

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

**Mucopolissacaridose Tipo I:  
Avaliação de um Novo Instrumento para Classificação Fenotípica**

**ANDRESSA FEDERHEN**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**Orientador: Prof. Dr. Roberto Giugliani**

Porto Alegre, Brasil

2012

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

**Mucopolissacaridose Tipo I:  
Avaliação de um Novo Instrumento para Classificação Fenotípica**

ANDRESSA FEDERHEN

**Orientador: Prof. Dr. Roberto Giugliani**

**Dissertação apresentada como requisito parcial  
para obtenção do título de Mestre no Programa  
de Pós-Graduação em Medicina: Ciências  
Médicas, da Universidade Federal do Rio  
Grande do Sul.**

Porto Alegre, Brasil  
2012

### CIP - Catalogação na Publicação

Federhen, Andressa

Mucopolissacaridose Tipo I: Avaliação de um Novo Instrumento para Classificação Fenotípica / Andressa Federhen. -- 2012.

96 f.

Orientador: Roberto Giugliani.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas, Porto Alegre, BR-RS, 2012.

1. Mucopolisacaridose I. 2. Síndrome de Hurler. 3. Síndrome de Hurler-Scheie. 4. Síndrome de Scheie. 5. Deficiência de alfa-iduronidase. I. Giugliani, Roberto, orient. II. Título.

## **DEDICATÓRIA**

Aos meus pais, Jorge e Leni,  
e ao meu irmão, Samuel,  
pelo amor e incentivo.

## AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, Prof. Roberto Giugliani, pelas oportunidades oferecidas, pela confiança e, acima de tudo, pelos ensinamentos.

Aos meus pais e ao meu irmão, que mesmo distantes estão sempre presentes. Obrigada pelo amor e incentivo constantes.

A minha avó, Sibilla, pelo entusiasmo e a minha avó, Lidia, que se foi tão rapidamente.

À Prof. Ida Schwartz, por ter me introduzido no universo das Mucopolissacaridoses e me ensinado a dar os primeiros passos como pesquisadora.

Aos colegas e amigos do Grupo de Pesquisa Clínica em Genética Médica, pela compreensão e, principalmente, paciência.

Aos meus queridos amigos André, Clarissa, Fernando, Larissa, Luciana, Silvani, Silvia e Tatiele, pelo companheirismo.

As minhas grandes amigas Ana Paula, Adriana, Camila e Nádia, que estiveram comigo em todos os momentos.

À Dra. Maria Verónica Muñoz Rojas, por ter incentivado a investir neste projeto.

À Enf. Taiane Vieira, pela amizade e pelos exemplos.

Ao Prof. Frits Wijburg, que concordou que esta idéia fosse colocada em prática, e a todos os profissionais que colaboraram para a construção do instrumento utilizado neste estudo.

Ao Serviço de Genética Médica do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, por abrir as portas para o meu ingresso na pesquisa.

Aos três médicos geneticistas que contribuíram com a avaliação dos pacientes, pela ajuda e por acreditarem neste projeto.

À Genzyme, por concordar que as informações do Protocolo de Registro MPS I fossem utilizadas neste estudo.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoa de Nível Superior (CAPES).

À Universidade Federal do Rio Grande do Sul, pelas portas sempre abertas.

A Deus, pela proteção.

## **EPÍGRAFE**

"Aventure-se, pois da mais  
insignificante pista surgiu toda riqueza que o homem já conheceu."

*John Masefield*

## RESUMO

**Introdução:** A mucopolissacaridose tipo I é comumente classificada em três síndromes clínicas (Hurler, Hurler-Scheie e Scheie), de acordo com a gravidade do fenótipo. Devido à alta heterogeneidade da doença e à sobreposição de sintomas em pacientes, alguns autores consideram esta forma de classificação ultrapassada e defendem que a doença apresenta um espectro fenotípico mais amplo. Para tanto, seria muito útil o desenvolvimento de novas ferramentas que possam contribuir para uma melhor classificação dos pacientes.

**Objetivo:** Avaliar um novo instrumento para a classificação fenotípica da MPS I e verificar a correlação dos resultados obtidos com o mesmo com as características bioquímicas e moleculares dos pacientes avaliados.

**Materiais e Método:** Um instrumento elaborado por um grupo de especialistas foi por nós adaptado para avaliar a gravidade do fenótipo ao diagnóstico de 43 pacientes brasileiros com MPS I. Uma nota de zero a 14 foi obtida com a aplicação deste instrumento pela avaliação da presença ou ausência dos seguintes sinais e sintomas ao diagnóstico: atraso no desenvolvimento neuropsicomotor e/ou declínio cognitivo, rigidez articular/artropatia/contraturas articulares, cifose, disostose multiplex, macrocefalia e bossa frontal. Os pacientes incluídos foram também avaliados em relação aos mesmos parâmetros do instrumento e quanto ao seu fenótipo por três geneticistas com reconhecida experiência com essa doença. Dados bioquímicos e moleculares também foram utilizados para comparação com os resultados da aplicação do instrumento.

**Resultados:** Os pontos de corte com melhor balanço de sensibilidade e especificidade encontrados a partir da aplicação do instrumento e a partir da avaliação dos geneticistas foram, respectivamente 7 e 9. Os parâmetros do instrumento para os quais foi observada diferença estatisticamente significativa foram atraso do desenvolvimento neuropsicomotor/declínio cognitivo (entre o fenótipo Hurler e os fenótipos Hurler-Scheie e Scheie) e disostose múltipla (entre os fenótipos Hurler e Scheie). Não foi observada correlação entre a nota obtida no instrumento e os valores de GAGs urinários, nos diferentes fenótipos. A maior parte dos pacientes com mutações sem sentido foi classificada como grave, tanto a partir do instrumento quanto pela avaliação dos geneticistas.



**Conclusões:** Os pontos de corte encontrados podem ser úteis para a classificação dos pacientes em dois grupos distintos – grave e atenuado. O atraso no desenvolvimento neuropsicomotor/declínio cognitivo e a disostose múltipla são achados importantes para prever a gravidade da doença. Mutações sem sentido parecem determinar o fenótipo mais grave da síndrome. Não foi possível distinguir os diferentes fenótipos a partir dos valores de GAGs na urina. A ferramenta desenvolvida parece ser útil para auxiliar na classificação da gravidade da MPS I, mas é recomendável sua aplicação em um número maior de pacientes para melhor dimensionar sua potencial aplicação. .

**Palavras-chave:** Mucopolissacaridose I, Síndrome de Hurler, Síndrome de Hurler-Scheie, Síndrome de Scheie, deficiência de alfa-iduronidase.

## ABSTRACT

**Introduction:** Mucopolysaccharidosis type I is usually classified into three clinical syndromes (Hurler, Hurler-Scheie and Scheie) according to the severity of the phenotypic expression. Some authors believe this classification is not accurate because of disease variation and overlapping findings in some patients, and suggest that its phenotypic spectrum is wider. With this view, it would be useful the development of new tools which could contribute to a better classification of patients.

**Objective:** To evaluate a new tool the phenotypic classification of MPS I and investigate whether the results obtained are correlated with biochemical and molecular characteristics of the patients.

**Material and methods:** A tool developed by a group of specialists was adapted by us for the evaluation of the phenotypic severity at diagnosis in 43 Brazilian patients with MPS I. A score of zero to 14 was obtained using this tool, which evaluated presence or absence of the following signs and symptoms: delay in neurological and psychomotor development and cognitive decline; joint stiffness, arthropathy and joint contractures; kyphosis; dysostosis multiplex; macrocephaly; and frontal bossing. The same patients had the same parameters evaluated by three MDs with expertise in MPS who also provided their impression about the phenotype. Biochemical and molecular findings were also compared with the results obtained in the proposed tool.

**Results:** The cut-off points with better balance of sensitivity and specificity found with the use of the tool and according to the experts' evaluations were 7 and 9, respectively. The tool parameters with statistically significant differences were neurological and psychomotor development delay and cognitive decline (when the Hurler phenotype was compared with the Hurler-Scheie and Scheie phenotypes), and dysostosis multiplex (for the comparison between the Hurler and Scheie phenotypes). There was no correlation between the scores obtained when using the tool and the urinary GAG values across the different phenotypes. Most patients with nonsense mutations were classified as severe according to the tool scores and to the experts' evaluations.

**Conclusions:** The cut-off points found in this study may be useful for the classification of patients into two distinct groups - severe and attenuated. Neurological and psychomotor developmental delay and cognitive decline, as well as dysostosis multiplex, are important findings to predict disease severity. Nonsense mutations seem to determine the most severe syndrome phenotype. The urinary GAG values do not allow differentiating the different phenotypes. The tool developed seems to be useful to help in the classification of the severity of MPS I, but it would be advisable its application in a larger number of patients to better evaluate its potential application.

**Key words:** mucopolysaccharidosis type I, Hurler syndrome, Hurler-Scheie syndrome, Scheie syndrome, alpha-L-iduronidase deficiency.

## LISTA DE FIGURAS

### CORPO DA DISSERTAÇÃO

Figura 1 - Algoritmo para tratamento de pacientes com MPS I.....29

### ARTIGO EM INGLÊS

Figure 1a – Score according tool and phenotype classification according medical chart at the moment of Diagnosis.....57

Figure 1b – Score assigned by experts and phenotype classification according medical chart at diagnosis .....57

Figure 2a – Score according the tool and score assigned by the experts at the moment of diagnosis.....58

Figure 2b – Figure 2b - Comparison between score obtained in the tool with data available at the moment of diagnosis and with the current data available.....58

Figure 2c - Comparison between the score (median) assigned by experts according data available at diagnosis and the score assigned by them according current data .....59

Figure 3a – Urinary GAG results according phenotype recorded at patient medical chart at the moment of diagnosis..... 60

Figure 3b – Urinary GAG results according phenotype assigned by the experts at the moment of diagnosis.....60

Figure 4 – Result of urinary GAG excretion and score according the tool at the moment of diagnosis.....61

### ARTIGO EM PORTUGUÊS

Figura 1a – Pontuação obtida com a aplicação do instrumento e classificação fenotípica conforme prontuário médico ao diagnóstico..... 83

Figura 1b – Mediana da pontuação atribuída pelos três especialistas e classificação fenotípica conforme prontuário no momento do diagnóstico.....83

Figura 2a – Pontuação obtida com a aplicação do instrumento e classificação fenotípica conforme prontuário médico no momento do diagnóstico.....84

Figura 2b – Comparação entre a pontuação obtida no instrumento a partir dos dados disponíveis ao diagnóstico e os dados atuais .....	84
Figura 2c – Comparação entre a mediana da pontuação dos especialistas a partir dos dados disponíveis ao diagnóstico e os dados atuais.....	85
Figura 3a – Resultado da análise de GAGs urinários conforme fenótipo registrado no prontuário do paciente no momento do diagnóstico.....	86
Figura 3b – Resultado da análise de GAGs urinários conforme fenótipo atribuído pelos especialistas a partir dos dados disponíveis ao diagnóstico.....	86
Figura 4 – Resultado da análise de GAGs urinários ao diagnóstico e pontuação obtida no instrumento ao diagnóstico.....	87

## **LISTA DE TABELAS**

### **ARTIGO EM INGLÊS**

Table I - Genotype and phenotype according medical records, phenotype according the specialists, score obtained in the instrument, score assigned by the specialists and classification according cut-off points for both evaluations for each patient.....56

### **ARTIGO EM PORTUGUÊS**

Tabela 1 – Genótipo e fenótipo de acordo com o prontuário, fenótipo de acordo com os especialistas, nota obtida com a aplicação do instrumento, nota atribuída pelos especialistas e classificação a partir do ponto de corte conforme as duas avaliações para cada paciente.....82

## LISTA DE ABREVIATURAS

AP – anteroposterior

CHO – células de ovário de hamster chinês

DL – doenças lisossômicas

DNA – ácido desoxirribonucléico

EIM – erros inatos do metabolismo

HCPA – Hospital de Clínicas de Porto Alegre

IDUA –  $\alpha$ -L-iduronidase

INAGEMP – Instituto Nacional de Genética Médica Populacional

GAGs – glicosaminoglicanos

MPS – mucopolissacaridose

MPS I – mucopolissacaridose tipo I

SGM – Serviço de Genética Médica

TCTH – transplante de células tronco hematopoiéticas

TRE – terapia de reposição enzimática

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO .....	16
2 REVISÃO DE LITERATURA .....	18
2.1 ERROS INATOS DO METABOLISMO .....	18
2.1.1 MUCOPOLISSACARIDOSES .....	18
2.1.2 MUCOPOLISSACARIDOSE TIPO I .....	19
2.1.2.1 Aspectos clínicos .....	19
2.1.2.2 Aspectos bioquímicos e moleculares .....	24
2.1.2.3 Diagnóstico .....	26
2.1.2.4 Epidemiologia .....	27
2.1.2.5 Tratamento .....	27
3 JUSTIFICATIVA .....	30
4 HIPÓTESES .....	31
5 OBJETIVO .....	32
REFERÊNCIAS .....	33
6 ARTIGO EM INGLÊS .....	37
7 ARTIGO EM PORTUGUÊS .....	62
8 CONCLUSÕES .....	88
9 CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS .....	90
ANEXO I – Instrumento para Classificação da Mucopolissacaridose tipo I.....	91
ANEXO II – Termo de Compromisso para Uso de Dados.....	94
ANEXO III – Carta de Aprovação do Projeto pelo Comitê de Ética em Pesquisa do HCPA.....	95
ANEXO IV – Exemplo de resumo de caso enviado para os três geneticistas .....	96



## 1 INTRODUÇÃO

As mucopolissacaridoses (MPS) são erros inatos do metabolismo (EIM) classificadas entre as doenças lisossômicas (DL) e caracterizadas pelo acúmulo generalizado de glicosaminoglicanos (GAGs), previamente chamados de mucopolissacarídeos. Este acúmulo é secundário à deficiência na atividade de uma enzima lisossômica específica envolvida na degradação dessas moléculas. Há, atualmente, pelo menos onze enzimas cuja deficiência, decorrente da alteração do gene correspondente, leva a um tipo de MPS específico (NEUFELD; MUENZER, 2001). A MPS I é causada pela deficiência ou ausência de atividade da enzima  $\alpha$ -L-iduronidase (IDUA). As manifestações mais freqüentes da MPS I incluem fácies tosca característica, opacificação da córnea, atraso no desenvolvimento neuropsicomotor, macroglossia, perda auditiva, hidrocefalia, cardiopatia, problemas respiratórios, hepatoesplenomegalia, hérnia inguinal e umbilical, disostose múltipla, limitação da mobilidade articular e dano cognitivo (NEUFELD; MUENZER, 2001).

A doença é comumente classificada em três síndromes clínicas (Hurler, Hurler-Scheie e Scheie). Devido à alta heterogeneidade da MPS I e à sobreposição de sintomas em pacientes, alguns autores consideram mais adequado classificar os pacientes em forma atenuada e forma grave, enquanto outros julgam que os pacientes se distribuem num espectro mais amplo de subtipos (VIJAY; WRAITH, 2005). Essa diferenciação é basicamente subjetiva, uma vez que não estão disponíveis, atualmente, instrumentos validados que auxiliem na classificação da gravidade da MPS I.

Como tratamentos específicos, estão disponíveis a terapia de reposição enzimática (TRE) e o transplante de células tronco hematopoiéticas (TCTH). Especificamente no caso do TCTH, o diagnóstico precoce da doença e a determinação do fenótipo são fundamentais para a realização do procedimento. Sua principal indicação é para os pacientes que têm a forma grave da MPS I, uma vez que o TCTH realizado antes dos dois anos de idade nesses pacientes parece mudar favoravelmente e de forma significativa o comprometimento cognitivo (BOELEN *et al*, 2007; MUENZER; WRAITH; CLARKE, 2009). Assim sendo, uma classificação precoce e precisa tem relevância para a definição do tratamento mais indicado para cada paciente.

Um grupo de profissionais especialistas no cuidado de pacientes com MPS I se reuniu no ano de 2008, na Holanda, para estabelecer um consenso sobre as principais manifestações preponderantes para classificar a gravidade desta doença e, desta forma, auxiliar na tomada de decisão sobre o melhor tratamento a ser indicado para o paciente. A partir deste encontro, foi elaborado um instrumento definindo alguns parâmetros importantes de serem considerados para determinar o prognóstico da síndrome, o qual foi por nós adaptado para uso no Brasil.

Com isso, o presente trabalho, pretende avaliar a aplicabilidade desse instrumento adaptado na avaliação da gravidade da doença em pacientes brasileiros com MPS I e verificar se existe uma correlação entre o resultado obtido na aplicação desta ferramenta e características bioquímicas e moleculares destes pacientes. Este estudo foi realizado em pacientes atendidos pelo Serviço de Genética Médica do Hospital de Clínicas de Porto Alegre e por outros centros de referência em MPS Brasil.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 ERROS INATOS DO METABOLISMO

Os EIM têm como característica uma alteração na síntese de uma proteína, geralmente uma enzima, que tem sua atividade total ou parcialmente diminuída causando o bloqueio de uma via metabólica. Como consequência desta alteração ocorre o acúmulo de um determinado substrato e derivados e/ou falta de seu produto, acarretando prejuízo físico e/ou mental nos indivíduos afetados (SAUDUBRAY; CHARPENTIER, 1995). Embora, os EIM sejam descritos, isoladamente, como doenças raras, há mais de 500 doenças classificadas como EIM, estimando-se uma frequência global de 1:2.500 nascidos vivos (MARTINS *et al*, 2006).

Os EIM são subdivididos em três grupos – doenças que causam intoxicação, doenças que envolvem o metabolismo energético e doenças que envolvem o acúmulo de moléculas complexas. Neste último grupo, enquadram-se as MPS (FERNANDES *et al*, 2006).

#### 2.1.1 MUCOPOLISSACARIDOSES

As MPS constituem um grupo de doenças genéticas causadas pelo defeito no metabolismo dos GAGs, o que leva ao acúmulo dessas moléculas dentro dos lisossomos (NEUFELD; MUENZER, 2001). Os GAGs são polímeros lineares de carboidratos complexos que se ligam a proteínas centrais para formar proteoglicanos. Os proteoglicanos, por sua vez, são o componente principal da substância que compõe o osso, a cartilagem e o espaço tecidual intersticial. Os GAGs são também encontrados no fluido lubrificante nos espaços articulares - o que possibilita a absorção do impacto - e formam parte da superfície celular aderente onde os fatores de crescimento se ligam e se concentram. Os principais GAGs são o sulfato de condroitina, o sulfato de heparan, o sulfato de dermatan e o ácido hialurônico (WALKER *et al*, 1994). A deficiência de uma das enzimas necessárias para a degradação dos GAGs causa o acúmulo destas moléculas (KAKKIS, 2002). Este acúmulo anormal compromete a função celular e orgânica,

levando a um grande número de manifestações clínicas, as quais são progressivas e afetam múltiplos órgãos (NEUFELD; MUENZER, 2001).

Acredita-se que algumas manifestações clínicas das MPS tais como as características faciais, o espessamento da pele, a opacificação da córnea e as visceromegalias sejam resultantes do acúmulo direto de GAGs nos tecidos, ao passo que outras manifestações como a deficiência mental, o atraso no crescimento e a displasia esquelética sejam resultantes da função celular defeituosa. Já as contraturas articulares, bem como as hérnias, estariam relacionadas ao acúmulo de GAGs em outros substratos metabólicos como o colágeno e a fibronectina. Em geral, acredita-se que a degradação inadequada do sulfato de heparan esteja fortemente relacionada à deficiência mental enquanto a degradação inadequada do sulfato de dermatan, do sulfato de queratan e do sulfato de condroitina, com anormalidades mesenquimais (WALKER *et al*, 1994). A classificação das MPS é baseada na enzima que se encontra deficiente, havendo atualmente 11 defeitos enzimáticos conhecidos que causam sete tipos diferentes de MPS (NEUFELD; MUENZER, 2001).

## 2.1.2 MUCOPOLISSACARIDOSE TIPO I

### 2.1.2.1 Aspectos clínicos

A MPS I é uma doença crônica, progressiva e multissistêmica. Os achados clínicos específicos da MPS I variam de acordo com a gravidade da doença e não são suficientes para confirmar o diagnóstico. Geralmente suspeita-se da doença em indivíduos com face tosca, hepatoesplenomegalia, alterações esqueléticas, contraturas articulares e opacificação de córnea (CLARKE; HEPPNER, 2011). A doença é tradicionalmente classificada em Hurler, Hurler-Scheie e Scheie. Esta classificação não é muito útil em distinguir os fenótipos porque a designação dos epônimos não é baseada em critérios precisos e não é aplicada de forma padronizada pela maioria dos profissionais. Os subtipos de fenótipos representam um contínuo de gravidade que vai além da classificação grave, intermediária e leve [PASTORES *et al*, 2007]. Para Muenzer (2004) não há diferenças bioquímicas que

possam distinguir os três fenótipos da doença, por isso, o mais adequado seria classificar os pacientes em fenótipo grave e fenótipo atenuado.

Dentre as características da forma grave da MPS I (Síndrome de Hurler) destacam-se o comprometimento do desenvolvimento cognitivo, engrossamento progressivo dos traços faciais, hepatoesplenomegalia, insuficiência respiratória, valvulopatia cardíaca, otite média recorrente, opacificação de córnea e manifestações musculoesqueléticas, como rigidez, contraturas articulares e disostose múltipla. Os sintomas surgem logo após o nascimento e progridem rapidamente (PASTORES *et al*, 2007). Crianças com a forma grave da MPS I parecem normais ao nascimento, mas geralmente apresentam hérnia inguinal ou umbilical. A média de idade ao diagnóstico para a forma grave é de, aproximadamente, nove meses, sendo a maioria dos pacientes diagnosticada antes do 18 meses de vida (CLARKE; HEPPNER, 2011). Grande parte dos pacientes graves não tratados evolui para o óbito, em média, antes dos 10 anos de idade, devido a complicações relacionadas ao dano cerebral ou aos problemas cardiorrespiratórios (WEISSTEIN *et al*, 2004; BOELEN, 2006).

Como forma atenuada, são classificados os pacientes Hurler-Scheie e Scheie. Para Muenzer *et al* (2009), o termo “fenótipo atenuado” é mais adequado que o termo “fenótipo leve” para classificar os pacientes Hurler-Scheie e Scheie pelo fato de estes pacientes apresentarem significativas limitações atribuídas ao envolvimento somático (MUENZER; WRAITH; CLARKE, 2009).

Na Síndrome de Hurler-Scheie, o fenótipo se manifesta na infância, porém, com gravidade inferior quando comparado ao fenótipo Hurler. Enquanto na forma grave os pacientes costumam ser diagnosticados até os dois anos de idade, na forma intermediária, os pacientes geralmente apresentam evidência clínica da doença entre três e oito anos de idade (de SOUZA *et al*, 2010). Os sintomas somáticos reduzem a expectativa de vida para a segunda ou terceira década de vida (PASTORES *et al*, 2007; SOLIMAN *et al*, 2007). Geralmente não há comprometimento cognitivo, mas alguns pacientes podem apresentar dificuldades leves de aprendizagem (BJORAKER *et al*, 2006).

A Síndrome de Scheie é a forma mais atenuada da MPS I (SOLIMAN *et al*, 2007). Os sintomas surgem mais tarde e progridem lentamente. Os pacientes

geralmente são diagnosticados tardiamente, apresentam inteligência normal e sobrevivem até a idade adulta (PASTORES *et al*, 2007). Após o início dos sinais e sintomas, pacientes com o fenótipo atenuado têm seu diagnóstico realizado entre a infância e a sexta década de vida (THOMAS *et al*, 2010).

Os sinais e sintomas a seguir estão entre os comumente observados na MPS I e foram selecionados para fazerem parte do instrumento e serem utilizados como referência para realização deste estudo.

#### *Atraso no desenvolvimento neuropsicomotor / Declínio cognitivo*

O atraso no desenvolvimento neuropsicomotor é um achado freqüente em pacientes com a forma grave da MPS I, pelo comprometimento do sistema nervoso central (NEUFELD; MUENZER, 2001). Os pacientes com a forma grave, podem apresentar desenvolvimento psicomotor normal nos primeiros meses de vida, porém, este sinal já está bastante evidente em torno dos 18 meses de idade (CLARKE; HEPPNER, 2011). O declínio na capacidade cognitiva é progressivo. Conseqüentemente a maioria das crianças não progride em seu desenvolvimento, perdendo paulatinamente as habilidades intelectuais. Em geral, os pacientes atingem um platô no desenvolvimento antes de iniciar o declínio, o qual os deixará gravemente incapazes sob o aspecto mental (MUENZER; WRAITH; CLARKE, 2009). O atraso no desenvolvimento, somado à perda auditiva e à macroglossia, causa limitação na fala dos pacientes (NEUFELD; MUENZER, 2001). Ao contrário dos efeitos no desenvolvimento observados em pacientes com MPS III – os quais geralmente apresentam comportamento agressivo e hiperativo – na MPS I, os pacientes geralmente não são agressivos (CLARKE, 1997; NEUFELD; MUENZER, 2001). O depósito de GAGs nos neurônios e o acúmulo secundário de glicolipídeos, provavelmente, sejam a causa do comprometimento cognitivo grave (CLARKE; HEPPNER, 2011).

Crianças com o fenótipo grave precisam realizar testes que avaliem a função neurocognitiva ao diagnóstico e a cada ano subsequente. Para pacientes com manifestação atenuada da doença, que apresentem dificuldades de aprendizagem ou problemas de comportamento, também está indicada a realização de testes da função neurocognitiva (MUENZER; WRAITH; CLARKE, 2009).

### Rigidez articular / Artropatia / Contraturas articulares

A maioria das MPS, com exceção da MPS III, está associada a alterações esqueléticas generalizadas e doença articular (BECK; MUENZER; SCARPA, 2010). A rigidez articular é um achado comum. Quando associada à limitação dos movimentos pode causar importante perda da função articular. Estas alterações são provavelmente decorrentes da combinação entre deformidades das metáfises e espessamento da cápsula articular causada pelo depósito de GAGs e fibrose (NEUFELD; MUENZER, 2001). A artropatia progressiva é universal e causa grave deformidade articular. A rigidez articular geralmente é observada antes dos dois anos de idade em pacientes com o fenótipo grave (CLARKE; HEPPNER, 2011). Os pacientes com fenótipo atenuado têm artropatia progressiva que causa perda da capacidade de mobilidade articular (MUENZER, WRAITH; CLARKE, 2009).

Terapeutas físicos podem verificar o grau de restrição articular e intervir com vistas a manter a função articular e a força muscular. Em pacientes com a forma atenuada, a rigidez articular e a dor podem ser diminuídas com exercícios e hidroterapia. Para os pacientes graves, estas intervenções podem ajudar a estabilizar, porém não melhoram a função e a rigidez articular. A terapia ocupacional pode aumentar a independência funcional e, conseqüentemente, melhorar a qualidade de vida de alguns pacientes (MUENZER; WRAITH; CLARKE, 2009).

### Cifose

A cifose consiste na curvatura na coluna superior (LACHMAN et al, 2010). A cifose dorsolombar, também chamada de giba, é um forte indício para o diagnóstico de MPS (WHITE, 2011). Em geral se torna clinicamente aparente nos primeiros 14 meses de vida para os pacientes com a manifestação grave da MPS I, já podendo ser observada mesmo antes dos seis meses (MUNDADA; D'SOUZA, 2009).

### Disostose múltipla

Caracterizada por alterações evidenciadas radiologicamente no crânio, no tórax, na pelve, nas mãos e na coluna, a disostose múltipla é comum em todos os tipos de MPS (BECK; MUENZER; SCARPA, 2010). Particularmente na forma grave

da doença, a disostose múltipla envolve todos os ossos e afeta todos os pacientes (CLARKE; HEPPNER, 2011).

A gravidade da disostose pode variar entre os tipos de MPS e mesmo entre pacientes da mesma família e geralmente tem relação com a gravidade da expressão fenotípica da doença. Sinais leves de disostose, especialmente no quadril, bem como o espessamento das costelas, podem ser detectados ao nascimento por meio de radiografias (CLARKE; HEPPNER, 2011). A disostose múltipla evidenciada em radiografia de esqueleto pode sugerir MPS ou auxiliar na confirmação do diagnóstico quando há suspeita da doença, embora os resultados radiográficos não permitam diferenciar os tipos de MPS. Uma avaliação radiológica completa deve incluir crânio (anteroposterior [AP] e lateral), tórax (AP), coluna (AP e lateral), pelve (AP), ossos tubulares (AP) e mãos e pés (AP) (LACHMAN *et al*, 2010). Anormalidades esqueléticas podem resultar em dismorfismo e atraso no crescimento. Nas MPS, a disostose múltipla geralmente envolve crânio, tórax, coluna, pelve, ossos longos e mãos. Radiografia do esqueleto, tomografia computadorizada e ressonância magnética de imagem são ferramentas que podem evidenciar a presença de disostose múltipla. Uma radiografia convencional que forneça imagens radiográficas bidimensionais do esqueleto pode detectar anormalidades na coluna como escoliose, cifose, alterações na anatomia crânio-cervical, estenose e instabilidade da coluna. Estas alterações são úteis para a suspeita clínica inicial. Considerando a inexistência de padronização para avaliação dos achados radiológicos, Lanchman *et al* (2010) reforçam a importância do desenvolvimento de ferramentas que permitam quantificar a disostose múltipla e possibilitem a melhor avaliação da história natural da doença óssea nas MPS.

### Bossa frontal

A bossa frontal consiste em uma proeminência da testa, observada em algumas doenças raras, entre elas, a MPS I (UNIVERSITY OF MARYLAND MEDICAL CENTER, 2011). É um dos sinais que, somado a outros - como face tosca, escafocefalia, ponte nasal rasa, cabelos espessos e língua protusa -, sugere o diagnóstico de uma MPS (MABE *et al*, 2003).

### Macrocefalia



A macrocefalia pode advir do aumento da espessura do crânio, dos ventrículos ou do encéfalo, sendo uma das causas o acúmulo anormal de substâncias metabólicas, como no caso das MPS (BERGMAN; PAINTER, 2004). Segundo Clarke e Heppner (2011), a macrocefalia nos pacientes graves com MPS I é resultante do espessamento do calvário. Medidas quantitativas como o perímetro cefálico podem refletir a gravidade da doença em vários tipos de MPS (BECK; MUENZER; SCARPA, 2010). Um estudo em 77 pacientes com MPS II (SCHWARTZ *et al*, 2007) mostrou que pacientes gravemente afetados apresentam maior perímetro cefálico em idade precoce do que os pacientes levemente afetados na mesma idade. O perímetro cefálico deve ser medido regularmente. Exames de imagem do crânio, como ressonância magnética ou tomografia computadorizada, devem ser realizados, se possível, ao diagnóstico e a cada um ou dois anos ou quando for observada uma aceleração no aumento do perímetro cefálico (MUENZER; WRAITH; CLARKE, 2009).

#### 2.1.2.2 Aspectos bioquímicos e moleculares

Resultados de um estudo internacional com 121 pacientes afetados por MPS VI sugerem que o nível urinário de GAGs pode ajudar a prever a morbidade da doença. De acordo com este estudo, níveis de GAGs acima de 200 µg/mg de creatinina refletem a rápida progressão da doença, enquanto pacientes com níveis até 100 µg/mg de creatinina parecem ter uma sobrevida maior (SWIEDLER *et al*, 2005). Um estudo de seguimento de pacientes com MPS I em terapia de reposição enzimática mostrou que antes do início do tratamento os pacientes com os fenótipos Hurler, Hurler-Scheie e Scheie apresentavam respectivamente níveis de GAGs acima de 300, entre 100 e 300 e abaixo de 100 µg GAG/mg de creatinina (SIFUENTES *et al*, 2007), sugerindo uma correlação entre o nível de GAGs excretados e a gravidade da manifestação da doença.

O gene que codifica a enzima IDUA está localizado no braço curto do cromossomo 4 (4p16.3) e tem aproximadamente 19 kb em 14 exons (MATTE *et al*, 2003). Alguns autores defendem que diferentes mutações podem causar impacto diferente na atividade enzimática da IDUA, o que poderia estar relacionado à variabilidade clínica observada no curso da doença (HIRTH; BERG; GREVE, 2007; PASTORES *et al*, 2007). Para Pastores *et al* (2007), embora a realização de testes

moleculares possa determinar o genótipo, sua relação com o fenótipo não é direta. Os testes clínicos e laboratoriais, úteis para a confirmação do diagnóstico, não permitem detectar pequenas diferenças na atividade enzimática residual e também não ajudam a prever a gravidade da doença (PASTORES *et al*, 2007).

Já foram identificadas 188 mutações no gene IDUA (THE HUMAN GENE MUTATION DATABASE, 2011). A maioria das mutações identificadas é sem sentido, com sentido trocado ou pequenas deleções (MUENZER; WRAITH; CLARKE, 2009). Estudos indicam que cerca de 70% das mutações são recorrentes e poderiam ser úteis para estabelecer uma correlação genótipo-fenótipo (SOCIEDAD ARGENTINA DE PEDIATRIA, 2008). Dentre as mutações identificadas, a W402X e Q70X têm sido associadas à forma grave da doença (FULLER *et al*, 2005). Descritas como alelos nulos, ambas mostram produção não-detectável de proteína da IDUA (MATTE *et al*, 2003). Por outro lado, outras duas mutações menos comuns (R89Q e R89W) têm sido encontradas frequentemente em pacientes com fenótipo atenuado (HEIN *et al*, 2003).

A frequência das mutações é variável entre as diferentes populações étnicas. As mutações W402X e Q70X são encontradas em mais de 50% dos pacientes caucasianos, enquanto em pacientes japoneses, coreanos e marroquinos, elas são bastante raras (TERLATO; COX, 2003).

A frequência relativa das mutações consideradas mais comuns parece ter um padrão diferente em pacientes brasileiros, possivelmente pela maior miscigenação da nossa população, com implicações para os protocolos de análise molecular a serem aplicados em nosso país (MATTE *et al*, 2000; PEREIRA *et al*, 2008).

A identificação do genótipo pode ser importante para ajudar a prever o fenótipo e para aconselhamento genético (GIUGLIANI *et al*, 2010a). Uma revisão de literatura realizada em 2003 (TERLATO; COX, 2003), a qual buscou estudos que avaliassem a possível correlação entre fenótipo e genótipo, afirma que todos os pacientes com uma mutação sem sentido em ambos os alelos desenvolveram a forma grave da doença. Já o fenótipo de pacientes com mutações com sentido trocado, inserção, deleção ou mutações no sítio de *splice* é muito mais variável. Pacientes com mutações com sentido trocado geralmente apresentam atividade enzimática residual. Em especial, a mutação R89Q tem sido identificada em vários pacientes com a manifestação atenuada, mesmo quando combinadas com uma

mutação sem sentido. Para Terlato e Cox (2003) não se pode afirmar que há correlação genótipo-fenótipo a menos que o paciente tenha duas mutações sem sentido.

### 2.1.2.3 Diagnóstico

O diagnóstico definitivo da MPS somente é confirmado por meio da análise da enzima específica ou por meio de análise molecular do gene específico. A partir da suspeita clínica de MPS, está indicada primeiramente a realização de exames qualitativos e quantitativos na urina. Testes qualitativos de triagem (como o do azul de toluidina), que buscam identificar GAGs elevados na urina, podem ser úteis para reforçar uma suspeita clínica. A dosagem quantitativa dos GAGs urinários permite a identificação de níveis elevados, o que é consistente com a suspeita de MPS. A análise qualitativa dos GAGs urinários por eletroforese ou cromatografia permite identificar qual GAG está aumentado. No caso da MPS I, os GAGs sulfato de dermatan e sulfato de heparan são parcialmente degradados e excretados na urina. A análise do GAG que não está sendo degradado e conseqüentemente é eliminado na urina foi o primeiro método utilizado para diferenciar os tipos de MPS (BECK; MUENZER; SCARPA, 2010). Esta análise, no entanto, não permite a diferenciação dos subtipos de MPS (como na MPS III, por exemplo) além de poder apresentar resultado normal para as formas mais atenuadas da doença. Após a identificação de uma excreção anormal de GAGs na urina, parte-se para os testes enzimáticos, nos quais a atividade da enzima específica para o tipo de MPS suspeitada é medida.

O diagnóstico bioquímico da MPS I é confirmado por meio da identificação da atividade deficiente da enzima IDUA, mas deve ser correlacionado com os achados clínicos do paciente, uma vez que no caso específico da MPS I pode ocorrer o fenômeno da pseudodeficiência (SCHWARTZ *et al*, 2001). A atividade da enzima IDUA pode ser medida em leucócitos, em fibroblastos cultivados ou em plasma. Embora não esteja confirmado por testes rigorosos, uma atividade da enzima de, no mínimo, 0.13% seria suficiente para levar ao fenótipo atenuado da doença (ASHTON *et al*, 1992). O diagnóstico também pode ser confirmado por meio da identificação da mutação no gene da IDUA (NEUFELD; MUENZER, 2001). Para tanto, é necessário obter o DNA do paciente, que geralmente é extraído de amostra

de sangue, mas pode também ser obtido de células da mucosa oral, saliva e outros materiais (GIUGLIANI *et al*, 2010a). As mutações mais frequentes no gene da IDUA podem ser primeiramente pesquisadas e, caso nenhuma delas seja identificada, pode-se fazer sequenciamento da região do gene que codifica a enzima (CLARKE; HEPPNER, 2011). Os casos mais graves, em geral, são diagnosticados mais precocemente, enquanto casos fenotipicamente atenuados podem levar anos até serem corretamente identificados (CLARKE; HEPPNER, 2011).

#### 2.1.2.4 Epidemiologia

A MPS I, como a maioria das doenças lisossômicas, é herdada de modo autossômico recessivo e tem uma incidência que varia entre 1 em 100 mil nascidos vivos para o fenótipo Hurler a 1 em 800 mil nascidos vivos para o fenótipo Scheie, de acordo com diferentes estudos (LOWRY *et al*, 1990; NELSON, 1997; MEIKLE *et al*, 1999; POORTHUIS *et al*, 1999; NEUFELD; MUENZER, 2001). Não existem estudos epidemiológicos específicos sobre a MPS I no Brasil. No entanto, a Rede MPS Brasil, uma parceria entre centros de genética brasileiros, identificou 93 novos pacientes brasileiros de abril de 2004 a novembro de 2011 (REDE MPS BRASIL, 2011, dados não publicados). Para BECK *et al* (2010), somente quando a triagem neonatal para as MPS estiver disponível será possível estimar a incidência real da doença.

#### 2.1.2.5 Tratamento

Não existe tratamento curativo para a MPS I. As opções terapêuticas disponíveis incluem intervenções realizadas no nível do fenótipo clínico (tratamento sintomático ou de suporte), tais como cirurgias para correção de hérnias, ou no nível da substituição da enzima deficiente (tratamento específico), como o TCTH e a TRE (GIUGLIANI *et al*, 2010b).

##### Tratamento sintomático

Antes do advento de terapias específicas, o tratamento da MPS I tinha como foco a prevenção e o manejo das complicações. Esse tratamento era sintomático e paliativo, baseado em uma equipe multidisciplinar na qual é muito importante a

participação de diversas especialidades médicas como cardiologia, pneumologia, anestesia, ortopedia, fisioterapia, otorrinolaringologia, oftalmologia, neurocirurgia, entre outras. Essa abordagem, com a finalidade não só de oferecer tratamento como também de promover a saúde, é muito importante, mesmo após o desenvolvimento de tratamentos específicos (GIUGLIANI *et al*, 2010a). Os profissionais da fisioterapia, terapia ocupacional, psicologia, e fonoaudiologia são também fundamentais na manutenção da saúde destes pacientes, evitando as complicações e de certa forma retardando um pouco a evolução da doença (PASTORES *et al*, 2007).

### Tratamento específico

Na década de 80 foi proposto o tratamento das MPS com TCTH (KRIVIT, 2004; LANGE *et al*, 2006) e na década de 90 começou o desenvolvimento da TRE, que são as duas armas terapêuticas para recompor, pelo menos, parcialmente a atividade da enzima deficiente (GIUGLIANI *et al*, 2010b).

A realização do TCTH está indicada para os pacientes com a forma grave de MPS I, uma vez que o TCTH realizado antes dos dois anos de idade nesses pacientes parece mudar favoravelmente e de forma significativa o comprometimento cognitivo (BOELEN *et al*, 2007, MUENZER; WRAITH; CLARKE, 2009). A idade é um fator importante, uma vez que, no Brasil, muitos pacientes são diagnosticados apenas após completarem dois anos de idade, ou próximos a esse limite. Os resultados dos transplantes realizados mais recentemente mostram um significativo progresso neste procedimento e uma sobrevida acima de 70% (STABA *et al*, 2004; BOELEN *et al*, 2007; ALDENHOVEN; BOELEN; KONING, 2008; PRASAD *et al*, 2008;), embora os índices obtidos no hemisfério norte não possam ser transferidos automaticamente para o Brasil em função das condições diferentes enfrentadas. Apesar de a experiência internacional indicar que o TCTH traz um benefício potencial superior à TRE para os pacientes com a forma grave de MPS I quando realizado antes dos dois anos de idade, em função das dificuldades em prever se o paciente apresenta a forma grave da doença, o TCTH acaba sendo realizado de forma bastante restrita nos pacientes brasileiros com MPS I, uma realidade que deveria ser modificada (GIUGLIANI *et al*, 2010a).

A TRE para MPS I é realizada pela administração intravenosa de laronidase, uma proteína análoga à  $\alpha$ -L-iduronidase humana, e que é produzida por engenharia genética em um sistema de expressão de células de ovário de hamster chinês (CHO) (KRIVIT, 2004). Esta terapia foi aprovada para o tratamento de pacientes nos Estados Unidos e na Europa em 2003 e no Brasil em 2005. Ensaios clínicos demonstraram que a laronidase melhora a capacidade respiratória, a hepatoesplenomegalia, a mobilidade articular e a capacidade de deambulação dos pacientes (MIEBACH, 2005). Entretanto, algumas manifestações clínicas como valvulopatia e disostose múltipla aparentemente não são revertidas pela terapia (GIUGLIANI *et al*, 2009). A incapacidade da laronidase administrada por via intravenosa de alcançar o sistema nervoso central, pelo menos na dose atualmente preconizada, limita seu uso no tratamento de doença neurológica em pacientes com a forma grave e neurodegenerativa da doença, sendo indicada para o tratamento dos sintomas não neurológicos da doença (GIUGLIANI *et al*, 2010a).

Os riscos e os benefícios do TCTH e da TRE devem ser determinados individualmente para cada paciente. Fatores importantes de serem considerados são a idade do paciente, o fenótipo, o coeficiente de desenvolvimento, gravidade clínica da doença e o potencial para crescimento, conforme algoritmo da figura 1 (MUENZER; WRAITH; CLARKE, 2009).

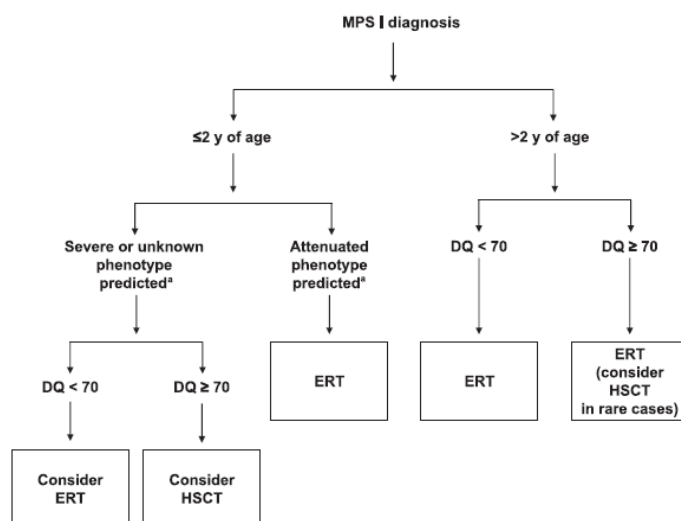


Figura 1: Algoritmo para tratamento de pacientes com MPS I (MUENZER; WRAITH; CLARKE, 2009).

### 3 JUSTIFICATIVA

O SGM/HCPA é um centro de referência para o diagnóstico e para o tratamento de EIM, especialmente para as DL, entre elas, a MPS I. Este serviço, que também coordena a Rede MPS Brasil, é responsável pelo atendimento e acompanhamento de pacientes oriundos de diversos estados brasileiros e países da América Latina e conta com o apoio de diversos centros de genética do continente. Além do atendimento ambulatorial aos pacientes afetados, o Serviço também acompanha pacientes que recebem TRE e atua como centro participante de estudos clínicos internacionais envolvendo as MPS (VIEIRA *et al*, 2008).

O Ambulatório de Erros Inatos do Metabolismo do HCPA realiza o acompanhamento de pacientes com MPS I, os quais são avaliados periodicamente. Muitos destes pacientes não se encaixam claramente em uma das três classificações tradicionais (Hurler, Hurler-Scheie ou Scheie), principalmente por não haver critérios bem estabelecidos para esta definição. Também se observa que alguns pacientes são encaminhados ao Ambulatório com uma classificação equivocada, muitas vezes, por falta de conhecimento dos profissionais sobre a doença, tornando-se necessária uma padronização na avaliação destes pacientes por meio de um instrumento de fácil acesso tanto para geneticistas quanto para generalistas, que auxilie na classificação correta da doença.

Alguns trabalhos destacam determinadas características como preponderantes para definir a gravidade da doença, tais como, idade do aparecimento dos sintomas, presença de duas mutações nulas e de características clínicas específicas, como giba e atraso no desenvolvimento (PASTORES *et al*, 2007). Entretanto, os critérios para classificação da gravidade das MPS nunca foram padronizados. Diante desse quadro, *experts* internacionais têm se reunido para propor critérios que possam auxiliar na classificação da MPS I.

A utilização de novos instrumentos que auxiliem na avaliação da gravidade da MPS I contribuirá para a classificação adequada da doença e, conseqüentemente, auxiliará na tomada de decisões acerca do melhor manejo destes pacientes.

#### **4 HIPÓTESES**

1) Um novo instrumento para avaliação da gravidade da MPS I é uma ferramenta útil para estabelecer o fenótipo de pacientes com esta doença.

2) Há correlação entre o resultado obtido com a aplicação do instrumento e as características bioquímicas (excreção de GAG na urina) e moleculares (genótipo) dos pacientes.



## **5 OBJETIVOS**

a) Geral: Aplicar, aos pacientes com Mucopolissacaridose I atendidos no SGM/HCPA e em outros centros brasileiros especializados, um novo instrumento para avaliar sua doença clínica e comparar o resultado dessa avaliação com a classificação tradicional, realizada de modo independente pelos médicos assistentes do paciente no momento do diagnóstico;

b) Específico: Avaliar se há correlação entre os dados bioquímicos (GAGs urinários) e moleculares (genótipo) com o resultado da aplicação do instrumento.

## REFERÊNCIAS

ALDENHOVEN, M.; BOELEN, J. J.; DE KONING, T. J.; The clinical outcome of Hurler syndrome after stem cell transplantation. **Biol Blood Marrow Transplant**, v. 14, n. 5, p. 485-498, 2008.

ASHTON, L.J. *et al.* Immunoquantification and enzyme kinetics of alpha-L-iduronidase in cultured fibroblasts from normal controls and mucopolysaccharidosis type I patients. **Am J Hum Genet**, v. 50, p. 787-794, 1992.

BECK, M.; MUENZER, J; SCARPA, M. Evaluation of disease severity in mucopolysaccharidoses. **J Pediatr Rehabil Med**, p. 39-46, 2010.

BERGMAN, I.; PAINTER, M.J. Neurologia. In: BEHRMAN, R.E.; KLIEGMAN, R.M. **Princípios de Neurologia**. Guanabara Koogan S.A, p.699-750, 2004.

BJORAKER, K.J. *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**, v. 27, n. 4, p. 290-296, 2006.

BOELEN, J.J. Trends in haematopoietic cell transplantation for inborn errors of metabolism. **J Inherit Metab Dis**, v. 29, n. 2-3, p. 413-420, 2006.

BOELEN, J.J. *et al.* Outcomes of hematopoietic stem cell transplantation for Hurler's syndrome in Europe: a risk factor analysis for graft failure. **Bone Mar Transp**, v. 40, n. 3, p. 225-233, 2007.

CLARKE, L.A. Clinical diagnosis of lysosomal storage diseases. In: APPEGARTH, D.A.; DIMMICK, J.E.; HALL, J.G., eds. **Organelle Diseases: Clinical Features, Diagnosis, Pathogenesis and Management**. Chapman and Hall Medical, London, 1997.

CLARKE, L.A.; HEPPNER, J. Mucopolysaccharidosis Type I. In: Pagon, R.A. **Gene Reviews** (on-line), Seattle (WA): University of Washington, Seattle (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1162/>), 2011.

FERNANDES, J. *et al.* **Inborn Metabolic Disease: diagnosis and treatment**, 4<sup>th</sup> ed., Heidelberg: Springer, 2006.

FULLER, M. *et al.* Prediction of neuropathology in mucopolysaccharidosis I patients. **Mol Genet Metab**, v. 84, n. 1, p. 18-24, 2005.

GIUGLIANI, R. *et al.* A dose-optimization trial of laronidase (Aldurazyme®) in patients with mucopolysaccharidosis I. **Mol Genet Metabol**, v. 96, p. 13-19, 2009.

GIUGLIANI, R. *et al.* Mucopolysaccharidosis I, II and VI: brief review and guidelines for treatment. **Mol Gen Biol**, v. 33, n. 4, p. 589-604, 2010a.

GIUGLIANI, R. *et al.* Enzyme replacement therapy for mucopolysaccharidosis I: laronidase. Future Medicine Ltd. **Pediatric Health**, v. 4, n. 2, p. 133–145, 2010b.

HGMD, Human Gene Mutation Database. **Institute of Medical Genetics in Cardiff**. <http://www.hgmd.cf.ac.uk/ac/all.php>. Acesso em 12/12/2011.

HEIN, L.K. *et al.* The alpha-L-iduronidase mutations R89Q and R89W result in an attenuated mucopolysaccharidosis type I clinical presentation. **Biochim Biophys Acta**, v. 1639, n. 2, p. 95-103, 2003.

HIRTH, A.; BERG, A.; GREVE, G. Successful treatment of severe heart failure in an infant with Hurler syndrome. **J Inherit Metab Dis**, v. 30, n. 5, p. 820, 2007.

KAKKIS, E. D. Enzyme replacement therapy for the mucopolysaccharide storage disorders. **Expert Opin Investig Drugs**, v. 11, p. 675-685, 2002.

KRIVIT, W. Allogeneic stem cell transplantation for the treatment of lysosomal and peroxisomal metabolic diseases. **Springer Semin Immunopathol**, v. 26, n. 1-2, p. 119-132, 2004.

LACHMAN, R. *et al.* Radiologic and neuroradiologic findings in the mucopolysaccharidoses. **Journal of Pediatric Rehabilitation Medicine: An Interdisciplinary Approach**, v. 3, p. 109–118, 2010.

LANGHE, M.C. *et al.* Bone marrow transplantation in patients with storage diseases: a developing country experience. **Arq Neuropsiquiatr**, v. 64, p. 1-4, 2006.

LOWRY, R.B. *et al.* An update on the frequency of mucopolysaccharide syndromes in British Columbia. **Hum Genet**, v. 85, n. 3, p. 389-390, 1990.

MABE, P. *et al.* Mucopolisacaridosis. In: COLOMBO, C.; CORNEJO, V.; RAIMANN, E.; editors. **Errores innatos en el metabolismo del niño**. Editorial Universitaria, cap. 8, p. 225-256, 2003.

MARTINS, A.M. *et al.* **Protocolo brasileiro de dietas: erros inatos do metabolismo**, 1ª ed., São Paulo, p. 13 – 29, 2006.

MATTE, U. *et al.* Unique frequency of known mutations in Brazilian MPS I patients. **Am. J. Med. Genet**, v. 90, n. 2, p. 108-109, 2000.

MATTE, U. *et al.* Identification and characterization of 13 new mutations in mucopolysaccharidosis type I patients. **Mol Genet Metab**, v. 78, n. 1, p. 37-43, 2003.

MEIKLE, P.J. *et al.* Prevalence of lysosomal storage disorders. **JAMA**, v. 281, n. 3, p. 249-254, 1999.

MIEBACH, E. Enzyme replacement therapy in mucopolysaccharidosis type I. **Acta Paediatr Suppl**, v. 94, n. 447, p. 58-60, 2005.

MUENZER, J. The mucopolysaccharidoses: a heterogeneous group of disorders with variable pediatric presentations. **J Pediatr**, v. 144, n. 5, p. 27-34, 2004.

MUENZER, J.; WRAITH, J.E.; CLARKE, L.A. International Consensus Panel on Management and Treatment of Mucopolysaccharidosis I. Mucopolysaccharidosis I: management and treatment guidelines. **Pediatrics**, n. 123, p. 19-29, 2009.

MUNDADA, V.; D'SOUZA, N. Lumbar gibbus: early presentation of dysostosis multiplex. **Arch Dis Child**, v. 94, p. 930-931, 2009.

NELSON, J. Incidence of the mucopolysaccharidoses in Northern Ireland. **Hum Genet**, v. 101, n. 3, p. 355-358, 1997.

NEUFELD, E.; MUENZER, J. The mucopolysaccharidoses. In: SCRIVER, C.R., editors. **The metabolic and molecular bases of inherited disease**. New York: McGraw-Hill, p. 3421-3452, 2001.

PASTORES, G.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 Metabol**, v. 91, p. 37-47, 2007.

PEREIRA, V.G. *et al.* Mutational and oxidative stress analysis in patients with mucopolysaccharidosis type I undergoing enzyme replacement therapy. **Clin Chim Acta**, v. 387, n. 1-2, p. 75-79, 2008.

POORTHUIS; B.J. *et al.* The frequency of lysosomal storage diseases in The Netherlands. **Hum Genet**, v. 105, n. 1-2, p. 151-156, 1999.

PRASAD, V.K. *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**, v. 112, p. 2979-2989, 2008.

SAUDUBRAY, J.M.; CHARPENTIER, C. Clinical Phenotypes: Diagnosis/Algorithms. In: Scriver, C.R. *et al.* **The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease**, p. 327-400, 1995.

SCHWARTZ, I.V.D. *et al.* Mucopolissacaridoses. In: CARAKUSHANSKY, G. **Doenças Genéticas em Pediatria**. 1ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; p. 180-184, 2001.

SCHWARTZ, I.V.D. *et al.* A clinical study of 77 patients with Mucopolysaccharidosis type II. **Acta Paediatrica Suppl**, v. 96, p. 63-70, 2007.

SIFUENTES, M. *et al.* A follow-up study of MPS I patients treated with laronidase enzyme replacement therapy for 6 years. **Mol Genet Metab**, v. 90, p. 171-180, 2007.

SOCIEDAD ARGENTINA DE PEDIATRIA. Consenso de diagnóstico y tratamiento

de la mucopolisacaridosis de tipo I. **Arch Argent Pediatr**, v. 106, n. 4, p. 361-368, 2008.

SOLIMAN, O.I.I. *et al.* Cardiac abnormalities in adults with the attenuated form of mucopolysaccharidosis type I. **J Inherit Metab Dis**, v. 30, n. 5, p. 750-757, 2007.

de SOUZA, M.V. *et al.* High cost drugs for rare diseases in Brazil: the case of lysosomal storage disorders. **Cien Saude Colet**, v. 3, p. 3443-3454, 2010.

STABA, S.L. *et al.* Cord-Blood Transplants from Unrelated Donors in Patients with Hurler's Syndrome. **N Eng J Med**, v. 350, n. 19, p. 1960-1969, 2004.

SWIEDLER, S.J. *et al.* Threshold effect of urinary glycosaminoglicans and the walk test as indicators of disease progression in a survey of subjects with Mucopolysaccharidosis VI (Maroteaux-Lamy syndrome). **Am J Med Genet A**, v. 134, p. 144-150, 2005.

TERLATO, N.J.; COX, G.F. Can mucopolysaccharidosis type I disease severity be predicted based on a patient's genotype? A comprehensive review of the literature. **Genet Med**, v. 5, n. 4, p. 286-294, 2003.

THOMAS, J.A. *et al.* Childhood onset of Scheie syndrome, the attenuated form of mucopolysaccharidosis I. **J Inherit Metab Dis**, v. 33, n. 4, p. 421-427, 2010.

UNIVERSITY OF MARYLAND MEDICAL CENTER. **Frontal bossing**. Disponível em <http://www.umm.edu/ency/article/003301all.htm>. Acesso em 28 de dezembro de 2011.

VIEIRA, T.A. *et al.* Mucopolysaccharidoses in Brazil: what happens from birth to biochemical diagnosis? **Am J Med Genet A**, v. 13, p. 1741-1747, 2008.

VIJAY, S.; WRAITH, J.E. Clinical presentation and follow-up of patients with the attenuated phenotype of mucopolysaccharidosis type I. **Acta Paediatr**, v. 94, n. 7, p. 872-877, 2005.

WALKER, R.W.M. *et al.* Anesthesia and mucopolysaccharidoses. **Anesthesia**, v. 49, p. 1078-1084, 1994.

WEISSTEIN, J.S. *et al.* Musculoskeletal manifestations of Hurler Syndrome: long-term follow-up after bone marrow transplantation. **J Pediatr Orthop**, v. 24, n. 1, p. 97-101, 2004.

WHITE, K.K. Orthopaedic aspects of mucopolysaccharidoses. **Rheumatology**, v. 50, n. 5, p. 26-33, 2011.

## **6 ARTIGO CIENTÍFICO EM INGLÊS**

A ser submetido para a Revista *American Journal of Medical Genetics*

### **Mucopolysaccharidosis type I: evaluation of a new tool for the phenotypic classification**

Andressa Federhen<sup>1,2</sup>, Roberto Giugliani<sup>1,2,3,4</sup>

1 Post-Graduate Program in Medicine: Medical Sciences, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil.

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

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

4 National Institute of Population Medical Genetics (*Instituto Nacional de Genética Médica Populacional* - INAGEMP), Porto Alegre, Brazil.

#### **Corresponding author**

Roberto Giugliani

Serviço de Genética Médica

Hospital de Clínicas de Porto Alegre

Rua Ramiro Barcelos 2350

90035-903 Porto Alegre, RS, Brazil

Phone: + 55 51 3359 6342

E-mail: [rjiugliani@hcpa.ufrgs.br](mailto:rjiugliani@hcpa.ufrgs.br)

## **Abstract**

**Introduction:** Mucopolysaccharidosis type I is usually classified into three clinical syndromes (Hurler, Hurler-Scheie and Scheie) according to the severity of phenotypic expression. Some authors believe this classification is not accurate because of disease variations and overlapping findings in some patients.

**Objective:** To evaluate a new tool for the phenotypic classification of MPS I and investigate whether it correlates with biochemical and molecular characteristics of the patients.

**Material and methods:** A tool developed by a group of experts was used to evaluate phenotype severity at the time of diagnosis in 43 Brazilian patients with MPS I. A score of zero to 14 was obtained using this tool, which evaluated presence or absence of the following signs and symptoms: delay in neurological and psychomotor development and cognitive decline; joint stiffness, arthropathy and joint contractures; kyphosis; dysostosis multiplex; macrocephaly; and frontal bossing. The same patients were evaluated by three experts who used the tool parameters and provided also an independent phenotypic classification. Biochemical and molecular findings were also compared with the results obtained in the instrument.

**Results:** The cut-off points which showed a better balance of sensitivity and specificity when using the instrument and according to the experts' evaluations were 7 and 9, respectively. The tool parameters with statistically significant differences were neurological and psychomotor development delay and cognitive decline (when the Hurler phenotype was compared with the Hurler-Scheie and Scheie phenotypes), and dysostosis multiplex (for the comparison between the Hurler and Scheie phenotypes). There was no correlation of the scores obtained when using the tool and urinary GAG values between the different phenotypes. Most patients with

nonsense mutations was classified as severe according to the tool scores and the experts' evaluations.

**Conclusions:** The cut-off points found in this study may be useful for the classification of patients into two groups: severe and attenuated disease. Neurological and psychomotor development delay and cognitive decline, as well as dysostosis multiplex, are important signs to define disease severity. Nonsense mutations seem to determine the most severe syndrome phenotype. The urinary GAG values did not identify the different phenotypes. This instrument should be used with a larger number of patients to evaluate its actual usefulness in classifying the severity of mucopolysaccharidosis type I.

Key words: mucopolysaccharidosis type I, Hurler syndrome, Hurler-Scheie syndrome, Scheie syndrome, alpha-L-iduronidase deficiency.



## 1 Introduction

Mucopolysaccharidoses (MPS) are inborn errors of metabolism (IEM) classified as lysosomal disorders (LD) and characterized by the accumulation of glycosaminoglycans (GAG) in tissues. Such accumulation is secondary to the deficient activity of a specific lysosomal enzyme involved in the degradation of these molecules [NEUFELD; MUENZER, 2001]. The deficient or absent activity of  $\alpha$ -L-iduronidase (IDUA) causes mucopolysaccharidosis type I (MPS I). This deficiency results in several signs and symptoms, such as delay in neurological and psychomotor development, coarse facial features, corneal clouding, macroglossia, hearing loss, hydrocephaly, heart disease, respiratory problems, hepatosplenomegaly, inguinal and umbilical hernias, kyphosis, dysostosis multiplex, contractures, joint mobility limitations and cognitive decline [NEUFELD; MUENZER, 2001].

The disease is usually classified into three clinical syndromes (Hurler, Hurler-Scheie and Scheie syndromes). The Hurler syndrome is traditionally assigned to the most severe phenotype, and the more mildly affected patients are classified as having the Scheie syndrome. Patients with moderate involvement are usually classified as having the Hurler-Scheie syndrome, which is an intermediate phenotype, between severe and attenuated. However, this traditional classification is not based on precisely defined criteria and does not provide a consistent model to classify the disease [PASTORES *et al*, 2007]. Because of the great heterogeneity of MPS I and overlapping symptoms in some patients, some authors believe that it is more adequate to classify patients as having either the attenuated or the severe form of the disease, whereas others believe that the patients should be distributed according to a wider range of subtypes [VIJAY; WRAITH, 2005].

No instruments are currently available to help to classify MPS I severity at the time of diagnosis, or to help to predict the severity of the phenotype that a patient may develop. Early diagnosis and phenotype definition are important to determine the best treatment for patients with MPS I [MUÑOZ *et al*, 2011]. Because there is no standard to classify the disease, and considering that specific treatments, such as hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) and enzyme replacement therapy (ERT) are already available for the treatment of MPS I, it is extremely important to identify the parameters that may help to predict the severity of the disease and, therefore, facilitate decision making about the most adequate treatment for each patient.

This study evaluated, in Brazilian MPS I patients, a new tool developed to help in the phenotypic classification. This instrument was developed by a consensus group and adapted by us. Biochemical and molecular data were also analyzed and compared with the results obtained in the new tool.

## **2 Material and methods**

This study enrolled patients referred to the Medical Genetics Service of Hospital de Clínicas de Porto Alegre (MGS/HCPA), which is a reference center for MPS I diagnosis and treatment, and patients evaluate in other reference centers for MPS in Brazil. This study was evaluated and approved by the Institutional Review Board of HCPA. The study authors signed an agreement for the confidential use of data whereby they agreed to protect the identity of the patients. This study followed the ethical guidelines for research with human beings.

### **2.1 Patients**

This study enrolled 43 patients with a confirmed biochemical or molecular diagnosis of MPS I. These patients had been previously included in the MPS I Registry, an observational program to study the natural history of MPS I, which started in April 2003 and included 845 patients up to September 2009 [MUÑOZ-ROJAS *et al*, 2011]. The MPS I Registry is sponsored by Genzyme Corporation and has approval of the National Committee on Ethics in Research to be conducted in Brasil. Patients that did not consent to participate in the MPS I Registry by signing an informed consent form were not included in the study.

## **2.2 Data collection**

Data were collected from the database of the MPS I Registry (after approval by the study sponsor, Genzyme Corporation), and from the medical charts of patients seen at the MGS/HCPA. Data from patients from other genetic centers were also collected using the database of the MPS I Registry. Missing or incomplete data were requested from the attending physician for each patient. Data collected were date of birth, date of diagnosis, genotype, phenotype and six signs and symptoms, either present or absent at the time of diagnosis: delay in neurological and psychomotor development and cognitive decline; joint stiffness, arthropathy and joint contractures; kyphosis; dysostosis multiplex; macrocephaly; and frontal bossing. Results of urinary GAG and molecular analysis were also collected whenever available.

## **2.3 Tool**

A tool developed by a consensus group with MPS experts from several countries, which had a meeting in 2008 in The Netherlands, was adapted and used to collect data. Data available from birth to one year after the confirmation of diagnosis were collected because many tests are run in this period. A score was assigned to each parameter under evaluation. For the first symptom – delay in neurological and psychomotor development and cognitive decline – scores were defined according to the analysis of the IQ test, using validated instruments, or clinical evaluations. The second characteristic - joint stiffness, arthropathy and joint contractures - was classified as present when recorded in the medical charts as a visible sign during the physical examination. The third sign - kyphosis – should also be recorded in medical charts and be visible at physical examination. The presence of the fourth characteristic – dysostosis multiplex – should be documented in medical records or seen on radiological studies. The presence of the fifth sign – macrocephaly – should be recorded in the patient charts or confirmed by head circumference according to patient’s age, when available. At the end, the scores for each item resulted in a total which ranged from zero to 14, where zero was the score assigned to a patient that had no points in any item, that is, with the mildest form of the disease, and 14, the score assigned to the patient with the highest score in all items, which suggested the most severe form of the disease. The phenotype assigned to the patient at the time of diagnosis was also recorded, whenever available. For 15 of the 43 patients, current data (up to September 2011) for the parameters mentioned above were also collected. For these patients, the instrument was applied again and a score was calculated for this second time point. Current phenotype was recorded to compare whether it changed from the phenotype defined at the time of diagnosis.

## 2.4 Evaluation by experts

After the application of the classification tool, a summary was prepared for each patient with information about the six signs and symptoms included in the tool without showing which scores the patients received for each item. The summary for each patient was sent to three experts with experience in providing care for MPS I patients. They were asked to assign a score for disease severity according to the following data:

- age of patient up to 1 year after confirmation of diagnosis (time for data collection).
- presence or absence of delay in neurological and psychomotor development and cognitive decline. In case it was present, data about the severity of the symptom (severe or moderate) and whether it was detected before or after two years of age were informed.
- presence or absence of joint stiffness, arthropathy and joint contractures. In case the sign or symptom was present, we informed whether it was detected before or after two years of age.
- presence or absence of kyphosis. If present, we informed whether it was detected before or after 12 months of life.
- presence or absence of dysostosis multiplex. If present, we informed whether it was detected before or after two years of age.
- presence or absence of macrocephaly.
- presence or absence of frontal bossing.

The experts were instructed to assign a score from zero to 14, where zero indicated the mildest disease, and 14, the most severe. In addition, the geneticists

were asked to classify each patient phenotypically, according to the traditional classification (Hurler, Hurler-Scheie and Scheie) and the information found in the summary. The patients whose current data were also collected and for whom the instrument was used at two time points were also evaluated by the geneticists using their current data, but blinded to all details. That meant that the specialists did not know that two different summaries might belong to the same patient at two different time points in their lives (at diagnosis and presently) to avoid that they compared the two evaluations and, consequently, may tend to assign a similar score or the same phenotype for the patient at the two time points.

## **2.5 Biochemical and molecular data**

The results of urinary GAG measurements at the time of diagnosis and of molecular analysis were also collected whenever available and compared with the score obtained when using the instrument, the score assigned by the specialists, the phenotype entered in medical charts and the phenotype assigned by the specialists at diagnosis.

## **2.6 Statistical analysis:**

After collection, data were recorded using a Microsoft Excel spreadsheet and analyzed using the Statistical Package for Social Sciences 18.0 (SPSS<sup>®</sup> Inc, Chicago, IL). Categorical variables were reported as frequencies and percentages. Continuous and normally distributed variables were expressed using means and standard deviations, whereas asymmetrically distributed variables were reported as medians and interquartile ranges. Agreement in phenotypical classification among

the three experts was assessed using the Kappa coefficient. The median value of the scores assigned by the experts at the time of the diagnosis was calculated, and this result was compared with the score obtained with the proposed tool using data collected at the time of the diagnosis (using the Pearson correlation coefficient). The multiple Dunn comparisons were used to evaluate the difference in scores between the three phenotypes for each item of the instrument.

### 3 Results

Median age of the 43 patients included in the study was 24 months (interquartile range: 12.5 – 85.5); lowest age at diagnosis was 3 months, and highest, 276 months. For the Hurler phenotype, median age at diagnosis was 16 months; for the patients with Hurler-Scheie syndrome, 25 months, and for those with Scheie syndrome, 159 months.

#### Application of the tool and expert evaluation:

Median and mean scores obtained using the tool at the time of the diagnosis were 5 and  $5.58 \pm 4.15$ ; minimum score was zero, and maximum, 14. Score obtained at diagnosis for the three phenotypes using the instrument are shown in Figure 1a. Mean score assigned to patients at the time of diagnosis by specialist 1, 2 and 3 were  $9.8 \pm 3.67$ ,  $9.00 \pm 3.8$  and  $7.73 \pm 3.96$ . There was a good correlation (Pearson: 0.91) between median scores for the 3 evaluators for each patient and the score obtained using the tool at the time of diagnosis. Score assigned by the specialist at diagnosis for the three phenotypes can be seen Figure 1b.

Comparison between score obtained using the tool and that assigned by the specialists is in Figure 2a.

For the phenotype assigned by evaluators based on data at the time of the diagnosis, agreement was moderate between evaluators 1 and 2 and 1 and 3 (Kappa: 0.50 and 0.52, respectively). Between evaluators 2 and 3, there was a better agreement (Kappa: 0.79). The Kappa coefficient for the three evaluators was 0.598. The median value for the three specialists was used to define a single phenotype according to the specialists' classification, both at the time of diagnosis and currently, for each patient.

Seven of the 43 patients had no phenotype defined in their medical chart at the time of diagnosis. In the group of 36 patients with a defined phenotype, there was agreement between the phenotype recorded in the medical chart and that assigned by the evaluators in 24 cases (66%).

In the division of patients into two groups, severe and attenuated, in which severe were the patients with the Hurler phenotype according to their chart at the time of diagnosis and attenuated were those with the Hurler-Scheie and Scheie syndromes, described in their charts at the time of diagnosis, 14 patients were classified as severe and 22, attenuated. The analysis of the score obtained using the tool for the 36 patients whose phenotype was recorded in the chart at the time of diagnosis suggested that the adequate cut-off point to classify severe and attenuated patients separately was around seven (54% sensitivity and 87% specificity). By the expert evaluation, 15 of the 43 patients were classified as having the severe form of the syndrome and 28 the attenuated form. The analysis of the scores assigned by experts to patients revealed that the cut-off point to differentiate these two groups was around nine (100% sensitivity and 82% specificity).



The analysis of the data in the medical records of the 15 patients whose current data were available, in addition to data at the time of diagnosis, revealed a statistically significant difference between the mean score obtained at diagnosis ( $3.33\pm 3.13$ ) and mean current score ( $5.07\pm 3.05$ ) ( $P=0.001$ ) (Figure 2b). The comparison of the evaluation by specialists also revealed a statistically significant increase in the mean score assigned at the time of diagnosis ( $6.36\pm 4.24$ ) and the mean current score ( $8.4\pm 3.83$ ) ( $P=0.027$ ) (Figure 2c). The signs and symptoms evaluated with the tool which the difference between score at diagnosis and current score was statistically significant were kyphosis ( $P=0.046$ ) and dysostosis multiplex ( $P=0.003$ ). The classification of the current phenotype of patients showed agreement between information in medical records and median classification assigned by specialists for 10 of the 15 patients (Kappa: 0.51); that is, there was no statistically significant difference between the classification recorded in their medical charts and that assigned by experts ( $P=0.223$ ).

The separate analysis of the scores that patients received in each tool item revealed a statistically significant difference in the score for delay in neurological and psychomotor development and cognitive decline between patients with the Hurler phenotype and those with the Hurler-Scheie ( $P=0.034$ ) or the Scheie syndrome ( $P=0.036$ ). There was a significant difference in dysostosis multiplex between the Hurler and the Scheie phenotypes ( $P=0.024$ ). There were no statistically significant differences between the three phenotypes in the other four signs and symptoms.

#### Biochemical and molecular data

Genotypes were known for 24 of the 43 patients under evaluation (Table I). The W402X mutation was predominant and appeared as homozygosis or

heterozygosis in 15 of the 24 patients. Of the seven homozygous patients for the W402X mutation, 6 had the same Hurler classification in their medical charts, and 5 were classified in the same way by the experts.

The results of GAG levels at the time of diagnosis were available for 28 of the 43 patients. No correlation was found between the instrument scores and urinary GAG levels (Figure 4), as well as between experts' score and GAG levels. Although mean urinary GAG levels were greater for patients with the Hurler syndrome (Figures 3a and 3b), there seems to be no difference between the three phenotypes because many patients with the Hurler-Scheie and Scheie syndrome had urinary GAG levels as high as those of patients with the Hurler phenotype.

#### **4 Discussion**

Median age at diagnosis was lower for patients with the Hurler phenotype due to the earlier appearance of signs and symptoms that suggest the presence of this disease. Severe cases are more easily identified, which suggests that the attenuated form of MPS I may be underdiagnosed [MUENZER et al, 2009]. However, later diagnoses of patients with attenuated phenotypes may be a consequence of the fact that professionals may lack knowledge of the disease characteristics, and, therefore, the diagnosis of many patients is only confirmed in adolescence or adulthood.

Thirty-eight percent of the patients evaluated in this study were classified as having the Hurler syndrome at diagnosis. No studies have accurately defined the proportion of individuals with the severe or attenuated form of the disease. It is estimated that at least 50% to 80% of the patients with MPS have the Hurler phenotype [MUENZER et al, 2009]. However, there is a greater prevalence of

individuals with the attenuated phenotype due to the longer survival of these patients [CLARKE; HEPPNER, 2011]. A recent study [MUÑOZ-ROJAS *et al*, 2011] evaluated the phenotype of 71 Brazilian patients registered in the MPS I Registry and found that the predominant phenotype among Brazilian patients was the Hurler-Scheie (42.3%). The Hurler phenotype was found for 25.4% of the patients, and the Scheie phenotype, for 15.5%. The phenotype was unknown for 16.9%. The Hurler phenotype alone was assigned to 31% of the patients in Latin America, but for 62% of the patients in the rest of the world (727). Contrary to findings of studies with European patients, the attenuated disease phenotype was predominant in the group of patients evaluated in this study. The median score obtained when using the tool at the time of diagnosis indicates a greater number of patients with the attenuated phenotype, according to medical records. Although a greater median value was found for the score assigned by evaluators, which suggests a trend to classify patients as having a more severe disease, there was a good correlation between the two evaluations. The analysis of phenotype defined by experts based on data available at the time of diagnosis revealed that there was good agreement only between two of the three experts, the same two for whom median scores were lower.

The comparison of the phenotype defined by experts – using the tool parameters - with the phenotype assigned in medical records, revealed agreement for 66% of the patients, which indicates that the experts classified most patients as the attending physicians did at the time of the diagnosis. The physician responsible for diagnosis is not always a MPS expert, which may difficult the classification of patient phenotype.

The cut-off points with good sensitivity and specificity, defined according to the evaluation of the specialists and instrument scores, were close (9 and 7,

respectively), which suggests that these values may be useful to classify the patients into two different groups, as suggested by some authors: severe and attenuated.

The statistically significant increase in the mean instrument score and mean specialist score for the 15 patients that had their current data evaluated points to the expected progression of the disease, particularly of the kyphosis and dysostosis multiplex, which suggests that the skeletal signs and symptoms deteriorated. The phenotype classification by specialists was in agreement with that found in the medical charts for most patients in this group. According to BECK and WIDMER (2006), a tool for the classification of disease severity should ideally be capable of predicting disease progression. Such instruments may help to define whether a patient has the severe form of MPS I and should undergo HSCT, or whether they have the attenuated form and will respond to ERT without being exposed to the risks of HSCT [BECK *et al*, 2010]. The tools used in studies of Neimann-Pick C disease [YANJANIN *et al*, 2010] are examples that these instruments may be used to evaluate disease progression and the level of deterioration of some clinical parameters.

As expected, the delay in neurological and psychomotor development and cognitive decline was the instrument parameter with the statistically significant difference in the score for the Hurler phenotype when compared with the other two phenotypes. Cognitive decline is one of the characteristics that differentiate the patients with Hurler from those that have the Hurler-Scheie and Scheie syndromes [MUÑOZ-ROJAS *et al*, 2011].

In contrast, a difference in dysostosis multiplex was found between the Hurler and Scheie phenotypes. This finding is in agreement with another study, which found

a greater predominance of dysostosis multiplex in patients with the Hurler phenotype (over 80%) than among patients with the Scheie phenotype (50%).

No statistically significant differences were found for the other signs and symptoms, which may suggest that they are not good indices of disease severity. The small sample size has probably also influenced this result.

The analysis of genotypes revealed that W402X was the most common mutation among patients. The W402X and Q70X mutations are found in over 50% of the alleles of Caucasian patients [TERLATO; COX, 2003]. Almost all patients that were homozygous for the W402X mutation were classified as having the Hurler phenotype by their attending physicians and the specialists. However, the comparison of scores showed that those assigned by the specialists for these patients were greater than those obtained when using the instrument. All the patients, except one, received a score greater than 7 in the experts' evaluations. For the consensus of the Argentinean Society of Pediatrics, the presence of two serious mutations, such as W402X and Q70X, will always lead to severe disease. However, this correlation should be interpreted cautiously because the same mutation may lead to a different phenotype when combined with other alleles. In addition, the environmental effects should also be taken into consideration. According to Pastores *et al* (2007), the progress in establishing a correlation between genotype and phenotype is limited due to the lack of a detailed and standardized description of different phenotypes. To define a clear association between genotype and phenotype, which may be used to predict disease severity and be clinically useful, it is necessary to have more research protocols [Sociedad Argentina de Pediatría, 2008].

Although Swiedler *et al* (2005) believe that urinary GAG level is the only biomarker currently available to help to determine MPS severity, this study did not find any correlation between urinary GAG levels and the instrument score, or between the Hurler, Hurler-Scheie and Scheie classification, which is in agreement with data in the literature, as other studies found that, although GAG levels are higher in patients with severe MPS I, the different signs and symptoms of MPS I are biochemically indistinguishable [NEUFELD; MUNEZER, 2001; HOPWOOD; MULLER, 1979].

This study is limited by its small sample size. Data were collected from records available in medical charts, which may be incomplete and/or inaccurate.

The proposed tool has only six signs and symptoms. Other signs and symptoms may certainly be evaluated in attempts to determine disease severity. However, these tools should be simple and have only parameters that may be easily evaluated, even in a small healthcare center [BECK *et al*, 2010].

In the case of rare diseases, it is extremely important that tools to classify severity should be applied and validated in many countries. Validation of a new tool to help to classify the phenotype of patients with MPS I is a great challenge due to the rarity of this disease. This tool should be applied in a larger group of patients, in other countries and at different disease stages to investigate its actual usefulness in the evaluation of MPS I severity.

## **Acknowledgments**

The authors thank the specialists responsible for patient evaluation, the Post-Graduate Program in Medicine: Medical Sciences of Universidade Federal do Rio

Grande do Sul, the Coordinating Agency for Advanced Training of Graduate Personnel (CAPES), the Medical Genetics Service of Hospital de Clínicas de Porto Alegre and the Genzyme Corporation for authorizing the collection of part of the data from the MPS I Registry.

## References

Beck M, Muenzer J, Scarpa M. 2010. Evaluation of disease severity in mucopolysaccharidoses. *J Pediatr Rehabil Med* 3(1):39-46.

Beck M, Widmer U. 2006. Assessing multiorgan disease severity: scoring systems and applicability in LSDs. *Acta Paediatrica Suppl* 95:41-42.

Clarke LA, Heppner J. 2011. Mucopolysaccharidosis Type I. In: Pagon RA, Bird TD, Dolan CR, Stephens K, editors. *Gene Reviews (on-line)*, Seattle (WA): University of Washington, Seattle (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1162/>).

Hopwood JJ, Muller V. 1979. Biochemical discrimination of Hurler and Scheie syndromes. *Clin Sci (Lond)* 57(3):265-272.

Muenzer J, Wraith JE, Clarke LA, International Consensus Panel on Management and Treatment of Mucopolysaccharidosis I. 2009. Mucopolysaccharidosis I: management and treatment guidelines. *Pediatrics* 123:19-29.

Munõz-Rojas MV, Bay L, Sanchez L, van Kuijck M, Ospina S, Cabello JF, Martins AM. 2011. Clinical manifestations and treatment of mucopolysaccharidosis type I patients in Latin America as compared with the rest of the world. *J Inher Metab Dis*. 34(5):1029-1037.

Neufeld E, Muenzer J. 2001. The mucopolysaccharidoses. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, editors. *The metabolic and molecular bases of inherited disease*. New York: McGraw-Hill, p 3421-3452.

Pastores GM, Arn P, Beck M, Clarke JT, Guffon N, Kaplan P, Muenzer J, Norato DY, Shapiro E, Thomas J, Viskochil D, Wraith JE. 2007. 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.

Sociedad Argentina de Pediatría. 2008. Consenso de diagnóstico y tratamiento de la mucopolisacaridosis de tipo I. *Arch Argent Pediatr* 106(4):361-368.

Swiedler SJ, Beck M, Bajbouj M, Giugliani R, Schwartz I, Harmatz P, Wraith JE, Roberts J, Ketteridge D, Hopwood JJ, Guffon N, Sá Miranda MC, Teles EL, Berger KI, Piscia-Nichols C. 2005. Threshold effect of urinary glycosaminoglycans on the

walk test as indicators of disease progression in a survey of subjects with Mucopolysaccharidosis VI (Maroteaux-Lamy syndrome). *Am J Med Genet A* 134: 144-150.

Terlato NJ, Cox GF, 2003. Can mucopolysaccharidosis type I disease severity be predicted based on a patient's genotype? A comprehensive review of the literature. *Genet Med* 5(4):286-294.

Vijay S, Wraith JE. 2005. Clinical presentation and follow-up of patients with the attenuated phenotype of mucopolysaccharidosis type I. *Acta Paediatr* 94 7:872-877.

Yanjanin NM, Vélez JI, Gropman A, King K, Bianconi SE, Conley SK, Brewer CC, Solomon B, Pavan WJ, Arcos-Burgos M, Patterson MC, Porter FD. 2010. Linear clinical progression, independent of age of onset, in Niemann-Pick disease, type C. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 153B(1):132-140.



Table I - Genotype and phenotype according medical records, phenotype according the specialists, score obtained in the instrument, score assigned by the specialists and classification according cut-off points for both evaluations for each patient.

Patient	Genotype		Phenotype according medical records <sup>a</sup>	Phenotype according to experts <sup>b</sup>	Score obtained with the tool <sup>c</sup>	Classification according cut-off point 7 <sup>d</sup>	Score assigned by experts <sup>e</sup>	Classification according cut-off point 9 <sup>f</sup>
	Allele 1	Allele 2						
1	134del12	W402X	H	HS	4	Attenuated	9	Attenuated
2	E182K	G208D	H	H	11	Severe	13	Severe
3	G196D	Y202X	H	H	13	Severe	14	Severe
4	P533R	P533R	HS	HS	5	Attenuated	10	Severe
5	P533R	R89Q	HS	HS	7	Attenuated	10	Severe
6	P533R	-	HS	HS	5	Attenuated	7	Attenuated
7	Q380R	R628P	S	S	1	Attenuated	3	Attenuated
8	Q70X	P533R	S	H	5	Attenuated	10	Severe
9	R383H	-	S	S	1	Attenuated	3	Attenuated
10	R383H	W402X	-	S	1	Attenuated	3	Attenuated
11	R89Q	R383H	HS	HS	3	Attenuated	7	Attenuated
12	W402X	deltaD455	-	S	1	Attenuated	3	Attenuated
13	W402X	deltaD445	S	HS	3	Attenuated	7	Attenuated
14	W402X	R383H	-	S	2	Attenuated	4	Attenuated
15	W402X	R89Q	HS	HS	5	Attenuated	7	Attenuated
16	W402X	R89Q	-	S	1	Attenuated	3	Attenuated
17	W402X	-	HS	HS	6	Attenuated	10	Severe
18	W402X	W402X	H	HS	7	Attenuated	9	Attenuated
19	W402X	W402X	H	H	11	Severe	14	Severe
20	W402X	W402X	H	H	8	Severe	13	Severe
21	W402X	W402X	-	HS	3	Attenuated	7	Attenuated
22	W402X	W402X	H	H	5	Attenuated	11	Severe
23	W402X	W402X	H	H	9	Attenuated	12	Severe
24	W402X	W402X	H	H	10	Severe	13	Severe

a. At the moment of diagnosis.

b. Median obtained with experts' evaluation.

c. Assigned from data available at the moment of diagnosis.

d. Cut-off point suggested after analysis of the score results obtained with application of the tool (sensitivity 64%, specificity 87%).

e. Median obtained with experts' evaluation.

f. Cut-off point suggested after analysis of the score assigned by the experts (sensitivity 100%, specificity 82%).

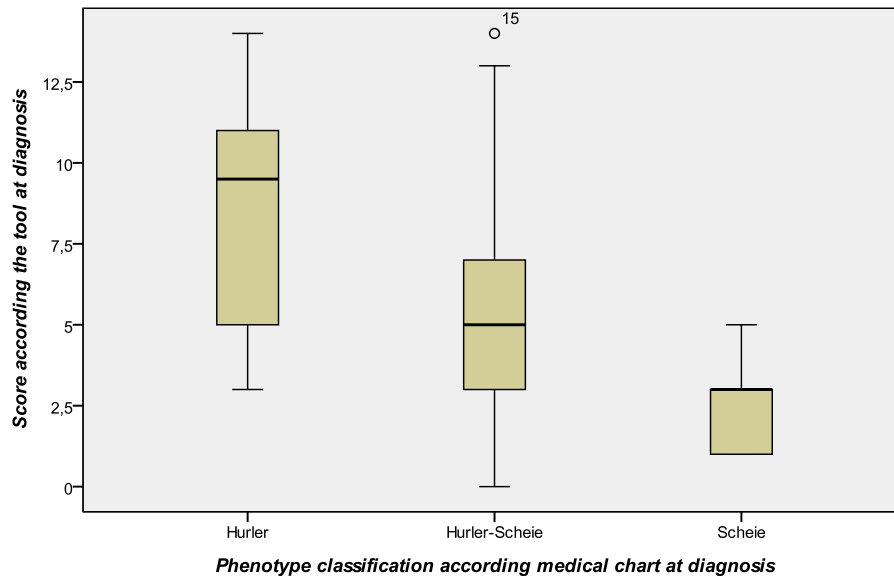


Figure 1a - Score according to the tool and phenotype classification according to medical chart at the moment of diagnosis

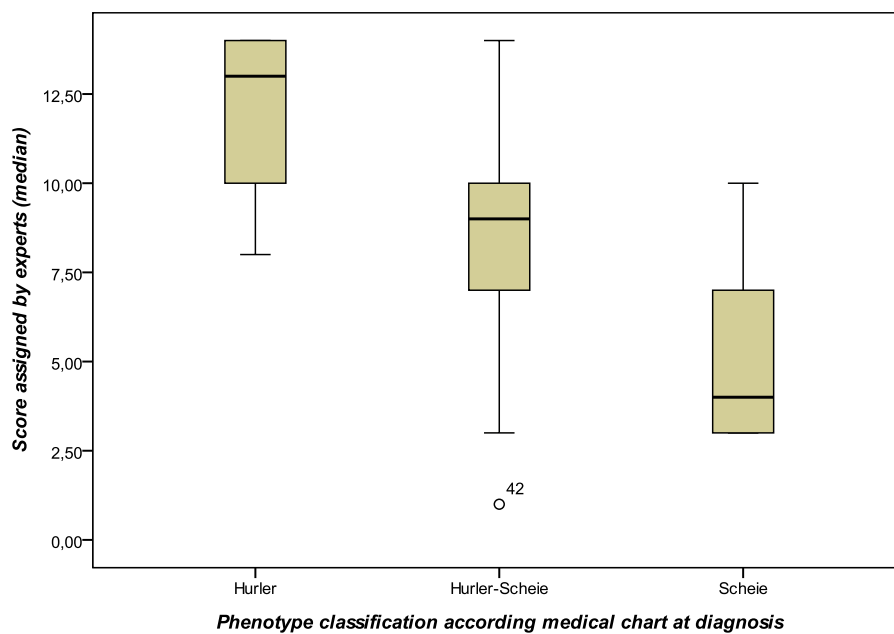
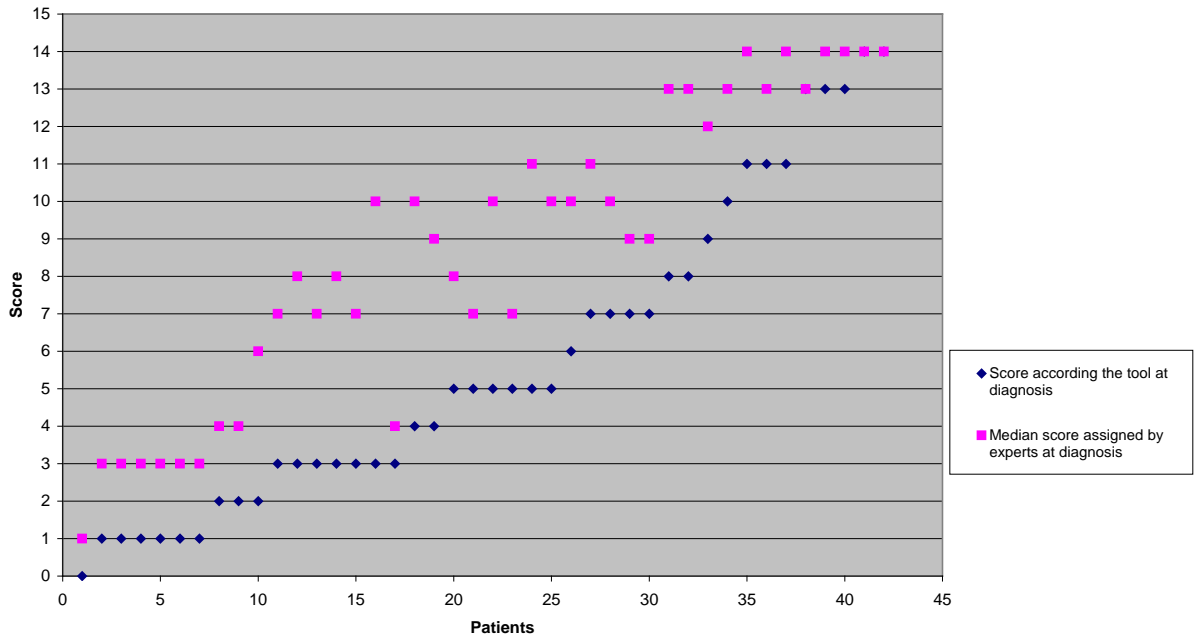
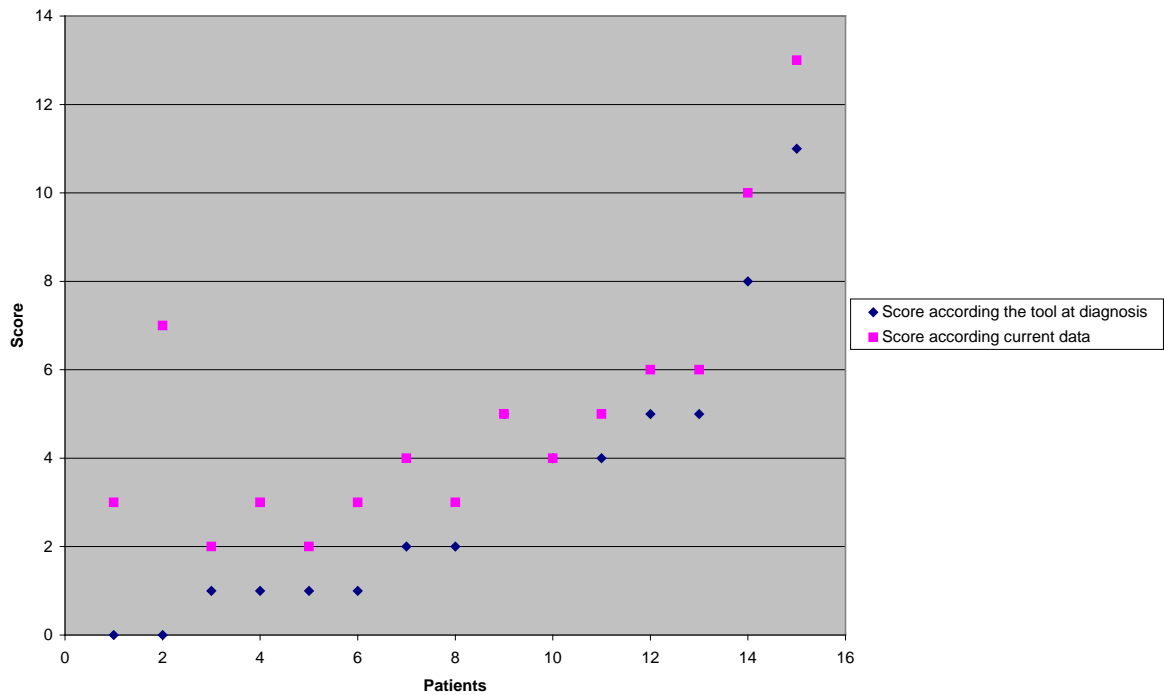


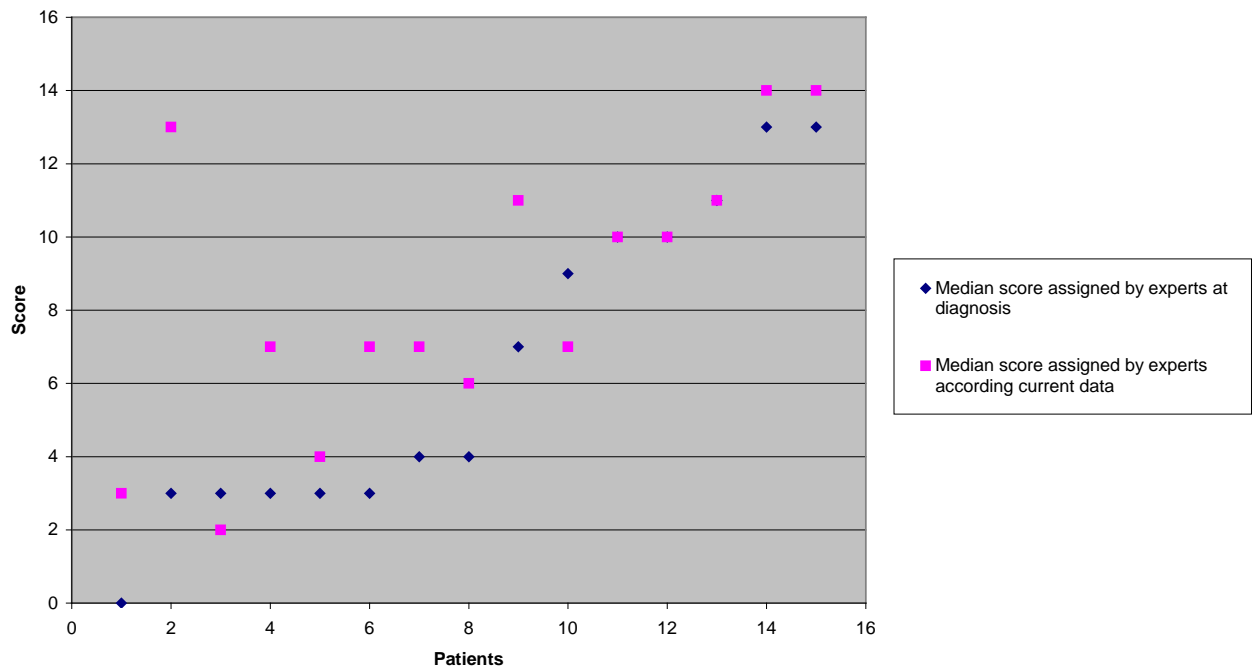
Figure 1b - Score assigned by experts and phenotype classification according to medical chart at diagnosis



**Figure 2a - Score according the tool and score assigned by the experts at the moment of diagnosis**



**Figure 2b - Comparison between score obtained in the tool with data available at the moment of diagnosis and with the current data available.**



**Figure 2c - Comparison between the score (median) assigned by experts according data available at diagnosis and the score assigned by them according current data**

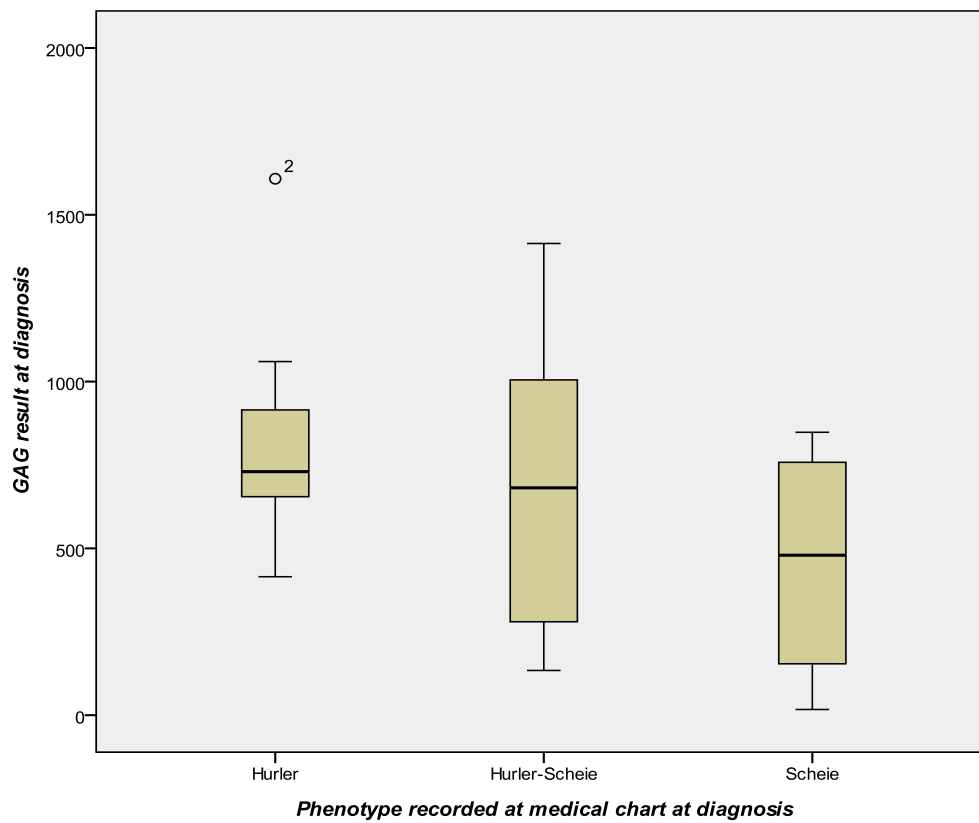


Figure 3a - Urinary GAG results according phenotype recorded at patient medical chart at the moment of diagnosis

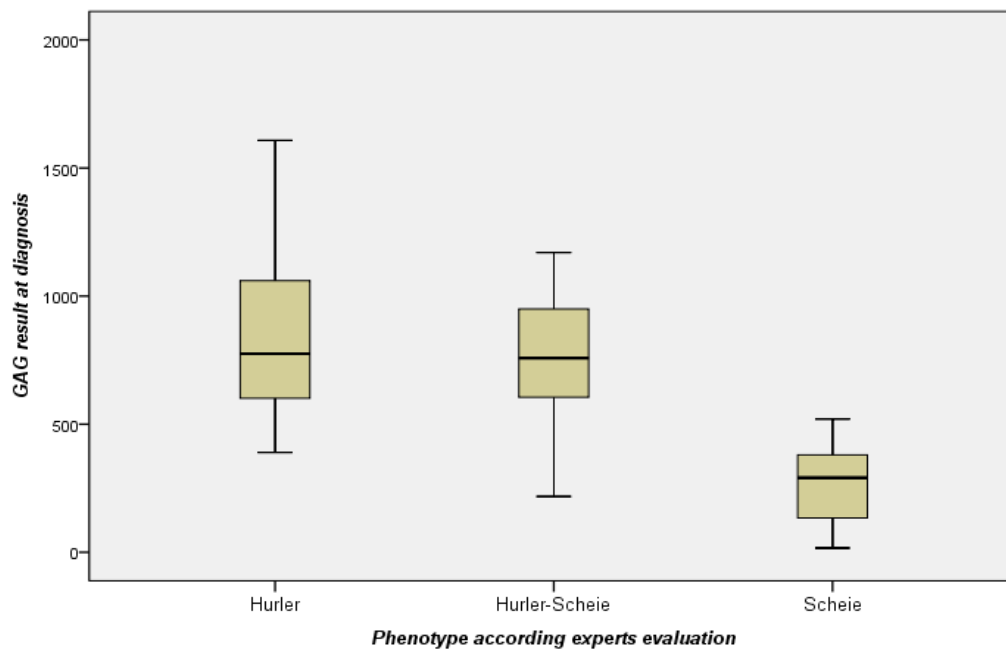
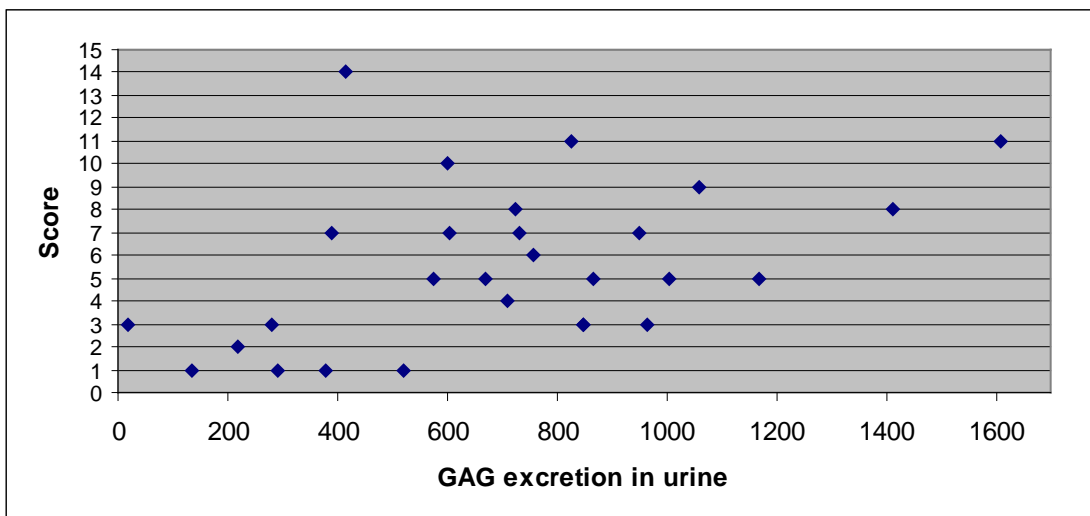


Figure 3b - Urinary GAG results according phenotype assigned by experts at the moment of diagnosis



**Figure 4 – Result of urinary GAG excretion and score according the tool at the moment of diagnosis.**

## **7 ARTIGO CIENTÍFICO EM PORTUGUÊS**

### **Mucopolissacaridose tipo I: avaliação de um novo instrumento para classificação fenotípica**

Andressa Federhen<sup>1,2</sup>, Roberto Giugliani<sup>1,2,3,4</sup>

1 Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil.

2 Serviço de Genética Médica, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Porto Alegre, Brasil.

3 Departamento de Genética, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil.

4 INAGEMP – Instituto Nacional de Genética Médica Populacional, Porto Alegre, Brasil.

#### **Autor correspondente:**

Roberto Giugliani

Serviço de Genética Médica

Hospital de Clínicas de Porto Alegre

Rua Ramiro Barcelos 2350

90035-903 – Porto Alegre – RS – Brasil

Tel.: + 55 51 3359 6342

E-mail: [rgiugliani@hcpa.ufrgs.br](mailto:rgiugliani@hcpa.ufrgs.br)

Resumo:

**Introdução:** A mucopolissacaridose tipo I é comumente classificada em três síndromes clínicas (Hurler, Huler-Scheie e Scheie) conforme a gravidade da expressão fenotípica. Devido à alta heterogeneidade da doença e à sobreposição de sintomas em pacientes, alguns autores consideram esta forma de classificação ultrapassada.

**Objetivo:** Avaliar um novo instrumento para a classificação fenotípica da MPS I e avaliar se há correlação com características bioquímicas e moleculares dos pacientes.

**Materiais e Método:** Um instrumento elaborado por um grupo de especialistas foi utilizado para avaliar a gravidade do fenótipo ao diagnóstico de 43 pacientes brasileiros com MPS I. Uma nota de zero a 14 foi obtida com a aplicação deste instrumento avaliando a presença ou ausência dos seguintes sinais e sintomas: atraso no desenvolvimento neuropsicomotor/declínio cognitivo, rigidez articular/artropatia/contraturas articulares, cifose, disostose multiplex, macrocefalia e bossa frontal. Os pacientes foram também avaliados por três especialistas em genética, os quais usaram os mesmos parâmetros do instrumento para classificar de forma independente os pacientes quanto ao fenótipo. Dados bioquímicos e moleculares também foram comparados com o resultado do instrumento.

**Resultados:** Os pontos de corte que demonstraram o melhor equilíbrio entre sensibilidade e especificidade encontrados a partir da aplicação do instrumento e a partir da avaliação dos geneticistas foi, respectivamente 7 e 9. Os parâmetros do instrumento para os quais foi observada diferença estatisticamente significativa foram atraso do desenvolvimento neuropsicomotor/declínio cognitivo entre o fenótipo Hurler e os fenótipos Hurler-Scheie e Scheie e disostose múltipla entre os



fenótipos Hurler e Scheie. Não foi observada correlação entre a nota obtida no instrumento e os valores de GAGs urinários entre os diferentes fenótipos. A maior parte dos pacientes com mutações sem sentido foi classificada como grave a partir do instrumento e pelos geneticistas.

**Conclusões:** Os pontos de corte encontrados podem ser úteis para a classificação dos pacientes em dois grupos distintos – graves e atenuados. O atraso no desenvolvimento neuropsicomotor/declínico congênito e a disostose múltipla são sinais preponderantes para diferenciar a gravidade da doença. Mutações sem sentido parecem determinar o fenótipo mais grave da síndrome. Não foi possível distinguir os diferentes fenótipos a partir dos valores de GAGs na urina. Faz-se necessária a aplicação do instrumento em um número maior de pacientes a fim de avaliar a real utilidade desta ferramenta na classificação da gravidade da Mucopolissacaridose tipo I.

Palavras-chave: Mucopolissacaridose I, Síndrome de Hurler, Síndrome de Hurler-Scheie, Síndrome de Scheie, deficiência de alfa-iduronidase.

## 1 Introdução

As mucopolissacaridoses (MPS) são erros inatos do metabolismo (EIM) classificados como doenças lisossômicas (DL) e caracterizados pelo acúmulo de glicosaminoglicanos (GAGs) nos tecidos. Este acúmulo é secundário à deficiência na atividade de uma enzima lisossômica específica envolvida na degradação dessas moléculas [NEUFELD; MUENZER, 2001]. A deficiência ou ausência de atividade da enzima  $\alpha$ -L-iduronidase (IDUA) causa a Mucopolissacaridose tipo I (MPS I). Como consequência desta deficiência observa-se diversos sinais e sintomas como atraso no desenvolvimento neuropsicomotor, fácies tosca característica, opacificação da córnea, macroglossia, perda auditiva, hidrocefalia, cardiopatia, problemas respiratórios, hepatoesplenomegalia, hérnia inguinal e umbilical, cifose, disostose múltipla, contraturas, limitação da mobilidade articular e declínio cognitivo [NEUFELD; MUENZER, 2001].

A doença comumente é classificada em três síndromes clínicas (Hurler, Hurler-Scheie e Scheie). Tradicionalmente a nomenclatura Hurler é atribuída ao fenótipo mais grave enquanto os pacientes mais levemente acometidos recebem a classificação Scheie. Pacientes com comprometimento moderado geralmente são classificados como Hurler-Scheie, que representa um fenótipo intermediário entre o grave e o atenuado. Entretanto, esta classificação tradicional não está baseada em critérios precisamente definidos e não é considerado um modelo consistente para classificação da doença [PASTORES *et al*, 2007]. Devido à alta heterogeneidade da MPS I e à sobreposição de sintomas em pacientes, alguns autores consideram mais adequado classificar os pacientes em forma atenuada e forma grave, enquanto outros julgam que os pacientes se distribuem num espectro mais amplo de subtipos [VIJAY; WRAITH, 2005].

Não há disponíveis, atualmente, instrumentos que auxiliem na classificação da gravidade da MPS I no momento do diagnóstico ou que possam auxiliar na predição da gravidade do fenótipo que o paciente irá manifestar. O diagnóstico precoce e a determinação do fenótipo são importantes para determinar o melhor tratamento para pacientes com MPS I [MUÑOZ *et al*, 2011]. Haja vista a inexistência de um padrão para classificação da doença e considerando que terapias específicas como o transplante de células hematopoiéticas (TCH) e a terapia de reposição enzimática (TRE) para tratamento da MPS I já estão disponíveis, é de suma importância a identificação de parâmetros que possam auxiliar a prever a gravidade da manifestação da doença e, dessa forma, facilitar a tomada de decisões acerca da terapia mais adequada para cada paciente.

O presente trabalho teve como objetivo avaliar, em pacientes brasileiros com MPS I, um novo instrumento para auxiliar na classificação fenotípica da doença. Este instrumento foi elaborado por um consenso de especialistas em MPS e adaptado para este estudo. Dados bioquímicos e moleculares dos pacientes também foram analisados e comparados com o resultado obtido na aplicação do instrumento.

## **2 Materiais e Métodos**

O estudo foi realizado em pacientes atendidos no Ambulatório de MPS do Serviço de Genética Médica do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (SGM/HCPA), que é um centro de referência para diagnóstico e tratamento da MPS I, e em pacientes avaliados em outros centros brasileiros que manejam MPS. O presente trabalho foi avaliado e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do HCPA. Os pesquisadores participantes do estudo assinaram um Termo de Compromisso para

Utilização de Dados, no qual se comprometeram a preservar a identificação dos pacientes confidencial. O estudo está em consonância com as diretrizes éticas de pesquisa em seres humanos.

## **2.1 Pacientes**

Foram incluídos no estudo 43 pacientes com diagnóstico bioquímico ou molecular confirmado de MPS I. Os pacientes deveriam estar previamente incluídos no Protocolo de Registro MPS I, um estudo observacional sobre a história natural da MPS I que teve início em abril de 2003 e que incluiu 845 pacientes até setembro de 2009 [MUÑOZ-ROJAS *et al*, 2011]. Este Protocolo é patrocinado pela Genzyme Corporation e a condução dele no Brasil está aprovada pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa. Os pacientes que não autorizaram a participação no Protocolo de Registro MPS I, por meio da assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido, não foram incluídos no presente estudo.

## **2.2 Coleta de informações**

As informações foram coletadas no banco de dados do Protocolo de Registro MPS I (após aprovação do patrocinador do estudo Genzyme Corporation) e por meio de consulta ao prontuário médico dos pacientes atendidos pelo SGM/HCPA. A coleta das informações dos pacientes provenientes de outros centros de genética, e que não são atendidos no ambulatório de MPS do SGM/HCPA, também foi realizada no banco de dados do Protocolo de Registro MPS I. As informações faltantes ou incompletas foram solicitadas ao médico assistente de cada paciente. Foram coletadas informações referentes à data de nascimento, à data do

diagnóstico, ao genótipo, ao fenótipo e a seis sinais e sintomas presentes ou não ao diagnóstico: atraso no desenvolvimento neuropsicomotor/declínio cognitivo, rigidez articular/artropatia/contraturas articulares, cifose, disostose multiplex, macrocefalia e bossa frontal. Resultados da quantificação de GAG na urina e da análise molecular também foram coletados quando disponíveis.

### **2.3 Instrumento**

Um instrumento elaborado em 2008 na Holanda em um encontro de especialistas em MPS procedentes de diversos países foi adaptado e utilizado para coleta e para análise das informações. Foram considerados os dados disponíveis desde o nascimento até um ano após a confirmação do diagnóstico, pelo fato de que muitos exames são realizados neste período. Para cada parâmetro avaliado atribuiu-se uma pontuação. Em relação ao primeiro sintoma avaliado – atraso no desenvolvimento neuropsicomotor/declínio cognitivo – foram considerados resultados obtidos por meio da análise de QI por instrumentos validados ou por meio da avaliação clínica. A segunda característica - rigidez articular/artropatia/contraturas articulares – foi considerada presente quando registrada na história médica como visível no exame físico. O terceiro sinal – cifose – também deveria estar registrado na história médica e ser visível no exame físico. A presença da quarta característica - disostose múltipla - deveria estar documentada nos registros médicos ou observada em exames radiológicos. A presença do quinto sinal – macrocefalia - deveria estar registrada no prontuário do paciente ou fora verificada quando a medida do perímetro cefálico e a idade do paciente estavam disponíveis. Ao final, com o somatório dos pontos de cada item obteve-se uma nota que variava de zero a 14, sendo zero a nota atribuída ao

paciente que não pontuou em nenhum item, ou seja, com a manifestação mais leve da doença e 14 a nota atribuída ao paciente com máxima pontuação em todos os itens, sugerindo a manifestação mais grave da doença. O fenótipo atribuído ao paciente no momento do diagnóstico também foi registrado quando disponível. Para 15 dos 43 pacientes, também foram coletadas as informações atuais (até setembro/2011) relativas aos parâmetros mencionados. Para estes pacientes o instrumento foi novamente aplicado e uma nota foi obtida para este segundo momento. O fenótipo atual foi registrado para comparar se havia mudado em relação ao fenótipo atribuído ao paciente no momento do diagnóstico.

#### **2.4 Avaliação dos especialistas**

Após a aplicação do instrumento, um resumo sobre cada paciente foi elaborado contendo as informações relativas aos seis sinais e sintomas pontuados pelo instrumento, porém, sem informar a pontuação que os pacientes tiveram em cada item. O resumo de cada paciente foi enviado para três geneticistas com reconhecida experiência no atendimento a pacientes com MPS I para que atribuissem uma nota para a gravidade do paciente com base nas seguintes informações fornecidas:

- idade do paciente até 1 ano após a confirmação do diagnóstico (período considerado para a coleta das informações).
- presença ou ausência de atraso no desenvolvimento neuropsicomotor/declínio cognitivo. Caso estivesse presente, foi informada a gravidade da manifestação (grave ou moderada) e se fora observada antes ou após os dois anos de idade.

- presença ou ausência de rigidez articular/artropatia/contraturas articulares. Caso o sinal estivesse presente, foi informado se ele fora observado antes ou após os dois anos de idade.
- presença ou ausência de cifose. Caso estivesse presente, foi informado se havia sido identificada antes ou após os 12 meses de vida.
- presença ou ausência de disostose múltipla. Se estivesse presente, foi informado se havia sido identificada antes ou após os dois anos de idade.
- presença ou ausência de macrocefalia.
- presença ou ausência de bossa frontal.

Os especialistas foram orientados a dar uma nota de zero a 14, onde a nota 0 representava o extremo mais leve da doença e a nota 14 o extremo mais grave. Além disso, os geneticistas foram solicitados a classificar fenotipicamente cada paciente conforme classificação tradicional (Hurler, Hurler-Scheie e Scheie) com base nas informações do resumo. Os pacientes cujos dados atuais foram também coletados e para os quais o instrumento fora aplicado em dois momentos, também foram avaliados pelos geneticistas com base nas informações atuais, porém de modo cego. Isto significa que os especialistas não foram informados de que dois resumos diferentes poderiam se referir ao mesmo paciente, porém com informações de dois momentos de vida distintos (ao diagnóstico e atual), para evitar que eles comparassem as duas avaliações e consequentemente tivessem a tendência em atribuir uma nota semelhante ou o mesmo fenótipo para o paciente nos dois diferentes momentos.

## **2.5 Dados bioquímicos e moleculares**

Os resultados da quantificação dos GAGs na urina no momento do diagnóstico e da análise molecular também foram coletados quando disponíveis e comparados à nota alcançada com a aplicação do instrumento, à nota atribuída pelos avaliadores, ao fenótipo informado nos registros médicos e ao fenótipo atribuídos pelos avaliadores ao diagnóstico.

## **2.6 Análise estatística**

As informações, após coletadas, foram colocadas em tabela do programa Microsoft Excel e analisadas no programa *Statistical Package for Social Sciences*, versão 18.0 (SPSS® Inc, Chicago, IL). As variáveis categóricas foram sumarizadas por meio de frequências e percentagens. As variáveis contínuas com distribuição normal foram sumarizadas por meio de média e desvio-padrão, enquanto que aquelas com distribuição assimétrica foram sumarizadas por meio de mediana e intervalos interquartis. A concordância entre os três especialistas quanto à classificação fenotípica foi calculada utilizando o Índice Kappa. Foi calculada a mediana da nota atribuída pelos avaliadores ao diagnóstico e este resultado foi comparado à nota obtida no instrumento ao diagnóstico utilizando Correlação de Pearson. Para avaliar a diferença na pontuação entre os três fenótipos para cada item do instrumento foi realizado teste de comparações múltiplas de Dunn.

## **3 Resultados**

A mediana de idade dos 43 pacientes incluídos no estudo foi de 24 meses (Intervalo Interquartil 12,5 – 85,5), sendo a idade mínima ao diagnóstico de 3 meses e a máxima de 276 meses. Para o fenótipo Hurler a mediana de idade ao



diagnóstico foi de 16 meses, para os pacientes Hurler-Scheie de 25 meses e para os pacientes Scheie de 159 meses.

Aplicação do instrumento e avaliação dos especialistas:

A mediana e média da nota obtida com a aplicação do instrumento ao diagnóstico foi, respectivamente 5 e  $5,58 \pm 4,15$ , sendo a nota mínima 0 e a máxima 14. A pontuação obtida ao diagnóstico para cada fenótipo pode ser visto da Figura 1a. A média da nota atribuída aos pacientes ao diagnóstico pelos avaliadores 1, 2 e 3 foi respectivamente de  $9,8 \pm 3,67$ ,  $9,00 \pm 3,8$  e  $7,73 \pm 3,96$ . Foi encontrada uma boa correlação (Pearson: 0,91) entre a mediana da nota dos 3 avaliadores para cada paciente com a nota obtida a partir da aplicação do instrumento ao diagnóstico. A pontuação atribuída pelos especialistas ao diagnóstico para cada fenótipo está representada na Figura 1b.

A comparação entre a pontuação obtida a partir no instrumento e a atribuída pelos especialistas está na Figura 2a.

Em relação ao fenótipo atribuído pelos avaliadores a partir dos dados ao diagnóstico foi observada concordância moderada entre os avaliadores 1 e 2 e entre os avaliadores 1 e 3 (Índice Kappa 0,50 e 0,52, respectivamente). Já entre os avaliadores 2 e 3, foi encontrada maior concordância (Índice Kappa 0,79). O Índice Kappa entre os três avaliadores foi de 0,598. Para definir um único fenótipo entre a classificação dos especialistas foi utilizada a mediana entre a classificação dos três especialistas, tanto ao diagnóstico como atual, para cada paciente.

Sete dos 43 pacientes não tinham fenótipo definido no prontuário ao diagnóstico. Dos 36 pacientes com fenótipo estabelecido, houve concordância entre

o fenótipo registrado no prontuário e o atribuído pelos avaliadores em 24 deles (66%).

Dividindo os pacientes em dois grupos - graves e atenuados - onde graves são os pacientes com fenótipo Hurler relatado no prontuário ao diagnóstico e atenuados os pacientes com fenótipo Hurler-Scheie e Scheie descritos no prontuário ao diagnóstico, 14 pacientes são classificados como graves e 22 pacientes como atenuados. Analisando a nota obtida no instrumento para os 36 pacientes cujo fenótipo estava relatado no prontuário ao diagnóstico, pode-se sugerir que um ponto de corte adequado para classificar separadamente pacientes graves e atenuados está em torno de sete (sensibilidade 64% e especificidade 87%). Em relação à avaliação dos especialistas, dos 43 pacientes por eles avaliados, 15 receberam classificação grave e 28 atenuada. Ao analisar a pontuação atribuída por eles aos pacientes, sugere-se que um o ponto de corte adequado para classificar separadamente estes dois grupos seria em torno de nove (sensibilidade 100% e especificidade 82%).

A partir da análise das informações dos registros médicos dos 15 pacientes cujas informações atuais também estavam disponíveis - além das informações ao diagnóstico - foi observada diferença estatisticamente significativa entre a média da nota obtida ao diagnóstico ( $3,33 \pm 3,13$ ) e a média da nota atual ( $5,07 \pm 3,05$ ) ( $P=0.001$ ) (Figura 2b). Ao comparar a avaliação realizada pelos especialistas, também se observou aumento estatisticamente significativo na média da nota atribuída ao diagnóstico ( $6,36 \pm 4,24$ ) em relação à média da nota atual ( $8,4 \pm 3,83$ ) ( $P=0,027$ ) (Figura 2c). Os sinais e sintomas avaliados no instrumento para os quais a diferença entre a pontuação ao diagnóstico e a pontuação atual foi estatisticamente significativa foram cifose ( $P=0,046$ ) e disostose múltipla ( $P=0.003$ ).

Quanto à classificação do fenótipo atual dos pacientes, houve concordância entre a informação dos registros médicos e a mediana da classificação atribuída pelos especialistas para dez dos 15 pacientes (Índice Kappa: 0,51), ou seja, não há diferença estatisticamente significativa entre a classificação reportada no prontuário e a atribuída pelos especialistas ( $P=0,223$ ).

Avaliando separadamente a pontuação que os pacientes tiveram em cada item do instrumento, observou-se diferença estatisticamente significativa na pontuação para o sinal atraso no desenvolvimento neuropsicomotor/declínio cognitivo entre os pacientes com fenótipo Hurler em relação aos fenótipos Hurler-Scheie ( $P=0.034$ ). e Scheie ( $P=0.036$ ). Para o sinal disostose múltipla houve diferença entre o fenótipo Hurler em relação ao fenótipo Scheie ( $P=0.024$ ). Não foi observada diferença estatisticamente significativa em relação aos outros quatro itens do instrumento entre os três fenótipos.

#### Dados bioquímicos e moleculares

Dos 43 pacientes avaliados, o genótipo estava disponível para 24 (Tabela 1). A mutação W402X foi a predominante, aparecendo em homozigose ou heterozigose em 15 dos 24 pacientes. Dos sete pacientes homozigotos para a mutação W402X, seis tinham a classificação Hurler descrita do prontuário e cinco receberam esta mesma classificação dos especialistas.

O resultado da dosagem de GAG ao diagnóstico estava disponível para 28 dos 43 pacientes. Não foi encontrada correlação entre a nota do instrumento e o valor de GAGs na urina, bem como entre a pontuação atribuída pelos especialistas e os níveis de GAGs. Em relação ao fenótipo, embora a média de GAG na urina seja maior para os pacientes Hurler (Figuras 3a e 3b), parece não haver diferença

entre os três fenótipos, uma vez que muitos pacientes Hurler-Scheie apresentaram GAGs tão altos quantos os com fenótipo Hurler.

#### **4 Discussão**

A mediana de idade ao diagnóstico foi menor para os pacientes com fenótipo Hurler devido ao aparecimento mais precoce de sinais e sintomas que permitem suspeitar da doença. Os casos graves são mais facilmente identificáveis, sugerindo o sub-diagnóstico da forma atenuada da MPS I [MUENZER et al, 2009]. Entretanto, o diagnóstico mais tardio dos pacientes com fenótipo atenuado pode ser uma consequência da falta de conhecimento dos profissionais sobre as características da doença, fazendo com que muitos pacientes tenham o diagnóstico confirmado somente na adolescência ou idade adulta.

Trinta e oito por cento dos pacientes avaliados neste estudo foram classificados como Hurler ao diagnóstico. Não há estudos que determinem precisamente a proporção de indivíduos com a forma grave ou atenuada da doença. Estima-se que pelo menos 50% a 80% dos pacientes com MPS tenham o fenótipo Hurler [MUENZER et al, 2009], contudo, observa-se uma prevalência maior de indivíduos com fenótipo atenuado devido a maior sobrevida destes pacientes [CLARKE; HEPPNER, 2011]. Um trabalho publicado recentemente [MUÑOZ-ROJAS et al, 2011] que avaliou o fenótipo de 71 pacientes brasileiros cadastrados no Protocolo de Registro MPS I mostrou que o fenótipo predominante entre os pacientes brasileiros é o Hurler-Scheie (42.3%). O fenótipo Hurler foi atribuído a 25.4% dos pacientes e o fenótipo Scheie, a 15.5%. Para 16.9% o fenótipo era desconhecido. Considerando somente o fenótipo Hurler, ele foi atribuído a 31% dos

pacientes da América Latina, enquanto que para os pacientes do resto do mundo (727), a classificação Hurler aparece em 62% deles. Ao contrário do que é observado em estudos com pacientes europeus, o fenótipo atenuado da doença foi predominante no grupo de pacientes avaliados no presente trabalho. A mediana da nota alcançada com a aplicação do instrumento ao diagnóstico reflete o maior número de pacientes com classificação atenuada conforme os registros médicos. Embora tenha sido observada uma maior mediana para a nota atribuída pelos avaliadores, indicando uma tendência em classificar mais gravemente os pacientes, a comparação entre as duas avaliações indicou uma boa correlação. Quanto ao fenótipo atribuído pelos especialistas tomando como base os dados disponíveis ao diagnóstico foi observada boa concordância somente entre dois dos três especialistas, que foram os mesmos cuja mediana da pontuação foi menor.

Ao comparar o fenótipo atribuído pelos especialistas – utilizando os parâmetros do instrumento - ao fenótipo que constava no prontuário, observou-se concordância para 66% dos pacientes, indicando que os especialistas concordaram com a classificação atribuída pelo médico assistente ao diagnóstico para a maioria dos pacientes. Cabe ressaltar que nem sempre o médico responsável pelo diagnóstico é um geneticista com experiência em MPS, o que pode dificultar a classificação fenotípica dos pacientes.

Os pontos de corte considerados com boa sensibilidade e especificidade, encontrados a partir da avaliação das notas dos especialistas e do instrumento, foram próximos (9 e 7, respectivamente), indicando que estes valores podem ser úteis para classificar os pacientes em dois grupos distintos – graves e atenuados – conforme sugerido por alguns autores.

O aumento estatisticamente significativo na média da nota do instrumento e na média da nota dos especialistas para os 15 pacientes os quais tiveram os dados atuais avaliados indica a esperada progressão da doença, principalmente no que se refere aos parâmetros cifose e disostose múltipla, sugerindo a piora das manifestações esqueléticas da síndrome. Em relação ao fenótipo, a classificação dos especialistas esteve de acordo com a estabelecida no prontuário para a maioria dos pacientes deste grupo. Para BECK e WIDMER (2006), um instrumento de classificação da gravidade de uma doença deve idealmente ser capaz de prever a evolução da doença. Tais instrumentos podem auxiliar a definir se um paciente tem a forma grave da MPS I e deve ser submetido ao TCTH ou se apresenta a forma atenuada e apresentará resposta à TRE, sem precisar correr os riscos do TCTH [BECK *et al*, 2010].

Tomando como exemplo instrumentos utilizados em estudos com Doença de Niemann-Pick C [YANJANIN *et al*, 2010], estas ferramentas podem ser utilizadas para avaliar a progressão da doença e o nível de deterioração de alguns parâmetros clínicos.

Como era esperado o atraso no desenvolvimento neuropsicomotor/declínico cognitivo foi o parâmetro do instrumento para o qual foi observada diferença estatisticamente significativa na pontuação para o fenótipo Hurler em relação aos outros dois fenótipos. O comprometimento cognitivo é uma das principais características que permitem diferenciar os pacientes Hurler dos Hurler-Scheie e Scheie [MUÑOZ-ROJAS *et al*, 2011].

Já para a disostose múltipla foi encontrada diferença entre os fenótipos Hurler e Scheie. Este achado está consistente com outro estudo no qual foi observada

maior predominância da disostose múltipla em pacientes com o fenótipo Hurler (mais de 80%) em relação à predominância em pacientes Scheie (50%).

O fato de não ter sido observada diferença estatisticamente significativa para os outros sinais e sintomas pode indicar que estes não são bons indicadores da gravidade da doença. O pequeno tamanho da amostra provavelmente também exerceu influência sobre este resultado.

Em relação ao genótipo, a mutação mais comum nos pacientes foi a W402X. As mutações W402X e Q70X estão presentes em mais de 50% dos alelos em pacientes caucasianos [TERLATO; COX, 2003]. Quase todos os pacientes homozigotos para a mutação W402X foram classificados como Hurler pelos médicos assistentes e pelos especialistas. No entanto, em relação à pontuação, as notas dos especialistas para estes pacientes foi maior do que a nota obtida com a aplicação do instrumento. Todos os pacientes, exceto um, receberam pontuação acima de sete na avaliação dos especialistas. Para o consenso da Sociedade Argentina de Pediatria, a presença de duas mutações graves, como a W402X e a Q70X, sempre causarão a manifestação grave da doença. Porém esta correlação deve ser utilizada com cautela uma vez que a mesma mutação pode causar um fenótipo diferente quando combinada com outros alelos. Além disso, os efeitos ambientais também devem ser considerados. Conforme Pastores *et al* (2007) o progresso em estabelecer uma correlação entre genótipo e fenótipo é limitado em função da falta de descrição detalhada e padronizada dos diferentes fenótipos. Para que seja possível estabelecer uma melhor associação entre o genótipo e o fenótipo dos pacientes de modo que permita predizer a gravidade da doença e que seja de utilidade clínica, faz-se necessária uma maior quantidade de protocolos de investigação [Sociedad Argentina de Pediatria, 2008].

Embora para Swiedler et al (2005) o nível de GAG na urina seja o único biomarcador disponível atualmente para auxiliar a determinar a gravidade das MPS, no presente estudo não foi observada correlação entre o valor de GAG na urina e a nota no instrumento, tampouco entre os fenótipos Hurler, Hurler-Scheie e Scheie, o que está de acordo dados da literatura que afirmam que apesar dos níveis de GAG serem maiores em pacientes graves, as diferentes manifestações da MPS I são bioquimicamente indistinguíveis [NEUFELD; MUNEZER, 2001; HOPWOOD; MULLER, 1979].

O presente estudo é limitado em função do pequeno tamanho da amostra. Os dados foram coletados a partir de informações disponíveis em prontuário médico, as quais podem estar mal-descritas e, muitas vezes, incompletas.

O instrumento utilizado contém somente seis sinais e sintomas. Certamente outros sinais e sintomas poderiam ser considerados para tentar determinar a gravidade da doença, todavia, os instrumentos devem ser simples e conter apenas parâmetros que possam ser facilmente avaliados, mesmo em um serviço médico de pequeno porte [BECK *et al*, 2010].

Se tratando de doenças raras, é de suma importância que instrumentos para classificar gravidade sejam aplicáveis e validados em vários países. A validação de uma nova ferramenta para auxiliar na classificação do fenótipo de pacientes com MPS I é um grande desafio considerando a raridade da doença. Recomenda-se a aplicação deste instrumento em um número maior de pacientes, em outros países, e em diferentes estágios da doença, a fim de verificar a real aplicabilidade dele na avaliação da gravidade da MPS I.



## Agradecimentos

Os autores deste artigo agradecem aos especialistas responsáveis pela avaliação dos pacientes, ao Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), ao Serviço de Genética Médica do Hospital de Clínicas de Porto Alegre e à Genzyme Corporation por autorizar a coleta de parte dos dados no Protocolo de Registro MPS I.

## Referências

Beck M, Muenzer J, Scarpa M. 2010. Evaluation of disease severity in mucopolysaccharidoses. *J Pediatr Rehabil Med* 3(1):39-46.

Beck M, Widmer U. 2006. Assessing multiorgan disease severity: scoring systems and applicability in LSDs. *Acta Paediatric Suppl* 95:41-42.

Clarke LA, Heppner J. 2011. Mucopolysaccharidosis Type I. In: Pagon RA, Bird TD, Dolan CR, Stephens K, editors. *Gene Reviews* (on-line), Seattle (WA): University of Washington, Seattle (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1162/>).

Hopwood JJ, Muller V. 1979. Biochemical discrimination of Hurler and Scheie syndromes. *Clin Sci (Lond)* 57(3):265-272.

Muenzer J, Wraith JE, Clarke LA, International Consensus Panel on Management and Treatment of Mucopolysaccharidosis I. 2009. Mucopolysaccharidosis I: management and treatment guidelines. *Pediatrics* 123:19-29.

Munõz-Rojas MV, Bay L, Sanchez L, van Kuijck M, Ospina S, Cabello JF, Martins AM. 2011. Clinical manifestations and treatment of mucopolysaccharidosis type I patients in Latin America as compared with the rest of the world. *J Inherit Metab Dis*. 34(5):1029-1037.

Neufeld E, Muenzer J. 2001. The mucopolysaccharidoses. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, editors. *The metabolic and molecular bases of inherited disease*. New York: McGraw-Hill, p 3421-3452.

Pastores GM, Arn P, Beck M, Clarke JT, Guffon N, Kaplan P, Muenzer J, Norato DY, Shapiro E, Thomas J, Viskochil D, Wraith JE. 2007. 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.

Sociedad Argentina de Pediatría. 2008. Consenso de diagnóstico y tratamiento de la mucopolisacaridosis de tipo I. *Arch Argent Pediatr* 106(4):361-368.

Swiedler SJ, Beck M, Bajbouj M, Giugliani R, Schwartz I, Harmatz P, Wraith JE, Roberts J, Ketteridge D, Hopwood JJ, Guffon N, Sá Miranda MC, Teles EL, Berger KI, Pisciá-Nichols C. 2005. Threshold effect of urinary glycosaminoglycans on the walk test as indicators of disease progression in a survey of subjects with Mucopolysaccharidosis VI (Maroteaux-Lamy syndrome). *Am J Med Genet A* 134: 144-150.

Terlato NJ, Cox GF, 2003. Can mucopolysaccharidosis type I disease severity be predicted based on a patient's genotype? A comprehensive review of the literature. *Genet Med* 5(4):286-294.

Vijay S, Wraith JE. 2005. Clinical presentation and follow-up of patients with the attenuated phenotype of mucopolysaccharidosis type I. *Acta Paediatr* 94 7:872-877.

Yanjanin NM, Vélez JI, Gropman A, King K, Bianconi SE, Conley SK, Brewer CC, Solomon B, Pavan WJ, Arcos-Burgos M, Patterson MC, Porter FD. 2010. Linear clinical progression, independent of age of onset, in Niemann-Pick disease, type C. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 153B(1):132-140.

Tabela 1 – Genótipo e fenótipo de acordo com o prontuário, fenótipo de acordo com os especialistas, nota obtida com a aplicação do instrumento, nota atribuída pelos especialistas e classificação a partir do ponto de corte conforme as duas avaliações para cada paciente.

Paciente	Genótipo		Fenótipo no prontuário <sup>a</sup>	Fenótipo atribuído pelos especialistas <sup>b</sup>	Nota instrumento <sup>c</sup>	Classificação conforme ponto de corte 7 <sup>d</sup>	Nota especialistas <sup>e</sup>	Classificação conforme ponto de corte 9 <sup>f</sup>
	Alelo 1	Alelo 2						
1	134del12	W402X	H	HS	4	Atenuado	9	Atenuado
2	E182K	G208D	H	H	11	Grave	13	Grave
3	G196D	Y202X	H	H	13	Grave	14	Grave
4	P533R	P533R	HS	HS	5	Atenuado	10	Grave
5	P533R	R89Q	HS	HS	7	Atenuado	10	Grave
6	P533R	-	HS	HS	5	Atenuado	7	Atenuado
7	Q380R	R628P	S	S	1	Atenuado	3	Atenuado
8	Q70X	P533R	S	H	5	Atenuado	10	Grave
9	R383H	-	S	S	1	Atenuado	3	Atenuado
10	R383H	W402X	-	S	1	Atenuado	3	Atenuado
11	R89Q	R383H	HS	HS	3	Atenuado	7	Atenuado
12	W402X	deltaD455	-	S	1	Atenuado	3	Atenuado
13	W402X	deltaD445	S	HS	3	Atenuado	7	Atenuado
14	W402X	R383H	-	S	2	Atenuado	4	Atenuado
15	W402X	R89Q	HS	HS	5	Atenuado	7	Atenuado
16	W402X	R89Q	-	S	1	Atenuado	3	Atenuado
17	W402X	-	HS	HS	6	Atenuado	10	Grave
18	W402X	W402X	H	HS	7	Atenuado	9	Atenuado
19	W402X	W402X	H	H	11	Grave	14	Grave
20	W402X	W402X	H	H	8	Grave	13	Grave
21	W402X	W402X	-	HS	3	Atenuado	7	Atenuado
22	W402X	W402X	H	H	7	Atenuado	11	Grave
23	W402X	W402X	H	H	9	Atenuado	12	Grave
24	W402X	W402X	H	H	10	Grave	13	Grave

a. Ao diagnóstico

b. Mediana entre os três especialistas.

c. Obtida a partir das informações disponíveis ao diagnóstico.

d. Valor sugerido a partir da análise dos resultados da nota do instrumento (sensibilidade 64%, especificidade 87%).

e. Mediana da nota dos três especialistas.

f. Valor sugerido a partir da análise dos resultados da nota dos especialistas (sensibilidade 100%, especificidade 82%).

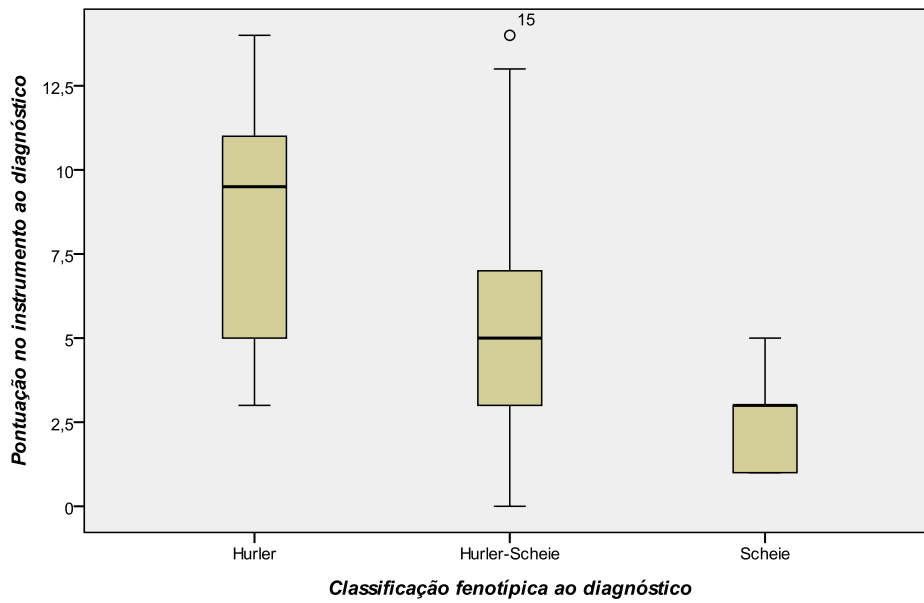


Figura 1a - Pontuação obtida com a aplicação do instrumento e classificação fenotípica conforme prontuário médico ao diagnóstico

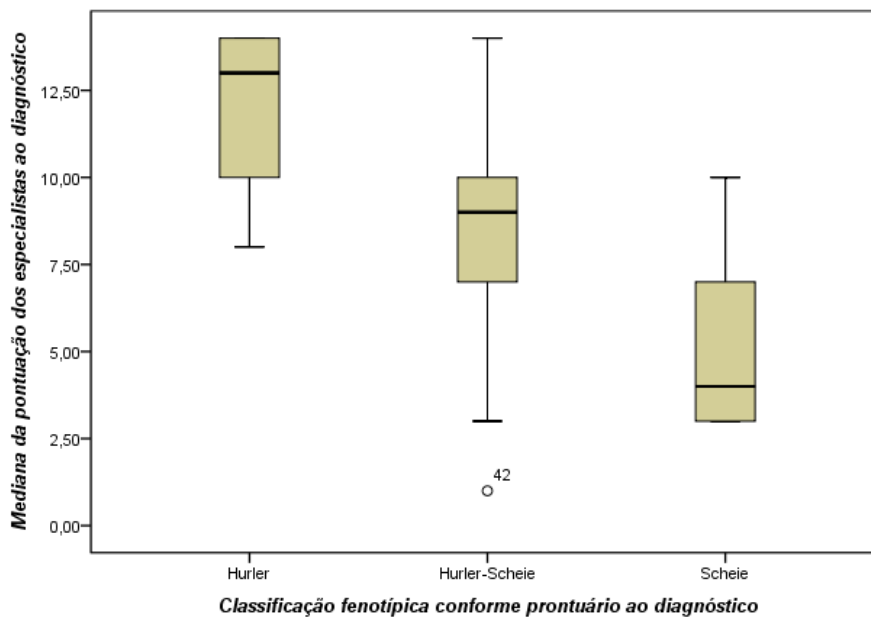


Figura 1b - Mediana da pontuação atribuída pelos três especialistas e classificação fenotípica conforme prontuário no momento do diagnóstico.

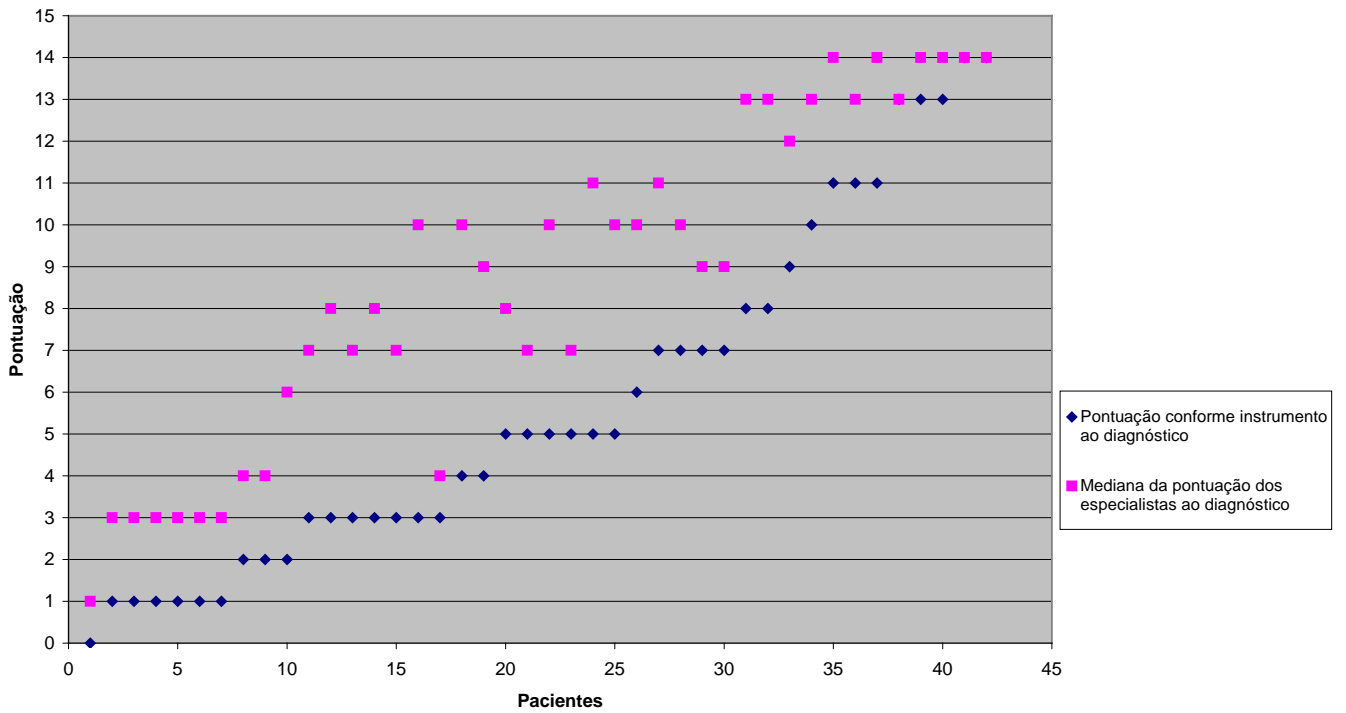


Figura 2a – Pontuação obtida com a aplicação do instrumento e classificação fenotípica conforme prontuário médico no momento do diagnóstico

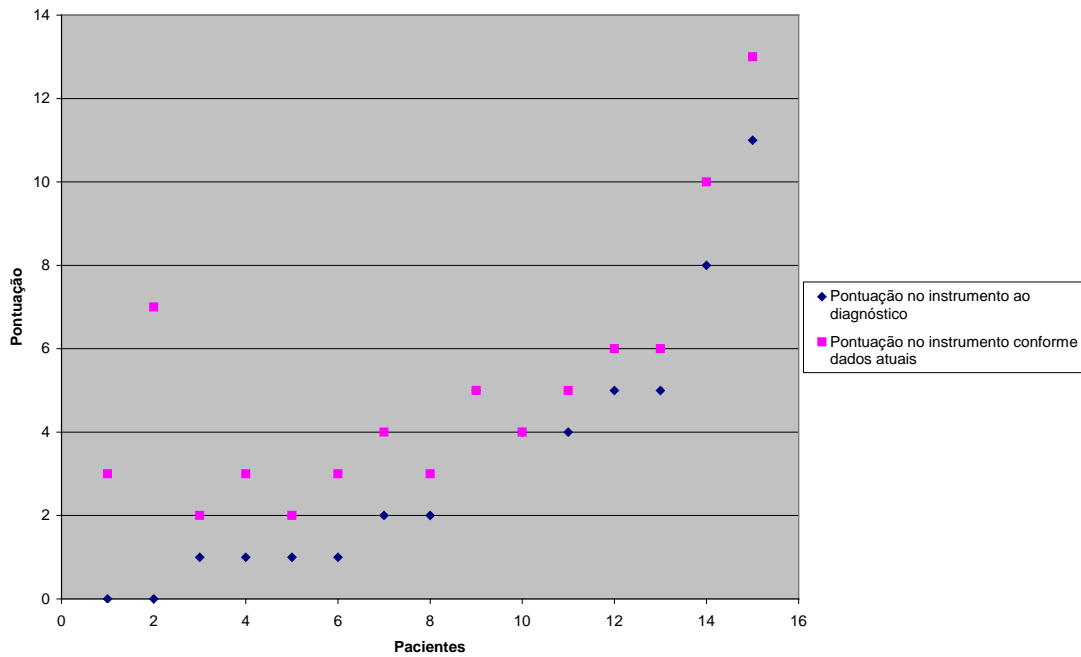
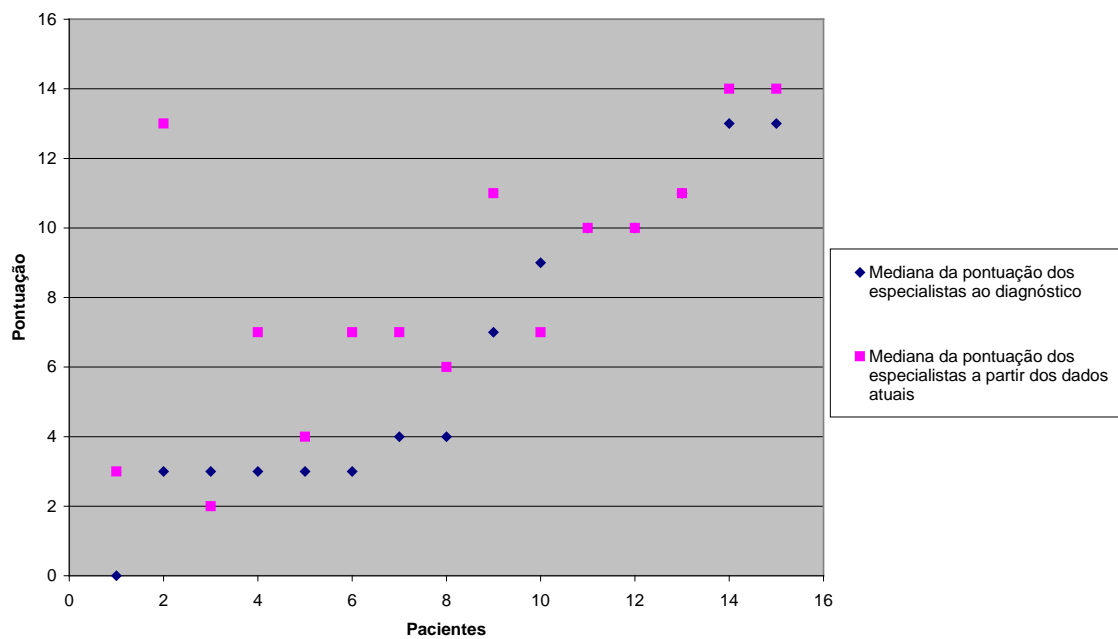


Figura 2b - Comparação entre a pontuação obtida no instrumento a partir dos dados disponíveis ao diagnóstico e os dados atuais



**Figura 2c - Comparação entre a mediana da pontuação dos especialistas a partir dos dados disponíveis ao diagnóstico e os dados atuais.**

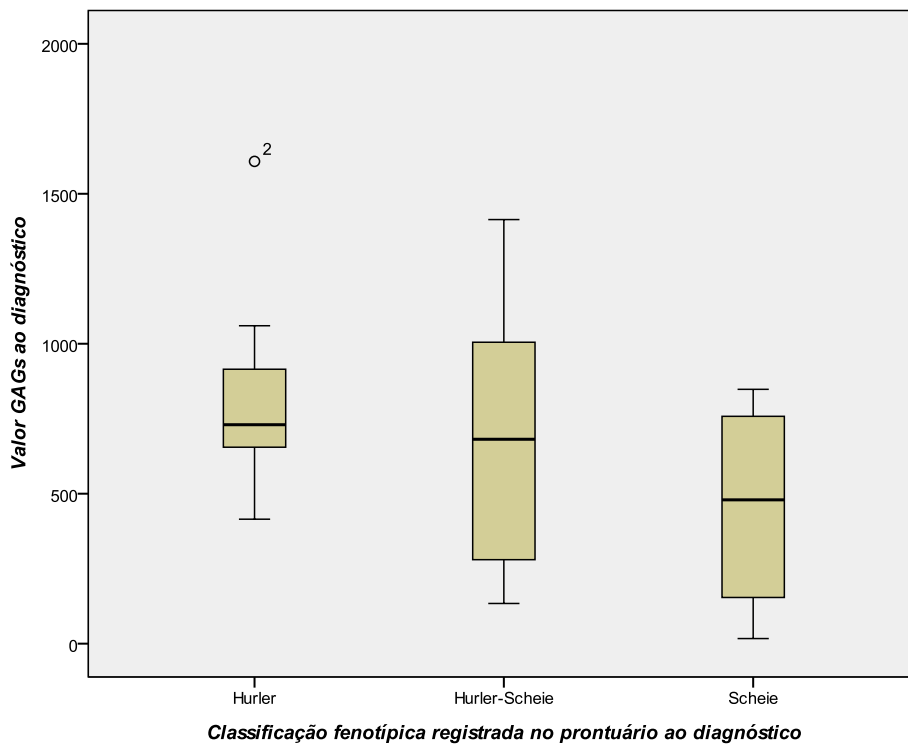


Figura 3a - Resultado da análise de GAGs urinários conforme fenótipo registrado no prontuário do paciente no momento do diagnóstico.

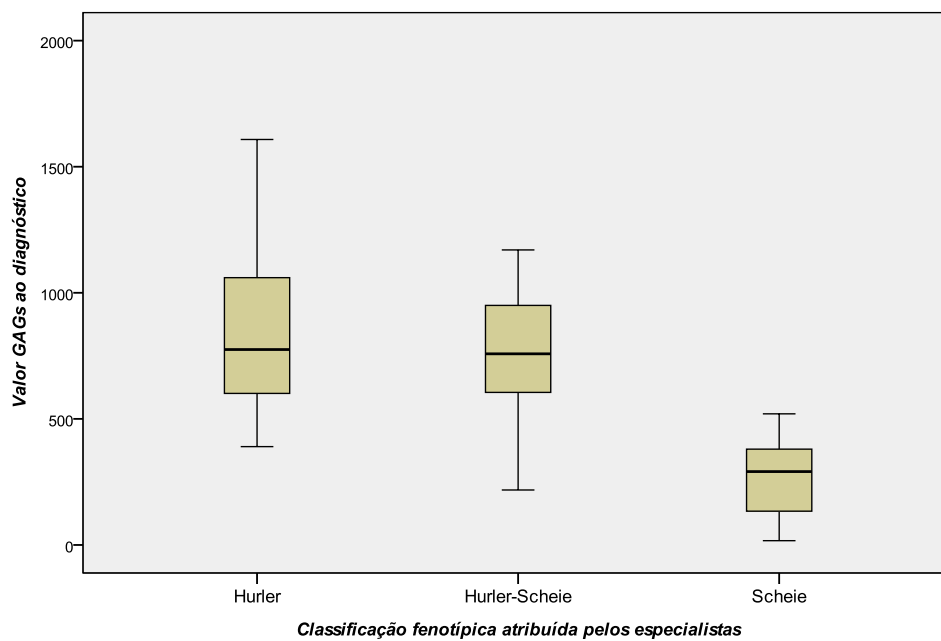
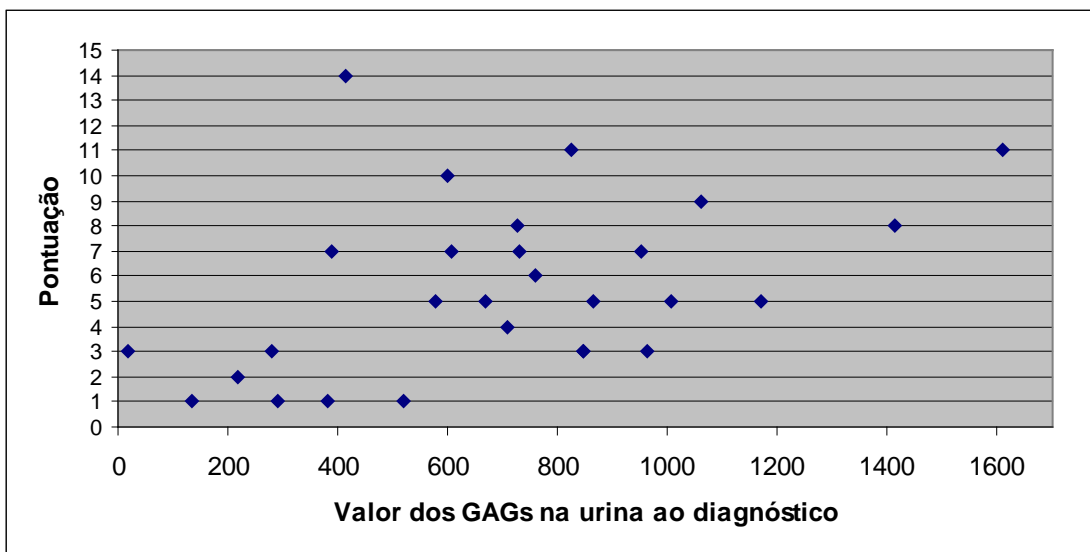


Figura 3b - Resultado da análise de GAGs urinários conforme fenótipo atribuído pelos especialistas a partir dos dados disponíveis ao diagnóstico.



**Figura 4 - Resultado da análise de GAGs urinários ao diagnóstico e pontuação obtida no instrumento ao diagnóstico.**



## 8 CONCLUSÕES

**Objetivo geral:** Aplicar aos pacientes com Mucopolissacaridose I atendidos no SGM/HCPA, e em outros centros especializados brasileiros, um novo instrumento para avaliar sua doença clínica e comparar o resultado dessa avaliação com a classificação tradicional, realizada de modo independente pelos médicos assistentes do paciente no momento do diagnóstico.

O instrumento foi aplicado e obteve-se uma pontuação para cada paciente, que posteriormente foi comparada com a avaliação de três especialistas. A partir destes resultados, foram estabelecidas por meio do instrumento e da avaliação dos especialistas as pontuações sete e nove, respectivamente, como bons pontos de corte para classificar os pacientes em graves ou atenuados. Portanto, pode-se considerar que pacientes com pontuação acima de sete, e principalmente acima de nove, apresentam a manifestação mais grave da doença. O parâmetro atraso no desenvolvimento neuropsicomotor/declínio cognitivo parece ser determinante para diferenciar pacientes com fenótipo Hurler dos demais fenótipos. A presença ou não de disostose múltipla ao diagnóstico também parece diferenciar os extremos grave e atenuado da doença. Os demais parâmetros parecem não contribuir significativamente para diferenciar e classificar a gravidade do fenótipo, dado que talvez possa ser modificado com a avaliação de um número maior de pacientes. Os sinais e sintomas para os quais foi observada piora importante nos pacientes ao longo do tempo envolvem o sistema esquelético. Portanto, o instrumento, além de ser uma ferramenta útil para ajudar na classificação da gravidade da doença no momento do diagnóstico, também pode ser utilizado para avaliar a progressão de alguns sinais da doença.

**Objetivo específico:** Avaliar se há correlação entre os dados bioquímicos (GAGs urinários) e moleculares (genótipo) com o resultado da aplicação do instrumento.

Não foi observada correlação entre os resultados obtidos com a aplicação do instrumento e os níveis de GAGs na urina, o que está de acordo com trabalhos disponíveis na literatura que afirmam que os diferentes fenótipos de MPS I não podem ser distinguidos bioquimicamente. A mutação W402X foi predominante entre

os pacientes, aparecendo em mais da metade dos casos nos quais o genótipo estava disponível. A maior parte dos pacientes homozigotos para esta mutação recebeu nota acima de sete na aplicação do instrumento e na avaliação dos especialistas, indicando a forma grave da doença. Os pacientes os quais apresentavam a mutação em heterozigose, foram, em sua maioria, classificados como atenuados a partir da aplicação do instrumento e pelos especialistas, o que também está de acordo com dados da literatura que afirmam que mutações sem sentido quando combinadas com outras mutações podem determinar o fenótipo atenuado da doença.

## 9 CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS

Algumas considerações devem ser feitas em relação ao instrumento utilizado no presente estudo. Este instrumento foi inicialmente elaborado por um grupo de profissionais com ampla experiência em MPS I com o objetivo de ser utilizado para classificar a gravidade da manifestação da doença. Para tanto, somente seis sinais e sintomas foram eleitos para servirem como parâmetro de avaliação clínica dos pacientes e que pudessem ser facilmente identificados tanto em um centro de referência quanto em um serviço de pequeno porte. Certamente, outros sinais e sintomas poderiam ser considerados para determinar a gravidade da MPS I, no entanto, buscou-se selecionar características que não necessitassem de um especialista na doença ou de exames complexos e de alto custo para serem identificadas.

Em relação às informações utilizadas, o estudo apresenta limitações uma vez que a coleta das mesmas se deu retrospectivamente, a partir de dados registrados em prontuário, os quais muitas vezes apresentavam-se confusos ou incompletos. Em função disso, muitos pacientes não puderam ser incluídos no estudo.

Como perspectivas futuras é importante ressaltar a necessidade de um estudo em uma amostra maior de pacientes e em outros países, em função das diferenças fenotípicas e genotípicas existentes entre as diversas etnias, conforme já relatado na literatura. Além disso, o instrumento foi aplicado considerando informações registradas em prontuário. Sugere-se a aplicação do mesmo durante a avaliação clínica do paciente para que cada parâmetro possa ser cuidadosamente avaliado.

## ANEXO I – Instrumento para Classificação da Mucopolissacaridose tipo I

Iniciais do paciente: \_\_\_\_\_

Data de nascimento: \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_\_

Data do diagnóstico: \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_\_

Data da aplicação do instrumento: \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_\_

Classificação fenotípica até 1 ano após a confirmação do diagnóstico:

Hurler                                       Hurler-Scheie                                       Scheie

Classificação fenotípica atual:

Hurler                                       Hurler-Scheie                                       Scheie

### Atraso no desenvolvimento neuropsicomotor / Declínio cognitivo

(Mensurado preferencialmente por um teste validado, estatisticamente confiável e específico para a idade)

Teste realizado: \_\_\_\_\_

Avaliação clínica

Resultado do teste ou da avaliação clínica	Escore para o escore de gravidade	
	Idade < de 2 anos	Idade > de 2 anos
Normal	0	0
Comprometimento moderado	3	2
Comprometimento grave	6	4

### Rigidez articular / Artropatia / Contraturas

(Registradas na história médica ou observadas no exame físico)

	Idade < de 2 anos	Idade > de 2 anos
Ausente	0	0
Presente	2	1

**Cifose**

(Registrada na história médica ou observada no exame físico)

	Idade < 12 meses	Idade > 12 meses
Ausente	0	0
Presente	2	1

**Disostose multiplex**

(Observada em estudos radiológicos ou registrada no prontuário)

	Idade < 24 meses	Idade > 24 meses
Ausente	0	0
Presente	2	1

**Macrocefalia**

Ausente (< ou igual a 2 DV para a idade)	0
Presente (> 2 DV para a idade)	1

**Bossa frontal**

(Registrada na história médica ou presente no exame físico)

Ausente	0
Presente	1

Somatório dos pontos: \_\_\_\_\_

## ANEXO II - Termo de Compromisso para Utilização de Dados



**Hospital de Clínicas de Porto Alegre**

Grupo de Pesquisa e Pós-Graduação

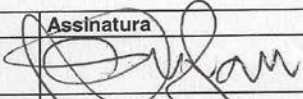

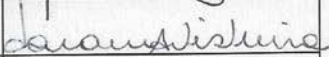
### Termo de Compromisso para Utilização de Dados

Título do Projeto

<p><b>Mucopolissacaridose tipo I: avaliação de uma nova proposta de classificação fenotípica.</b></p>	<p><b>Cadastro no GPPG</b>  10-007</p>
---	--

Os pesquisadores do presente projeto se comprometem a preservar a privacidade dos pacientes cujos dados serão coletados em prontuários e bases de dados do Hospital de Clínicas de Porto Alegre. Concordam, igualmente, que estas informações serão utilizadas única e exclusivamente para execução do presente projeto. As informações somente poderão ser divulgadas de forma anônima.

Porto Alegre, 02 de junho de 2011.

Nome dos Pesquisadores	Assinatura
Roberto Giugliani	
Andressa Federhen	
Taiane Alves Vieira	

## ANEXO III – Carta de aprovação do projeto pelo Comitê de Ética em Pesquisa do HCPA



### HCPA - HOSPITAL DE CLÍNICAS DE PORTO ALEGRE Grupo de Pesquisa e Pós-Graduação

COMISSÃO CIENTÍFICA E COMISSÃO DE PESQUISA E ÉTICA EM SAÚDE

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 (IRB00000921) analisaram o projeto:

**Projeto:** 100007

Pesquisador Responsável:

ROBERTO GIUGLIANI

**Título:** Mucopolissacaridose Tipo I: avaliação de uma nova proposta de classificação fenotípica

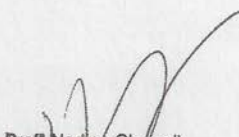
**PROJETO VERSÃO 2**

**Data da Versão:**

06/05/2011

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, 20 de junho de 2011.

  
Profª Nadine Claisell  
Coordenadora GPPG e CEP/HCPA



## ANEXO IV – Exemplo de resumo de caso enviado para os três geneticistas.

**PACIENTE Nº 21**

DESCRIÇÃO DO CASO

Paciente com 17 anos e 8 meses

Atraso no desenvolvimento neuropsicomotor / declínio cognitivo	Presente, comprometimento moderado identificado antes dos 2 anos de idade
Rigidez articular / artropatia / contraturas	Presente, identificada após os 2 anos de idade
Cifose	Presente, identificada antes dos 12 meses de idade
Disostose multiplex	Presente, identificada após os 2 anos de idade
Macrocefalia	Ausente
Bossa frontal	Ausente

Nota de 0 a 14: \_\_\_\_\_

Nota 0: fenótipo mais leve que você possa imaginar  
 Nota 14: fenótipo mais grave que você possa imaginar

Classificação fenotípica:

( ) Hurler                      ( ) Hurler-Scheie                      ( ) Scheie