form) diagnosed at age 16 months was referred for spinal cord compression. MPS I was diagnosed by enzyme assay and molecular genetics. There was no mental retardation. Hydrocephalus required a ventriculoperitoneal shunt. Frequent migraine headaches were treated with daily amitriptyline and intermittent non-steroidal anti-inflammatory drugs and anti-emetics. Weekly intravenous enzyme replacement therapy began at 7 years.

Spinal cord compression symptoms appeared at 11 years and included nighttime leg pain, numbness and tingling in the feet, reduced strength in the right hand, resulting in "sloppy handwriting" and difficulty cutting her meat, and fatigue with long walks. She did not have bowel or bladder incontinence. Neurologic examination revealed increased reflexes in the upper and lower extremities, reduced vibratory and temperature sensation, normal strength, and no ankle clonus. Babinski signs were absent. Gait was normal, including tandem. Cervical MR imaging at age 13 years showed canal stenosis at C2 through C6 with mild anterior cord flattening and evidence of signal change within the cord at C2-3 (Fig. 1). Cerebrospinal fluid (CSF) protein was elevated at 604 mg/dl, consistent with obstruction to CSF flow. Her parents declined spinal decompression surgery. The patient's neurosurgeon considered her for an ongoing clinical trial of intrathecal enzyme replacement therapy for spinal cord compression in MPS I patients (NCT00215527). However, she did not meet entry criteria due to her age.

Patient 2

Patient 2 was an 8 year old girl with MPS I (Hurler-Scheie form). Molecular genetics of the IDUA gene showed W402X/134del12. Spinal cord compression was diagnosed at age 7 years. She had presented with loss of strength in all four extremities, which progressed rapidly. Within approximately 5 months, she lost the ability to walk unsupported and could take only a few steps with aid. She did not have bowel or bladder incontinence. Neurologic examination revealed significant quadriparesis and mild spastic hypertonia. Manual muscle strength was 2-3 on a scale of 5. Reflexes were increased in the lower extremities. Babinski signs were present bilaterally. There was no ankle clonus. A ventriculoperitoneal shunt had been placed for hydrocephalus. Intelligence was normal. Cervical MR

imaging at age 8 years showed meningeal thickening and cervical spinal cord compression. Laminectomy was indicated, but she was not considered a candidate due to advanced lung and cardiac involvement of her MPS. Intravenous enzyme replacement therapy had continued weekly since the age of 6 years.

Intrathecal Enzyme Therapy

Patient 1 was subsequently treated off-study with intrathecal (IT) laronidase at Harbor-UCLA following informed consent. The schedule is shown in Fig. 2. Patient 2 received IT laronidase monthly for five months at the Hospital de Clinicas de Porto Alegre, RS, Brazil, under an IRB-approved protocol for compassionate use, and was followed for 10 subsequent months. The dose for Patient 1 was 1.74 mg laronidase diluted in 6 mL of Elliotts B artificial spinal fluid (total injection volume 9 mL). The dose used for Patient 2 was 0.87 mg laronidase diluted in 3 mL of Elliotts B artificial spinal fluid (total injection volume 4.5 mL). IT laronidase was administered via lumbar puncture. Fluoroscopic guidance was required for four doses in Patient 1. Sedation was achieved in Patient 1 with 2 mg midazolam and 50 to 75 mcg ketamine administered intravenously. Patient 2 was sedated using 25 mg intramuscular promethazine and inhaled sevoflurane (2%-2.5%). Continuous oxygen (4L) and hydrocortisone 6 mg/kg IV were administered prophylactically to Patient 2 to prevent airway compromise. Endotracheal intubation was not performed in either patient.

Subjective improvement and improvement in the neurologic examination are shown in Table 1. MRI of the cervical spine showed no improvement in the radiologic appearance of spinal cord compression in either patient. Somatosensory evoked potentials (SSEP) and six-minute walk test were performed in Patient 1. SSEP were normal at baseline and at 4 and 17 months on therapy. Distance walked in six minutes decreased during the treatment period from 422 to 318 m. Patient 2 was not able to walk unassisted before or after treatment with intrathecal laronidase, but showed improvement in the ability to walk with support, which was maintained through the 10 months following the final intrathecal treatment. Patient 2 also gained the ability to write and draw (Fig. 3).

Intrathecal treatments were well tolerated. Headache and pain in the buttocks accompanied each intrathecal injection in Patient 1, developing approximately 1 day after treatment and lasting 2-3 days. Both patients experienced elevations in cerebrospinal fluid (CSF) opening pressure during the treatment period, to a maximum of 26 cm H₂O (Patient 1) and 38 cm H₂O (Patient 2). A sterile leukocytosis was noted at 1 month in Patient 1, peaking at 3 months at

37 cells/mL (Fig. 2) with no signs or symptoms of meningitis. Cellular differential showed predominantly lymphocytes (72%) and monocytes (22%). Gram stain and bacterial culture showed no organisms. A low anti-iduronidase antibody titer of 0.7 OD units per mL was detected in CSF by IgG ELISA (lower detection limit is 0.02).⁴ IgE and IgM were not detected. Oral prednisone 1 mg/kg daily was administered for 3 days, followed by 0.5 mg/kg for 4 subsequent days. The subsequent treatment was administered following a 2-month interval (at 5 months), at which time the leukocyte count was 3 cells/mL. She was premedicated for this and subsequent treatments with 1 mg/kg oral prednisone, beginning 1 day prior to each intrathecal treatment and continuing for a total of 3 days. Patient 2 did not develop CSF leukocytosis. Other adverse events occurred in the patients during the treatment periods, including sore throat, anemia, nausea and vomiting (post-sedation), diarrhea, weight gain, and papular rash, but were mild and judged not related to treatment.

DISCUSSION

Spinal cord compression is a common occurrence in MPS I, due partly to factors outside the thecal sac (such as spinal canal deformity and disc protrusion), and partly to meningeal thickening from lysosomal storage. Previously, we reported the case of a single adult patient treated with intrathecal laronidase for spinal cord compression due to MPS I (Scheie) disease.⁶ Here, we treated two pediatric patients with 5-8 injections of laronidase via lumbar spinal tap administered once every 1-5 months. Both patients showed improvement in symptoms and signs of spinal cord compression. These changes were difficult to quantify objectively. Neither patient showed improvement on spinal MRI; nor was there apparent progression of the cord compression.

Both patients tolerated intrathecal laronidase well. Injection-related symptoms, including pain at the site, buttock pain, and headache, occurred frequently in patient 1. Patient 1 also developed a CSF leukocytosis, which was not accompanied by clinical signs or symptoms of meningitis and which responded to a brief course of oral steroids. Anti-iduronidase antibodies were detected in CSF, though at a low level relative to preclinical animal studies and serum levels in treated patients. Premedication with steroids may have prevented recurrence of the leukocytosis. Patient 2 received prophylactic hydrocortisone, making assessment of an immune response difficult.

In the ongoing clinical trial of intrathecal laronidase, none of the three subjects to complete the four-month study have experienced elevations in CSF cell counts. One death has occurred in the trial, which was judged not related to intrathecal laronidase and was attributed to MPS disease.

Elevation of the CSF opening pressure occurred in both patients. Both patients had hydrocephalus and ventriculoperitoneal shunts prior to IT laronidase treatment. There was no evidence of shunt malfunction. Patient 1 experienced no apparent increased frequency or severity of her usual headache, and there were no headaches reported by Patient 2. In both cases, the increased pressure resolved without treatment. Transient increase in opening pressure has been noted in one subject in the ongoing clinical trial; the subject also had shunted hydrocephalus at baseline. The cause of the measured elevations is not known. Ventriculoperitoneal shunts may decrease the caliber of the thecal sac.

Intrathecal laronidase was well-tolerated by the two pediatric patients, and both experienced improvements in signs and symptoms of spinal cord compression due to MPS I disease. No progression of spinal cord compression

occurred in either patient during the 15 to 17 month period. Further study is needed to determine the role of intrathecal laronidase in the treatment of MPS I.

Acknowledgements

We thank the patients and their families, the nurses and staff at the General Clinical Research Center at Harbor-UCLA (NIH grant M01-RR00425), Hospital de Clinicas de Porto Alegre, and Hospital Mãe de Deus. We thank Prof. Drs. M. Beck, J.E. Wraith, G. Pastores, J. Muenzer, and P. Harmatz of the MPS I Intrathecal Research Collaborative (MIRC) for their guidance.

Disclosure

Patricia Dickson receives research support from Genzyme Corp., which distributes laronidase, and also from BioMarin Pharmaceutical Inc., which manufactures it. Dr. Giugliani receives research support and travel grants from BioMarin and Genzyme. Dr. Muñoz-Rojas is now an employee of Genzyme (Brazil).

REFERENCES

1. Belichenko PV, Dickson PI, Passage M, Jungles S, Mobley WC, Kakkis ED: Penetration, diffusion, and uptake of recombinant human α -L-iduronidase after intraventricular injection into the rat brain. *Mol Genet Metab* 86:141-149, 2005
 2. Dickson P, McEntee M, Vogler C, Le S, Levy B, Peinovich M, et al: Intrathecal enzyme replacement therapy: successful treatment of brain disease via the cerebrospinal fluid. *Mol Genet Metab* 91:61-68, 2007
 3. Helmsley KM, King B, Hopwood JJ: Injection of recombinant human sulfamidase into the CSF via the cerebellomedullary cistern in MPS IIIA mice. *Mol Genet Metab* 90:313-328, 2007
 4. Kakkis E, Lester T, Yang R, Tanaka C, Anand V, Lemontt J, et al: Successful induction of immune tolerance to enzyme replacement therapy in canine mucopolysaccharidosis I. *Proc Natl Acad Sci USA* 101:829-834, 2004
 5. Kakkis E, McEntee M, Vogler C, Le S, Levy B, Belichenko P, et al: Intrathecal enzyme replacement therapy reduces lysosomal storage in the brain and meninges of the canine model of MPS I. *Mol Genet Metab* 83:163-174, 2004
 6. Muñoz-Rojas MV, Costa R, Fagondes Canani S, Jardim L, Vedolin L, Kakkis E, et al: Intrathecal enzyme replacement therapy in a patient with mucopolysaccharidosis type I and symptomatic spinal cord compression. *Am J Med Genet* 146A:2538-2544, 2008
-

FIGURE LEGENDS

Fig. 1. T2 weighted sagittal MR image of the spine, showing cervical spinal stenosis from C1 to C3. Abnormal increased signal within the cord at C2 may represent myelomalacia or edema.

Fig 2. Cerebrospinal fluid leukocyte counts in Patient 1. Asterisks indicate intrathecal injections. Oral prednisone was administered following the Day 90 injection and for subsequent treatments for three days beginning one day prior to each injection. The dose of prednisone was 0.5-1 mg/kg.

Fig. 3. Drawing made by Patient 2 following treatment of spinal cord compression with intrathecal laronidase. The patient was previously unable to write or draw.



FIG 1

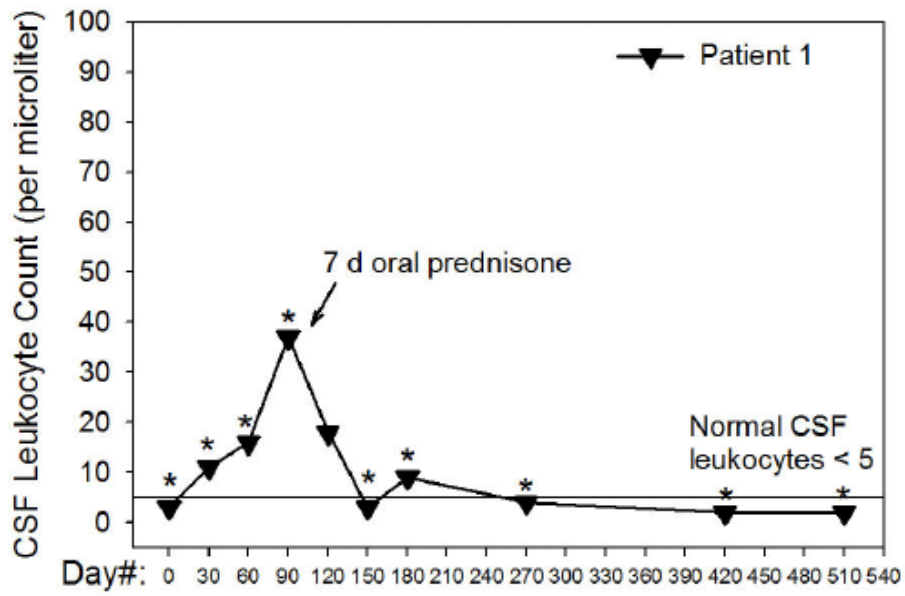


Fig 2

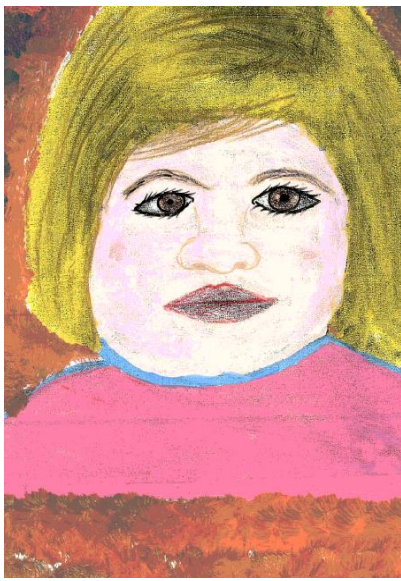


Fig 3

TABLES

Table I. Changes in signs and symptoms of spinal cord compression during treatment with intrathecal laronidase

	Patient 1	Patient 2
Subjective Assessment		
Symptoms	<ul style="list-style-type: none"> • Disappearance of numbness and tingling in the feet • Improved fatigue with walking • Improved hand use 	<ul style="list-style-type: none"> • Improved hand use (regained the ability to write and draw) • Improved ability to walk with support
Neurologic Examination		
Sensory	<ul style="list-style-type: none"> • Disappearance of lower extremity pain and temperature asymmetries • Slight improvement in lower extremity vibration sense 	<ul style="list-style-type: none"> • Improved sensation to touch and pain in the upper extremities and normalization in the left lower extremity. • Improved vibration in the lower extremities. • Disappearance of proprioception abnormalities.
Motor	<ul style="list-style-type: none"> • No deficit 	<ul style="list-style-type: none"> • Slight muscle strength improvement (from 2-3 to 2-4+)
Reflexes	<ul style="list-style-type: none"> • No change 	<ul style="list-style-type: none"> • No change

3.4 OUTROS ESTUDOS

Além dos três casos de pacientes com MPS e compressão medular tratados com enzima intratecal supra-citados, não há dados publicados de nenhum outro paciente no mundo que tenha recebido tal intervenção. No entanto, há seis estudos clínicos com terapia intratecal em pacientes com MPS em andamento (CLINICALTRIALS), dos quais dois são para o tratamento de compressão medular em MPS I (CHEN e DICKSON, 2010):

- i. Estudo fase I/II de segurança, tolerabilidade, dose e frequência ascendente com rhHNS através de dispositivo de administração intratecal de medicamento (IDDD) em pacientes com síndrome de Sanfilippo tipo IIIA (MPS IIIA). Este é um estudo multicêntrico, não randomizado, de rótulo aberto, de múltiplas doses, com escalonamento de dose, desenhado para avaliar a segurança, tolerabilidade e atividade clínica de até 3 níveis de dose (2 doses [10 e 45 mg] 1 vez ao mês e 1 dose [45 mg] a cada duas semanas durante 6 meses) de rhHNS administradas através de IDDD em pacientes com síndrome de Sanfilippo tipo A, com idade igual ou superior a 3 anos.
- ii. Estudo de terapia enzimática intratecal para declínio cognitivo em mucopolissacaridose I (MPS I). Estudo de rótulo aberto, prospectivo, randomizado, com 24 meses de duração, em 16 pacientes com MPS I e com idade igual ou superior a seis anos, que tenham evidência documentada de declínio cognitivo. Este estudo vai testar a segurança e eficácia da rhIDUA intratecal para reduzir ou estabilizar o declínio cognitivo avaliando os participantes no momento basal com exames neuropsicológicos, clínicos, radiológicos e bioquímicos, e então monitorando as mudanças nesses parâmetros durante um regime mensal e depois trimestral de tratamento intratecal com rhIDUA. A segurança clínica do regime será avaliado pelo monitoramento de eventos adversos, avaliações laboratoriais do LCR e exames clínicos.
- iii. Estudo de terapia de reposição enzimática intratecal para compressão medular em mucopolissacaridose I. Estudo não controlado, não randomizado, de rótulo aberto, para testar a administração de 1,74 mg de rhIDUA, uma vez por mês durante 4 infusões, no LCR através de injeção intratecal em 10 pacientes com MPS I Hurler-Scheie ou Scheie e compressão medular com idade acima de oito anos. Este estudo,

- inicialmente, tinha como idade mínima para inclusão pacientes de 16 anos, até que foi modificado para maiores de 8 anos em novembro de 2008. A data prevista de término do estudo e para coleta de dados para medida dos desfechos primários é outubro de 2011.
- iv. Estudo de extensão de terapia de reposição enzimática intratecal em MPS I. Estudo de extensão com um ano de duração, não controlado, não randomizado, de rótulo aberto, para testar a segurança da administração de 1,74 mg de rhIDUA, uma vez a cada 1-3 meses durante 4 infusões, no LCR através de injeção intratecal em pacientes com MPS I Hurler-Scheie ou Scheie e compressão medular com idade acima de oito anos e que já receberam rhIDUA intratecal anteriormente com boa resposta e sem eventos adversos significativos.
 - v. Estudo de segurança e ajuste de dose da administração (intratecal) de idursulfase através de dispositivo de liberação intratecal de medicamento em pacientes pediátricos com síndrome de Hunter que apresentam envolvimento do sistema nervoso central e estão recebendo tratamento com Elaprase®. Estudo fase I/II, com intervenção, randomizado, de rótulo aberto, desenhado para obter informações necessárias de segurança e exposição, assim como resultados exploratórios a serem interpretados e utilizados no desenho de estudos clínicos subsequentes. Deve incluir 22 pacientes masculinos com MPS II, com idades entre três e oito anos. Os pacientes serão randomizados para um de quatro braços do estudo, sendo que em um braço os pacientes não vão ser tratados com idursulfase. Até o momento foram incluídos três pacientes neste estudo, sendo que dois destes foram randomizados para receber idursulfase IT e o terceiro paciente foi randomizado para o grupo controle. O estudo está no início e não há nenhum resultado disponível ainda. Os dois pacientes que já receberam a enzima IT não apresentaram nenhuma reação adversa (MUENZER J, dados não publicados, 2010).
 - vi. Reposição enzimática intratecal para síndrome de Hurler. Estudo fase I, com intervenção, não controlado, de rótulo aberto, para examinar se a laronidase administrada no LCR de pacientes com síndrome de Hurler em intervalos antes e depois de HSCT é segura e eficaz para diminuir a degeneração neurológica observada em pacientes Hurler que são submetidos a transplante. Serão incluídos 25 pacientes com idade entre 6 meses e 3 anos. Até o momento foram incluídos três pacientes neste ensaio clínico, com administração de quatro doses de 0,05 mg/kg de laronidase. A

primeira dose é administrada quando a TRE endovenosa é iniciada, a segunda dose é administrada imediatamente antes da realização do transplante, a terceira dose é administrada 100 dias após o transplante e a quarta dose é administrada 180 dias após o transplante. Um dos pacientes já recebeu todas as doses e os outros dois pacientes que já foram transplantados estão vivos e com pega total no dia 100. Os exames mostram não haver evidência de quadro inflamatório no sistema nervoso central (TOLAR, DICKSON e ORCHARD, 2009).

Em 2006, os pais de uma paciente de 14 anos de idade com MPS I (Hurler-Scheie) e apresentando compressão medular sintomática desde os 11 anos, que já fazia TRE endovenosa desde os 7 anos, recusaram a indicação de realizar tratamento neurocirúrgico em sua filha e a paciente foi considerada para entrar no estudo clínico NCT00215527, no entanto, na ocasião a idade mínima para inclusão era 16 anos. Sendo assim, a paciente foi tratada com terapia enzimática IT com autorização do comitê de ética local, mas fora do estudo. A paciente tolerou bem o tratamento e apresentou melhora subjetiva dos sintomas e também no exame neurológico mas os exames de avaliação de imagem, potencial evocado e teste de caminhada não mostraram melhora (DICKSON P, dados não publicados, 2009).

Todos os estudos clínicos supracitados ainda estavam em 2010 recrutando pacientes para participar dos mesmos e os centros de investigação envolvidos são: (i) Holanda e Reino Unido; (ii) Estados Unidos; (iii) Estados Unidos e Finlândia; (iv) Estados Unidos e Finlândia; (v) Estados Unidos e (vi) Estados Unidos, respectivamente. Todos estes são estudos clínicos fase I ou fase I/II. Destes estudos em andamento, um envolve pacientes com MPS III, um estudo se aplica a pacientes com MPS II e quatro protocolos são para pacientes com MPS I, não havendo, portanto, nenhum estudo clínico relatado para tratamento de pacientes com MPS VI com terapia enzimática intratecal (CLINICALTRIALS).

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Concluindo, podemos considerar que a terapia de reposição enzimática para MPS I, MPS II e MPS VI vêm mostrando múltiplos benefícios clínicos relacionados aos desfechos somáticos destas doenças. No entanto, por não ultrapassar a barreira hematoencefálica, a reposição enzimática administrada em dose e via recomendadas não tem impacto no sistema nervoso central e que os três relatos de casos de pacientes com MPS e compressão medular sintomática tratados com reposição enzimática específica por via intratecal, aprovados para uso compassivo no HCPA, registram uma experiência pioneira e com resultados promissores.

Em relação à evolução dos sinais e sintomas relacionados com a compressão medular após o tratamento enzimático intratecal podemos concluir que:

- O paciente adulto com MPS I após 4 injeções de laronidase intratecal apresentou:
 - Melhora de sintomas como dor e parestesia em membros inferiores e região lombar;
 - Aumento da estabilidade ao deambular e ao ficar em pé a partir da posição sentada;
 - Melhora no exame neurológico com desaparecimento de clônus e melhora na sensibilidade térmica;
 - Aumento de 55,6% na ventilação voluntária máxima, 36,6% de melhora na pressão inspiratória máxima e de 17,6% na difusão pulmonar;
 - Aumento de 14% na distância percorrida no teste de caminhada.
- A paciente pediátrica com MPS I após 5 infusões IT de laronidase apresentou:
 - Reaquisição da capacidade de escrever e desenhar e de caminhar com apoio;
 - Melhora na sensibilidade em membros superiores e em membro inferior esquerdo;
 - Melhora na sensibilidade vibratória e normalização da propriocepção.
- O paciente pediátrico com MPS VI após 4 infusões IT de galsulfase

apresentou:

- Melhora na sensibilidade e nos reflexos;
- Melhora significativa na urodinâmica com normalização da incontinência urinária;
- Piora da capacidade de deambular.

Em relação à segurança da aplicação intratecal de laronidase e de galsulfase nestes pacientes podemos concluir que os três pacientes toleraram bem as infusões e não apresentaram Reações Associadas à Infusão (RAI), e:

- O paciente adulto com MPS I após 4 injeções de laronidase intratecal apresentou um episódio de dificuldade na punção lombar com sangramento local, considerado relacionado ao tratamento intratecal.

Este paciente acabou falecendo em 2008 por complicações cardiorrespiratórias relacionadas à MPS I mas não relacionadas à compressão medular e manteve a capacidade de deambular até a internação que culminou com seu óbito.

- A paciente pediátrica com MPS I após 5 infusões IT de laronidase apresentou:
 - Ganho de peso significativo. Considerado não relacionado ao tratamento intratecal e relacionado à maus hábitos alimentares. A família foi orientada quanto a medidas de restrição calórica e hábitos nutricionais saudáveis e adequados.
 - Aumento da secreção em vias aéreas respiratórias. Considerado não relacionado ao tratamento intratecal e secundário à utilização de subdose de laronidase endovenosa (<0,58 mg/kg). Ajuste de dose conforme peso real foi orientado.

A paciente faleceu em 2010 por complicações respiratórias decorrentes de uma infecção aguda. Ela já não deambulava e se mobilizava em cadeira de rodas. Mantinha a capacidade de desenhar porém com dificuldade. Apesar da família solicitar novas infusões IT para a paciente, as condições clínicas foram consideradas de alto risco para submetê-la ao procedimento anestésico e as infusões IT foram temporariamente suspensas com planejamento de reiniciá-las quando a paciente tivesse perdido peso e a secreção de vias

aéreas tivesse diminuído o que acabou não acontecendo.

- O paciente pediátrico com MPS VI após 4 infusões IT de galsulfase apresentou hipotonia generalizada, perda dos movimentos voluntários nos membros e instabilidade cervical e de tronco que foi considerada provavelmente relacionado ao tratamento intratecal.

O paciente acabou sendo submetido à laminectomia e fixação da coluna cervical, com regressão parcial dos sintomas e está em acompanhamento mantendo a terapia endovenosa semanal, associada a terapia intratecal (que recebe em intervalos variáveis 1-3 meses) no Instituto Fernandes Figueira, no Rio de Janeiro, Serviço de origem do paciente e que passou a administrar as infusões IT após a cirurgia de fixação da coluna. As primeiras duas infusões realizadas neste paciente no HCPA foram assistidas pela médica responsável por ele, que o acompanhou desde o Rio de Janeiro, e a primeira injeção IT realizada neste paciente no Instituto Fernandes Figueira foi realizada sob orientação presencial do médico anestesista que realizou todas as injeções enzimáticas IT no HCPA. Até o momento, este paciente já recebeu 13 IT com galsulfase.

Finalmente, em relação ao impacto do uso intratecal como via alternativa em dois pacientes com MPS I e um paciente com VI e compressão medular, refratários ao tratamento convencional, é importante ressaltar que o uso desta terapia IT, até então inédito em seres humanos, foi impulsionado devido ao fato do primeiro paciente tratado possuir restrições quanto à realização da cirurgia de laminectomia, por questões de cunho religioso, levando à equipe assistencial a buscar alternativas. No caso da paciente pediátrica com MPS I as condições clínicas, cardiorrespiratórias, não permitiam a intervenção cirúrgica e no caso do paciente pediátrico com MPS VI, os pais do menor não consentiram a cirurgia pelo alto risco de morbi-mortalidade associado, exposto pela equipe de neurocirurgia. Para estes pacientes, conforme já mencionado ao longo desta tese, a alternativa encontrada foi o da terapia IT como uso passivo, visando aliviar os sintomas já debilitantes dos pacientes em tela, devido à compressão medular.

Como consideração final, há que se considerar os distintos caminhos que levam a avanços científicos partindo da diversidade presente no universo de pacientes que necessitam

atendimento. Uma vez que estudos pré-clínicos de terapia de reposição enzimática por via intraventricular já estavam em curso - com resultados positivos - provavelmente, cedo ou tarde, os mesmos seriam disponibilizados em seres humanos, como indica a atual situação de estudo com terapia intratecal em pacientes com MPS em andamento. Contudo, o caso do primeiro paciente a utilizar a terapia por IT antecipou este uso. No caso da paciente pediátrica com MPS I, tratada no HCPA, permitiu, além de atender uma necessidade iminente da paciente, que o ensaio clínico para tratamento de indivíduos com MPS I e compressão medular aprovado nos Estados Unidos mudasse a idade mínima de inclusão de 16 para oito anos de idade, possibilitando a participação de pacientes pediátricos. O tratamento do paciente infantil com MPS VI trouxe como contribuição para os demais pacientes com MPS VI, a atenção da comunidade médica na possível associação entre a TRE com agudização de potenciais complicações de instabilidade cervical nesta população. Todos estes desdobramentos nos ensinam que sempre cabe a reflexão sobre a importância da consideração das diversas alternativas possíveis quando nos deparamos com situações que se configuram de maneira distinta daquela previamente estabelecida, ou padronizada. E, além disso, aponta para a importância da não discriminação frente a situações que confrontam com estes padrões.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ALBANO LM, SUGAYAMA SS, BERTOLA DR, et al. Clinical and laboratorial study of 19 cases of mucopolysaccharidoses. *Rev Hosp Clin Fac Med Sao Paulo* 55(6):213-218, 2000.
2. ALLEN J. Treatment of respiratory system (not just lung!) abnormalities in mucopolysaccharidosis I. *J Pediatr* 144(5): 561-562, 2004.
3. ALVARO F, TOOGOOD I, FLETCHER JM, et al. Allogenic CD34 selected peripheral stem cell transplant for Maroteaux-Lamy syndrome (mucopolysaccharidosis type VI): rapid haemopoietic and biochemical reconstitution. *Bone Marrow Transplant* 21:419-421, 1998.
4. ALPÖZ AR, COKER N, CELEN E, et al. The oral manifestation of Maroteaux-Lamy syndrome (mucopolysaccharidosis VI): a case report. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 101(5):632-637, 2006.
5. ALROY J, HASKINS M, BIRK DE. Altered corneal stromal matrix organization is associated with mucopolysaccharidosis I, III and VI. *Exp Eye Res* 68(5):523-530, 1999.
6. APPEGARTH DA, TOONE JR, LOWRY RB. Incidence of inborn errors of metabolism in British Columbia, 1969-1996. *Pediatrics* 105(1): e10, 2000.
7. ANBU AT, MERCER J, WRAITH JE. Effect of discontinuing of laranidose in a patient with mucopolysaccharidosis thpe I. *J Inherit Metab Dis* 29:230-231, 2006.
8. ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br>>. Acesso em: 10 outubro 2010, 21:28.
9. ARD JL Jr, BEKKER A, FREMPONG-BOADU, AK. Anesthesia for an adult with mucopolysaccharidosis I. *J Clin Anesth* 17(8):624-626,2005.
10. ARN P, GIUGLIANI R, OKAYUMA T, et al. Treatment trends for mucopolysaccharidosis I: findings from the MPS I Registry. In: 60th ANNUAL MEETING OF THE AMERICAN SOCIETY OF HUMAN GENETICS, 2060, 2010, Washington.
11. ARN P, WRAITH JE, UNDERHILL L. Characterization of surgical procedures in patients with mucopolysaccharidosis type I: findings from the MPS I Registry. *J Pediatr* 154(6):859-864, 2009.

12. ARORA RS, MERCER J, THORNLEY M, et al. Enzyme replacement therapy in 12 patients with MPS I-H/S with homozygous p.Leu549Pro mutation. *J Inher Metab Dis* 30:821, 2007.
13. AUCLAIR D, FINNIE J, WHITE J, et al. Repeated intrathecal injections of recombinant human 4-sulphatase remove dural storage in mature mucopolysaccharidosis VI cats primed with a short-course tolerisation regimen. *Mol Genet Metab* 99(2):132-141, 2010.
14. AUCLAIR D, HOPWOOD JJ, BROOKS DA, et al. Replacement Therapy in Mucopolisaccharidosis VI: advantages of early onset therapy. *Mol Genet Metab* 78(3):163-74, 2003.
15. AZEVEDO ACM, SCHWARTZ IV, KALAKUN L, et al. Clinical and biochemical study of 28 patients with mucopolysaccharidosis type VI. *Clin Genet* 66:208-213, 2004.
16. BACCHUS H, PETERSON DI. Pregnancy complicated by myelopathy due to Maroteaux-Lamy syndrome. *Am J Obstet Gynecol* 136(2):259-260, 1980.
17. BAEHNER F, SCHMIEDESKAMP C, KRUMMENAUER F, et al. Cumulative incidence rates of the mucopolysaccharidoses in Germany. *J Inher Metab Dis* 28(6):1011-1017, 2005.
18. BARTON NW, BRADY RO, DAMBROSIA JM et al. Replacement therapy for inherited enzyme deficiency -- macrophage-targeted glucocerebrosidase for Gaucher's disease. *N Engl J Med* 324(21):1464-1470, 1991.
19. BASSYOUNI HT, AFIFI H, el-AWADI MK, et al. Mucopolysaccharidosis type I: clinical and biochemical study. *East Mediter Health* 6(2-3):359-366, 2000.
20. BELICHENKO PV, DICKSON PI, PASSAGE M, et al. Penetration, diffusion, and uptake of recombinant human α -L-iduronidase after intraventricular injection into the rat brain. *Mol Genet Metab* 86:141-149, 2005.
21. BIELICKI J, CRAWLEY AC, DAVEY RC, et al. Advantages of using same species enzyme for replacement therapy in a feline model of mucopolysaccharidosis type VI. *J Biol Chem* 274(51):36335-36343, 1999.
22. BIELICKI J, MULLER V, FULLER M, et al. Recombinant canine alpha-I-fucosidase: expression, purification, and characterization. *Mol Genet Metabol* 69(1):24-32, 2000.
23. BJORAKER KJ, DELANEY K, PETERS C, et al. Long-term outcomes of adaptive functions for children with mucopolysaccharidosis I (Hurler syndrome) treated with hematopoietic stem cell transplantation. *J Dev Behav Pediatr* 27(4):290-296, 2006.

24. BOELENS JJ, ROCHA V, ALDENHOVE M, et al. Risk factor analysis of outcomes after unrelated cord blood transplantation in patients with Hurler syndrome. *Biol Blood Marrow Transplant* 15:618-625, 2009.
25. BOELENS JJ. Trends in haematopoietic cell transplantation for inborn errors of metabolism. *J Inher Metab Dis* 29:413-420, 2006.
26. BOELENS JJ, WYNN RF, O'MEARA A, et al. Outcomes of hematopoietic stem cell transplantation for Hurler's syndrome in Europe: a risk factor analysis for graft failure. *Bone Marrow Transplant*. 40(3):225-233, 2007.
27. BRADFORD TM, LITJENS T, PARKINSON EJ, et al. Mucopolysaccharidosis type VI (Maroteux-Lamy syndrome): a Y210C mutation causes either altered protein handling or altered protein function of N-acetylgalactosamine 4-sulfatase at multiple points in the vacuolar network. *Biochemistry* 41(15):4962-4971, 2002.
28. BRAUNLIN EA, BERRY JM, WHITLEY CB. Cardiac findings after enzyme replacement therapy for mucopolysaccharidosis type I. *Am J Cardiol* 98:416-418, 2006.
29. BREDENKAMP JK, SMITH ME, DUDLEY JP, et al. Otolaryngologic manifestations of the mucopolysaccharidoses. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 101(6):472-478, 1992.
30. BRILL CB, ROSE JS, GODMILOW I, et al. Spastic quadriplegia due to C1-C2 subluxation in Hurler syndrome. *J Pediatr* 92: 441-443, 1978.
31. BROOKS DA, GIBSON GJ, KARAGEORGOS L, et al. An index case for the attenuated end of the mucopolysaccharidosis type VI clinical spectrum. *Mol Genet Metab* 85: 236-8, 2005.
32. BROOKS DA, KING BM, CRAWLEY AC, et al. Enzyme replacement therapy in Mucopolysaccharidosis VI: evidence for immune responses and altered efficacy of treatment in animal models. *Biochim Biophys Acta* 1361 (2):203-216, 1997.
33. BROOKS DA, MULLER VJ, HOPWOOD JJ. Stop-codon read-through for patients affected by a lysosomal storage disorder. *Trends Mol Med* 12(8):367-373, 2006.
34. BYERS S, NUTTALL JD, CRAWLEY AC, et al. Effect of enzyme replacement therapy on bone formation in a feline model of mucopolysaccharidosis type VI. *Bone* 21(5):425-431, 1997.
35. CANÊDO MG, ALMEIDA LN, SILVA RG, et al. Pseudo-glaucoma in type VI mucopolysaccharidosis: case report. *Arq Bras Oftalmol* 69(6):933-935, 2006.
36. CARDOSO-SANTOS A, AZEVEDO AC, FAGONDES S, et al. Mucopolysaccharidosis type VI (Maroteaux-Lamy syndrome): Assessment of joint mobility and grip and pinch strength. *J Pediatr (Rio J)* 84(2):130-135, 2008.

37. CASANOVA FH, ADAM CB, ALLEMANN N, et al. Findings in the anterior segment on ultrassound biomicroscopy in Maroteaux-Lamy syndrome. *Cornea* 20(3):333-338, 2001.
38. CHANG, M, COOPER JD, SLEAT DE, et al. Intravitreal enzyme replacement improves disease phenotypes in a mouse model of late infantile neuronal ceroid lipofuscinosis. *Mol Ther* 16(4):649-656, 2008.
39. CHEN A, DICKSON P. Intrathecal enzyme replacement therapy to treat spinal cord compression in mucopolysaccharidosis: Overview and rationale. *J Ped Rehab Med* 3:7-11, 2010.
40. CIMAZ R, VIJAY S, HAASE C, et al. Attenuated type I mucopolysaccharidosis in the differential diagnosis of juvenile idiopathic arthritis: a series of 13 patients with Scheie syndrome. *Clin Exp Rheumatol* 24 (2):196-202, 2006.
41. CIVALLERO G, MICHELIN K, DE MARI J, et al. Twelve different enzyme assays on dried blood filter paper samples for detection of patients with selected inherited lysosomal storage diseases. *Clin Chim Acta* 372(1-2):98-102, 2006.
42. CLARKE LA. The mucopolysaccharidoses: a success of molecular medicine. *Expert Rev Mol Med* 10: e1, 2008.
43. CLARKE LA, RUSSEL CS, POWNALL S, et al. Murine mucopolysaccharidosis type I: targeted disruption of the murine alpha-L-iduronidase gene. *Hum Molec Genetics* 6:503-511, 1997.
44. CLARKE LA, WRAITH JE, BECK M, et al. Long-term efficacy and safety of laronidase in the treatment of mucopolysaccharidosis I. *Pediatrics* 123:229-240, 2009.
45. CLINICALTRIALS. Disponível em <<http://www.clinicaltrials.gov>>. Acesso em: 26 out 2010, 19:05.
46. COELHO JC, BURIN MG, WAJNER M, et al. Selective screening of 18.000 high-risk Brazilian patients for the detection of inborn errors of metabolism. *Revista HCPA*, 21(3):286-292, 2001.
47. COELHO JC, WAJNER M, BURIN MG, et al. Selective screening of 10.000 high-risk Brazilian patients for the detection of inborn errors of metabolism. *Eur J Pediatr* 156:650-654, 1997.
48. COLLINS ML, TRABOULSI EI, MAUMENE IH. Optic nerve head swelling and optic atrophy in the systemic mucopolysaccharidoses. *Ophthalmology* 97(11):1445-1449, 1990.
49. COPPA GV, BUZZEGA D, ZAMPINI L, et al. Effect of 6 years of enzyme replacement therapy on plasma and urine glycosaminoglycans in attenuated MPS I patients. *Glycobiology* 20(10):1259-1273, 2010.

50. COX-BRINKMAN J, BOELENS JJ, WRAITH JE, et al. Haematopoietic cell transplantation (HCT) in combination with enzyme replacement therapy (ERT) in patients with Hurler syndrome. *Bone Marrow Transp* 38: 17-21, 2006.
51. COX-BRINKMAN J, SMEULDERS MJC, HOLLAK CEM, et al. Restricted upper extremity range of motion in mucopolysaccharidosis type I: no response to one year of enzyme replacement therapy. *J Inherit Metab Dis* 30: 4750, 2007b.
52. COX-BRINKMAN J, TIMMERMANS RGM, WIJBURG FA, et al. Home treatment with enzyme replacement therapy for mucopolysaccharidosis type I is feasible and safe. *J Inherit Metab Dis* 30: 984, 2007a.
53. CRAWLEY AC, BROOKS DA, MULLER VJ, et al. Enzyme replacement therapy in a feline model of Maroteaux-Lamy syndrome. *J Clin Invest* 97(8):1864-1873, 1996.
54. DESNICK RJ. Enzyme replacement and enhancement therapies for lysosomal diseases. *J Inherit Metab Dis* 27: 385-410, 2004.
55. DICKSON P, HANSON S, McENTEE MF, et al. Early versus late treatment of spinal cord compression with long-term intrathecal enzyme replacement therapy in canine mucopolysaccharidosis type I. *Mol Genet Metab* 101(2-3):115-122, 2010.
56. DICKSON P, McENTEE M, VOGLER C, et al. Intrathecal enzyme replacement therapy: successful treatment of brain disease via the cerebrospinal fluid. *Mol Genet Metab* 91:61-68, 2007.
57. EMEA. European Medicines Agency. Disponível em <<http://www.emea.europa.eu>>. Acesso em: 10 out 2010, 22:54.
58. FDA. US Food and Drug Administration. Disponível em <<http://www.fda.gov>>. Acesso em: 10 outubro 2010, 23:17.
59. FRANTANTONI JC, HALL CW, NEUFELD EF. The defect in Hurler's and Hunter's syndromes: Faulty degradation of mucopolysaccharide. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 60:699-706, 1968.
60. FULLER M, HOPWOOD JJ, ANSON DS. Receptor mediated binding of two glycosylation forms of N-acetylgalactosamine-4-sulphatase. *Biochimica et Biophysica Acta* 1406: 283-290, 1998.
61. FULLER M, MEIKLE PJ, HOPWOOD JJ. Glycosaminoglycan degradation fragments in mucopolysaccharidosis I. *Glycobiology* 14:443-450, 2004.
62. GABRIELLI O, CLARKE LA, BRUNI S, et al. Enzyme-replacement therapy in a 5-month-old boy with attenuated presymptomatic MPS I: 5-year follow-up. *Pediatrics* 125(1):e183-187, 2010.

63. GIUGLIANI R, FEDERHEN A, MUÑOZ ROJAS MV, et al. Terapia de reposição enzimática para as mucopolissacaridoses I, II e VI: recomendações de um grupo de especialistas brasileiros. *Rev. Assoc Med Bras* 56 (3):257–277, 2010.
64. GIUGLIANI R, HARMATZ P, WRAITH JE. Management guidelines for mucopolysaccharidosis VI. *Pediatrics* 120 (2):405-418, 2007.
65. GIUGLIANI R, ROJAS VM, MARTINS AM, et al. A dose-optimization Trial of laronidase (Aldurazyme®) in patients with mucopolysaccharidosis I. *Mol Genet Metab* 96(1):13-19, 2009.
66. GOLDIM JR. O uso de drogas ainda experimentais em assistência: extensão de pesquisa, uso compassivo e acesso expandido. *Rev Panam Salud Publica*. 2008;23(3):198–206.)
67. GREWAL SS, WYNN R, ABDENUR JE, et al. Safety and efficacy of enzyme replacement therapy in combination with hematopoietic stem cell transplantation in Hurler syndrome. *Genet Med* 7 (2):143-146, 2005.
68. GUFFON N, SOUILLET G, MAIRE I et al. Follow-up of nine patients with Hurler syndrome after bone marrow transplantation. *J Pediatr* 133(1):119-125, 1998.
69. HARMATZ P. Entering a new treatment age for mucopolysaccharidosis VI disease: a search for better markers of disease progression and response to treatment. *J Pediatr (Rio J)* 84(2):103-106, 2008.
70. HARMATZ P, GIUGLIANI R, SCHWARTZ I, et al. Enzyme replacement therapy for mucopolysaccharidosis VI: a phase 3, randomized, double-blind, placebo-controlled, multinational study of recombinant human N-acetylgalactosamine 4-sulphatase [recombinant human arylsulfatase B or RHASB] and follow-on open label extension study. *J Pediatr* 148:533-539, 2006.
71. HARMATZ P, KRAMER WC, HOPWOOD JJ, et al. Mucopolysaccharidosis VI Study Group. Pharmacokinetics profile of recombinant human N-acetylgalactosamine 4-sulphatase enzyme replacement therapy in patients with mucopolysaccharidosis VI (Maroteaux-Lamy syndrome): a phase I/II study. *Acta Paediatr* 94(Suppl. 447) 61-68. Discussion 57. 2005.
72. HARMATZ P, WHITLEY CB, WABER L, et al. Enzyme replacement therapy in mucopolysaccharidosis VI (Maroteaux-Lamy syndrome). *J Pediatr* 144(5):574-580, 2004.
73. HASKINS M, WALKLEY S, RHODES J et al. Intrathecal enzyme therapy in mucopolysaccharidosis I cats reduces storage throughout the brain. *Am Soc Hum Genet Annual Meeting*. Poster número 2234/W, apresentado em 24/10/2007.

74. HAYFLICK S, ROWE S, KAVANAUGH-McHUGH A, et al. Acute infantile cardiomyopathy as a presenting feature of mucopolysaccharidosis VI. *J Pediatr* 120(2 Pt 1):269-272, 1992
75. HEIN LK, BAWDEN M, MULLER VJ, et al. Alpha-L-iduronidase premature stop codons and potential read-through in mucopolysaccharidosis type I patients. *J Mol Biol* 338(3):453-462, 2004.
76. HEMSLEY KM, KING B, HOPWOOD JJ. Injection of recombinant human sulfamidase into the CSF via the cerebellomedullary cistern in MPS IIIA mice. *Mol Genet Metab* 90:313-328, 2007.
77. HEMSLEY KM, BEARD H, KING BN, et al. Effect of high dose, repeated intracerebrospinal fluid injection of sulphamidase of neuropathology in mucopolysaccharidosis type IIIA mice. *Genes, Brain Behav* 7:740-753, 2008.
78. HEMSLEY KM, LUCK AJ, CRAWLEY AC, et al. Examination of intravenous and infra-CSF protein delivery for treatment of neurological disease. *Europ J Neuroscience* 29:1197-1214, 2009a.
79. HEMSLEY KM, NORMAN EJ, CRAWLEY AC, et al. Effect of cisternal sulfamidase delivery in MPS III A Huntaway dogs – A proof of principal study. *Mol Genet Metab* 98:382-392, 2009b.
80. HENDRIKSZ C, HARMATZ P, GIUGLIANI R, et al. Preliminary analysis of cervical cord compression in mucopolysaccharidosis VI patients aged <6 years old before and after enzyme replacement therapy with Naglazyme ® (galsulfase). In: 60th ANNUAL MEETING OF THE AMERICAN SOCIETY OF HUMAN GENETICS, 3066, 2010, Washington.
81. HERSKHOVITZ E, YOUNG E, RAINER J, et al. Bone marrow transplantation for Maroteaux-Lamy syndrome (MPS VI): long-term follow-up. *J Inherit Metab Dis.* 22:50-62, 1999.
82. HGMD. The Human Gen Mutation Database at the Institute of Medical Genetics in Cardiff. Disponível em <<http://www.hgmd.cf.ac.uk>>. Acesso em: 10 novembro 2010, 17:08.
83. HIRTH A, BERG A, GREVE G. Successful treatment of severe heart failure in na infant with Hurler syndrome. *J Inherit Metab Dis* 30:820, 2007.
84. HITE SH, KRIVIT W, HAINES SJ, et al.. Syringomyelia in mucopolysaccharidosis type VI (Maroteaux-Lamy syndrome): imaging findings following bone marrow transplantation. *Pediatr Radiol* 27:736-738, 1997.

85. HITE SH, PETERS C, KRIVIT W. Correction of odontoid dysplasia following bone-marrow transplantation and engraftment (In Huler syndrome MPS 1H). *Pediatr Radiol* 30(7):464- 470, 2000.
86. HOBBS JR, HUGH-JONES K, BARRETT AJ, et al. Reversal of clinical features of Hurler's disease and biochemical improvement after treatment by bone-marrow transplantation. *Lancet* 2(8249):709-712, 1981.
87. HWU WL, WANG TR. Quantification of arylsulfatase B activity and diagnosis of Maroteaux-Lamy syndrome. *Zhonghua Min Guo Xiao Er Ke Yi Xue Hui Za Zhi* 32(5):280-285, 1991.
88. KACHUR E, DEL MAESTRO R. Mucopolysaccharidoses and spinal cord compression: case report and review of the literature with implications of bone marrow transplantation. *Neurosurgery* 47(1):223-229, 2000.
89. KAKKIS ED. Enzyme replacement therapy for the mucopolysaccharide storage disorders. *Expert Opin Investig Drug* 11(5):675-85, 2002.
90. KAKKIS ED, McENTEE MF, SCHMIDTCHEN A, et al. Long-term and high-dose trials of enzyme replacement therapy in the canine model of mucopolysaccharidosis I, *Biochem Mol Med* 58:156-167, 1996.
91. KAKKIS E, McENTEE M, VOGLER C, et al. Intrathecal enzyme replacement therapy reduces lysosomal storage in the brain and meninges of the canine model of MPS I. *Mol Genet Metab* 83:163-174, 2004.
92. KAKKIS ED, McENTEE MF, SCHMIDTCHEN A, et al. Long-term and high-dose trials of enzyme replacement therapy in the canine model of mucopolysaccharidosis I, *Biochem Mol Med* 58:156-167, 1996.
93. KAKKIS ED, MUENZER J, TILLER GE, WUABER L, BELMONT J, PASSAGE M, IZYKOWSKI B, PHILLIPS J, DOROSHOW R, WALOT I, HOFT R, NEUFELD EF. Enzyme replacement therapy in mucopolysaccharidosis I. *N Engl J Med* 344:182-188, 2001.
94. KAKKIS ED, SCHUCHMAN E, HE X, et al. Enzyme replacement therapy in feline mucopolysaccharidosis I. *Mol Genet Metab* 72(3):199-208, 2001.
95. KARAGEORGOS L, BROOKS DA, POLLARD A, et al. Mutational analysis of 105 mucopolysaccharidosis type VI patients. *Hum Mutat* 28(9):897-903, 2007.
96. KASPER DC, IQBAL F, DVORAKOVA L, et al. Rapid and accurate denaturing high performance liquid chromatography protocol for the detection of alpha-l-iduronidase mutations causing mucopolysaccharidosis type I. *Clin Chim Acta* 411:345-350, 2010.

97. KAUFMAN HH, ROSENBERG HS, SCOTT CI, et al. Cervical myelopathy due to dural compression in mucopolysaccharidosis. *Surg Neurol* 17:404-410, 1982.
98. KENNEDY P, SWUASH M, DEAN MF. Cervical cord compression in mucopolysaccharidosis. *Dev Med Child Neurol* 15(2):194-199, 1973.
99. KHAN SA, SEHAT K, CALTHORPE D. Cervical cord compression in an elderly patient with Hurler's syndrome: a case report. *Spine* 28(16):E313-315, 2003.
100. KLOSKA A, BOHDANOWICZ J, KONOPA G, et al. Changes in hair morphology of mucopolysaccharidosis I patients treated with recombinant human α -L-iduronidase (Laronidase, Aldurazyme). *Am J Med Genet A* 139:199-203, 2005.
101. LAKHOTIA S, SHARMA A, SHRIVASTAVA GP, et al. Maroteaux-Lamy syndrome. *Indian J Pediatr* 71(10):933-935, 2004.
102. LANGE MC, TEIVE HAG, TROIANO AR, et al. Bone marrow transplantation in patients with storage diseases: a developing country experience. *Arq Neuropsiquiatr* 64:1-4, 2006.
103. LANZL IM, LEROY BP. Ocular Features of Treatable Lysosomal Storage Disorders – Fabry Disease, Mucopolysaccharidoses I, II and VI and Gaucher Disease. *European Ophthalmic Review* 3:44-51, 2008.
104. LEE V, LI CK, SHING MM, et al. Umbilical cord blood transplantation for Maroteaux-Lamy syndrome (mucopolysaccharidosis type VI). *Bone Marrow Transplant* 26:455-458, 2000.
105. LEE WC, TSOI YK, TROENDLE FJ, et al. Single-dose intracerebroventricular administration of galactocerebrosidase improves survival in a mouse model of globoid cell leukodystrophy. *FASEB J* 21:2520-2527, 2007.
106. LEIGHTON SE, PAPSIN B, VELLODY A, et al. Disordered breathing during sleep in patients with mucopolysaccharidosis. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 58(2):127-138, 2001.
107. LEISTNER S, GIUGLIANI R. A useful routine for the biochemical detection and diagnosis of mucopolysaccharidoses. *Genet Molec Biol* 21 (1):163-167, 1998.
108. LEVIN TL, BERDON WE, LACHMAN RS, et al. Lumbar gibbus in storage diseases and bone dysplasias. *Pediatr Radiol* 27(4):289-294, 1997.
109. LIN HY, LIN SP, CHUANG CEK, et al. Mucopolysaccharidosis I under enzyme replacement therapy with laronidase – A mortality case with autopsy report. *J Inherit Metab Dis* 28:1146-1148, 2005.

110. LITJENS T, BAKER EG, BACKMANN KR, et al. Chromosomal localization of ARSB, the gene for human N-acetylgalactosamine-4-sulfatase. *Hum Genet* 82(1):67-68, 1989.
111. LITJENS T, HOPWOOD JJ. Mucopolysaccharidosis type VI: Structural and clinical implications of mutation in N-acetylgalactosamine-4-sulfatase. *Hum Mutat* 18(4):282-295, 2001.
112. LOWRY RB, APPLGARTH DA, TOONE JR, et al. An update on the frequency of mucopolysaccharide syndromes in British Columbia. *Hum Genet* 85(3):389-390, 1990.
113. LÜCKE T, DAS AM, HARTMANN H, et al. Development outcome in five children with Hurler syndrome after stem cell transplantation: a pilot study. *Dev Med Child Neurol* 49:693-696, 2007.
114. MALM G, LUND AM, MÅNSSON JE, et al. Mucopolysaccharidoses in the Scandinavian countries: incidence and prevalence. *Acta Paediatr* 97(11):1577-1581, 2008.
115. MARINHO D, AZEVEDO AC, RYMER S, et al. Pseudo-glaucoma in type VI mucopolysaccharidosis: case report. *Arq Bras Oftalmol* 70(3):563-564, 2007.
116. MAROTEAUX P, LEVÉQUE B, MARIE J, et al. Une nouvelle dystostose avec élimination urinaire de chondroïtine-sulfate B. *La Presse Médicale* 25 (39):1849-1852, 1963.
117. MARTINS AM, DAULIBI AP, NORATO D, et al. Guidelines for the management of mucopolysaccharidosis type I. *J Pediatr* 155(4 Suppl 2):S32-S46, 2009.
118. MATSUKI A. Nothing new under the sun – A Japanese pioneer in the clinical use of intrathecal morphine. *Anesthesiology* 58:289-290, 1983.
119. MATTE U, LEISTNER S, LIMA L, SCHWARTZ I, GIUGLIANI R. Unique frequency of known mutations in Brazilian MPS I patients. *Am J Med Genet* 90:108-109, 2000.
120. MATTE U, YOGALINGAM G, BROOKS D, et al. Identification and characterization of 13 new mutations in mucopolysaccharidosis I patients. *Mol Genet Metab* 78:37-43, 2003.
121. MEIKLE PJ, HOPWOOD JJ, CLAGUE AE, et al. Prevalence of lysosomal storage disorders. *JAMA* 281:249-254, 1999.
122. MENON KP, TIEU PT, NEUFELD EF. Architecture of the canine IDUA gene and mutation underlying canine mucopolysaccharidosis Type I. *Genomics* 14:763-768, 1992.

123. MILLER G, PARTRIDGE A. Mucopolysaccharidosis type VI presenting in infancy with endocardial fibroelastosis and heart failure. *Pediatr Cardiol* 4(1):61-62, 1983.
124. MOORE D, CONNOCK MJ, WRAITH E, et al. The prevalence of and survival in Mucopolysaccharidosis I: Hurler, Hurler-Scheie and Scheie syndromes in the UK. *Orphanet J Rare Dis* 3:24, 2008.
125. MUENZER J, WRAITH JE, CLARKE LA, et al. Mucopolysaccharidosis I: Management and Treatment Guidelines. *Pediatrics*, 123:19-29, 2009.
126. MUÑOZ-ROJAS MV, HOROVITZ DD, JARDIM LB, et al. Intrathecal administration of recombinant human N-acetylgalactosamine 4-sulfatase to a MPS VI patient with pachymeningitis cervicalis. *Mol Genet Metab* 99(4):346-350, 2010.
127. MUÑOZ-ROJAS MV, VIEIRA T, COSTA R, et al. Intrathecal enzyme replacement therapy in a patient with mucopolysaccharidosis type I and symptomatic spinal cord compression. *Am J Med Genet A* 146:2538-2544, 2008.
128. MUSHARBASH A. Carpal tunnel syndrome in a 28-month-old child. *Pediatr Neurosurg* 37(1):32-34, 2002.
129. MUT M, CILA A, VARLI K, et al. Multilevel myelopathy in Maroteaux-Lamy syndrome and review of the literature. *Clin Neurol Neurosurg* 107:230-235, 2005.
130. NELSON J. Incidence of the mucopolysaccharidoses in Northern Ireland. *Hum Genet* 101(3):355-358, 1997.
131. NEUFELD EF, FRATANTONI JC. Inborn errors of mucopolysaccharide metabolism. *Science* 169:141-146, 1970.
132. NEUFELD EF, MUENZER J. The mucopolysaccharidosis. In: SCRIVER C, et al. *The metabolic and molecular bases of inherited diseases*. New York: McGraw-Hill, 2001. p. 3421-3452.
133. PANTELIADIS CP, KARATZA ED, TZITIRIDOU MK, et al. Lissencephaly and mongolian spots in Hurler syndrome. *Pediatr Neurol* 29(1):59-62, 2003.
134. PASSAGE MB, KRIEGER AW, PEINOVICH MC, et al. Continuous infusion of enzyme replacement therapy is inferior to weekly infusions in MPS I dogs. *J Inher Metab Dis* 2009 [e-pub ahead of print].
135. PASTORES GM, ARN P, BECK M, et al. The MPS I Registry: Design, methodology, and early findings of a global disease registry for monitoring patients with mucopolysaccharidosis type I. *Mol Genet Metab* 91:37-47, 2007.

136. PAULSON GW, MEAGHER JN, BURKHART J. Spinal pachymeningitis secondary to mucopolysaccharidosis. Case report. *J Neurosurg* 41(5):618-621, 1974.
137. PETERS C, BALTHAZOR M, SHAPIRO EG, et al. Outcome of unrelated donor bone marrow transplantation in 40 children with Hurler syndrome. *Blood* 87:4894-4902, 1996.
138. PETERS C, SCHMITT B, ROMMERSKIRCH W, et al. Phylogenetic conservation of arylsulfatases. cDNA cloning and expression of human arylsulfatase B. *J Biol Chem* 265(6):3374-3381, 1990.
139. PETERS C, SHAPIRO EG, ANDERSON J. et al. Hurler syndrome: II. Outcome of HLA-genotypically identical sibling and HLA-haploidentical related donor bone marrow transplantation in fifty-four children. The Storage Disease Collaborative Study. Group. *Blood* 91:2601-2608, 1998.
140. PETERS C, STEWARD CG. Hematopoietics cell transplantation for inherited metabolic diseases: an overview of outcomes and practice guidelines. *Bone Marrow Transplant* 31:229-239, 2003.
141. PETERSON DT, BACCHUS H, SEAICH L, et al. Myelopathy associated with Maroteaux-Lamy syndrome. *Arch Neurol* 32:127-129, 1975.
142. PETRY MFG, DIETER T, BURIN M, et al. Identification of a novel mutation in the ARSB gene that is frequent among brazilian MPS VI patients. *Genetic Testing* 7(4):347-349, 2003.
143. PETRY MF, NONEMACHER K, SEBEN JC, et al. Mucopolysaccharidosis type VI: Identification of novel mutations on the arylsulphatase B gen in South American patients. *J Inherit Metab Dis* 28(6):1027-1034, 2005.
144. PINTO R, CASEIRO C, LEMOS M, et al. Prevalence of lysosomal storage diseases in Portugal. *Eur J Hum Genet* 12(2):87-92, 2004.
145. PITZ S, OGUN O, BAJBOUJ M, et al. Ocular changes in patients with mucopolysaccharidosis I receiving enzyme replacement therapy: a 4-year experience. *Arch Ophthalmol* 125(10):1353-1356, 2007.
146. POORTHUIS BJHM, WEVERS RA, KLEIJER WJ, et al. The frequency of lysosomal storage diseases in The Netherlands. *Hum Genet* 105:151-156, 1999.
147. PRASAD V, KURTZBERG J. Transplant outcomes in mucopolysaccharidoses. *Semin Hematol* 47:59-69, 2010.
148. PRASAD VK, MENDIZABAL A, PARIKH SH, et al. Unrelated donor umbilical cord blood transplantation for inherited metabolic disorders in 159 pediatric patients from

- a single center: influence of cellular composition of the graft on transplantation outcomes. *Blood* 112:2979-2989, 2008.
149. REIS A Jr. Eulogy to August Karl Gustav Bier on the 100th anniversary of intravenous regional block and the 110th anniversary of spinal block. *Rev Bras Anestiol* 58(4):409-424, 2008.
 150. SAVAS PS, HEMSLEY KM, HOPWOOD JJ. Intracerebral injection of sulfamidase delays neuropathology in murine MPS-IIIa. *Molec Genet Metabol* 82:273-285, 2004.
 151. SARDÓN O, PARDOS CG, MINTEGUI J, et al. Evolución de dos pacientes con síndrome de Hurler en tratamiento con enzima recombinante humana α -L-iduronidasa. *An Pediatr (Barc)* 63:61-67, 2005.
 152. SCOTT HS, ANSON DS, ORSBORN AM, et al. Human alpha-L-iduronidase: cDNA isolation and expression. *Proc Natl Acad Sci. USA* 88:9695-9699, 1991.
 153. SEMENZA GL, PYERITZ RE. Respiratory complications of mucopolysaccharide storage disorders. *Medicine (Baltimore)* 67(4):209-219, 1988.
 154. SHERIDAN M, CHASELING R, JOHNSTON IH. Hydrocephalus, lumbar canal stenosis and Maroteaux-Lamy syndrome (mucopolysaccharidosis type 6). Case report. *J Neurosurg Sci.* 36 (4):215-217, 1992.
 155. SHIH SL, LEE YJ, LIN SP, et al. Airway changes in children with mucopolysaccharidoses. *Acta Radiol* 43(1):40-43, 2002.
 156. SHINHAR SY, ZABLOCKI H, MADGY DN. Airway management in mucopolysaccharide storage disorders. *Arch Otorolaryngol Head Neck Surg* 130(2):233-237, 2004.
 157. SHULL RM, KAKKIS ED, McENTEE MF et al. Enzyme replacement in canine model of Hurler syndrome. *Proc Natl Acad Sci USA.* 91:12937-12941, 1994.
 158. SIFUENTES M, DOROSHOW R, HOFT R, et al. A Follow-Up Study of MPS I Patients Treated with Laronidase Enzyme Replacement Therapy for 6 Years. *Mol Genet Metab* 90:171-180, 2007.
 159. SIMMONS MA, BRUCE IA, PENNEY S, et al. Otorhinolaryngological manifestation of the mucopolysaccharidoses. *Int J Otorhinolaryngol* 69(5):589-595, 2005.
 160. SMITH HS, DEER TR, STAATS PS, et al. Intrathecal Drug Delivery. *Pain Physician; Opioid Special Issue* 11:S89-S104, 2008.

161. SOLIMAN OI, TIMMERMANS RG, NEMES A, et al. Cardiac abnormalities in adults with the attenuated form of mucopolysaccharidosis type I. *J Inherit Metab Dis* 30 (5):750-757, 2007.
162. SONI S, HENTE M, BRESLIN N, et al. Pre-stem cell transplantation enzyme replacement therapy in Hurler syndrome does not lead to significant antibody formation or delayed recovery of the endogenous enzyme post-transplant: A case report. *Pediatr Transplantation* 11:563-567, 2007.
163. SOSTRIN RD, HASSO AN, PETERSON DJ, et al. Myelographic features of mucopolysaccharidoses: a new signs. *Radiology* 125:421-424, 1977.
164. SOUILLET G, GUFFON N, MAIRE I et al. Outcome of 27 patients with Hurler's syndrome transplanted from either related or unrelated haematopoietic stem cell sources. *Bone Marrow Transplant* 31(12):1105-1117, 2003.
165. SOUTAR RL, MERCER J, WRAITH JE. Impact of 144 weeks of laronidase therapy on body functions endurance and general well-being in a Hurler-Scheie patient. *J Inherit Metab Dis* 24(4):590, 2006.
166. STABA SL, ESCOLAR ML, POE M, et al. Cord-Blood Transplants from Unrelated Donors in Patients with Hurler's Syndrome. *N Engl J Med* 350:1960-1969, 2004.
167. SWIEDLER SJ, BECK M, BAJBOUJ M, et al. Threshold effect of urinary glycosaminoglycans and the walk test as indicator of disease progression in a survey of subjects with Mucopolysaccharidosis VI (Maroteaux-Lamy syndrome). *Am J Med Genet A* 134(2):144-150, 2005.
168. TAMAKI N, KOJIMA N, TANIMOTO M, et al. Myelopathy due to diffuse thickening of the cervical dura matter in Maroteaux-Lamy syndrome: report of a case. *Neurosurgery* 21: 416-419, 1987.
169. TAN CT, SCHAFF HV, MILLER FA Jr, et al. Valvular heart disease in four patients with Maroteaux-Lamy syndrome. *Circulation* 85:188-195, 1992.
170. TAYLOR C, BRADY P, O'MEARA A, et al. Mobility in Hurler Syndrome. *J Pediatr Orthop* 28(2):163-168, 2008.
171. TERLATO NJ, COX GF. Can mucopolysaccharidosis Type I disease severity be predicted based on a patient's genotype? A comprehensive review of the literature. *Genet Med* 5: 286-294, 2003.
172. THOMAS JA, JACOBS S, KIERSTEIN J, VAN HOVE J. Outcome after three years of laronidase enzyme replacement therapy in a patient with Hurler syndrome. *J Inherit Metab Dis* 29:762, 2009.

173. THORNE JA, JAVADPOUR M, Hughes DG, et al. Craniovertebral abnormalities in type VI mucopolysaccharidosis (Maroteaux-Lamy syndrome). *Neurosurgery* 48: 849-853, 2001.
174. TOKIC V, BARISIC I, HUZJAK N, et al. Enzyme replacement therapy in two patients with an advanced severe (Hurler) phenotype of mucopolysaccharidosis I. *Eur J Pediatr* 166(7): 727-732, 2007.
175. TOLAR J, DICKSON P, ORCHARD P. Combined intrathecal iduronidase, intravenous iduronidase and transplantation as therapy for Hurler syndrome. *Mol Genet Metab* 96:S12-S47, 2009.
176. TOLAR J, GREWAL SS, BJORAKER KJ, et al. Combination of enzyme replacement and hematopoietic stem cell transplantation as therapy for Hurler syndrome. *Bone Marrow Transplant* 41:531-535, 2008.
177. TOLAR J, ORCHARD PJ. A-L-iduronidase therapy for mucopolysaccharidosis type I. *Biologics Targets & Therapy* 2 (4):743-751, 2008.
178. TURNER CT, HOPWOOD JJ, BOND CS, et al. Immune response to enzyme replacement therapy: 4-sulfatase epitope reactivity of plasma antibodies from MPS VI cats. *Mol Genet Metab* 67(3):194-205, 1999.
179. TURNER CT, HOPWOOD JJ, BROOKS DA. Enzyme replacement therapy in mucopolysaccharidosis I: altered distribution and targeting of α -L-iduronidase in immunized rats. *Molec Gen Metabol* 69 (4):277-285, 2000.
180. TYLKI-SZYMANSKA A, MARUCHA J, JURECKA A, et al. Efficacy of recombinant human alpha-L-iduronidase (laronidase) on restricted range of motion of upper extremities in mucopolysaccharidosis type I patients. *J Inherit Dis* 33(2):151-157, 2010.
181. VALAYANNOPOULOS V, NICELY H, HARMATZ P, TURBEVILLE S. Mucopolysaccharidosis VI. *Orphanet J Rare Dis* 5:1-20, 2010.
182. VELLODI A, YOUNG EP, COOPER A, et al. Bone marrow transplantation for mucopolysaccharidosis type I: experience of two British centres. *Arch Dis Child* 76:92-99, 1997.
183. VEDOLIN L, SCHWARTZ IV, KOMLOS M, et al. Brain MRI in mucopolysaccharidosis: effect of aging and correlation with biochemical findings. *Neurology* 69(9):917-924, 2007.
184. VIJAY S, WRAITH JE. Clinical presentation and follow up of patients with the attenuated phenotype of mucopolysaccharidosis type I. *Acta Paediatr* 94(7):872-877, 2005.

185. VIJAYALAKSHMI AM. Mucopolysaccharidosis types IV and VI. *Indian Pediatr* 39(6):594-595, 2002.
186. VOUGIOUKAS VI, BERLIS A, KOPP MV, et al. Neurological Interventions in Children with Maroteaux-Lamy Syndrome. *Pediatr Neurosurg* 35:35-38, 2001.
187. WALKER RW, COLOVIC V, ROBINSON DN, et al. Postobstructive pulmonary oedema during anaesthesia in children with mucopolysaccharidoses. *Paediatr Anaesth* 13:441-447, 2003.
188. WALKER RWM, DAROWSKI M, MORRIS P, et al. Anaesthesia and mucopolysaccharidoses. *Anaesthesia* 49:1078-1084, 1994.
189. WANG C-C, HWU W-L, LIN K-H. Long-term follow-up of a girl with Maroteaux-Lamy syndrome after bone marrow transplantation. *World J Pediatr* 4 (2):152-154, 2008.
190. WANG JK, NAUS LA, THOMAS JE. Pain relief by intrathecally applied morphine in man. *Anesthesiology* 50:149-151, 1979.
191. WEGRZYN G, TYLKI-SZYMANSKA A, LIBEREK A, et al. Rapid deterioration of a patient with mucopolysaccharidosis type I during interruption of enzyme replacement therapy. *Am J Med Genet A* 143:1925-1927, 2007.
192. WEINSSTEIN, JS, DELGADO E, STEINBACH LS, et al. Musculoskeletal manifestations of Hurler syndrome: Long-term follow-up after bone marrow transplantation. *J Pediatr Orthop* 24(1):97-101, 2004.
193. WHITLEY CB, BALANI KG, CHANG PN et al. Long-term outcome of Hurler syndrome following bone marrow transplantation. *Am J Med Genet* 46(2):209-218, 1993.
194. WHITLEY CB, UTZ JRJ. Maroteaux-Lamy syndrome (mucopolysaccharidosis type VI): A single dose of galsulfase further reduces urine glycosaminoglycans after hematopoietic stem cell transplantation. *Mol Genet Metab* (2010), doi: 10.1016/j.ymgme.2010.07.015
195. WICKER G, PRILL V, BROOKS C, et al. Mucopolysaccharidosis VI (Maroteaux-Lamy syndrome) an intermediate clinical phenotype caused by substitution of valine for glycine at position 137 of arylsulfatase B. *J Biol Chem* 266(32):21386-21391, 1991.
196. WIPPERMANN CF, BECK M, SCHRANZ D, et al. Mitral and aortic regurgitation in 84 patients with mucopolysaccharidoses. *Eur J Pediatr* 154(2):98-101, 1995.
197. WRAITH JE. The mucopolysaccharidoses: a clinical review and guide to management. *Arch Dis Child* 72(3):263-267, 1995.

198. WRAITH JE. Enzyme replacement therapy in mucopolysaccharidosis type I: Progress and emerging difficulties. *J Inherit Metab Dis* 24:245-250, 2001.
199. WRAITH JE. The first 5 years of clinical experience with laronidase enzyme replacement therapy for mucopolysaccharidosis I. *Expert Opin Pharmacother* 6 (3):489-506, 2005.
200. WRAITH JE, BECK MD, LANE R, et al. Enzyme replacement therapy in patients who have mucopolysaccharidosis I and are younger than 5 years: results of a multinational study of recombinant human α -L-Iduronidase (laronidase). *Pediatrics* 120:37-46, 2007.
201. WRAITH JE, CLARKE LA, BECK M, et al. Enzyme replacement therapy for mucopolysaccharidosis I: A randomized, double-blinded, placebo controlled, multinational study of recombinant human α -L-Iduronidase (laronidase). *J Pediatr* 144:581-588, 2004.
202. WRAITH JE, CLARKE JTR. The mucopolysaccharidoses. In: BLAU N, HOFFMANN GF, LEONARD J, CLARKE JTR. *Physician's Guide to the Treatment and Follow-Up of Metabolic Diseases*. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag, 2006. p. 195-203.
203. WRAITH JE, HOPWOOD JJ, FILLER M, et al. Laronidase treatment of mucopolysaccharidosis I. *Biodrugs* 19 (1):1-7, 2005.
204. YAKSH TL, RUDY TA. Analgesia mediated by a direct spinal action of narcotics. *Science* 192(4246):1357- 1358, 1976.
205. YANG CF, WU JY, LIN SP, et al. Mucopolysaccharidosis type VI: Report of two Taiwanese patients and identification of one novel mutation. *J Formos Med Assoc* 100(12):820-823, 2001.
206. YASUOKA S, PETERSON HA, MacCARTY CS. Incidence of spinal column deformity after multilevel laminectomy in children and adults. *J Neurosurg* 57:441-445, 1982.
207. YOGALINGAM G, LIDJENS T, BIELICKI J, et al. Feline mucopolysaccharidosis type VI: Characterization of recombinant N-acetylgalactosamine 4-sulfatase and identification of a mutation causing the disease. *J Biol Chem* 271(44):27259-27265, 1996.
208. YOUNG R, KLEINMAN G, OJEMANN RG, et al. Compressive myelopathy in Maroteaux-Lamy syndrome: clinical and pathological findings. *Ann Neurol* 8:336-340, 1980.

6. ANEXOS

ANEXO 1: RECOMENDAÇÕES MÍNIMAS DE ACOMPANHAMENTO DO PACIENTE COM MPS I SEGUNDO PROGRAMA DE REGISTRO MPS I

ANEXO 2: INSTRUÇÕES E PROCURAÇÃO PARA TRATAMENTO DE SAÚDE

ANEXO 3: OFÍCIO DO CONSELHO REGIONAL DE MEDICINA DO ESTADO DO RIO GRANDE DO SUL

ANEXO 4: RESOLUÇÃO DO CONSELHO FEDERAL DE MEDICINA nº1.021/80

ANEXO 5: APROVAÇÃO DO ESTUDO 04-403

ANEXO 6: PROTOCOLO PARA CONTINUAÇÃO DE TRATAMENTO INTRATECAL POR USO COMPASSIVO PARA PACIENTE ADULTO COM MPS I E COMPRESSÃO MEDULAR SINTOMÁTICA

ANEXO 7: CONSENTIMENTO INFORMADO DO PACIENTE ADULTO COM MPS I

ANEXO 8 CARTA DE SUBMISSÃO PARA PUBLICAÇÃO

ANEXO 9: TERMO DE COMPROMISSO

**ANEXO 1: RECOMENDAÇÕES MÍNIMAS DE ACOMPANHAMENTO DO PACIENTE COM
MPS I SEGUNDO PROGRAMA DE REGISTRO MPS I**

	Avaliação Inicial	A cada 6 meses	A cada 12 meses	A cada 2 anos
GERAL				
Dados demográficos	▪			
Diagnóstico do paciente	▪			
História Médica	▪	▪		
Exame Físico	▪	▪		
Aspecto Geral	▪	▪		
AVALIAÇÕES CLÍNICAS DA MPS I				
Neurológico/SNC				
RM Crânio	▪			▪
RM Coluna	▪			▪
Velocidade de condução do nervo mediano	▪			▪
Teste Cognitivo (Q.I)	▪		▪	
Oftalmológico				
Acuidade visual	▪		▪	
Exame de retina	▪		▪	
Exame de córnea	▪		▪	
Auditivo				
Audiometria	▪		▪	
Cardíaco				
Ecocardiograma	▪			▪
ECG	▪			▪
Respiratório				
FVC/FEV1	▪	▪		
Estudo do sono	▪		▪	
Gastrointestinal				
Volume esplênico	▪			▪
Volume hepático	▪			▪
Músculo-esquelético				

Rx do esqueleto	▪			▪
MEDIDAS E TESTES LABORATORIAIS				
Peso/Altura	▪	▪		
Circunferência craniana	▪	▪		
Pressão arterial	▪	▪		
Nível de atividade enzimática	▪			
Nível de GAG urinário	▪	▪		
Exame qualitativo de urina	▪	▪		
MEDIDAS DE RESULTADOS FUNCIONAIS				
Questionário de Avaliação de Saúde MPS I ou outro instrumento que avalie as habilidades funcionais e a qualidade de vida	▪	▪		

Pacientes recebendo Terapia de Reposição Enzimática (TRE)	
Quando do início da TRE	Além de completar as avaliações iniciais quando da inclusão no Registro MPS I, deverá haver documentação destas avaliações como exames de base no momento da primeira infusão de TRE.
Administração de TRE	No mínimo, devem ser fornecidas informações a cada 6 meses e cada vez que houver mudanças.
Relato de Evento Adverso	Para pacientes em TRE: é necessário o monitoramento contínuo com relato ao Departamento de Farmacovigilância.
Teste de Anticorpo	<p>Recomenda-se o monitoramento de anticorpos para todos os pacientes em TRE de acordo com o esquema que segue:</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ antes da primeira infusão de TRE; ▪ a cada 3 meses durante 24 meses e então, uma vez por ano durante os próximos 36 meses; <p>O monitoramento de anticorpos pode ser mantido além dos 60 meses se for considerado clinicamente indicado.</p>

ANEXO 2: INSTRUÇÕES E PROCURAÇÃO PARA TRATAMENTO DE SAÚDE

Assinatura: _____
 Nome e n.º do RG: _____

Reconheço AUTENTICIDADE da rubrica feita por _____
 S. S. do Cel: **26 ABR 2006** Emol. RS 42
 Em testemunho da verdade: _____
 PIO RENATO GLAESER - Tabelião
 ANDREA GLAESER SCHNECK - Substituta
 Amanda Sabbado
 Escrevente

DECLARAÇÃO DAS TESTEMUNHAS

Declaro, para os devidos fins de direito, que o outorgante assinou este documento na minha presença, estando no pleno gozo de suas faculdades mentais e livre de qualquer erro, dolo ou coação.

Assinatura da testemunha: _____
 Nome e n.º do RG: _____

Assinatura da testemunha: _____
 Nome e n.º do RG: _____

PROCURADOR

Nome e qualificação: _____
 Endereço: _____
 Telefone(s): _____


Reconheço POR SEMELHANÇA a assinatura feita por _____
 S. S. do Cel: **26 ABR 2006** Emol. RS 42
 Em testemunho da verdade: _____
 PIO RENATO GLAESER - Tabelião
 ANDREA GLAESER SCHNECK - Substituta
 Amanda Sabbado
 Escrevente

PROCURADOR ALTERNATIVO

Nome e qualificação: _____
 Endereço: _____
 Telefone(s): _____

Instruções e Procuração para Tratamento de Saúde
 (O documento está assinado na parte interna.)

NÃO APLIQUE SANGUE



dpa-T 11/04
Página 2 de 2

**ANEXO 3: OFÍCIO DO CONSELHO REGIONAL DE MEDICINA DO ESTADO DO RIO
GRANDE DO SUL**



Conselho Regional de Medicina do Estado do Rio Grande do Sul
Av. Princesa Isabel, 921 - Fone (51) 3219-7544 - 90620-001 - Porto Alegre - RS
www.cremers.org.br

Of. Diret nº 3770/09

HCPA
Secretaria Geral
Data: 17/06/09
Nº: 714

Porto Alegre, 28 de maio de 2009

Senhor Diretor

Ao cumprimentar o Colega, o Conselho Regional de Medicina do Estado do Rio Grande do Sul encaminha, para fins de conhecimento e orientação, a Resolução CFM nº 1.021/80, que normatiza o procedimento a ser seguido em casos de recusa a permitir a transfusão de sangue, em circunstâncias de iminente perigo de vida.

Solicitamos a V. S^a. seja a Resolução em pauta divulgada para as Unidades de Emergência e Urgência, Terapia Intensiva, Blocos Cirúrgicos e Áreas de Internação situadas em sua área de abrangência.

Sem mais, apresentamos nossos votos de estima e consideração.

Atenciosamente

Dr. Cláudio B. S. Franzen
Presidente

Dr. Fernando Weber Matos
Primeiro-Secretário

ANEXO 4: RESOLUÇÃO DO CONSELHO FEDERAL DE MEDICINA nº 1.021/80

RESOLUÇÃO CFM nº 1.021/80

O CONSELHO FEDERAL DE MEDICINA, usando da atribuição que lhe confere a Lei nº 3.268, de 30 de setembro de 1957, regulamentada pelo Decreto nº 44.045, de 19 de julho de 1958, e CONSIDERANDO o disposto no artigo 153, parágrafo 2º da Constituição Federal; no artigo 146 e seu parágrafo 3º, inciso I e II do Código Penal; e nos artigos 1º, 30 e 49 do Código de Ética Médica; CONSIDERANDO o caso de paciente que, por motivos diversos, inclusive os de ordem religiosa, recusam a transfusão de sangue;

CONSIDERANDO finalmente o decidido em sessão plenária deste Conselho realizada no dia 26 de setembro de 1980,

RESOLVE:

Adotar os fundamentos do anexo PARECER, como interpretação autêntica dos dispositivos deontológicos referentes a recusa em permitir a transfusão de sangue, em casos de iminente perigo de vida.

Rio de Janeiro, 26 de setembro de 1980.

GUARACIABA QUARESMA GAMA

Presidente em Exercício

JOSÉ LUIZ GUIMARÃES SANTOS

Secretário-Geral

Publicada no D.O.U. (Seção I - Parte II) de 22/10/80

PARECER PROC. CFM nº 21/80

O problema criado, para o médico, pela recusa dos adeptos da Testemunha de Jeová em permitir a transfusão sanguínea, deverá ser encarada sob duas circunstâncias:

1 - A transfusão de sangue teria precisa indicação e seria a terapêutica mais rápida e segura para a melhora ou cura do paciente.

Não haveria, contudo, qualquer perigo imediato para a vida do paciente se ela deixasse de ser praticada.

Nessas condições, deveria o médico atender o pedido de seu paciente, abstendo-se de realizar a transfusão de sangue.

Não poderá o médico proceder de modo contrário, pois tal lhe é vedado pelo disposto no artigo 32, letra "f" do Código de Ética Médica:

"Não é permitido ao médico:

f) exercer sua autoridade de maneira a limitar o direito do paciente resolver sobre sua pessoa e seu bem-estar".

2 - O paciente se encontra em iminente perigo de vida e a transfusão de sangue é a terapêutica indispensável para salvá-lo.

Em tais condições, não deverá o médico deixar de praticá-la apesar da oposição do paciente ou de seus responsáveis em permiti-la.

O médico deverá sempre orientar sua conduta profissional pelas determinações de seu Código.

No caso, o Código de Ética Médica assim prescreve:

"Artigo 1º - A medicina é uma profissão que tem por fim cuidar da saúde do homem, sem preocupações de ordem religiosa..."

"Artigo 30 - O alvo de toda a atenção do médico é o doente, em benefício do qual deverá agir com o máximo de zelo e melhor de sua capacidade profissional".

"Artigo 19 - O médico, salvo o caso de "iminente perigo de vida", não praticará intervenção cirúrgica sem o prévio consentimento tácito ou explícito do paciente e, tratando-se de menor incapaz, de seu representante legal".

Por outro lado, ao praticar a transfusão de sangue, na circunstância em causa, não estará o médico violando o direito do paciente.

Realmente, a Constituição Federal determina em seu artigo 153, Parágrafo 2º que "ninguém será obrigado a fazer ou deixar de fazer alguma coisa senão em virtude da lei".

Aquele que violar esse direito cairá nas sanções do Código Penal quando este trata dos crimes contra a liberdade pessoal e em seu artigo 146 preconiza:

"Constranger alguém, mediante violência ou grave ameaça, ou depois de lhe haver reduzido, por qualquer meio, a capacidade de resistência, a não fazer o que a lei permite, ou a fazer o que ela não manda".

Contudo, o próprio Código Penal no parágrafo 3º desse mesmo artigo 146, declara:

"Não se compreendem na disposição deste artigo:

1 - a intervenção médica ou cirúrgica sem o consentimento do paciente ou de seu representante legal, se justificada por iminente perigo de vida".

A recusa do paciente em receber a transfusão sanguínea, salvadora de sua vida, poderia, ainda, ser encarada como suicídio. Nesse caso, o médico, ao aplicar a transfusão, não estaria violando a liberdade pessoal, pois o mesmo parágrafo 3º do artigo 146, agora no inciso II, dispõe que não se compreende, também, nas determinações deste artigo: "a coação exercida para impedir o suicídio".

CONCLUSÃO

Em caso de haver recusa em permitir a transfusão de sangue, o médico, obedecendo a seu Código de Ética Médica, deverá observar a seguinte conduta:

1º - Se não houver iminente perigo de vida, o médico respeitará a vontade do paciente ou de seus responsáveis.

2º - Se houver iminente perigo de vida, o médico praticará a transfusão de sangue, independentemente de consentimento do paciente ou de seus responsáveis.

Dr. TELMO REIS FERREIRA

Relator

ANEXO 5: APROVAÇÃO DO ESTUDO 04-403



HCPA - HOSPITAL DE CLÍNICAS DE PORTO ALEGRE
Grupo de Pesquisa e Pós-Graduação
COMISSÃO CIENTÍFICA E COMISSÃO DE PESQUISA E ÉTICA EM SAÚDE

RESOLUÇÃO

A Comissão Científica e a Comissão de Pesquisa e Ética em Saúde, que é reconhecida pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP)/MS como Comitê de Ética em Pesquisa do HCPA e pelo Office For Human Research Protections (OHRP)/USDHHS, como Institutional Review Board (IRB0000921) analisaram o projeto:

Projeto: 04-403

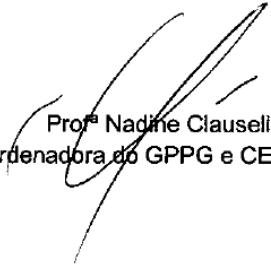
Pesquisador Responsável: ROBERTO GIUSELLI

Título: ESTUDO DE CASO CLÍNICO PARA USO COMPASSIVO DA DROGA ALDURAZYME (LARONIDASE) INTRA TECAL EM PACIENTE ADULTO COM MUCOPOLISSACARIDOSE TIPO I COM COMPRESSÃO MEDULAR

NOVA VERSÃO PROJETO	Data da Versão: 04/04/2006
----------------------------	--------------------------------------

Este documento referente ao projeto acima foi Aprovado em seus aspectos éticos e metodológicos, de acordo com as Diretrizes e Normas Internacionais e Nacionais, especialmente as Resoluções 196/96 e complementares do Conselho Nacional de Saúde.

Porto Alegre, 06 de abril de 2006.


 Prof.^a Nadine Clausell
 Coordenadora do GPPG e CEP-HCPA

ANEXO 6: PROTOCOLO PARA CONTINUAÇÃO DE TRATAMENTO INTRATECAL POR
USO COMPASSIVO PARA PACIENTE ADULTO COM MPS I E COMPRESSÃO MEDULAR
SINTOMÁTICA

CONTINUAÇÃO DO ESTUDO DE CASO CLÍNICO PARA USO COMPASSIVO
DA DROGA ALDURAZIME® (LARNIDASE) INTRA TECAL EM PACIENTE
ADULTO COM MUCOPOLISSACARIDOSE TIPO I COM COMPRESSÃO
MEDULAR

Porto Alegre, Março de 2006

Médico responsável: ~~Dr. Roberto Stagliani~~

Outros médicos co-responsáveis: ~~Dra. Maria Verônica Maftouh Rojas~~

G P P G - Recebido

04 ARR. 2006

Por: mk Nº 04403

1. INTRODUÇÃO

Na MPS I, a deficiência da enzima α -L-iduronidase leva ao acúmulo de um material chamado glicosaminoglicano (GAG) no organismo. Através de mecanismos que não estão completamente esclarecidos, o acúmulo progressivo deste material causa muitos problemas, incluindo dificuldade para respirar, problemas articulares, problemas renais e disfunção neurológica, incluindo retardo mental na forma grave ou de Hurler. Nas formas menos graves da doença (síndrome de Hurler-Scheie e Scheie), a função intelectual é próxima do normal a normal, mas pode haver morbidade neurológica significativa causada por compressão medular devido ao acúmulo de GAGs. Em todas as formas de MPS I, o acúmulo nas meninges também pode obstruir a reabsorção do líquido cefalorraquidiano (LCR), levando a aumento da pressão intracraniana, hidrocefalia comunicante e declínio do desenvolvimento, rapidamente progressivo, ou dores de cabeça incapacitantes. O tratamento destes problemas freqüentemente requer a implantação de uma derivação ventrículo-peritoneal para aliviar a pressão do LCR e/ou a descompressão da medula através de laminectomia cervical com remoção das meninges espessadas.

A terapia de reposição enzimática (TRE) intravenosa com Aldurazyme® (laronidase) recentemente se tornou disponível para o tratamento de pacientes com MPS I. Usada semanalmente, reduz o depósito lisossômico e alivia muitos dos sintomas originados pela doença. Porém, a TRE intravenosa não tem proporcionado um benefício direto ao sistema nervoso central (SNC) devido à sua incapacidade de cruzar a barreira hemato-encefálica. Por este motivo, uma abordagem intratecal (injetando a enzima diretamente no líquido espinhal) foi estudada em animais. Após mostrar que injeções intravenosas da enzima em ratos normais poderiam se difundir para além do sítio da injeção e adentrar os neurônios (Belichenko et al., dados não publicados), o método foi estudado em um modelo canino com MPS I de ocorrência natural. Um dos cães estudados foi acompanhado com avaliações neurológicas antes e após o tratamento. A marcha e os reflexos do cão melhoraram após os quatro tratamentos mensais.

O paciente XXXXXXXXXXXXXXXXXX, 38 anos de idade, apresenta mucopolissacaridose tipo I, forma Scheie, e é acompanhado há mais de dez anos no Hospital de Clínicas de Porto Alegre. Este paciente tem plena capacidade cognitiva e entendimento de sua patologia. O paciente apresenta, além de todas as características clínicas típicas da MPS I, importante quadro clínico de compressão medular cervical, documentado através de exame de ressonância magnética, com piora progressiva, comprometendo principalmente a marcha do paciente e causando formigamento e perda de força muscular também em membros superiores, o que compromete muitas das atividades habituais e de cuidados pessoais. Quando avaliado, em 2004, ele não podia mais sair desacompanhado pois não conseguia levantar quando sentado e estava quase incapaz de deambular. Foi indicada a realização de laminectomia para alívio da compressão medular, no entanto, o paciente por ser Testemunha de Jeová não concordou em assinar um documento autorizando uma transfusão de sangue ou derivados, em caso de necessidade, por risco de vida. Sem este consentimento,

as equipes de neurocirurgia não realizam o procedimento em nenhum paciente. Neste paciente, em particular, havia o agravante de que esta cirurgia, laminectomia para descompressão medular, não foi realizada pelas equipes de neurocirurgia em nenhum paciente com condições clínicas semelhantes às do paciente [XXXXXXXXXX]. Assim, foi solicitado e aprovado pelo CEP do HCPA (04/403) o uso compassivo de TRE intratecal, tratamento este que não havia sido tentada previamente para esta doença. Após o tratamento proposto, com 4 infusões IT, em intervalos mensais, através de punção lombar, de Laronidase, o paciente não apresentou nenhum evento que indicasse a suspensão do tratamento, não houve efeitos adversos e o paciente apresentou uma melhora clinicamente significativa, com melhora dos sinais e sintomas de compressão medular, corroborada por melhora em exames complementares e importante melhora nas provas de função respiratória. A capacidade da iduronidase intratecal parece ter sido eficaz em tratar a compressão medular neste paciente e partir do relato deste caso, outros pacientes com mucopolissacaridose e compressão medular, estão recebendo este tipo de terapêutica, em outros países.

Uma vez que o paciente ainda apresenta possíveis benefícios como resultado deste tipo de intervenção, solicitamos que o mesmo tratamento IT, com TRE seja mantido no paciente, através de punção lombar e administração da enzima mensalmente, até estabilização do quadro. Uma vez que o quadro clínica esteja estável, as infusões passariam a ser a cada 3 meses, no intuito de fazer um tratamento de manutenção.

2. INFORMAÇÕES SOBRE ALDURAZYME®

a. Histórico:

A terapia de reposição enzimática (TRE) intravenosa recentemente se tornou disponível para o tratamento de pacientes com MPS I. Usada semanalmente, reduz o depósito lisossômico e, alivia muitos dos sintomas originados pela doença. Porém, a TRE intravenosa não tem proporcionado um benefício direto ao sistema nervoso central (SNC) devido à sua incapacidade de cruzar a barreira hemato-encefálica. Por este motivo, uma abordagem intratecal (injetando a enzima diretamente no líquido espinhal) foi estudada em animais.

b. Estudo Experimental

Após mostrar que injeções intravenosas da enzima em ratos normais poderiam se difundir para além do sítio da injeção e adentrar os neurônios (Belichenko et al., dados não publicados), o método foi estudado em cães. Primeiramente, um estudo de dose-resposta foi conduzido com cães normais para determinar quais níveis de enzima poderiam ser atingidos nos vários tecidos do SNC (cérebro, medula espinhal e meninges) após doses diferentes de TRE intratecal. Este estudo inicial de dose-reposta mostrou

que doses de aproximadamente 0.46, 1 e 4.14 mg de enzima injetada na cisterna magna em cães normais resultaram em níveis de iduronidase equivalentes a 5.6, 7.5 e 18.9 vezes o normal, respectivamente. Cada grupo de dosagens resultou em níveis supraterapêuticos de iduronidase, e a dose de 1 mg foi escolhida para o estudo de TRE intratecal no cão com MPS I. Existe um modelo canino com MPS I de ocorrência natural, e estes cães com MPS I serviram para testar a capacidade da TRE intratecal no tratamento em nível de encéfalo, medula espinhal e meninges na MPS I. Quatro cães com MPS I receberam quatro injeções semanais de α -L-iduronidase recombinante no LCR via cisterna magna. Isto produziu uma média de 23 a 300 vezes os valores normais de iduronidase no encéfalo e nas meninges, respectivamente e reduziu os GAGs do encéfalo total para níveis normais. Este tratamento também atingiu uma redução de 57% nos níveis meníngeos de GAGs, acompanhada de uma melhora histológica no depósito lisossômico em todos os tipos celulares (Kakkis et al., 2004). A TRE intratecal mensal também foi estudada em cães, alcançando resultados semelhantes. Com o tratamento mensal, houve uma redução de 48% nos depósitos de GAGs cerebrais (vs. 46% com as doses semanais), uma redução de 16% nos GAGs da medula espinhal (vs. 32%), e uma redução de 65% nos GAGs meníngeos (vs. 57%) comparado a quatro cães com MPS I não tratados. Não houve diferença significativa nos níveis de iduronidase ou de GAGs com a terapia mensal comparada à semanal (Kakkis et al., dados não publicados). Um dos cães foi acompanhado com avaliações neurológicas antes e após o tratamento. A marcha e os reflexos do cão melhoraram após os quatro tratamentos mensais. Os cães desenvolveram uma meningite moderada no final do tratamento. O tecido cerebral em si não parecia estar envolvido. Os cães possuem um sistema imune robusto, e a enzima foi feita para humanos, que devem tolerá-la melhor. Em um cão que recebeu um regime imunossupressivo antes da TRE intratecal, o infiltrado se mostrou bastante reduzido.

A reposição enzimática foi utilizada em duas crianças com a doença de Tay-Sachs 25 anos atrás, e tem sido tentada em alguns pacientes com doença de Gaucher neuropática. O tratamento não teve sucesso nessas tentativas, possivelmente por causa de dificuldades com a difusão e a penetração da enzima. A enzima α -L-iduronidase, porém, mostrou-se capaz de se difundir para dentro do encéfalo, medula espinhal e meninges e de reduzir os depósitos nestes locais. Em pelo menos um caso, foi capaz de melhorar sinais clínicos de doença do sistema nervoso central. Pode, portanto, representar a única opção além do transplante de medula óssea e da intervenção cirúrgica para tratar doença no cérebro, medula espinhal e meninges na MPS I.

Recentemente (2005) o paciente aqui citado recebeu 4 infusões IT de Laronidase, sem apresentar reações à infusão, ou reações adversas em geral. O paciente apresentou melhoras clinicamente significativas. (Anexo 1).

c. Efeitos Adversos

Alguns animais apresentaram reações adversas imediatamente após a administração da TRE intratecal. Durante a recuperação da anestesia, a maioria dos cães apresentou algum grau de hiperventilação, em alguns casos, seguida de contrações musculares, e convulsões. As convulsões foram facilmente controladas com diazepam intravenoso e ocorreram apenas dentro da primeira hora após a injeção intratecal. A recuperação pareceu ser completa, sem efeitos adversos demonstráveis. A diluição da enzima na solução Elliotts B®, um tampão também utilizado como diluente para drogas ácidas de quimioterapia intratecal, eleva o pH da solução enzimática para 6.1 e pode prevenir este efeito da solução ácida da enzima, baseando-se nos dados obtidos em 3 cães, até o momento. Nenhum destes 3 cães apresentaram hiperventilação ou convulsões com a enzima diluída na solução de Elliotts B®. Os dados, da penetração da enzima, são disponíveis em um destes cães, no qual a penetração da enzima no cérebro é comparável com a enzima diluída na solução Elliotts B® comparado com a enzima diluída em solução salina.

A acidez, a concentração de fosfato, a osmolaridade e a presença de traços de polisorbato 80 na formulação de Aldurazyme poderiam causar irritação no espaço do LCR. Diluindo a enzima na solução Elliotts B®, o efeito do pH será amenizado como é no caso das quimioterapias intratecais comumente utilizadas com agentes tais como o metotrexate (pH 8.5) ou a citarabina (pH 5). A diluição também deverá diminuir a concentração de fosfato e a osmolaridade da solução. Polisorbato 80 é necessário para manter a estabilidade da enzima α -L-iduronidase recombinante humana na sua formulação e está presente em quantidades muito pequena (0.001%). Quantidades muito pequenas serão administradas na dose total (0.03 microgramas por dose). O Polisorbato 80 é visto, geralmente, como um irritante leve e está presente em diversos alimentos, medicamentos e cosméticos. O esquema de doses mensais permite tempo suficiente para recuperação de modestas irritações, se estas ocorrerem. A informação em cães com MPS I sugerem que uma resposta imune pode ocorrer e resultar em meningite leve a moderada. Isto pode ser verificado através de análises do LCR e estudos patológicos, mas não é evidente clinicamente. Os cães apresentam uma resposta imune mais importante à terapia de reposição enzimática, a qual não tem ocorrido em humanos tratados com TRE endovenosa, até o momento. Além disso, os pacientes humanos desenvolvem tolerância à administração de α -L-iduronidase recombinante humana, ao contrário dos cães que não a toleram a não ser que submetidos a um regime especial para tolerância (Kakavanos et al., 2003). Ainda existe o risco de que uma resposta imune ocorra e esta será monitorizada via história clínica, níveis de anticorpos anti-iduronidase e celularidade no LCR. Se uma reação fosse acontecer, esta seria manejada através do pré-tratamento com glicocorticóides tais como metilprednisolona 1-2 mg/kg/d. Em pacientes humanos com reações clínicas à administração intra venosa de α -L-iduronidase recombinante humana, pode-se prevenir a reação

através do uso de esteróides que também minimizam o impacto de uma adversidade clínica. Considerando que ainda são muito poucas as informações sobre este tipo de abordagem terapêutica, a administração intratecal de α -L-iduronidase recombinante humana em um paciente com MPS I, pode cursar com eventos adversos não esperados.

3. DURAÇÃO DO TRATAMENTO

Este protocolo é para a manutenção do uso compassivo de α -L-iduronidase humana recombinante intratecal para o tratamento de compressão da medula espinhal no paciente [XXXXXXXXXX] com Mucopolissacaridose tipo I (MPS I). Ele irá receber doses de α -L-iduronidase humana recombinante no líquido espinhal da coluna lombar, mensalmente, até estabilização do quadro clínico e, posteriormente, a cada 3 meses, durante um período de 1 ano.

4. FORNECIMENTO DA DROGA

A enzima α -L-iduronidase humana recombinante, Aldurazyme® (Iaronidase), assim como a solução diluente Elliotts B®, necessários para todas as infusões intra-tecais propostas neste estudo, serão fornecidas pela **Biomarin Pharmaceutical, Inc., e Genzyme corporation**, sem nenhum ônus para o paciente ou para esta Instituição.

5. PARÂMETROS DO ESTUDO

O paciente será avaliado antes da infusão e após cada infusão, seja ela mensal ou trimestral, conforme descrito a seguir:

Avaliações pré-tratamento e Avaliações Iniciais

Após a obtenção do consentimento informado, o paciente será submetido às avaliações pré-tratamento e avaliações iniciais.

Avaliações Pré-tratamento:

1. História médica e exame físico
2. Ressonância magnética de crânio e coluna total
3. Tomografia Computadorizada de Abdome
4. Potenciais evocados somato-sensitivos
5. Teste da caminhada de 12 minutos
6. Provas de função pulmonar

7. Ecocardiograma e Eletrocardiograma

Avaliações Iniciais

Exame clínico

Uma avaliação clínica completa, história e exame físico, incluindo avaliação neurológica, será realizada, incluindo nervos cranianos, sistema motor e sensitivo e reflexos. Os resultados serão registrados.

Teste de Caminhada de 12 Minutos

O teste de caminhada de 12 minutos será realizada.

Avaliação pessoal de independência funcional

Análise clínico-laboratorial

Será realizada uma coleta de sangue para dosagem de anticorpos anti-iduronidase, hemograma, eletrólitos, bicarbonato, glicemia, uréia e creatinina, magnésio, fósforo, enzimas hepáticas, proteína total albumina, bilirrubina e fosfatase alcalina.

Outros exames laboratoriais apropriados também serão obtidos conforme o julgamento do médico e com o consentimento do paciente.

Potenciais evocados somato-sensitivos (SSEP):

Potenciais evocados somato-sensitivos serão opcionalmente realizados.

Ressonância nuclear magnética (RNM) e Tomografia computadorizada de abdome (TC)

O paciente irá se submeter a uma RNM inicial do encéfalo e da coluna e a uma TC de abdome. O grau de compressão medular por porcentagem do diâmetro do canal medular será medido e registrado, assim como o comprimento da compressão e os segmentos medulares envolvidos. A RNM do encéfalo será graduada de uma maneira similar à descrita por Seto *et al.* O volume hepático e esplênico será registrado.

Avaliação global do médico responsável

Avaliações após as infusões mensais e trimestrais:

Todos os exames e avaliações já mencionadas, exceto a ressonância magnética, tomografia computadorizada e o potencial evocado somato-sensitivo, serão repetidas. A RM, TC e SSEP serão realizados a cada 6 meses. Além destes, serão acrescentados, também:

Resposta subjetiva aos sintomas clínicos

Qualquer sintomatologia observada pelo paciente será registrada em relação a localização, gravidade (leve, moderada ou grave), frequência e duração.

Análise clínico-laboratorial

No momento da injeção, 6-10 mL de líquido cefalorraquidiano será coletado e a pressão de abertura será registrada. Esse material será avaliado para dosagem de proteínas, glicose, celularidade, atividade da iduronidase, níveis de GAG e anticorpos anti-iduronidase.

Também será realizada uma coleta de sangue para dosagem de anticorpos anti-iduronidase, hemograma, eletrólitos, bicarbonato, glicemia, uréia e creatinina, magnésio, fósforo, enzimas hepáticas, proteína total albumina, bilirrubina e fosfatase alcalina.

Outros exames laboratoriais apropriados também serão obtidos conforme o julgamento do médico e com o consentimento do paciente.

REFERENCES

Kakkis E, McEntee M, Vogler C, Le S, Levy B, Belichenko P, Mobley W, Dickson P, Hanson S, Passage M. Intrathecal enzyme replacement therapy reduces lysosomal storage in the brain and meninges of the canine model of MPS I. *Mol Genet and Metab*, in press.

Kakkis ED, McEntee MF, Schmidtchen A, Neufeld EF, Ward DA, Gompf RE, Kania S, Bedolla C, Chien SL, Shull RM, Long-term and high-dose trials of enzyme replacement therapy in the canine model of mucopolysaccharidosis I, *Biochem Mol Med* 58: 156-167, 1996.

ANEXO 7: CONSENTIMENTO INFORMADO DO PACIENTE ADULTO COM MPS I

CONSENTIMENTO INFORMADO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)

1. Introdução:

Como você sabe, você tem o diagnóstico de mucopolissacaridose tipo I (MPS I). Esta doença é causada pela deficiência da enzima alfa-L-iduronidase, que faz com que o seu organismo acumule glicosaminoglicanos (GAGs) dentro das células. Este processo é contínuo e crônico, e é responsável pelos sinais e sintomas que você apresenta. Em seu caso, uma das consequências do acúmulo de GAGs, é o quadro de compressão medular na coluna cervical. Isto significa que houve um acúmulo importante de GAGs na membrana que envolve a medula espinhal, que está dentro dos osso da coluna, na região do pescoço. Por causa deste acúmulo, o espaço que normalmente existe e por onde corre o líquido da espinha (líquor), está muito diminuído, causando a compressão da medula, que é por onde passam os nervos que levam os estímulos para as diferentes partes do corpo. É por isso que você está com dificuldade para caminhar, sentar, levantar, com dificuldades para segurar os objetos ou para fazer atividades que antes você conseguia fazer. Este processo de acúmulo de GAGs e de compressão medular é contínuo e faz com que os sintomas piorem a medida que o tempo passa.

Com o seu consentimento, você irá participar de um tratamento compassivo, de terapia de reposição enzimática, com a enzima Aldurazyme® (laronidase), intratecal. Isto significa que você vai receber um tratamento, de graça, que coloca, em seu corpo, uma enzima parecida com aquela que está faltando, através da espinha (dentro da coluna). Isto será feito para tentar diminuir, ou eliminar, a compressão medular que você apresenta. Este tipo de tratamento foi realizado e documentado em você e atualmente está sendo realizado em dois pacientes nos Estados Unidos.

Sabe-se que o uso de Aldurazyme® (laronidase) através da veia, uma vez por semana, ajuda a melhorar várias complicações típicas da MPS I, mas também se sabe que este tratamento, na veia, não serve para melhorar os problemas de compressão na medula.

O tratamento que normalmente é realizado, quando uma pessoa tem compressão medular, é uma cirurgia chamada "laminectomia" e que costuma ter bons resultados. Você também tem indicação de fazer a laminectomia. Ao fazer esta cirurgia, é possível que seja necessária uma transfusão de sangue. Uma vez que você é Testemunha de Jeová e as suas convicções religiosas não permitem a transfusão de sangue esta cirurgia não atende completamente às suas necessidades.

Nestas condições, o que estamos propondo é a continuidade do tratamento compassivo, com a enzima Aldurazyme® (laronidase). Sabemos que o tratamento com esta enzima funciona para algumas complicações, quando dada pela veia. No entanto, você receberia NÃO pela veia, mas diretamente na coluna, através de uma injeção, chamada "intratecal". Este tipo de injeção é o mesmo que se faz quando uma pessoa tem suspeita de meningite e se tira um líquido da espinha (líquor).

HCFA / GPPG
VERSÃO APROVADA

06.1.04/2006
M. 04403

Nós achamos que este tratamento pode ser bom para você. Ele já foi feito em cães, com a mesma doença MPS I e que tinham compressão medular, e que por causa da compressão já não conseguiam mais caminhar. Pelo menos um destes cães teve uma melhora muito importante e voltou a caminhar depois de algumas infusões na espinha. Quando realizado em você, o tratamento resultou em melhora dos sinais clínicos e em alguns exames mostrando melhora principalmente da função respiratória.

Se eu participar, quanto tempo vai durar este tratamento?

Este tratamento vai durar 1 ano.

2. Eu vou ter que fazer alguma consulta ou algum exame durante o tratamento?

Sim. Antes de iniciar o tratamento, ele será discutido com detalhes com você, e este termo de consentimento será revisado. Com o seu consentimento, os seguintes testes e procedimentos serão realizados:

Avaliações pré-tratamento

História médica e exame físico: serão realizados como normalmente é feito numa consulta médica, exceto por ser mais detalhado neste caso.

Ressonância nuclear magnética e tomografia computadorizada: Você será submetido a um exame de imagem ou RNM da cabeça e da coluna, semelhante aos exames que foram feitos durante as primeiras infusões intratecais, e também uma tomografia computadorizada do abdome, que é feita de forma parecida, para examinar o fígado e o baço.

Potenciais evocados somato-sensitivos: Pequenos eletrodos (adesivos com fios) serão colocados em seus braços e pernas. Você poderá sentir uma leve corrente elétrica, como um pequeno choque. Isso não irá, sob hipótese alguma, prejudicar-lhe.

Teste da caminhada de 12 minutos: Você terá que fazer um teste que mede quantos metros você consegue caminhar em 12 minutos. Este teste será feito dentro do Hospital, em um de seus corredores por uma pessoa especialista neste tipo de teste.

Procedimentos e exames iniciais

Cateter intravenoso (dentro da veia): Uma agulha com um pequeno tubo de plástico (um cateter) será colocado na veia de um braço e será usado para dar medicações para lhe deixar com sono na hora da punção na espinha.

Punção lombar: Você irá receber medicação para ficar com sono através do cateter intravenoso. Você será solicitado a deitar de lado. Uma pequena agulha será colocada na pele da sua coluna lombar para a anestesia. Eletrodos serão colocados no peito e em um dedo, e um aparelho de pressão será colocado no seu braço. Uma agulha será então colocada na sua coluna lombar (abaixo da cintura). Uma pequena quantidade (aproximadamente 2 colheres de chá ou 6-10 mL) de líquido espinhal será coletada. A enzima Aldurazyme® será dada através

HCFA / CPPG
VERSÃO APROVADA

06.10.12.006

nl 04403

da agulha colocada na coluna durante alguns minutos. Após a punção na coluna, você deverá ficar deitado por uma hora. Se você se sentir bem após uma hora, você poderá ir para casa.

Procedimentos e exames de acompanhamento

Depois de cada infusão mensal e trimestral que você tiver recebido a enzima Aldurazyme®, você irá retornar para fazer exames de acompanhamento. Em cada uma dessas consultas, você será submetido a um exame neurológico. Em cada avaliação você será submetido a outra punção lombar, da mesma forma que antes. Você irá fazer mais exames de RNM da cabeça e da coluna e outros testes de potencial evocado e teste da caminhada ao longo do período do estudo.

3. **Quais são os riscos e desconfortos que eu posso ter, se eu participar deste tratamento?**

Você irá sentir algum desconforto da punção lombar e da colocação do cateter na veia.

A máquina de RNM e de TC são barulhentas, e algumas pessoas ficam ansiosas quando estão dentro da máquina.

O teste de caminhada pode deixá-lo com falta de ar ou suado.

Os potenciais evocados podem causar algum desconforto, semelhante a um pequeno choque.

Em relação ao recebimento da enzima Aldurazyme® (laronidase) pela espinha, existem os riscos possíveis de causar dores de cabeça, dor no pescoço ou nas costas, infecção, reação alérgica, alterações de comportamento, convulsões ou outra reação ou efeitos colaterais inesperados, porque há complicações que não podem ser previstas já que este tratamento ainda é experimental. Como qualquer tratamento médico, este tratamento pode provocar reações e por causa da MPS I subjacente, um dano importante ou até morte podem acontecer durante este tratamento.

4. **Quais são os benefícios que eu posso ter, se eu participar deste tratamento?**

Mesmo não sendo certo que esse tratamento será bem sucedido, ele pode continuar a melhorar a compressão medular, como aconteceu quando você recebeu este tratamento pela primeira vez, e que está causando uma parte importante do seu desconforto. Se este tratamento continuar funcionando, nós esperamos que a dificuldade para caminhar e para sentar e levantar e para fazer outras atividades do dia-a-dia continuem melhorando até estacionar (parar de melhorar). A informação obtida no tratamento da sua condição poderá ser muito importante para outros pacientes como você, com MPS I e compressão medular. Estes benefícios podem, entretanto, não acontecer, e efeitos colaterais inesperados podem também ocorrer.

HCFA / GPPG
VERSÃO APROVADA

06 / 01 / 2006

W 04403

Se eu decidir não participar, quais são as minhas possibilidades de tratamento?

Intervenção cirúrgica: a possibilidade da cirurgia, laminectomia, continua existindo, nas mesmas condições.

A sua participação neste tratamento é inteiramente voluntária. Você será informado de qualquer nova informação que possa afetar o seu desejo em continuar neste tratamento. Você poderá abandonar este tratamento a qualquer momento. Se você decidir sair do tratamento, isso não afetará a sua assistência médica futura. As suas dúvidas serão respondidas a qualquer momento. Para isto você pode entrar em contato, com o Dr. [redacted] [redacted]s, médicos responsáveis pelo tratamento, pessoalmente, ou pelos telefones [redacted] ou no Comitê de Ética, pelo telefone [redacted]. Você revisou plenamente os conteúdos deste consentimento e os teve descritos para você.

(Assinatura do Paciente)

(Data)

(Testemunha da assinatura do Paciente)

(Data)

Para o Investigador ou Designado:

Eu certifico que revisei os conteúdos deste termo com a pessoa que assinou acima, que, na minha opinião, entendeu a explicação. Eu expliquei os efeitos colaterais e os benefícios conhecidos deste tratamento.

Investigador Principal

(Número de Telefone)

(Data)

Investigador Principal: [redacted]
[redacted]

email: [redacted]

HCPA / CIMPB
VERSÃO APROVADA
06.10.2006
MC 04403

ANEXO 8 CARTA DE SUBMISSÃO PARA PUBLICAÇÃO

UNIVERSITY OF CALIFORNIA, LOS ANGELES

BERKELEY • DAVIS • IRVINE • LOS ANGELES • RIVERSIDE • SAN DIEGO • SAN FRANCISCO



UCLA

SANTA BARBARA • SANTA CRUZ

UCLA SCHOOL OF MEDICINE
HARBOR-UCLA MEDICAL CENTER
1000 WEST CARSON STREET
TORRANCE, CALIFORNIA 90509

March 6, 2009

John A. Jane, Sr., M.D., Ph.D.
Editor-in-Chief, Journal of Neurosurgery
Professor of Neurological Surgery
Director, Neurosurgical Training Program
Department of Neurosurgery
University of Virginia School of Medicine
1224 Jefferson Park Avenue, Suite 450
Charlottesville, Virginia 22903

Dear Dr. Jane,

This cover letter represents the submission to the Journal of Neurosurgery of the first reports of the use of intrathecal enzyme replacement therapy for spinal cord compression in children with mucopolysaccharidosis type I (MPS I, also known as Hurler or Hurler-Scheie syndrome). As you know, spinal cord compression occurs in MPS I due to dural thickening as well as due to ligamentous thickening and other extradural factors, and is usually treated surgically. However, the surgery is often difficult or dangerous due to the medical issues (such as the narrowed airway, pulmonary and cardiac disease) that complicate MPS. Intrathecal enzyme replacement therapy represents a potential alternative therapy for patients who cannot undergo surgical decompression. In a canine model of MPS I, 1 mg of laronidase enzyme administered intrathecally once per month for 4 doses reduced meningeal storage levels by about 65% (Dickson et al., 2007). One dog appeared to have dramatic clinical improvement of its neurologic abnormalities.

In this submission, we describe the intrathecal enzyme treatment of two pediatric MPS I patients who developed cervical spinal cord compression and who were not able or willing to undergo surgical decompression. Both children showed improvement in neurologic signs and symptoms of cord compression that was sustained for the 15-17 month treatment/follow-up period. The manuscript reflects the independent work of two

groups (Harbor-UCLA and Porto Alegre, Brazil), who have agreed to combine the reports of their cases for publication.

This manuscript contains work that has not been previously published and is not under consideration for publication elsewhere. We have previously published a report of a single adult patient treated with intrathecal enzyme replacement for spinal cord compression. This manuscript is referenced in the manuscript (Muñoz-Rojas et al., 2008).

All coauthors have seen and agree with the contents of the manuscript as submitted. Patricia Dickson receives research support from Genzyme, which distributes laronidase, and from BioMarin Pharmaceutical Inc., which manufactures it. Dr. Giuliani receives research support and travel grants from BioMarin and Genzyme. Dr. Muñoz-Rojas is now an employee of Genzyme (Brazil). The Los Angeles Biomedical Research Institute at Harbor-UCLA and the Harbor-UCLA Department of Pediatrics own part of the patent rights to laronidase. There are no other personal associations such as consultancies, stock ownership, equity interests, or payments for the conduct or publication of this work on the part of the authors.

Sincerely,



Patricia Dickson, M.D.
Assistant Professor of Pediatrics
David Geffen School of Medicine at UCLA
Division of Medical Genetics
Los Angeles Biomedical Research Institute at
Harbor-UCLA Medical Center
1124 W. Carson Street, E-4
Torrance, CA 90502
310-222-4145
pdickson@ucla.edu
