

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

**MUCOPOLISSACARIDOSES:
UM ESTUDO ABRANGENTE SOBRE A
EPIDEMIOLOGIA DA DOENÇA NO BRASIL**

TESE DE DOUTORADO
ANDRESSA FEDERHEN

Porto Alegre, Brasil, 2017

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

**MUCOPOLISSACARIDOSES:
UM ESTUDO ABRANGENTE SOBRE A
EPIDEMIOLOGIA DA DOENÇA NO BRASIL**

ANDRESSA FEDERHEN

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

Orientador: **Prof. Roberto Giugliani**

Co-orientadora: **Prof. Ursula Matte**

Porto Alegre, Brasil, 2017.

CIP - Catalogação na Publicação

Federhen, Andressa
Mucopolissacaridoses: Um estudo abrangente sobre a
epidemiologia da doença no Brasil / Andressa Federhen.
-- 2017.
127 f.
Orientador: Roberto Giugliani.

Coorientadora: Ursula Matte.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal do Rio
Grande do Sul, Faculdade de Medicina, Programa de
Pós-Graduação em Saúde da Criança e do Adolescente,
Porto Alegre, BR-RS, 2017.

1. Mucopolissacaridoses. 2. Frequência. 3.
Epidemiologia. 4. Prevalência ao nascimento. 5.
Incidência. I. Giugliani, Roberto, orient. II. Matte,
Ursula, coorient. III. Título.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

FACULDADE DE MEDICINA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE DA CRIANÇA E DO

ADOLESCENTE

ESTA DISSERTAÇÃO FOI DEFENDIDA PUBLICAMENTE EM:

05 / 12 / 2017

E, FOI AVALIADA PELA BANCA EXAMINADORA COMPOSTA POR:

Lavínia Schuler

Departamento de Pediatria e Puericultura/PPGSCA
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Guilherme Baldo

Departamento de Fisiologia
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Maria Verónica Muñoz Rojas

MPS I Global Medical Lead
Sanofi-Genzyme

Aos pacientes com mucopolissacaridose e suas famílias, por quem tenho profunda admiração, por sempre acreditarem que um amanhã melhor é possível.

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, Prof. Roberto Giugliani, pelas incontáveis oportunidades oferecidas, pela confiança, pelos ensinamentos, por enxergar sempre à frente e, acima de tudo, pelo exemplo de profissional, de líder e de ser humano que tem sido para mim ao longo dos anos.

A minha co-orientadora, Prof. Ursula Matte, pela confiança depositada em mim, aceitando co-orientar alguém com quem ainda não havia trabalhado diretamente. Obrigada pelo acolhimento e pelas valiosas contribuições no trabalho.

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

Ao Programa de Pós-Graduação em Saúde da Criança e do Adolescente, pela formação proporcionada. Um agradecimento especial à Rosane, por estar sempre disponível a ajudar.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPQ), pelos recursos financeiros.

Ao Serviço de Genética Médica do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, por abrir as portas para o meu ingresso na pesquisa, por manter as portas abertas para mim e por ser um lugar para onde eu sempre gosto de retornar.

Ao Serviço de Hematologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, por permitir a realização de uma etapa fundamental deste trabalho no Banco de Sangue. A toda equipe do Banco de Sangue, muito obrigada pela colaboração.

Às queridas acadêmicas, Talita Feitas, Amanda Pasqualotto e Cristine Dieter, por ajudarem com a árdua tarefa de conseguir 1.000 voluntários para esta pesquisa.

Aos queridos Gabriela Pasqualim e Esteban Gonzales, por ajudarem com as extrações e análise de DNA e por sempre esclarecerem as minhas dúvidas sobre biologia molecular.

Aos amigos do Grupo de Pesquisa Clínica em Genética Médica, pelos muitos anos de companheirismo e pela torcida.

Às meninas da Rede MPS Brasil, Franciele, Helúisa, Laysla e Daniela, por separarem mais de 1800 fichas de pacientes para eu revisar neste estudo, e depois arquivá-las novamente.

Ao Célio Rafaelli, por resolver todas as questões relacionadas à compra de material para as análises laboratoriais.

À estatística Daniela Benzano, por auxiliar nas análises.

Aos queridos amigos da PTC Farmacêutica, por me ouvirem, por me incentivarem, por compreenderem a importância desta etapa e por sempre me darem a certeza de que conseguiria concluí-la. Um agradecimento especial à Karyn, por sempre me incentivar e pensar no meu crescimento.

A minha irmã de coração, Adriana Castagnino, por ser a pessoa mais iluminada que eu conheço e conseguir, mesmo de longe, mandar energia positiva para mim.

As minhas queridas *sorellas*, Ane, Maqueli, Karine, Silvani, Giovana, Renata e, em especial, a Aninha, por estar ao meu lado há tantos anos, por me entender e conseguir me acalmar nos momentos mais difíceis.

À maravilhosa Adriana Coércio, por sempre ter um sorriso no rosto e uma palavra amiga.

A todos da minha família, que mesmo distantes estão sempre presentes, em especial, aos meus pais, Leni e Jorge, que sempre acreditaram em mim e nunca me deixaram duvidar que tudo daria certo. Obrigada pelo amor e incentivo constantes!

A todos que de forma direta e indireta participaram desse trabalho, meu sincero agradecimento.

A Deus, pela proteção.

“Por vezes sentimos que aquilo que fazemos não é senão uma gota de água no mar. Mas o mar seria menor se lhe faltasse uma gota.”

Madre Teresa de Calcuta

RESUMO

Introdução: As mucopolissacaridoses (MPS) são doenças raras causadas pela deficiência de enzimas lisossômicas responsáveis pela degradação dos glicosaminoglicanos. São doenças graves, crônicas e progressivas. Embora existam diversos estudos disponíveis na literatura médica sobre a frequência das MPS em diferentes países, não há estudos publicados no Brasil. Avaliar a frequência dos diferentes tipos de MPS nas diferentes regiões do Brasil é importante para dimensionar as necessidades de atendimento destes pacientes. **Objetivo:** O objetivo deste estudo foi estimar a prevalência ao nascimento das MPS no Brasil, avaliando os diferentes tipos e a distribuição dos casos pelas regiões do Brasil, além de avaliar o perfil genético-molecular dos pacientes. Para isso, foram revisados todos os casos registrados na Rede MPS Brasil e no Instituto Vidas Raras e a prevalência ao nascimento foi calculada a partir do número de nascidos vivos (NV) no país. Além disso, também foi pesquisada a variante mais frequente nos pacientes com MPS I (p.Trp402Ter) em indivíduos saudáveis a fim de estimar a frequência de heterozigotos e, posteriormente, homozigotos para esta variante. Um cálculo de proporcionalidade foi realizado para estimar a frequência da MPS I e dos demais tipos de MPS. Quanto à análise do genótipo dos pacientes, estes foram classificados por tipo de MPS e conforme região de origem no país, e as variantes foram classificadas conforme o *Human Gene Mutation Database (HGMD)*. Apenas casos-índice foram considerados nesta última análise. **Resultados:** Foram incluídos 1472 pacientes brasileiros neste estudo, tendo MPS II se revelado como a forma mais frequente. A prevalência ao nascimento considerando o total de NV foi (por 100.000 NV): MPS em geral: 1,25; MPS I: 0,24; MPS II: 0,37; MPS III: 0,21; MPS IV: 0,14; MPS VI: 0,28; MPS VII: 0,02; A frequência da variante encontrada em 1.000 indivíduos saudáveis foi 0,002. A partir desta

frequência, a prevalência mínima da MPS I e dos outros tipos de MPS foi estimada em (por 100.000 NV): MPS em geral: 4,62; MPS I: 0,95; MPS II: 1,32; MPS III: 0,56; MPS IV: 0,57; MPS VI: 1,02; MPS VII: 0,05. Em 499 pacientes foi possível obter informações sobre o genótipo. As variantes mais frequentes foram as substituições nas MPS tipos I, II, IIIB, IVA e VI, sendo a maior parte com troca de sentido. Diferenças regionais na proporção de variantes foram observadas na MPS IIIB, na qual as pequenas deleções foram mais frequentes no Sul, e na MPS VI, na qual as variantes em sítio de *splicing* foram mais comuns em pacientes do Nordeste. Uma grande heterogeneidade alélica foi observada em todos os tipos de MPS. **Discussão:** A prevalência estimada das MPS em geral foi bastante superior à encontrada nos demais países e muito semelhante à estimada em Portugal. A MPS I teve prevalência mais elevada do que na maioria dos estudos semelhantes, principalmente quando comparada aos países asiáticos. A MPS II teve a prevalência ao nascimento mais alta no Brasil, em relação aos outros tipos, e também esteve entre as mais altas no mundo. As MPS III e IV tiveram resultado intermediário quando comparado aos outros países. Na MPS VI a prevalência encontrada supera os valores estimados em quase todos os demais países. A MPS VII, assim como nos outros estudos, também teve prevalência baixa no Brasil. Em relação ao perfil genético de pacientes brasileiros com MPS, observou-se que é semelhante ao registrado no HGMD e indica que a maioria dos pacientes tem variantes classificadas como substituições. **Conclusão:** Este estudo relata dados originais sobre a prevalência ao nascimento das MPS e sobre a frequência relativa dos tipos de MPS no Brasil, baseando-se na frequência da variante patogênica mais comum no gene da *IDUA* e em registros de centros de referência. Esta metodologia pode ser aplicada a outras doenças genéticas e pode ser útil a pacientes, cuidadores, autoridades em saúde e pesquisadores. Além disso, o estudo mostrou que a maioria dos pacientes (considerando a subamostra em que foi possível

obter dados sobre o genótipo), poderia se beneficiar de terapêuticas que atuam na estabilização de proteínas mal dobradas (chaperonas, para mutações com troca de sentido) ou na supressão de códons de parada prematura (*stop códon read through*).

Descritores: Mucopolissacaridoses. Frequência. Epidemiologia. Prevalência ao nascimento. Incidência. Variantes.

ABSTRACT

Introduction: Mucopolysaccharidoses (MPS) are rare diseases caused by the deficiency of lysosomal enzymes responsible for the degradation of glycosaminoglycans. They are serious, chronic and progressive diseases. Although there are several published studies on the frequency of MPS in different countries, there are no studies published in Brazil. Evaluating the frequency of different types of MPS in the different regions of Brazil is important to estimate the needs of these patients. **Objective:** The objective of this study was to estimate the birth prevalence of MPS in Brazil, evaluating the different types and distribution of cases in Brazilian regions, as well as assessing the type of variants occurring in the patients. For this, all the cases registered at the MPS Brazil Network and at Vidas Raras Institute (Instituto Vidas Raras) were reviewed and the birth prevalence was calculated from the number of live births (LBs) in the country. In addition, the most frequent *IDUA* variant in patients with MPS I (p.Trp402Ter) was tested in healthy volunteers in order to estimate the frequency of heterozygotes and, subsequently, homozygotes for this variant. A proportionality calculation was performed to estimate the frequency of MPS I and other MPS types. As for the genotype analysis of the patients, they were classified by MPS type and according to region of origin in the country, and the variants were classified according to the Human Gene Mutation Database classification. Only index cases were considered in this analysis. **Results:** A total of 1,472 Brazilian patients were included in this study, most of whom were diagnosed with MPS II. Birth prevalence considering total LBs was (per 100,000 LBs): MPS in general: 1.25; MPS I: 0.24; MPS II: 0.37; MPS III: 0.21; MPS IV: 0.14; MPS VI: 0.28; MPS VII: 0.02; The frequency of the variant found in 1,000 healthy volunteers was 0.002. From this frequency, the minimum prevalence of MPS I and other types of MPS was estimated in

(per 100,000 LBs): MPS in general: 4.62; MPS I: 0.95; MPS II: 1.32; MPS III: 0.56; MPS IV: 0.57; MPS VI: 1.02; MPS VII: 0.05. In 499 patients we could review genotype results. The most frequent variants were substitutions in the MPS types I, II, IIIB, IVA and VI, being the majority of them missense variants. Regional differences in the proportion of variants were observed in MPS IIIB, in which small deletions were more frequent in the South, and in MPS VI, in which variants at the splicing site were more common in Northeastern patients. Large allelic heterogeneity was observed in all MPS types.

Discussion: The estimated prevalence of MPS in general was much higher than that found in other countries and very similar to that estimated in Portugal. MPS I had a birth prevalence higher than those found in most studies, especially when compared to Asian countries. MPS II had the highest birth prevalence in Brazil in relation to other types and was also among the highest in the world. MPS III and IV had an intermediate result when compared to the other countries. In MPS VI the birth prevalence found exceeds the values estimated in almost all other countries. MPS VII, as in other studies, also had a low birth prevalence in Brazil. Regarding the genetic profile of Brazilian patients with MPS, we observed that it is similar to that registered in HGMD and it indicates that most patients have variants classified as substitutions. **Conclusion:** This study reports original data on the birth prevalence of MPS and the relative frequency of MPS types in Brazil, based on the frequency of the most common pathogenic variant in the *IDUA* gene and in records from reference centers. This methodology can be applied to other genetic diseases and can be useful to patients, caregivers, health authorities and researchers. In addition, the study showed that the majority of patients (considering the subsample from whom genotype result was available) could benefit from therapies that act to stabilize misfolded proteins (chaperones, for missense variants), or to suppress premature stop codons (stop codon read through).

Keywords: Mucopolysaccharidoses. Frequency. Epidemiology. Birth prevalence.
Incidence. Variants.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Fluxograma para o diagnóstico das MPS no Serviço de Genética Médica do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (SGM/HCPA)	32
Figure 1 – Distribution of identified MPS cases across the regions of Brazil.....	62
Figure 2 – Birth prevalence of MPS per 100,000 live births in Brazil and worldwide.	74
Figure 3 – Comparison of birth prevalence of each MPS type in countries for which data are available A: MPS I; B: MPS II (in some countries, estimate considers only live births of males); C: MPS III (and its subtypes, when available); D: MPS IV (and its subtypes, when available); E: MPS VI; F: MPS VII.....	75

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Classificação das Mucopolissacaridoses	24
Tabela 2 – Diagnósticos de MPS realizados pela Rede MPS Brasil, de 2004 a 2011 ...	42
Table 1 – Characteristics of MPS patients diagnosed by the MPS Brazil Network or registered at Instituto Vidas Raras.....	59
Table 2 – Consanguinity and reports of other cases of MPS in the family, by MPS type and region	60
Table 3 – Confirmed and suggestive diagnoses by type of MPS	61
Table 4 – Proportion of MPS patients and habitants according Brazilian regions.....	62
Table 5 – Birth prevalence of MPS, 1994–2015	63
Table 6 – Birth prevalence of MPS, 1994–2010	64
Table 7 – Estimated birth prevalence of MPS in Rio Grande do Sul, Brazil, based on the frequency of heterozygosity for the <i>IDUA</i> p.Trp402Ter variant in healthy volunteers .	65
Table 8 – Estimated birth prevalence of MPS in Brazil, based on the Rio Grande do Sul estimate.....	66
Table 9 – Studies of MPS frequency in other countries	67
Table 10 – Definition of variant nomenclature according to the Human Gene Mutation Database and the Human Genome Variation Society	92
Table 11 – Patients according to MPS type, the number of patients with molecular research available and the number of index cases considered in this study	93
Table 12 – Classification of variants in Brazilian MPS patients.....	94
Table 13 – Proportion of non-sense and missense variants among alleles with substitutions.....	94
Table 14 – MPS I patients according to region and variant type	95

Table 15 – MPS II patients according to region and variant type	95
Table 16 – MPS III patients according to region and variant type.....	96
Table 17 – MPS IVA patients according to region and variant type.....	97
Table 18 – MPS VI patients according to region and variant type.	97
Table 19 – Proportion of homozygotes and compound heterozygotes for each type of MPS	98
Table 20 – Variants identified in this study compared to variants described in the HGMD for MPS I, II, III, IVA and VI	99

LISTA DE ABREVIATURAS

AR	autossômica recessiva
CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
CGHarray	hibridização genômica comparativa
CTMA	cetiltrimetilamônio
DL	doença(s) lisossômica(s)
DMB	1,9-dimetil-metilenoblue
DNA	<i>deoxyribonucleic acid</i> (ácido desoxirribonucleico)
EIM	erros inatos do metabolismo
FR	frequência relativa
GAGs	glicosaminoglicano(s)
GALNS	gene da MPS IVA
GLB1	gene da MPS IVB
GNS	gene da MPS IIID
GUSB	gene da MPS VII
HCPA	Hospital de Clínicas de Porto Alegre
HGMD	Human Gene Mutation Database
HGSNAT	gene da MPS IIIC
HYAL1	gene da MPS IX
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IDS	gene da MPS II
IDUA	gene da MPS I
IVR	Instituto Vidas Raras

LB	live births
MBN	MPS Brazil Network
MPS	mucopolissacaridose(s)
NAGLU	gene da MPS IIIB
NV	nascidos vivos
PCR	reação em cadeia de polimerase
RedCap	<i>Research Electronic Data Capture</i>
RMB	Rede MPS Brasil
RS	Rio Grande do Sul
SD	sulfato de dermatan
SGM/HCPA	Serviço de Genética Médica do Hospital de Clínicas de Porto Alegre
SGSH	gene da MPS IIIA
SH	sulfato de heparan
SPSS	Statistical Package for Social Science
SQ	sulfato de queratan
TCLE	termo de consentimento livre e esclarecido
TCTH	transplante de células tronco-hematopoiéticas
TMO	transplante de medula óssea
TRE	terapia de reposição enzimática

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	21
2	REVISÃO DE LITERATURA	22
2.1	MUCOPOLISSACARIDOSES	22
2.1.1	Aspectos bioquímicos	25
2.1.2	Aspectos moleculares	25
2.1.3	Aspectos clínicos	26
2.2	DIAGNÓSTICO	28
2.2.1	A Rede MPS Brasil	31
2.3	TRATAMENTO	32
2.4	EPIDEMIOLOGIA	35
2.4.1	Estudos em outros países	36
2.4.2	Estudos no Brasil.....	42
3	JUSTIFICATIVA	44
4	OBJETIVOS	45
4.1	OBJETIVO GERAL	45
4.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	45
5	MATERIAIS E MÉTODO	46
5.1	DELINEAMENTO	46
5.2	PACIENTES DIAGNOSTICADOS COM MPS.....	46
5.3	PESQUISA DA FREQUÊNCIA DA VARIANTE P.TRP402TER NO GENE <i>IDUA</i>	47
5.4	ANÁLISE DOS DADOS	47

5.4.1	Estimativa da prevalência ao nascimento a partir dos casos identificados pela RMB e pelo IVR	47
5.4.2	Estimativa da prevalência ao nascimento a partir da frequência da variante p.Trp402Ter no gene <i>IDUA</i>.....	48
5.5	ASPECTOS ÉTICOS	49
6	RESULTADOS.....	50
6.1	ARTIGO CIENTÍFICO 1 – A SER SUBMETIDO À REVISTA <i>AMERICAN JOURNAL OF MEDICAL GENETICS: PART A</i>.....	50
6.2	ARTIGO CIENTÍFICO 2 – A SER SUBMETIDO AO MGM REPORTS	85
7	CONCLUSÕES	105
7.1	EM RELAÇÃO AO OBJETIVO GERAL DESTE DO ESTUDO.....	105
7.2	EM RELAÇÃO AOS OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	105
8	CONSIDERAÇÕES FINAIS	107
	REFERÊNCIAS	108
	APÊNDICE A – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido utilizado no estudo em voluntários saudáveis.....	114
	ANEXO A – Parecer de aprovação do CEP/HCPA da pesquisa dos pacientes diagnosticados com MPS	117
	ANEXO B – Parecer de aprovação do CEP/HCPA da pesquisa da variante no gene <i>IDUA</i>.....	121

1 INTRODUÇÃO

As mucopolissacaridoses (MPS) são erros inatos do metabolismo (EIM) classificadas como doenças lisossômicas (DL) e caracterizadas pelo acúmulo generalizado de glicosaminoglicanos (GAGs). Este acúmulo é secundário à deficiência da atividade de uma enzima lisossômica específica envolvida na degradação dessas moléculas. Há, atualmente, onze enzimas conhecidas que participam do catabolismo dos GAGs (NEUFELD; MUENZER, 2001). A deficiência de qualquer uma delas, decorrente de uma alteração do gene correspondente, leva a um tipo de MPS específico.

Estudos que estimam a frequência das MPS foram realizados em países da Europa, na América do Norte, na Ásia, na África e na Oceania. Na América do Sul, há apenas um estudo publicado na Colômbia. Embora a frequência global das MPS seja estimada em 1:22.000 indivíduos (MEIKLE *et al.*, 1999; POORTHUIS *et al.*, 1999), os resultados obtidos nestes estudos são bastante variáveis. Acredita-se, também, que a incidência seja maior que a estimada em função da heterogeneidade clínica e a dificuldade em identificar as formas mais atenuadas da doença (GIUGLIANI, 2012a). Não há estudos publicados sobre a frequência das MPS no Brasil.

Diante deste cenário, o presente estudo pretende avaliar a frequência das MPS no Brasil a partir da estimativa mínima da prevalência ao nascimento da doença, calculada a partir do número de casos diagnosticados pela Rede MPS Brasil (RMB) e registrados no Instituto Vidas Raras (IVR), e a partir da frequência da variante p.Trp402Ter, frequente na MPS I, numa população de indivíduos “saudáveis”, doadores do Banco de Sangue do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA).

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 MUCOPOLISSACARIDOSES

As MPS são um grupo de DL caracterizadas pelo acúmulo intralisossômico de GAGs, secundário à deficiência na atividade de uma enzima lisossômica envolvida na degradação dessas moléculas. O acúmulo de GAGs não degradados ou parcialmente degradados ocorre em várias células e tecidos, compromete a função celular e orgânica e causa uma série de manifestações clínicas, as quais são progressivas e afetam múltiplos órgãos (NEUFELD; MUENZER, 2001). A primeira vez que se ouviu falar de uma MPS foi em 1917, quando Charles Hunter descreveu dois irmãos, ambos do gênero masculino, com características comuns entre si, como face infiltrada, hepatomegalia e displasia óssea. Dois anos depois, em 1919, a pediatra alemã, Gertrud Hurler, relatou achados de visceromegalia e alterações ósseas em dois meninos não relacionados, que posteriormente foram classificados como tendo a Síndrome de Hurler (NEUFELD; MUENZER, 2001). Em 1929, o pediatra uruguaio Luis Morquio descreveu o que chamou de uma “distrofia esquelética familiar”, que afetava quatro do total de cinco filhos de um casal consanguíneo (MORQUIO, 1929). Neste mesmo ano, casos semelhantes foram descritos por Brailsford (1929), levando a acreditar que uma nova forma de displasia esquelética havia sido descoberta. Estes casos foram reconhecidos como MPS quando se observou que tinham uma anormalidade em comum, o acúmulo de GAGs ou mucopolissacarídeos, como eram chamados os GAGs na época. Alguns anos se passaram até que no início da década de 60 uma forma mais atenuada da Síndrome de Hurler foi descrita por Scheie e colaboradores (SCHEIE *et al.*, 1962). Em seguida, em 1963, um quadro clínico de retardo mental com aumento de GAGs na urina, mas visceromegalia e manifestações ósseas

discretas, foi descrito por Sanfilippo *et al.* (1963). No mesmo ano, na França, uma forma de disostose óssea, com aumento de GAGs na urina e sem comprometimento cognitivo, foi identificada por Maroteaux e colaboradores (1963). Depois de dez anos, Sly e colaboradores (1973) descreveram o que seria classificada como MPS VII e mais recentemente, Natowicz *et al.* (1996) descreveram a MPS tipo IX.

A identificação das onze enzimas que se encontram deficientes nestas síndromes permitiu uma classificação definitiva, sendo algumas formas clínicas classificadas como um mesmo tipo, como as Síndromes de Hurler e Scheie que foram classificadas como MPS I, e outras formas clínicas subdivididas de acordo com a enzima que se encontra deficiente, como a Síndrome de San Filippo, subdividida em A, B, C e D e a Síndrome de Morquio, subdividida em A e B. Portanto, atualmente, existem onze deficiências enzimáticas conhecidas para sete tipos de MPS (NEUFELD; MUENZER, 2001), conforme apresentado na Tabela 1, adaptada de Giugliani (2012a). Todas as MPS têm herança autossômica recessiva, com exceção da MPS II, cuja herança é ligada ao cromossomo X e, por isso, afeta predominantemente meninos (GIUGLIANI *et al.*, 2017).

Tabela 1 – Classificação das Mucopolissacaridoses

MPS	Nome	GAG aumentado	Padrão de herança	Enzima deficiente	Nome do gene	Localização do gene
I	Hurler, Hurler-Scheie or Scheie	SH + SD	AR	α -iduronidase	IDUA	4p16.3
II	Hunter	SH + SD	Ligada ao X	Iduronato-sulfatase	IDS	Xq28
IIIA	Sanfilippo A	SH	AR	Heparan-N-sulfatase	SGSH	17q25.3
IIIB	Sanfilippo B	SH	AR	α -N-acetilglucosaminidase	NAGLU	17q21.1
IIIC	Sanfilippo C	SH	AR	AcetilCoA α - glucosamina acetiltransferase	HGSNAT	14p21
IIID	Sanfilippo D	SH	AR	N-acetilglucosamine 6-sulfatase	GNS	12q14
IVA	Morquio A	SQ	AR	Galactosamina-6-sulfato sulfatase	GALNS	16q24.3
IVB	Morquio B	SQ	AR	β -galactosidase	GLB1	3p21.3
VI	Maroteaus-Lamy	SD	AR	N-acetil-galactosamina-4-sulfatase	ARSB	5q11–q13
VII	Sly	SH + SD	AR	β -glicuronidase	GUSB	7q21.11
IX	Natowicz	Ácido hialurônico	AR	Hialuronidase	HYAL1	3p21.3

Fonte: Adaptada de Giugliani (2012a).

Notas: Autossômica recessiva (AR). Gene da MPS IVA (GALNS). Gene da MPS IVB (GLB1). Gene da MPS VII (GUSB). Gene da MPS IIIC (HGSNAT). Gene da MPS IX (HYAL1). Gene da MPS II (IDS). Gene da MPS I (IDUA). Sulfato de dermatan (SD). Sulfato de heparan (SH). Sulfato de queratan (SQ).

2.1.1 Aspectos bioquímicos

Os GAGs são componentes do tecido conjuntivo conectivo, onde são encontrados ligados a proteínas, formando macromoléculas denominadas proteoglicanos. Os proteoglicanos fazem parte da matriz extracelular e têm a função de controlar o fluxo de água e nutrientes para as células. Existe uma contínua renovação celular de proteoglicanos, sendo que a sua degradação inicia-se pela clivagem por proteases extracelulares e, após, pela ação sequencial das enzimas lisossomais produzindo monossacarídeos e sulfato inorgânico (NEUFELD; MUENZER, 2001). O GAG sulfato de dermatan (SD), por exemplo, possui um papel importante na estrutura corporal, especialmente na pele, nos tendões, nos vasos sanguíneos, na via aérea e nas válvulas cardíacas. Caso uma ou mais enzimas estejam deficientes, o processo normal de reciclagem não ocorre e há o acúmulo de moléculas de polissacarídeos parcialmente degradadas. Essas moléculas são excretadas na urina e também são armazenadas dentro da célula. O acúmulo progressivo de produtos da degradação do SD nos lisossomos de todas as células pode levar a apoptose de alguns grupos celulares e ao dano celular e tecidual irreversível (GIUGLIANI *et al.*, 2007).

2.1.2 Aspectos moleculares

Após a identificação das enzimas que se encontravam deficientes nas MPS, pesquisadores passaram a estudar os genes responsáveis. O primeiro deles foi identificado em 1987 (OSHIMA *et al.*, 1987) e o último em 2006. Quanto aos defeitos gênicos, as MPS são bastante heterogêneas, com deleções, rearranjos e inúmeras variantes identificadas em cada tipo de MPS. Observa-se que variantes com troca de sentido causam um fenótipo mais leve enquanto variantes sem sentido e grandes rearranjos, em geral, manifestam-se de forma mais grave. A

identificação do genótipo é importante para ajudar a prever o fenótipo e para aconselhamento genético, embora nem sempre seja possível determinar a gravidade do curso da doença com base no genótipo (GIUGLIANI, 2012a).

Utilizando como exemplo a MPS I, observam-se diferenças quanto à frequência das variantes no gene nas diferentes populações étnicas. As variantes p.Trp402Ter e p.Gln70Ter são encontradas em mais de 50% dos pacientes caucasianos, enquanto em pacientes asiáticos elas são bastante raras (TERLATO; COX, 2003). Estas variantes estão associadas ao fenótipo grave da doença (BERTOLA *et al.*, 2011). A frequência relativa (FR) das variantes consideradas mais comuns na MPS I também 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). Tanto na MPS I quanto na MPS II, um número considerável de variantes novas foi identificado em pacientes brasileiros (BRUSIUS-FACCHIN *et al.*, 2014; MATTE *et al.*, 2003). Quanto a MPS VI, estudos mostram frequência alta de uma variante com troca de sentido no Nordeste do país, em uma cidade chamada Monte Santo, onde há altas taxas de endogamia e consanguinidade (COSTA-MOTTA *et al.*, 2011; COSTA-MOTTA *et al.*, 2014).

2.1.3 Aspectos clínicos

O curso crônico e progressivo dos sintomas e o comprometimento multissistêmico são comuns a todos os tipos de MPS. Alterações esqueléticas, cardíacas, pulmonares, oculares, em fígado e baço ocorrem em todas as MPS, e se manifestam em um amplo espectro de gravidade. Naqueles pacientes com a forma mais grave da doença, os sinais e sintomas aparecem já na infância, enquanto nas formas atenuadas, aparecem mais tardiamente (GIUGLIANI *et al.*, 2017), fazendo muitos pacientes serem diagnosticados somente na adolescência ou idade adulta

ou permanecerem sem diagnóstico (VIJAY; WRAITH, 2005). A manifestação clínica está relacionada ao GAG acumulado. Por exemplo, em alguns pacientes com MPS I e II e nas MPS III, o acúmulo de sulfato de heparan afeta o sistema nervoso central. Já o acúmulo de sulfato de queratan, um componente importante da córnea e das cartilagens, leva a opacidade de córnea e alterações esqueléticas importantes na MPS IV, enquanto as MPS nas quais se acumula o sulfato de dermatan (MPS I, II e VI), as alterações cardíacas geralmente são mais graves (DANGEL, 1998).

Após a identificação dos mecanismos bioquímicos e moleculares da doença, ficou evidente a ampla variabilidade clínica presente em cada tipo de MPS, com formas muito graves e muito atenuadas e um amplo espectro de gravidade entre estes dois extremos.

Resumidamente, as manifestações clínicas mais frequentes incluem (GIUGLIANI *et al.*, 2017):

- face infiltrada, com fronte proeminente, cabelos e sobrancelhas grossos, ponte nasal rasa e macroglossia. Esta face característica pode estar presente mesmo no fenótipo mais atenuado da doença.
- pele grossa e hirsuta;
- atraso no crescimento na forma Hurler da MPS I;
- alterações cardíacas, como valvulopatia, hipertensão sistêmica e pulmonar, estenose arterial difusa e cardiomiopatia;
- alterações oftalmológicas, como opacidade de córnea nas MPS I e VI, glaucoma e retinopatia;
- hepatomegalia e esplenomegalia, geralmente associadas a hérnias umbilicais e/ou inguinais;
- disostose múltipla, com alterações em crânio, coluna, mãos, quadril e ossos longos;

- alterações articulares, com redução da mobilidade articular (exceto na MPS IV);
- alterações respiratórias, como infecções de repetição, obstrução de vias aéreas superiores e inferiores, hipertrofia de língua, adenoides e amígdalas, apneia obstrutiva do sono e redução da função pulmonar;
- comprometimento neurológico, com hidrocefalia – mais frequente nas MPS I e VI –, alterações de substância branca, ventriculomegalia, atrofia cortical, retardo do desenvolvimento neuropsicomotor, regressão neurológica, síndrome do túnel do carpo e mielopatia cervical.

Embora se observe diferença na gravidade como a doença se manifesta caso a caso, em todos os pacientes ela culmina com o óbito, geralmente por insuficiência respiratória e/ou cardíaca (GIUGLIANI, 2012a). Complicações anestésicas também estão entre as causas frequentes de óbito nas MPS (ARN *et al.*, 2012).

2.2 DIAGNÓSTICO

A partir da suspeita clínica da doença, o diagnóstico das MPS pode ser estabelecido com a realização de exames bioquímicos específicos, começando pela determinação da concentração de GAGs na urina, a qual está elevada em praticamente todos os tipos de MPS. Importante ressaltar que valores normais de GAGs urinários não devem descartar a hipótese do diagnóstico em um paciente com quadro clínico sugestivo de MPS (GIUGLIANI *et al.*, 2010). A medida da concentração dos GAGs urinários pode ser feita utilizando vários métodos. O mais utilizado é a dosagem colorimétrica a partir da reação com solução de 1,9-dimetil-metilenoblue (DMB), pois permite a identificação de todos os diferentes tipos de GAG (DE JONG *et al.*, 1989). O mínimo de 2mL de urina é suficiente para este teste, podendo ser amostra de urina randômica ou de 24 horas. Os métodos de triagem como o brometo de cetiltrimetilamônio (CTMA) e o

azul de toluidina, embora simples e baratos, estão em desuso, devido às baixas sensibilidade e especificidade (GIUGLIANI *et al.*, 2017). Há uma tendência crescente para a utilização de métodos mais sensíveis e específicos, como a cromatografia de massas in tandem (GELB *et al.*, 2006), mas esta técnica ainda é pouco acessível à maioria dos laboratórios clínicos.

Como segunda etapa da investigação, a análise qualitativa pode ser realizada utilizando-se métodos como a cromatografia em camada delgada ou a eletroforese uni ou bidimensional. Os exames iniciais na urina permitem orientar a direção dos estudos enzimáticos (CHIH-KUANG *et al.*, 2002; DE JONG *et al.*, 1989). Uma vez identificado o GAG eliminado em excesso na urina, está recomendada a análise enzimática correspondente, utilizando preferencialmente leucócitos ou fibroblastos cultivados. A análise em plasma está relacionada com uma maior possibilidade de resultado falso-positivo (BARTH *et al.*, 1990). Chamoles e colaboradores (2001) descreveram uma técnica que permite medir a atividade das enzimas em sangue impregnado em papel-filtro. Esta técnica tem sido utilizada por vários centros, pois o acondicionamento e o transporte da amostra tornam-se mais fáceis, principalmente em locais mais remotos. Embora este teste exija a confirmação do resultado em leucócitos, imagina-se que esta técnica ajude a aumentar o número de diagnósticos não só das MPS, mas de outras DL (CIVALLERO *et al.*, 2006). Urina impregnada em papel-filtro também é uma técnica que tem sido utilizada para triagem das MPS (WHITLEY *et al.*, 2002).

O diagnóstico pré-natal das MPS também é possível por meio da análise enzimática em amostra de vilosidade coriônica, em amniócitos ou sangue de cordão umbilical. O uso de vilosidades coriônicas é preferível, pois pode ser realizado mais precocemente no período gestacional e permite a análise enzimática e/ou molecular tanto na análise direta das vilosidades quanto no material cultivado. Nos amniócitos o sobrenadante pode ser analisado para verificar a presença de metabólitos acumulados. Nas duas amostras podem ser realizadas análises enzimáticas e, havendo conhecimento da variante do caso-índice, a análise molecular

(GIUGLIANI *et al.*, 2017). A coleta de sangue de cordão está indicada nos casos em que a idade gestacional está mais avançada, a partir da 20ª semana. Para realização desta análise não é necessário o cultivo de células (BESLEY *et al.*, 1991). Alguns tipos de MPS, como os tipos I, IVA e VII foram relacionados com hidropsia fetal não imune, ascite fetal e translucência nucal aumentada (LAKE *et al.*, 1998), podendo ser considerada a hipótese de MPS quando as causas mais comuns destes achados forem descartadas (BURIN *et al.*, 2004).

Segundo Meikle e colaboradores (1999), no fim do século passado no Sul da Austrália eram realizados de 150 a 250 testes de triagem para MPS na urina para cada paciente diagnosticado e de 400 a 450 análises enzimáticas em leucócitos anualmente para diagnosticar, em média, 18 pacientes com MPS. Este número elevado de pacientes encaminhados para investigação de MPS pode indicar a falta de conhecimento dos profissionais sobre as manifestações da doença.

Além dos testes bioquímicos, o diagnóstico também pode ser confirmado pela identificação da variante patogênica no gene. Para isso podem ser usadas amostras de sangue total ou impregnado em papel filtro, saliva, células cultivadas de líquido amniótico e vilosidades coriônicas. A análise molecular é realizada a partir da extração de ácido desoxirribonucleico (*deoxyribonucleic acid* – DNA) destas amostras e posterior amplificação dos exons pelo método de reação em cadeia de polimerase (PCR). A PCR é um método *in vitro* que permite a análise de uma sequência específica do gene a partir de pequenas amostras do material do paciente e consequente identificação de possíveis alterações na sequência de DNA presentes no fragmento (ERLICH, 1989). Também podem ser usadas técnicas como PCR em tempo real, hibridização genômica comparativa (CGHarray) e sequenciamento de nova geração (GIUGLIANI *et al.*, 2017).

Embora diferentes técnicas laboratoriais para confirmação do diagnóstico bioquímico e/ou molecular tenham se tornado disponíveis ao longo dos anos, se observa um atraso

importante no diagnóstico destas doenças. Um estudo conduzido no Brasil mostrou um intervalo de, em média, 4,8 anos entre o início dos sintomas e a confirmação do diagnóstico (VIEIRA *et al.*, 2008). Uma das razões que pode explicar este atraso, além do desconhecimento dos profissionais, é o fato de que os testes para confirmação do diagnóstico não são amplamente acessíveis, especialmente em países em desenvolvimento (GIUGLIANI, 2012b).

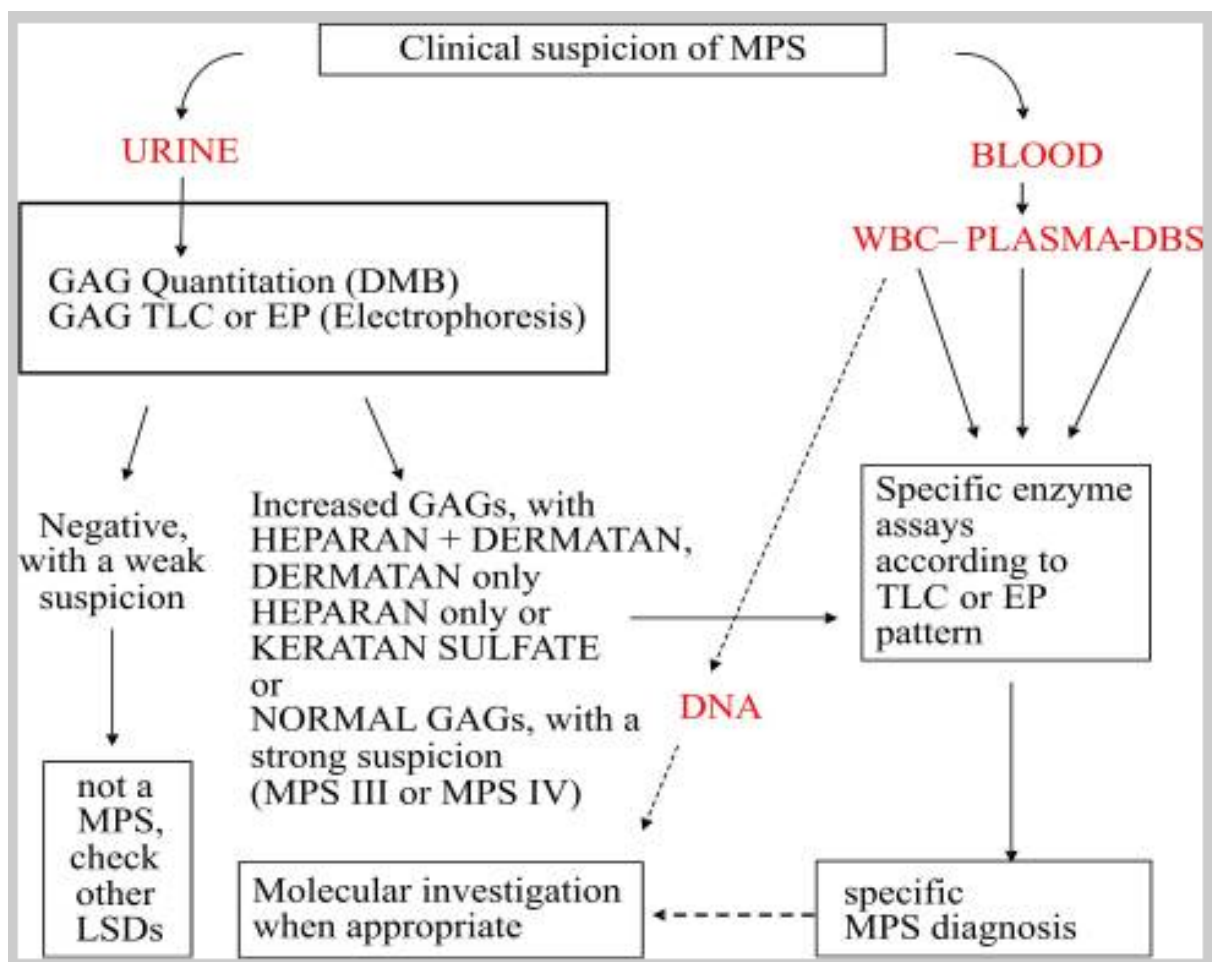
2.2.1 A Rede MPS Brasil

A Rede MPS Brasil foi criada em 2004 por meio de uma parceria entre centros brasileiros de genética, referência na assistência de pacientes com MPS. Um dos principais objetivos desta iniciativa é melhorar o acesso de pacientes e profissionais à informação e ao diagnóstico da doença. O Serviço de Genética Médica do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (SGM/HCPA) é o centro coordenador deste projeto inovador e conta com a colaboração de centros localizados em diversos estados brasileiros e com o apoio financeiro de organizações públicas e privadas. Para atingir seus objetivos, o SGM/HCPA estruturou uma rede organizada que disponibiliza investigação laboratorial para pacientes com suspeita clínica da doença, sem ônus para os pacientes nem para os profissionais. A RMB também apoia o desenvolvimento clínico e laboratorial de outros centros participantes do projeto, fornece orientações sobre a investigação clínica e laboratorial da doença e disponibiliza constantemente materiais com informações atualizadas sobre as MPS. Periodicamente, eventos direcionados a profissionais, pacientes e familiares são organizados a fim de atualizá-los acerca dos últimos avanços das pesquisas nesta área. Além disso, a Rede disponibiliza um número de telefone para pacientes e profissionais ligarem gratuitamente para esclarecer dúvidas sobre a doença. Como principal resultado desta iniciativa, nos últimos oito anos, a RMB identificou mais de 500 novos casos

de MPS, o que, em média, representa mais do que o dobro de casos diagnosticados antes da implementação deste projeto (GIUGLIANI, 2012a).

Na Figura 1 está demonstrada a rotina de investigação diagnóstica de pacientes com suspeita clínica de MPS (GIUGLIANI, 2012a).

Figura 1 – Fluxograma para o diagnóstico das MPS no Serviço de Genética Médica do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (SGM/HCPA)



Fonte: Giugliani (2012a, p. 927).

2.3 TRATAMENTO

O catabolismo dos glicosaminoglicanos pode ser restaurado ou normalizado com o auxílio de tratamentos disponibilizados para algumas formas de MPS. Na década de 80 foi

proposto o tratamento das MPS com transplante de células tronco-hematopoiéticas (TCTH) e transplante de medula óssea (TMO) (KRIVIT, 2004; LANGE *et al.*, 2006), e na década de 90 começou o desenvolvimento da terapia de reposição enzimática (TRE), que são as duas armas terapêuticas consagradas para recompor, pelo menos, parcialmente a atividade da enzima deficiente (GIUGLIANI *et al.*, 2010).

O TMO/TCTH tem sido realizado em pacientes com MPS com o objetivo de corrigir a deficiência enzimática (BOELEN, 2006). Esse tratamento baseia-se no fato de que a enzima produzida pelas células do doador é liberada no plasma do receptor e pode ser absorvida por suas células que têm a enzima deficiente. A reposição de células doentes por células do doador com alta atividade enzimática geralmente tem como consequência uma redução dos GAGs urinários, diminuição da hepatoesplenomegalia e melhora de parâmetros respiratórios e cardíacos, principalmente nas MPS tipos I e VI e potencialmente na MPS VII (GIUGLIANI, 2012a). Embora exista um risco e uma elevada taxa de morbidade/mortalidade associados a este tratamento, estudos indicam que ele pode mudar a história natural da doença, aumentando a expectativa de vida e melhorando muitas anormalidades sistêmicas (VELLODI *et al.*, 1997). Sua indicação depende do tipo de MPS, do quadro clínico, idade e comprometimento neurológico. Esta terapia não é considerada benéfica para os tipos III e IV e ainda não há evidência de benefício para MPS II. Atualmente, a principal indicação de realização desta terapia é para os pacientes com a forma grave de MPS I, uma vez que o TMO/TCTH realizado antes dos dois anos de idade nesses pacientes parece mudar favoravelmente e de forma significativa o comprometimento cognitivo (BOELEN *et al.*, 2007), uma vez que as células do doador ainda são capazes de migrar para o sistema nervoso central do paciente e produzir enzima (PRASAD; KURTZBERG, 2010).

A TRE é um tratamento que consiste na administração periódica, por via intravenosa, da enzima específica deficiente no paciente, por meio de infusões intravenosas regulares da

forma recombinante da enzima (GIUGLIANI *et al.*, 2010). A primeira TRE aprovada para tratamento de uma MPS foi para MPS I (WRAITH *et al.*, 2004), sendo subsequentemente aprovadas a TRE para MPS VI (HARMATZ *et al.*, 2006), para MPS II (MUENZER *et al.*, 2006) e para MPS IVA (HENDRIKSZ *et al.*, 2014). A TRE não é curativa e não pode melhorar todos os órgãos e sistemas no indivíduo quando as alterações irreversíveis já estão estabelecidas, entretanto, o tratamento precoce pode prevenir a progressão em alguns aspectos relacionados com a doença, melhorando a qualidade de vida dos pacientes (GIUGLIANI *et al.*, 2010). A TRE é capaz de diminuir os GAGs urinários, reduzir a visceromegalia, melhorar a mobilidade articular e função respiratória, reduzir o depósito de GAGs em músculo cardíaco e melhorar a força, mas não é capaz de reduzir a opacidade de córnea, de melhorar de maneira significativa o comprometimento ósseo e de melhorar a valvulopatia (GIUGLIANI, 2012a). Além disso, como principal desvantagem, a enzima fornecida por via intravenosa não é capaz de atravessar a barreira hematoencefálica (NEUFELD; MUENZER, 2001) não agindo sobre a compressão da medula e sobre o comprometimento cognitivo, presente nas formas graves das MPS I e II e em todos os subtipos da MPS III (GIUGLIANI, 2012a). A fim de melhorar as complicações do sistema nervoso central, outra via de administração da TRE, a via intratecal, tem mostrado resultados promissores para MPS I (MUNOZ-ROJAS *et al.*, 2008), MPS VI (MUNOZ-ROJAS *et al.*, 2010), MPS II (MUENZER *et al.*, 2016) e MPS IIIA (JONES *et al.*, 2016). Embora não haja cura disponível para nenhum tipo de MPS, diferentes abordagens terapêuticas estão sendo desenvolvidas, as quais incluem, além de vias alternativas de administração da enzima, como a intratecal e a intracerebroventricular (KAN *et al.*, 2014), outras estratégias como terapia de inibição de substrato (DE RUIJTER *et al.*, 2012), terapia gênica (BALDO *et al.*, 2014) e moléculas modificadas capazes de cruzar a barreira hematoencefálica (BOADO *et al.*, 2008). Terapias variante-dependente também vêm sendo estudadas, como as chaperonas farmacológicas (para algumas mutações selecionadas com troca

de sentido) e as que atuam na tradução, como as que restauram a tradução da proteína suprimindo um codon de parada precoce (*stop codon read through*) (GIUGLIANI *et al.*, 2016). Antes do advento de terapias específicas, o tratamento das MPS tinha como foco a prevenção e o manejo das complicações. Esse tratamento era sintomático e paliativo, baseado em uma equipe multidisciplinar, que continua sendo importante para o manejo das complicações da doença. Cardiologistas, pneumologistas, anestesistas, ortopedistas, fisiatras, otorrinolaringologistas, oftalmologistas, entre outras especialidades, compõem o grupo que deve ter como finalidade não só oferecer tratamento como também promover a saúde (GIUGLIANI *et al.*, 2010). 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).

2.4 EPIDEMIOLOGIA

Segundo Poorthuis e colaboradores (1999) realizar estudos epidemiológicos em doenças lisossômicas é um desafio devido à raridade destas condições, ao longo período de observação necessário para identificar casos suficientes que permitam estimar uma frequência fidedigna e a descrição incompleta dos casos. Todavia, trabalhos sobre a epidemiologia das MPS foram publicados em mais de 20 países. Estes estudos, em geral, utilizam para estimar a frequência a razão entre o número de pacientes diagnosticados em centros de referência em um determinado período pelo total de nascidos vivos (NV) neste mesmo período, ou o número de pacientes nascidos em um determinado período pelo total de NV neste mesmo intervalo de tempo. Os resultados da frequência da doença são apresentados utilizando os termos “incidência”, “incidência ao nascimento” e “prevalência ao nascimento”, sendo este último o mais

frequentemente utilizado. Os resultados destes estudos serão abordados a seguir. A frequência está apresentada em 100.000 NV.

2.4.1 Estudos em outros países

2.4.1.1 América do Norte

O primeiro estudo sobre a frequência das MPS foi publicado em 1971, na Colúmbia Britânica, no Canadá, cujos dados foram posteriormente atualizados em 1990 (LOWRY; RENWICK, 1971; LOWRY *et al.*, 1990). Neste último estudo, foram considerados pacientes identificados no período de 1952 a 1986 e o total de NV no mesmo período. Vinte e cinco pacientes foram identificados no período e a frequência estimada foi: MPS I: 0,69; MPS II: 0,9 (considerando somente NV do gênero masculino); MPS IIIA: 0,3; MPS IVA: 0,46. Em 2000, Applegarth publicou um estudo com dados atualizados, no qual a estimativa da frequência para as MPS em geral foi 1,9 (APPLEGARTH *et al.*, 2000).

Recentemente foi publicado um estudo sobre a epidemiologia das MPS nos Estados Unidos, no qual foram avaliados 474 pacientes com MPS nascidos entre 1995 e 2005 e considerados os NV neste mesmo período para cálculo da frequência. A incidência estimada foi: MPS em geral: 1,2; MPS I: 0,34; MPS II: 0,29; MPS IIIA: 0,25; MPS IIIB: 0,09; MPS IIIC: 0,03; MPS IV: 0,12; MPS VI: 0,05; MPS VII: 0,05. Neste estudo também foi estimada a prevalência dividindo o total de pacientes diagnosticados neste mesmo período pelo número de habitantes (PUCKETT *et al.*, 2017).

Em ambos países a MPS I foi o tipo mais frequente.

2.4.1.2 Ásia

No início da década de 80, Schaap e colaboradores (1980) publicaram a incidência estimada para MPS II em Israel, avaliando oito pacientes nascidos entre 1967 e 1975. O resultado foi 1,48 casos em 100.000 NV. Todos os pacientes eram judeus Ashkenazi (SCHAAP; BACH, 1980), sugerindo, na época, que a MPS II fosse uma doença predominante em judeus.

Em Taiwan, Lin e colaboradores estimaram a incidência das MPS considerando 130 pacientes identificados entre 1984 e 2004. Os resultados obtidos foram: MPS em geral: 2,04; MPS I: 0,11; MPS II: 1,07 e 2,05 (considerando NV do gênero masculino); MPS IIIA: 0,08; MPS IIIB: 0,28; MPS IIIC: 0,03; MPS IV: 0,33 e MPS VI: 0,14 (LIN *et al.*, 2009).

Um ano depois, um estudo que estimou a incidência de EIM, dentre eles, as MPS, na Província Leste da Arábia Saudita foi publicado. Neste, foram incluídos 28 pacientes com MPS, de 15 famílias diferentes, diagnosticados de 1983 a 2008. O resultado encontrado foi: MPS I: 4,0; MPS III: 2,0; MPS IV: 4,0 e MPS VI: 8,0. As MPS foram a DL mais frequente neste estudo e, embora a incidência estimada seja alta quando comparada a outros países, os autores sugerem que estes valores estejam subestimados (MOAMMAR *et al.*, 2010).

Na Coreia do Sul, 147 pacientes com MPS identificados entre 1994 e 2003 foram avaliados no estudo de Cho e colaboradores (2014). A prevalência ao nascimento estimada foi: MPS em geral: 1,35; MPS I: 0,21; MPS II: 0,74; MPS III: 0,25; MPS IV: 0,13 e MPS VI: 0,01 (CHO *et al.*, 2014).

Recentemente, dados sobre a frequência das MPS no Japão foram publicados, considerando os pacientes identificados entre 1982 e 2009. Os resultados obtidos foram: MPS em geral: 1,53; MPS I: 0,23; MPS II: 0,84; MPS III: 0,26; MPS IV: 0,15; MPS VI: 0,03 e MPS VII: 0,02 (KHAN *et al.*, 2017).

Os estudos realizados na Ásia, com exceção do da Arábia Saudita, apontam a MPS tipo II como o tipo mais frequente.

2.4.1.3 Oceania

Há dois estudos sobre a frequência das MPS, ambos realizados na Austrália, publicados na Oceania. O primeiro deles avaliou a frequência das DL em geral, considerando pacientes identificados de 1980 a 1996. A partir de 150 pacientes com MPS identificados, o resultado encontrado foi: MPS I: 0,9; MPS II: 1,61; MPS IIIA: 0,78; MPS IIIB: 0,42; MPS IIIC: 0,07; MPS IIID: 0,09; MPS IVA: 0,49; MPS VI: 0,40 e MPS VII: 0,04 (Meikle *et al.*, 1999). O segundo estudo avaliou 22 pacientes diagnosticados entre 1969 e 1996, obtendo os seguintes resultados: MPS em geral: 3,43; MPS I: 0,93; MPS II: 0,31 (considerando NV do gênero masculino); MPS III: 1,71; MPS IVA: 0,15; MPS VI: 0,31 (NELSON *et al.*, 2003).

2.4.1.4 África

Um estudo realizado na Tunísia estimou a incidência das MPS considerando 96 pacientes identificados de 1988 a 2005. O resultado reportado pelos autores foi: MPS em geral 2,29; MPS I: 0,63; MPS II: 0,29 (considerando apenas NV do gênero masculino); MPS III: 0,7; MPS IV: 0,45 e MPS VI: 0,35 (BEN TURKIA *et al.*, 2009). Não há outros estudos publicados na África.

2.4.1.5 Europa

A Europa concentra o maior número de estudos epidemiológicos das MPS. O primeiro foi publicado no início da década de 80 no Reino Unido, incluiu 88 pacientes com MPS II

identificados de 1955 a 1974 e obteve uma incidência estimada em 0,75 (YOUNG; HARPER, 1982). Outro estudo realizado no Reino Unido, incluindo 196 pacientes com MPS I nascidos entre 1981 e 2003, encontrou uma prevalência ao nascimento de 1.07 para este tipo de MPS (MOORE *et al.*, 2008). A frequência da MPS III também foi estimada no Reino Unido considerando pacientes nascidos entre 1990 e 1998. A incidência estimada foi de 1,21. O subtipo mais frequente foi o IIIA, correspondendo a 71% do total de diagnósticos (HERON *et al.*, 2011).

Um estudo realizado na Irlanda do Norte incluiu 34 pacientes identificados de 1958 a 1985 e encontrou uma incidência estimada em: MPS em geral: 4,0; MPS I: 1,66; MPS II: 0,71 e 1,39 (considerando NV do gênero masculino); MPS III: 0,36 e MPS IVA: 1,3 (NELSON, 1997).

Nos Países Baixos, Poorthuis e colaboradores (1999) realizaram um estudo da frequência das DL em geral e calcularam a prevalência ao nascimento das MPS analisando os 331 pacientes nascidos entre 1970 e 1996. Os resultados obtidos foram: MPS em geral: 4,5; MPS I: 1,19; MPS II: 0,67 e 1,3 (considerando NV do gênero masculino); MPS III: 1,89; MPS IVA: 0,22; MPS IVB: 0,14; MPS VI: 0,15 e MPS VII: 0,24. O subtipo de MPS III mais prevalente foi o IIIA (POORTHUIS *et al.*, 1999).

Em 2004, a prevalência das MPS foi estimada em Portugal em um estudo que avaliou a frequência das DL no país. Foram considerados 62 casos diagnosticados no período de 1982 a 2001, obtendo os seguintes resultados: MPS em geral: 4,8; MPS I: 1,33; MPS II: 1,09; MPS III: 0,84; MPS IVA: 0,60 e MPS VI: 0,42. A MPS IIIB foi o subtipo mais frequente da MPS III (PINTO *et al.*, 2004).

Na Alemanha, 474 pacientes identificados de 1980 a 1995 foram considerados para estimar a frequência das MPS. Os valores estimados foram: MPS em geral: 3,53; MPS I: 0,69;

MPS II: 0,64 e 1,3 (considerando NV do gênero masculino); MPS III: 1,57; MPS IV: 0,38 e MPS VI: 0,23 (BAEHNER *et al.*, 2005).

Em 2008, Malm e colaboradores (2008) avaliaram a frequência das MPS na Suécia, Noruega e Dinamarca, considerando os pacientes nascidos entre 1975 e 2004. Na Suécia, foram considerados 52 pacientes e o resultado foi: MPS em geral: 1,75; MPS I: 0,67; MPS II: 0,27; MPS III: 0,67; MPS IV: 0,07 e MPS VI: 0,07. Na Noruega, 45 pacientes foram incluídos na análise e a frequência estimada foi: MPS em geral: 3,08; MPS I: 1,85; MPS II: 0,13; MPS III: 0,27; MPS IV: 0,76 e MPS VI: 0,07. Na Dinamarca a frequência estimada, considerando 33 pacientes, foi: MPS em geral: 1,77; MPS I: 0,54; MPS II: 0,27; MPS III: 0,43; MPS IV: 0,48 e MPS VI: 0,05 (MALM *et al.*, 2008).

Na República Tcheca, um estudo sobre a prevalência ao nascimento das DL foi publicado em 2010. Para estimar a frequência das MPS, foram considerados 119 pacientes diagnosticados entre 1975 e 2008. Os valores estimados foram: MPS em geral: 3,72; MPS I: 0,72; MPS II: 0,43 e 0,83 (considerando somente NV do gênero masculino); MPS III: 0,91; MPS IV: 0,73, MPS VI: 0,05 e MPS VII: 0,02 (POUPETOVÁ *et al.*, 2010).

Em 2011, o mesmo trabalho de Heron e colaboradores (2011), que estimou a frequência da MPS III no Reino Unido, descreveu os valores estimados para este tipo de MPS na França e na Grécia. Os resultados obtidos, considerando todos os subtipos de MPS III, foram 0,73 e 0,97, na França e na Grécia, respectivamente (HERON *et al.*, 2011).

Na Estônia, um trabalho publicado em 2012, considerou 15 pacientes nascidos no período de 1985 a 2006 e obteve os seguintes resultados: MPS em geral: 4,05; MPS I: 0; MPS II: 2,16 e 4,2 (considerando somente NV do gênero masculino); MPS IIIA: 1,62; MPS IV: 0, MPS VI: 0,27 e MPS VII: 0 (KRABBI *et al.*, 2012). Um estudo realizado por Jurecka e colaboradores (2014), estimou a frequência somente da MPS tipo VI na Estônia, na Polônia, na Lituânia e em Belarus, considerando pacientes identificados entre 1983 e 2011. A incidência

estimada da MPS VI nestes países foi: Estônia: 0,4 (2 pacientes considerados); Polônia: 0,03 (5 pacientes considerados); Lituânia: 0,64 (8 pacientes considerados) e Belarus: 0,37 (13 pacientes considerados) (JURECKA *et al.*, 2014). No ano seguinte, outro estudo foi realizado na Polônia, estimando a frequência de todos os tipos de MPS. Este estudo incluiu 392 pacientes identificados entre 1970 e 2010 e obteve os seguintes resultados: MPS em geral: 1,81; MPS I: 0,22; MPS II: 0,46; MPS III: 0,86; MPS IV: 0,14, MPS VI: 0,13 e MPS VII: 0 (JURECKA *et al.*, 2015).

Por fim, o estudo mais recente realizado na Europa reportou a prevalência ao nascimento na Suíça, considerando 41 pacientes identificados entre 1975 e 2008. Os valores estimados foram: MPS em geral: 1,56; MPS I: 0,19; MPS II: 0,46; MPS III: 0,38; MPS IV: 0,38, MPS VI: 0,11 e MPS VII: 0,03 (KHAN *et al.*, 2017).

2.4.1.6 América Latina

Na Colômbia, a frequência das MPS foi estimada considerando 35 pacientes nascidos entre 1998 e 2007. O resultado foi: MPS em geral: 1,98; MPS I: 0,45; MPS II: 0,45; MPS III: 0,17; MPS IV: 0,68, MPS VI: 0,23 e MPS VII: 0 (GÓMEZ *et al.*, 2012).

A partir dos estudos analisados anteriormente, a prevalência ao nascimento considerando todos os tipos de MPS varia de 1,2 a 4,8 casos por 100.000 NV (1:83.333 a 1:20:833 NV). Os estudos consideraram os casos identificados pelo total de nascidos vivos para estimarem a frequência das MPS em geral e de cada tipo.

2.4.2 Estudos no Brasil

Não há estudos abrangentes sobre a epidemiologia das MPS no Brasil. Há 20 anos, um rastreamento seletivo de uma população de alto risco demonstrou que 30% dos pacientes diagnosticados com EIM tinham MPS (COELHO *et al.*, 1997). Dados da RMB, publicados em 2012, demonstram que, de um total de 2606 pacientes investigados no período de 2004 a 2011, 502 foram diagnosticados com MPS, maior parte deles com MPS II, conforme apresentado na Tabela 2 (GIUGLIANI, 2012a).

Tabela 2 – Diagnósticos de MPS realizados pela Rede MPS Brasil, de 2004 a 2011

Tipo de MPS	Número de casos
MPS I	92
MPS II	160
MPS IIIA	24
MPS IIIB	34
MPS IIIC	21
MPS IIID	0
MPS IVA	49
MPS IVB	4
MPS VI	118
MPS VII	6
MPS IX	0
Total	502

Dados preliminares sobre a prevalência mínima ao nascimento foram apresentados em evento científico por Federhen e colaboradores, considerando 600 pacientes com MPS I, II, IVA e VI, diagnosticados pela RMB, nascidos entre 1994 e 2012, obtendo uma prevalência ao nascimento de: MPS I: 0,24; MPS II: 0,38 e 0,75 (considerando NV do gênero masculino); MPS IVA: 0,11 e MPS VI: 0,31. Somente as MPS para as quais há terapia específica aprovada

foram avaliadas neste estudo (FEDERHEN *et al.*, 2016). Estes são os únicos dados disponíveis atualmente na literatura sobre a frequência das MPS no Brasil.

3 JUSTIFICATIVA

Estudos epidemiológicos sobre doenças lisossômicas são de interesse de geneticistas, autoridades da saúde, pacientes e suas famílias, associações de pacientes e de laboratórios envolvidos no diagnóstico e no desenvolvimento de terapias para estas condições. As informações geradas neste tipo de estudo são importantes para as autoridades estimarem o peso dessas doenças para a sociedade e considerarem a implantação de programas de diagnóstico, tratamento e prevenção para estas condições. Dessa forma, torna-se importante estudar de forma mais precisa a frequência das MPS no Brasil, a exemplo do que já foi feito em vários outros países. Como o diagnóstico das MPS exige métodos laboratoriais razoavelmente sofisticados, disponíveis em poucos centros, pacientes de algumas regiões afastadas dos grandes centros têm acesso limitado a esses recursos. Por meio da atuação da RMB, que tem facilitado o acesso ao diagnóstico da doença mesmo nas regiões mais remotas do país, acredita-se que a maioria dos pacientes com MPS no Brasil tenha sido diagnosticada pela RMB, sendo esta uma ferramenta importante para estimar a prevalência ao nascimento da doença no Brasil. Outra ferramenta importante são as associações de pacientes. O Instituto Vidas Raras (antes conhecida como Aliança Brasil de MPS), tem uma atuação em nível nacional e concentra informações sobre inúmeras doenças raras, incluindo as MPS. O presente estudo se propôs a realizar uma análise dos registros da RMB e do IVR, com cruzamento de informações para eliminar a duplicidade, e a construir um banco de dados integrado sobre os diagnósticos de MPS no Brasil. Adicionalmente, partindo dos conceitos propostos por Hardy e Weinberg, sobre a distribuição dos alelos na população (BEIGUELMAN, 2008), consideramos que o estudo da frequência de uma variante comum em um dos tipos de MPS em uma população de pessoas saudáveis possa ajudar a estimar com maior precisão a frequência da doença nesta população.

4 OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GERAL

O objetivo geral deste estudo foi estimar a frequência das MPS no Brasil.

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Como objetivos específicos, o presente trabalho pretendeu:

- a) Estimar a FR dos diferentes tipos de MPS no Brasil;
- b) Estimar a frequência total e a FR dos diferentes tipos de MPS nas diferentes regiões do Brasil;
- c) Avaliar a frequência de consanguinidade e de recorrência familiar nos diferentes tipos de MPS nas diferentes regiões do Brasil; e
- d) Avaliar o perfil molecular dos diferentes tipos de MPS nas diferentes regiões do Brasil.

5 MATERIAIS E MÉTODO

5.1 DELINEAMENTO

Este trabalho foi composto por dois estudos: Estudo 1 - um estudo retrospectivo, transversal, de revisão de casos diagnosticados com MPS, registrados na RMB e no IVR; e Estudo 2 - um estudo prospectivo de detecção de heterozigotos para a variante mais comumente encontrada no gene *IDUA* (p.Trp402Ter) em uma amostra de indivíduos saudáveis.

5.2 PACIENTES DIAGNOSTICADOS COM MPS

Para o estudo 1, foram revisadas as fichas cadastrais de todos os pacientes brasileiros registrados na RMB, diagnosticados de abril de 1982 a dezembro de 2016, para obter informações como data de nascimento ou idade, gênero, etnia/cor, país de origem, estado de origem, estado de origem do médico que encaminhou para investigação diagnóstica, data do diagnóstico, tipo de MPS, se o diagnóstico foi pré ou pós-natal, relato de consanguinidade entre os pais, relato de outros casos de MPS na família, resultado de genótipo. Em relação ao diagnóstico, os pacientes foram classificados de duas maneiras: com diagnóstico definitivo de MPS - aqueles que tinham a deficiência enzimática e/ou variantes patogênicas documentadas; com diagnóstico sugestivo de MPS – aqueles que tinham um resultado de análise enzimática em amostra de sangue impregnado em papel filtro, sem confirmação deste resultado em segunda amostra, ou aqueles para os quais não foi possível a confirmação de um resultado sugestivo em uma segunda amostra ou ainda aqueles que tiveram resultado sugestivo nos exames de triagem, mas não foi possível a confirmação deste por não haver técnica laboratorial ou amostra disponíveis. Os dados dos pacientes registrados no IVR foram coletados durante visita

presencial. Foram coletadas informações como data de nascimento ou idade, estado de origem e tipo de MPS. As informações coletadas no IVR e na RMB foram cruzadas e um banco de dados integrado foi construído, usando a ferramenta *RedCap* (*Research Electronic Data Capture*) (HARRIS *et al.*, 2009). A revisão foi feita manualmente, caso a caso, para evitar duplicidade de registros.

5.3 PESQUISA DA FREQUÊNCIA DA VARIANTE P.TRP402TER NO GENE *IDUA*

Para o estudo 2, foram convidados doadores do Banco de Sangue do HCPA, de ambos os sexos, maiores de 18 anos, no período de 28 de dezembro de 2015 a 30 de novembro de 2016. Nesta etapa, os voluntários ditos “saudáveis” foram avaliados quanto à presença da variante patogênica mais frequentemente encontrada nos pacientes com MPS I da RMB, a p.Trp402Ter (W402X). Para a análise foram utilizadas amostras de sangue periférico e a variante foi pesquisada na Unidade de Análises Moleculares e de Proteínas do Centro de Pesquisa Experimental do HCPA, utilizando sonda *TaqMan* alelo-específica (C__27862753_10) em equipamento de tempo real *StepOne* (*Life Technologies*).

5.4 ANÁLISE DOS DADOS

5.4.1 Estimativa da prevalência ao nascimento a partir dos casos identificados pela RMB e pelo IVR

Os dados inseridos no banco integrado do *RedCap* foram exportados para o programa *Statistical Package for Social Sciences* (SPSS Inc, Chicago, IL), versão 20.0, para análise. As variáveis categóricas foram descritas por frequências e percentuais e as quantitativas pela

mediana. Foi utilizado o número total de nascidos vivos no Brasil no período que compreende os anos de 1994 a 2015, reportado pelo DataSUS. O número total de pacientes diagnosticados com MPS que nasceram neste período foi dividido pelo número de nascidos vivos neste mesmo período. Também foram analisadas as frequências dos diferentes tipos de MPS nas cinco regiões do Brasil. Dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) também foram utilizados para avaliar a proporção de habitantes em cada região do país.

5.4.2 Estimativa da prevalência ao nascimento a partir da frequência da variante p.Trp402Ter no gene *IDUA*

A partir do princípio de Hardy-Weinberg, o qual estabelece que, considerando um determinado par de alelos com frequências **p** e **q**, em uma população mendeliana em equilíbrio, a frequência dos diferentes genótipos em cada geração está de acordo com a expressão $p^2 + 2pq + q^2 = 1$ (BEIGUELMAN, 2008), a frequência de heterozigotos para a variante p.Trp402Ter na população de voluntários foi calculada e, partir desta, a frequência de homozigotos para esta variante nesta população. Uma vez estimada a frequência de homozigotos para esta variante nesta população, a partir da FR de homozigotos para esta variante na população de pacientes da RMB nascidos no estado do Rio Grande do Sul (RS), a prevalência ao nascimento de pacientes com MPS I foi calculada. Com este resultado foi possível estimar a prevalência ao nascimento dos demais tipos de MPS no estado e no Brasil a partir da proporção de cada tipo de MPS diante do total de pacientes diagnosticados.

5.5 ASPECTOS ÉTICOS

O presente estudo foi submetido à avaliação e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) do HCPA. A coleta de informações do banco de dados do IVR foi autorizada pela presidência do IVR por meio de declaração específica, submetida à apreciação do CEP do HCPA e por este aprovada. Os pesquisadores assinaram um termo de compromisso para acesso e utilização de dados por meio do qual asseguraram que a identidade dos pacientes seria mantida em sigilo, bem como quaisquer informações que pudessem revelá-la. Para a pesquisa da variante p.Trp402Ter, todos os voluntários doadores do Banco de Sangue passaram pelo processo de consentimento e, quando concordaram com a participação, assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE). Foi oferecida aos participantes a possibilidade de serem contatados e de tomarem conhecimento do resultado, caso alguma alteração fosse encontrada. Para aqueles identificados como heterozigotos, aconselhamento genético foi oferecido. As amostras dos voluntários foram mantidas em um biorrepositório para uso neste estudo e serão destruídas ou transferidas para um biobanco institucional, para utilização em outros projetos de pesquisa da área de detecção de variantes em EIM, conforme escolha do voluntário que forneceu a amostra, explicitada no TCLE.

6 RESULTADOS

Os resultados do trabalho estão apresentados em forma de artigos científicos.

6.1 ARTIGO CIENTÍFICO 1 – A SER SUBMETIDO À REVISTA *AMERICAN JOURNAL OF MEDICAL GENETICS: PART A*

Title: Mucopolysaccharidoses in Brazil: estimated birth prevalence based on cases diagnosed by reference centers and on the frequency of carriers for the p.Trp402Ter *IDUA* gene variant in healthy volunteers.

Authors:

Andressa Federhen^a, Gabriela Pasqualim^{b,c}, Talita Freitas de Freitas^d, Esteban Gonzalez^b, Ursula Matte^{a,b,c,e}, Roberto Giugliani^{a,b,c,e}

a. Postgraduate Program in Child and Adolescent Health, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil.

b. Postraduate Program in Genetics and Molecular Biology, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil.

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

d. School of Chemistry, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil.

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

Abstract:

Objective: Several studies have been published on the frequency of the mucopolysaccharidoses (MPS) in different countries. The objective of the present study was to estimate the birth prevalence of MPS in Brazil.

Study design: All cases of MPS registered at MPS Brazil Network (*Rede MPS Brasil*) between 1982 and 2016 and at the Instituto Vidas Raras were reviewed. Birth prevalence was estimated by two ways: (1) the number of registered patients born between 1994 and 2015 was divided by the total number of live births (LBs) during the same period; and (2) a sample of 1,000 healthy individuals was tested for the most frequent genetic variation found in *IDUA* gene in MPS I patients (p.Trp402Ter) to estimate the frequency of heterozygosity and, subsequently, of homozygosity for this variant. Proportionality was used to estimate the frequency of MPS I and that of other MPS types.

Results: (1) The birth prevalence based on total number of LBs was as follows (cases per 100,000 LBs): MPS overall: 1.25; MPS I: 0.24; MPS II: 0.37; MPS III: 0.21; MPS IV: 0.14; MPS VI: 0.28; MPS VII: 0.02. (2) The overall frequency of the selected gene variant in the sample of healthy individuals was 0.002. Based on this frequency, the minimum prevalence per 100,000 LBs was calculated as follows: MPS overall: 4.62; MPS I: 0.95; MPS II: 1.32; MPS III: 0.56; MPS IV: 0.57; MPS VI: 1.02; MPS VII: 0.05.

Discussion: The overall prevalence of MPS calculated was much higher than that reported in other countries, and quite similar to that found in Portugal. The prevalence of MPS I was particularly higher than that found in Asian countries. The estimated prevalence at birth of MPS II in Brazil was higher than that of other MPS types, and among the highest worldwide. The frequencies of MPS III and IV were intermediate as compared to reports from other countries. For MPS VI, the estimated prevalence was higher than in almost any other country. As elsewhere in the world, the prevalence of MPS VII was low in Brazil.

Conclusion: This study provided original data about the birth prevalence of MPS and about the relative frequency of the MPS types, in Brazil, based on the frequency of the commonest *IDUA* pathogenic variant and in the records of two large patient databases. This methodology could be applied to other genetic diseases and could be useful for patients, health care providers, health authorities, and investigators.

Keywords: Mucopolysaccharidoses, epidemiology, frequency, birth prevalence, heterozygosity.

1 INTRODUCTION

1.1 THE MUCOPOLYSACCHARIDOSES

The mucopolysaccharidoses (MPS) are a group of metabolic diseases characterized by intra-lysosomal accumulation of glycosaminoglycans (GAGs), also known as mucopolysaccharides, secondary to the deficiency of one of the lysosomal enzymes involved in catalyzing the stepwise degradation of these molecules. Buildup of undegraded or partially degraded GAGs occurs in various organs, as does increased excretion of GAGs in urine. This abnormal accumulation interferes with cell and organ function, leading to a wide range of clinical manifestations, which include coarse facial features, joint contractures, hepatosplenomegaly, dysostosis multiplex, hearing loss, corneal clouding, heart disease, chronic obstructive pulmonary disease, sleep apnea, and, in some cases, intellectual impairment (NEUFELD; MUENZER, 2001). These manifestations are chronic, progressive, widely variable, and differ depending on the type of MPS (GIUGLIANI, 2012). The MPS are classified by the type(s) of GAG(s) excreted and the enzyme deficiency involved. There are 11 known enzyme deficiencies giving rise to seven known MPS types (NEUFELD; MUENZER, 2001).

1.2 EPIDEMIOLOGY OF MPS

The first study to estimate the frequency of MPS was published in 1971 (LOWRY; RENWICK, 1971). Thereafter, several studies estimated the frequency of these diseases in North America, Australia, and some countries in Europe, Asia, Oceania and Africa (SCHAAP; BACH, 1980; YOUNG; HARPER, 1982; LOWRY *et al.*, 1990; NELSON, 1997; MEIKLE *et al.*, 1999; POORTHUIS *et al.*, 1999; APPLGARTH; TOONE; LOWRY, 2000; NELSON *et al.*, 2003; PINTO *et al.*, 2004; BAEHNER *et al.*, 2005; MALM *et al.*, 2008; MOORE *et al.*, 2008; BEN TURKIA *et al.*, 2009; LIN *et al.*, 2009; MOAMMAR *et al.*, 2010; POUPETOVÁ *et al.*, 2010; HERON *et al.*, 2011; KRABBI *et al.*, 2012; CHO; SOHN; JIN, 2014; JURECKA *et al.*, 2014; JURECKA *et al.*, 2015; KHAN *et al.*, 2017; PUCKETT *et al.*, 2017). These studies mostly estimated frequency by calculating the ratio of patients diagnosed at centers of excellence over a given period to the number of live births (LBs) occurred over the same period, or the ratio of patients born in a given period to LBs over the same period. The frequency of MPS has been reported as incidence, birth incidence, and birth prevalence, with the latter being most common.

Only one published study, conducted in Colombia, has tried to estimate the frequency of MPS in Latin America (GOMEZ; GARCIA-ROBLES; SUAREZ-OBANDO, 2012); there are no published studies from other Latin American countries. Recently, Federhen *et al.* (FEDERHEN *et al.*, 2016) reported preliminary data on the minimum estimated birth prevalence of MPS I, II, IVA, and VI, based on an analysis of 600 Brazilian patients registered at the MPS Brazil Network (MBN), born between 1994 and 2012. This preliminary analysis estimated the frequency as 0.24 (MPS I), 0.38 (MPS II), 0.11 (MPS IV), and 0.31 (MPS VI) cases per 100,000 LBs.

1.3 AVAILABLE DATA ABOUT MPS IN BRAZIL

The MBN was created in 2004 through a partnership among Brazilian centers of excellence for the management of MPS. The MBN's coordinating center is located at the Medical Genetics Service of Hospital de Clínicas de Porto Alegre (SGM/HCPA), located in the Rio Grande do Sul (RS) state. MBN collaborating centers are located in several other states, covering all Brazilian regions. To achieve its goals, the MBN provides specialized laboratory diagnostic services for patients with suspicion of MPS, at no direct cost to patients or clinicians. As the main outcome of this initiative, from March 2004 through April 2010, the MBN identified more than twice the average number of cases diagnosed before Network implementation (GIUGLIANI, 2012).

Although the MBN is believed to record the majority of diagnosed cases of MPS in the country, obtaining a more reliable estimate of the prevalence of these diseases in Brazil would require an integrated analysis both of cases registered at MBN and those registered at the leading Brazilian support organization for patients with MPS, Instituto Vidas Raras (IVR) (formerly Aliança Brasil de MPS). Furthermore, no published studies on MPS epidemiology have estimated the frequency of the disease using the presence of pathogenic gene variants in the general population as a basis.

1.4 OBJECTIVES

Within this context, the present study was designed to estimate the birth prevalence of MPS in Brazil using two methods:

- 1) analysis of the cases registered at the MBN and IVR databases and

- 2) frequency of the *IDUA* gene pathogenic variant p.Trp402Ter (W402X) (CM920372) in healthy individuals.

2 MATERIALS AND METHODS

This study was conducted in two phases. The first consisted of a review of all MPS cases identified by MBN and IVR, to ascertain the frequency of the different types of MPS across the regions of Brazil. The second phase consisted of genetic study of blood donors to test for the gene variant most commonly found in patients with MPS I diagnosed by the MBN.

2.1 SURVEY OF DIAGNOSED CASES

The records of all patients registered at the MBN, diagnosed from April 1982 to December 2016, were reviewed to collect information including date of birth or age, gender, ethnicity/skin color, country of origin, state of origin, state of origin of the referring physician, date of diagnosis, type of MPS, whether diagnosis was prenatal or postnatal, parental consanguinity (if reported), knowledge of other cases of MPS in the family (if reported), and genotype results. Regarding diagnosis, patients were classified as those having a definitive diagnosis of MPS (i.e., those with documented enzyme deficiency and/or pathogenic genotype) and those with features suggestive of MPS (i.e., those who had a positive dried blood spot filter-paper test, but with no confirmation in a second sample; those in whom confirmation in a second sample was not or could not be obtained; and those with screening findings suggestive of MPS but no diagnostic confirmation due to unavailability of the necessary laboratory techniques or samples). Data from patients registered with IVR were cross-referenced with data available

from the MBN, and an integrated database was built using *RedCap* (*Research Electronic Data Capture* – Harris *et al.*, 2009).

2.2 GENETIC STUDY OF HEALTHY INDIVIDUALS

The second phase of the study consisted of investigation of “healthy” volunteers to estimate the frequency of heterozygotes for the pathogenic variant most commonly found by MBN in MPS I: *IDUA* p.Trp402Ter (W402X). To this end, adult blood donors from the Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA) Blood Bank were invited to participate from December 2015 to November 2016. Peripheral blood samples were collected and tested at the Molecular and Protein Analysis Unit of the HCPA’s Center of Experimental Research, using an allele-specific TaqMan probe (C__27862753_10) and a StepOne real-time PCR system (Life Technologies).

2.3 STATISTICAL ANALYSIS

The collected data were analyzed by two approaches:

2.3.1 Estimation of the birth prevalence based on cases identified by MBN and IVR

The integrated RedCap database was exported to SPSS Version 20.0 (SPSS Inc., Chicago, IL) for analysis. Categorical variables were expressed as frequencies and percentages, and quantitative variables, as medians. The total number of live births in Brazil between 1994 and 2015 was obtained from DataSUS. The total number of patients diagnosed with MPS born

during this period was then divided by the number of live births. The frequencies of each MPS type in each of the five regions of Brazil were also assessed.

2.3.2 Estimation of the birth prevalence based on frequency of the p.Trp402Ter *IDUA* gene variant

The frequency of heterozygotes for this variant in a sample of healthy volunteers was used to estimate the frequency of homozygotes, considering that alleles are distributed according to the Hardy-Weinberg principle. Once the frequency of homozygotes for this variant in the population was estimated, the relative frequency of homozygotes for this variant among the MPS I patient registered at MBN born in the state of Rio Grande do Sul (RS) was used to estimate the birth prevalence of MPS I. This result was then used to estimate the birth prevalence of the other types of MPS in the state and in Brazil as a whole, considering the proportion of each MPS type among the total number of patients diagnosed.

2.4 ETHICAL ASPECTS

The project was approved by the HCPA's Research Ethics Committee. Collection of information from the IVR database was expressly authorized by the IVR chairperson through a declaration, which was also approved by the HCPA's Research Ethics Committee. All investigators signed a data use agreement ensuring that patients' identities and any other potentially identifying information would remain confidential. Before testing for the p.Trp402Ter variant, all volunteers recruited from the Blood Bank were informed of the objectives of the study. Those who agreed to participate provided written informed consent. The participants were also offered the possibility of being contacted with the test results in the

event of any abnormalities being detected. Genetic counseling was offered to those identified as heterozygous.

4 RESULTS

4.1 DIAGNOSIS OF MPS IN BRAZIL AND REGIONAL DISTRIBUTION OF CASES

From April 1982 to December 2016, a total of 1,703 cases of MPS were identified, 1,472 of which were in Brazilian patients. Of these, 1,276 (86.7%) were registered at the MBN and 196 (13.3%) at the IVR. Overall, 64.5% were male. Twelve patients (0.8%) had been diagnosed prenatally. Skin color was recorded for 317 patients (21.5%). Information on consanguinity and about occurrence of other MPS cases in the family were recorded for 555 and 581 patients, respectively. Patient characteristics are summarized in table 1.

Table 1 – Characteristics of MPS patients diagnosed by the MPS Brazil Network or registered at Instituto Vidas Raras

Characteristics	Number assessed	Descriptive measures n (%)
Gender		950 (64.5)
Male	1472	514 (34.9)
Female		8 (0.6)
Not reported		
Information on skin color or ethnicity available	317	
White		236 (74.5)
Brown		61 (19.2)
Black		17 (5.4)
Native Brazilian		3 (0.9)
Information on consanguinity available	555	
No consanguinity		375 (67.6)
Occurrence of consanguinity		180 (32.4)
<i>Degree of consanguinity:</i>		
• Closer than first cousins		3 (1.7)
• First cousins		49 (27.2)
• More remote than first cousins		43 (23.9)
• Degree of kinship unknown		85 (47.2)
Information on other cases in the family available	581	
Yes		333 (57.3)
No		248 (42.7)

Source: The authors (2017).

Patients for whom information on consanguinity and other cases in the family was available were classified by MPS type and region of origin, as shown in table 2.

Table 2 – Consanguinity and reports of other cases of MPS in the family, by MPS type and region

Variable	Consanguinity		Other MPS cases in the family	
	Cases (n)	RF (%)	Cases (n)	RF (%)
<i>By MPS type</i>				
I	38	21.1	44	13.2
II	4	2.2	109	32.7
III	49	27.2	57	17.1
IV	32	17.8	45	13.5
VI	50	27.8	73	21.9
VII	7	3.9	5	1.6
Total	180	100	333	100
<i>By region of Brazil</i>				
Southeast	75	41.7	138	41.7
Northeast	64	35.6	114	34.5
South	22	12.2	47	14.2
Center-West	13	7.2	21	6.3
North	6	3.3	11	3.3
Total	180	100	331*	100

* Information on region of origin was unavailable for two patients. RF: relative frequency.
Source: The authors (2017).

Regarding diagnostic status, 1358 patients (92.2%) had a confirmed diagnosis of MPS, while 114 (7.8%) were classified as having suggestive diagnosis of MPS, as shown in table 3.

Table 3 – Confirmed and suggestive diagnoses by type of MPS

Type of MPS	Total cases (n)	Confirmed diagnoses		Suggestive diagnoses	
		Cases (n)	RF (%), relative to total	Cases (n)	RF (%), relative to total
I	303	272	89.8	31	10.2
II	420	399	95.0	21	5.0
III	221	198	89.6	23	10.4
IV	185	174	94.1	11	5.9
VI	326	299	91.7	27	8.3
VII	17	16	94.1	1	5.9
Total	1472	1358	100	114	100

Source: The authors (2017).

Information on date of birth or age was available for 1203 patients (81.7%). The mean age at diagnosis was 8.2 years (median: 5.8 years). Regarding the relative frequency of each MPS type, the most commonly diagnosed type was MPS II (420 patients, 28.5%), followed by MPS VI (326 patients, 22.1%) and MPS I (303 patients, 20.6%). Information on state of birth was available for 575 patients and not available for 894 patients. In these cases, the state of origin was defined as that of the facility or physician that referred the patient for diagnostic investigation. Three patients had no recorded information on place of birth or state of origin of the referring facility or physician. Of the 1469 patients, 632 (43.0%) were from the Southeast region, 429 (29.2%) from the Northeast, 253 (17.2%) from the South, 94 (6.4%) from the Center-West region, and 61 (4.2%) from the North. In table 4 is being compared the proportion of diagnosed MPS patients to the proportion of population in each region of the country in July 2017, according the Brazilian Institute of Geography and Statistics (BRASIL, 2017).

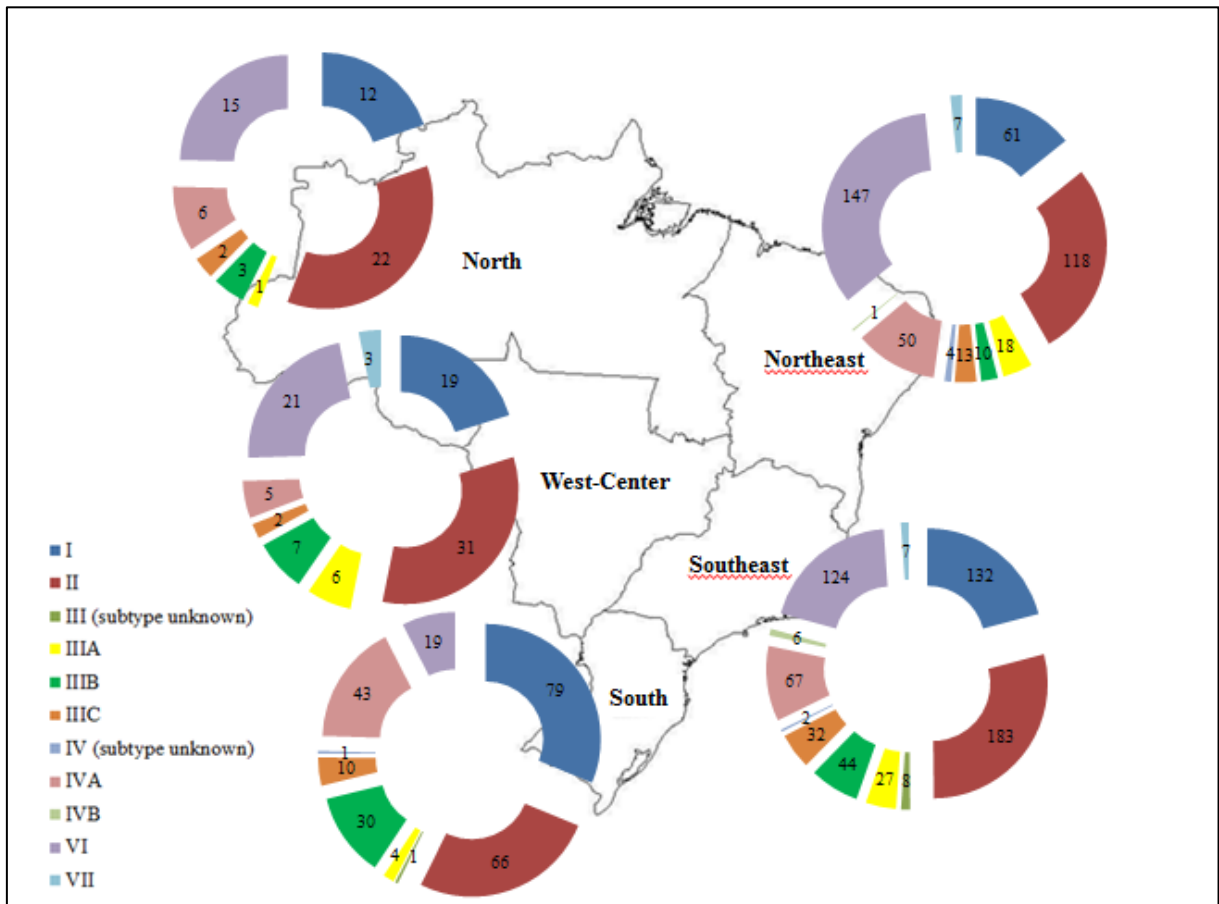
Table 4 – Proportion of MPS patients and habitants according Brazilian regions

Region	MPS cases diagnosed n (RF)	Habitants n (RF)
Southeast	632 (43.0)	86,949,714 (41.9)
Northeast	429 (29.2)	57,254,159 (27.6)
South	253 (17.2)	29,644,948 (14.3)
Center-West	94 (6.4)	15,875,907 (7.6)
North	61 (4.2)	17,936,201 (8.6)
Total	1,469 (100)	207,660,929 (100)

n: number; RF: relative frequency.

Source: The authors (2017).

The distribution of patients by type of MPS is illustrated in Figure 1.

Figure 1 – Distribution of identified MPS cases across the regions of Brazil

Source: The authors (2017).

4.2 DIAGNOSIS OF MPS IN BRAZIL AND BIRTH PREVALENCE

The total number of live births in Brazil between 1994 and 2015 was 65,488,619 (33,506,999 male – MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2017). Of the patients with MPS identified in our sample, 823 (55.9%) had been born in this period. Thus, if all the cases of MPS born in this period were diagnosed, the estimated birth prevalence would be 1.25 cases of MPS (any type) per 100,000 LBs. Table 5 lists the estimated birth prevalence of each MPS type, based on the number of LBs during this period.

Table 5 – Birth prevalence of MPS, 1994–2015

Type of MPS	Cases	Birth prevalence per 100,000 LBs	One case per
I	155	0.24	422,507
II	240	0.37 (1.71 ^a)	272,869 (139,612 ^a)
III ^b	1	0.001	65,488,619
IIIA	41	0.06	1,597,283
IIIB	62	0.09	1,056,268
IIIC	39	0.06	1,679,195
IV ^b	3	0.004	21,829,540
IVA	85	0.13	770,454
IVB	2	0.003	32,744,310
VI	183	0.28	357,861
VII	12	0.018	5,457,385
Total	823	1.25	79,573

a. Considering live-born males; b. Undefined subtype; LB: live births.
Source: The authors (2017).

As the median age at diagnosis was 5.8 years, we presume that many patients born since 2011 have yet to be diagnosed. Taking into account this assumption, we carried out a second analysis encompassing the years 1994–2010. Of the patients with MPS identified in the study, 710 (48.3%) had been born during this period. The total number of LBs in Brazil between 1994 and 2010 was 50,768,918 (25,970,346 males) (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2017). The birth prevalence considering this period is shown in table 6.

Table 6 – Birth prevalence of MPS, 1994–2010

MPS type	Cases	Birth prevalence per 100,000 LBs	One case per
I	124	0.24	409,426
II	216	0.42 (0.83 ^a)	235,041 (120,233 ^a)
III ^b	1	0.002	50,768,918
IIIA	38	0.07	1,336,024
IIIB	56	0.11	906,587
IIIC	34	0.06	1,493,203
IV ^b	3	0.006	16,922,973
IVA	73	0.14	695,464
IVB	2	0.004	25,384,459
VI	152	0.29	334,006
VII	11	0.02	4,615,356
Total	710	1.39	71,505

a. Considering live-born males; b. Undefined subtype; LB: live births.

Source: The authors (2017).

4.3 MOLECULAR STUDY AND BIRTH PREVALENCE

This phase of the study included 1,000 healthy volunteer blood donors, all born in the state of RS, 547 (54.7%) male and 463 (46.3%) female. The *IDUA* gene variant p.Trp402Ter was found in 4 of the 2,000 investigated alleles, which represents a frequency of 0.002 in this population. Applying the Hardy-Weinberg equation, we can infer that the frequency of homozygotes for this variant in the studied population is 0.000004. Of the 1472 patients identified, 129 were from the state of RS. Of these patients, 41 (31.8%) had MPS I. Of the total number of patients with MPS I in RS, 22 had a genotype available. Of these, 6 (27.3%) were homozygous for the p.Trp402Ter variant. Based on the frequency estimate of homozygosity for p.Trp402Ter in the study population and on the knowledge that 27.3% of patients with known MPS I in RS state are homozygous for this variant, we calculated the birth prevalence of MPS I (any genotype) in the overall population. The result was 0.00001465 (or 1.47 cases per 100,000 LBs). Given this estimate for MPS I, and considering that MPS I corresponds to 31.8%

of cases identified in RS state in this study, the prevalence at birth of the other MPS types in the state was also estimated, as shown in table 7.

Table 7 – Estimated birth prevalence of MPS in Rio Grande do Sul, Brazil, based on the frequency of heterozygosity for the *IDUA* p.Trp402Ter variant in healthy volunteers

Type of MPS	Number of cases	% of cases	Birth prevalence per 100,000 LBs	One case per
I	41	31.8	1.47	68,027
II	28	21.7	1.00	99,611
III*	1	0.8	0.03	2,789,116
IIIA	1	0.8	0.03	2,789,116
IIIB	18	13.9	0.65	154,950
IIIC	4	3.1	0.14	697,278
IV*	0	0	NA	NA
IVA	27	20.9	0.97	103,300
IVB	0	0	NA	NA
VI	9	7.0	0.32	309,901
VII	0	0	NA	NA
Total	129	100.00	4.62	21,598

*Undefined subtype; LB: live births; NA: not applicable.

Source: The authors (2017).

Considering that the frequency of heterozygotes for the p.Trp402Ter *IDUA* variant in Brazil would be the similar to the one found in RS state, and that the proportion of MPS I patients who are homozygotes for this mutation among the Brazilian MPS I patients would be the same as in RS state, we estimated the birth prevalence of each MPS type for Brazil, as shown in table 8.

Table 8 – Estimated birth prevalence of MPS in Brazil, based on the Rio Grande do Sul estimate

Type of MPS	Number of cases	% of cases	Prevalence at birth per 100,000 LBs	One case per
I	303	20.6	0.95	105,036
II	420	28.5	1.32	75,776
III*	9	0.6	0.03	3,536,243
IIIA	56	3.8	0.17	568,324
IIIB	96	6.6	0.30	331,522
IIIC	60	4.0	0.19	530,436
IV*	7	0.5	0.02	4,546,598
IVA	171	11.6	0.53	186,118
IVB	7	0.5	0.02	4,546,598
VI	326	22.1	1.02	97,626
VII	17	1.2	0.05	1,872,128
Total	1472	100.00	4.62	21,598

*Undefined subtype; LB: live births.

Source: The authors (2017).

The estimated birth prevalence of the various MPS types in Brazil, considering both methods of analysis used (number of live births and frequency of the p.Trp402Ter variant), are compared with the results of studies conducted in other countries in table 9. Comparisons are stratified by MPS typ and the studies are sorted by year of publication. Results are expressed as cases per 100,000 LBs, unless otherwise specified.

Table 9 – Studies of MPS frequency in other countries

Location	Method	Frequency (per 100,000 LBs)								Reference
		MPS overall	MPS I	MPS II	MPS III	MPS IV	MPS VI	MPS VII	MPS IX	
Israel	Incidence estimated by dividing number of patients born 1967–1975 by total number of LBs	-	-	1.48	-	-	-	-	-	(SCHAAP; BACH, 1980)
United Kingdom	Incidence estimated by dividing number of patients identified 1955–1974 by total number of LBs	-	-	0.75	-	-	-	-	-	(YOUNG; HARPER, 1982)
British Columbia, Canada	Frequency estimated by dividing number of patients identified 1952–1986 by total number of LBs	-	0.69	0.90*	IIIA: 0.30	IVA: 0.46	-	-	-	(LOWRY <i>et al.</i> , 1990)
Northern Ireland	Incidence estimated by dividing number of patients identified 1958–1985 by total number of LBs	4.0	1.66	0.71 1.39*	0.36	IVA: 1.3	-	-	-	(NELSON, 1997)
The Netherlands	Prevalence at birth estimated by dividing number of patients born 1970–1996 by total number of LBs	4.5	1.19	0.67 1.3*	III: 1.89 IIIA: 1.16 IIIB: 0.42 IIIC: 0.21 IIID: 0.10	IVA: 0.22 IVB: 0.14	0.15	0.24	-	(POORTHUIS <i>et al.</i> , 1999)
British Columbia, Canada	Incidence estimated by dividing number of patients diagnosed prenatally and postnatally 1972–1996 by total number of LBs	1.9	-	-	-	-	-	-	-	(APPLEGARTH; TOONE; LOWRY, 2000)

Table 9 – Studies of MPS frequency in other countries

Location	Method	Frequency (per 100,000 LBs)								Reference
		MPS overall	MPS I	MPS II	MPS III	MPS IV	MPS VI	MPS VII	MPS IX	
Western Australia	Incidence estimated by dividing number of patients diagnosed prenatally and postnatally 1969–1996 by total number of LBs	3.43	0.93	0.31*	1.71	IVA: 0.15	0.31	-	-	(NELSON <i>et al.</i> , 2003)
Northern Portugal	Prevalence estimated by dividing number of patients diagnosed prenatally and postnatally 1982–2001 by total number of LBs	4.8	1.33	1.09	III: 0.84 IIIA: 0.00 IIIB: 0.72 IIIC: 0.12	IVA: 0.60	0.42	0.00	-	(PINTO <i>et al.</i> , 2004)
Germany	Incidence estimated by dividing number of patients identified 1980–1995 by total number of LBs	3.53	0.69	0.64 1.3*	III: 1.57	0.38	0.23	0.00	0.00	(BAEHNER <i>et al.</i> , 2005)
United Kingdom	Prevalence at birth estimated by dividing number of patients born 1981–2003 by total number of LBs	-	1.07	-	-	-	-	-	-	(MOORE <i>et al.</i> , 2008)
Sweden	Incidence estimated by dividing number of patients born 1975–2004 by total number of LBs Prevalence estimated by dividing the number of living patients as of 31 December 2007 by the total population**	MPS overall	MPS I	MPS II	MPS III	MPS IV	MPS VI	MPS VII	MPS IX	(MALM <i>et al.</i> , 2008)

Table 9 – Studies of MPS frequency in other countries

Location	Method	Frequency (per 100,000 LBs)								Reference
		MPS overall	MPS I	MPS II	MPS III	MPS IV	MPS VI	MPS VII	MPS IX	
Norway	Incidence estimated by dividing number of patients born 1975–2004 by total number of LBs Prevalence estimated by dividing the number of living patients as of 31 December 2007 by the total population**	Incidence: 3.08	Incidence: 1.85	Incidence: 0.13	Incidence: 0.27	Incidence: 0.76	Incidence: 0.07	-	-	(MALM <i>et al.</i> , 2008)
		Prevalence: 7.06	Prevalence: 3.1	Prevalence: 0.44	Prevalence: 0.88	Prevalence: 2.42	Prevalence: 0.22			
Denmark	Incidence estimated by dividing number of patients born 1975–2004 by total number of LBs Prevalence estimated by dividing the number of living patients as of 31 December 2007 by the total population**	Incidence: 1.77	Incidence: 0.54	Incidence: 0.27	Incidence: 0.43	Incidence: 0.48	Incidence: 0.05	-	-	(MALM <i>et al.</i> , 2008)
		Prevalence: 6.03	Prevalence: 0.74	Prevalence: 0.91	Prevalence: 0.92	Prevalence: 3.10	Prevalence: 0.37			
Tunisia	Incidence estimated by dividing number of patients identified 1988–2005 by total number of LBs	2.29	0.63	0.29*	0.7	0.45	0.35	-	-	(BEN TURKIA <i>et al.</i> , 2009)
Taiwan	Incidence estimated by dividing number of patients identified 1984–2004 by total number of LBs	2.04	0.11	1.07 2.05*	III: 0.39 IIIA: 0.08 IIIB: 0.28 IIIC: 0.03 IIID: 0.00	0.33	0.14	0	0	(LIN <i>et al.</i> , 2009)

Table 9 – Studies of MPS frequency in other countries

Location	Method	Frequency (per 100,000 LBs)								Reference
		MPS overall	MPS I	MPS II	MPS III	MPS IV	MPS VI	MPS VII	MPS IX	
Eastern Province, Saudi Arabia	Incidence estimated by dividing number of patients identified 1983–2008 by total number of LBs	-	4.00	-	2.00	4.00	8.00	-	-	(MOAMMAR <i>et al.</i> , 2010)
Czech Republic	Prevalence at birth estimated by dividing number of patients born 1975–2008 by total number of LBs	3.72	0.72	0.43 0.83*	III: 0.91 IIIA: 0.47 IIIB: 0.02 IIIC: 0.42 IIID: 0.00	IV: 0.73 IVA: 0.71 IVB: 0.02	0.05	0.02	-	(POUPETOVÁ <i>et al.</i> , 2010)
France	Incidence estimated by dividing number of patients born 1985–1994 by total number of LBs	-	-	-	III: 0.73 IIIA: 0.48 IIIB: 0.15 IIIC: 0.15 IIID: 0.04	-	-	-	-	(HERON <i>et al.</i> , 2011)
Greece	Incidence estimated by dividing number of patients born 1990–1994 by total number of LBs	-	-	-	0.97	-	-	-	-	(HERON <i>et al.</i> , 2011)
United Kingdom	Incidence estimated by dividing number of patients born 1990–1998 by total number of LBs	-	-	-	1.2	-	-	-	-	(HERON <i>et al.</i> , 2011)
Estonia	Prevalence at birth estimated by dividing number of patients born 1985–2006 by total number of LBs	4.05	0.00	2.16 4.2*	IIIA: 1.62	0.00	0.27	0.00	-	(KRABBI <i>et al.</i> , 2012)

Table 9 – Studies of MPS frequency in other countries

Location	Method	Frequency (per 100,000 LBs)								Reference
		MPS overall	MPS I	MPS II	MPS III	MPS IV	MPS VI	MPS VII	MPS IX	
Colombia	Frequency estimated by dividing number of patients born 1998–2007 by total number of LBs	1.98	0.45	0.45	0.17	0.68	0.23	0.00	-	(GÓMEZ; GARCÍA-ROBLES; SUÁREZ-OBANDO, 2012)
Poland	Incidence estimated by dividing number of patients identified 1983–2011 by total number of LBs	-	-	-	-	-	0.03	-	-	(JURECKA <i>et al.</i> , 2014)
Estonia	Incidence estimated by dividing number of patients identified 1983–2011 by total number of LBs	-	-	-	-	-	0.40	-	-	(JURECKA <i>et al.</i> , 2014)
Lithuania	Incidence estimated by dividing number of patients identified 1983–2011 by total number of LBs	-	-	-	-	-	0.64	-	-	(JURECKA <i>et al.</i> , 2014)
Belarus	Incidence estimated by dividing number of patients identified 1983–2011 by total number of LBs	-	-	-	-	-	0.37	-	-	(JURECKA <i>et al.</i> , 2014)
Poland	Prevalence estimated by dividing number of patients identified 1970–2010 by total number of LBs	1.81	0.22	0.46	0.86	0.14	0.13	0	0	(JURECKA <i>et al.</i> , 2015)

Table 9 – Studies of MPS frequency in other countries

Location	Method	Frequency (per 100,000 LBs)								Reference
		MPS overall	MPS I	MPS II	MPS III	MPS IV	MPS VI	MPS VII	MPS IX	
United States	Incidence estimated by dividing number of patients born 1995–2005 by total number of LBs	Incidence: 1.20	Incidence: 0.34	Incidence: 0.29	Incidence: III: 0.38 IIIA: 0.25 IIIB: 0.09 IIIC: 0.03 IIID: 0.00	Incidence: 0.12	Incidence: 0.05	Incidence: 0.05	-	(PUCKETT <i>et al.</i> , 2017)
	Prevalence estimated by dividing number of patients identified 1995–2005 by total population**	Prevalence: 1.80	Prevalence: 0.50	Prevalence: 0.43	Prevalence: III: 0.55 IIIA: 0.37 IIIB: 0.13 IIIC: 0.04 IIID: 0.00	Prevalence: 0.20	Prevalence: 0.08	Prevalence: 0.08	-	
South Korea	Prevalence at birth estimated by dividing number of patients identified 1994–2003 by total number of LBs	1.35	0.21	0.74	0.25	0.13	0.01	-	-	(CHO; SOHN; JIN, 2014) in (KHAN <i>et al.</i> , 2017)
Japan	Prevalence at birth estimated by dividing number of patients identified 1982–1999 and 2003–2009 by total number of LBs	1.53	0.23	0.84	0.26	0.15	0.03	0.02	-	(KHAN <i>et al.</i> , 2017)
Switzerland	Prevalence at birth estimated by dividing number of patients identified 1975–2008 by total number of LBs	1.56	0.19	0.46	0.38	0.38	0.11	0.03	-	(KHAN <i>et al.</i> , 2017)

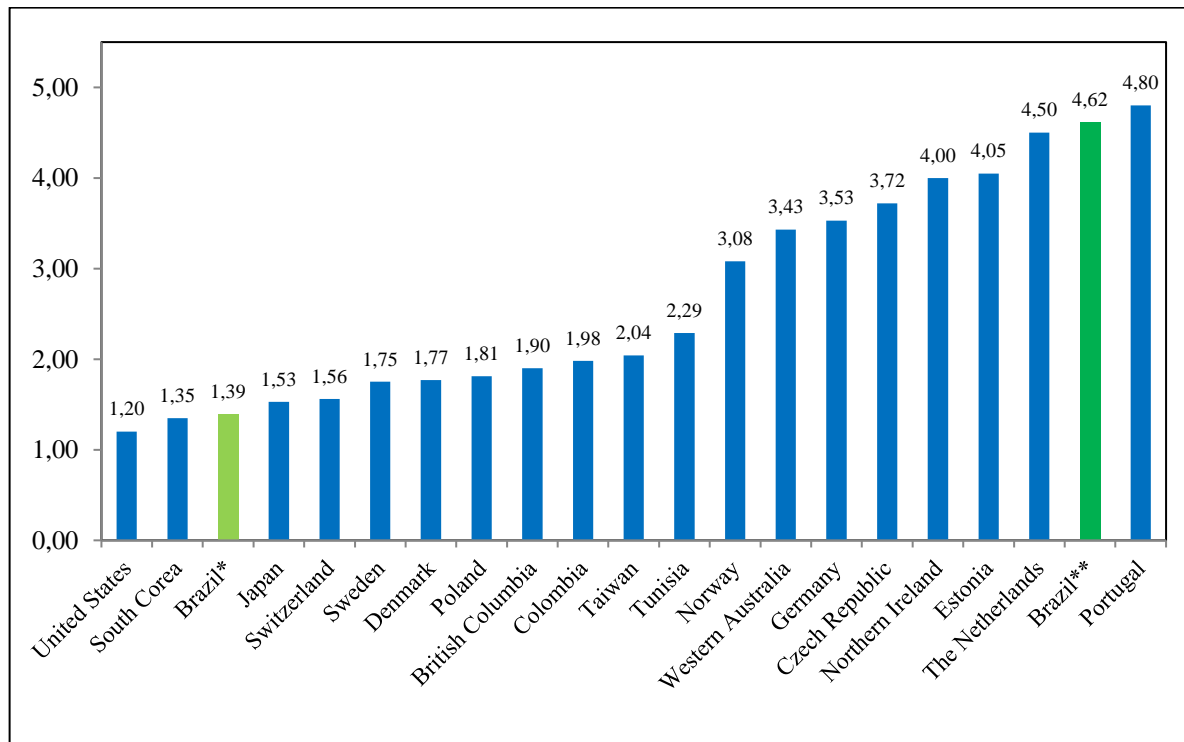
Table 9 – Studies of MPS frequency in other countries

Location	Method	Frequency (per 100,000 LBs)								Reference
		MPS overall	MPS I	MPS II	MPS III	MPS IV	MPS VI	MPS VII	MPS IX	
Brazil	Prevalence at birth estimated two ways:									This study
	A) By dividing number of patients born 1994–2010 by the total number of LBs;	1.39	0.24	0.42 0.83*	III***: 0.002 IIIA: 0.07 IIIB: 0.11 IIIC: 0.06	IV***: 0.006 IVA: 0.14 IVB: 0.004	0.29	0.02	-	
	B) Frequency of the <i>IDUA</i> gene variant p.Trp402Ter in healthy individuals	4.62	0.95	1.32	III***: 0.03 IIIA: 0.17 IIIB: 0.30 IIIC: 0.06	IV***: 0.02 IVA: 0.53 IVB: 0.02	1.02	0.05		

* Estimate considering only live births of males; ** Result expressed per million population; *** Undefined subtype; LB: live births.
Source: The authors (2017).

The birth prevalence of all types of MPS in the state of RS was estimated as 4.62 cases per 100,000 LBs. This estimate was calculated from the frequency of homozygosity for the p.Trp402Ter variant among patients with MPS I in the state (27.3%). Rio Grande do Sul was selected for analysis because all healthy volunteer HCPA Blood Bank donors are from this state. The frequency of patients homozygous for the p.Trp402Ter variant among all Brazilian patients from whom a genotype is available was 29%, very similar to the frequency found in the Rio Grande do Sul sample. Therefore, it is safe to consider that the overall frequency of MPS in Brazil is similar to that found in the state of RS. In view of this finding, we considered the overall prevalence of MPS at birth in RS to be equivalent to the prevalence in Brazil as a whole and used this figure for comparison to the values reported in other countries, as shown in Figure 2 (highlighted in dark green). The estimate obtained from the number of LBs is shown in light green.

Figure 2 – Birth prevalence of MPS per 100,000 live births in Brazil and worldwide

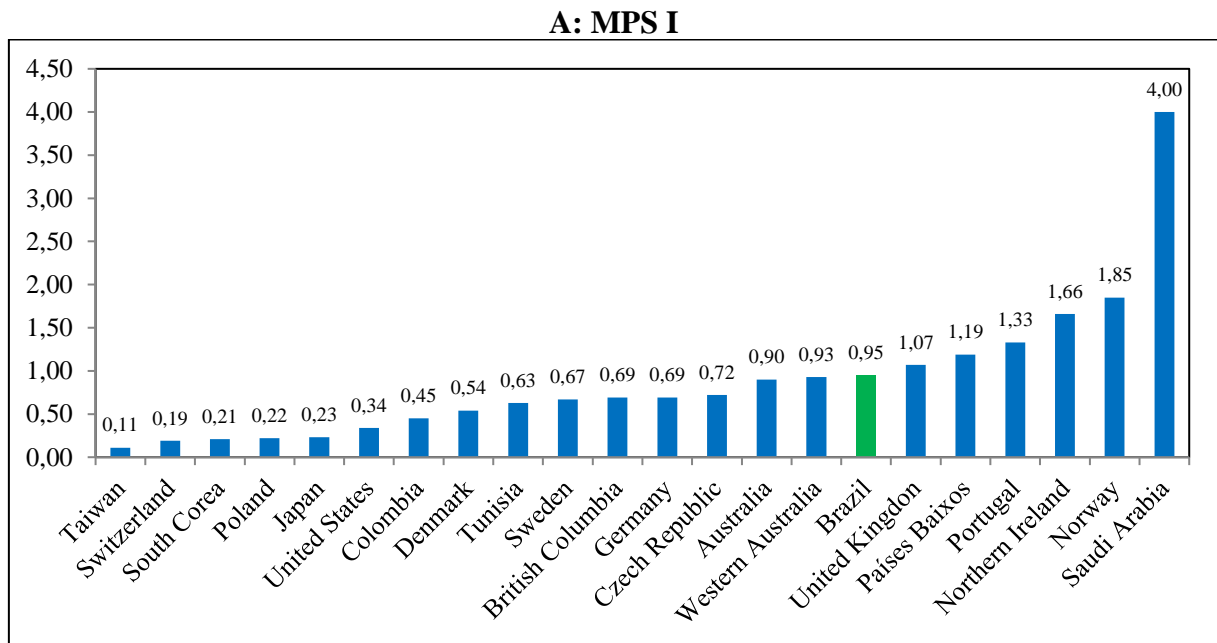


* Estimate based on number of diagnoses and live births; ** Estimate based on frequency of the *IDUA* gene variant p.Trp402Ter in healthy individuals.

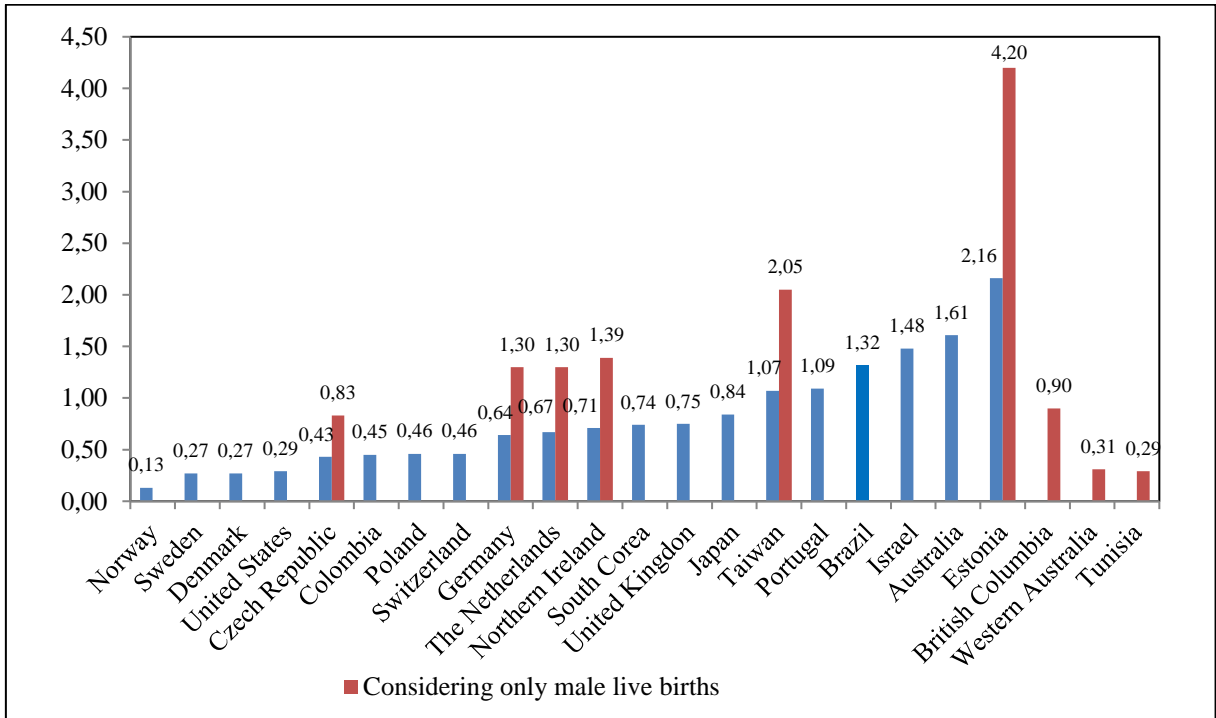
Source: The authors (2017).

MPS types were compared individually among those countries for which published studies were available, as shown in Figure 3. The value estimated for Brazil is highlighted in green.

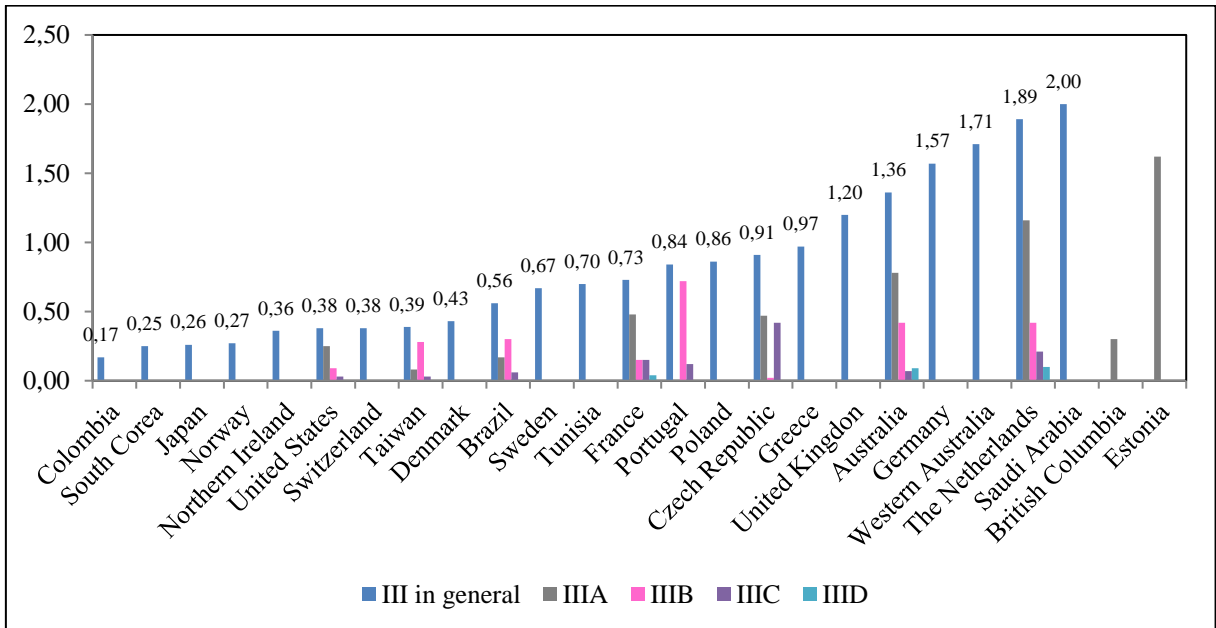
Figure 3 – Comparison of birth prevalence of each MPS type in countries for which data are available A: MPS I; B: MPS II (in some countries, estimate considers only live births of males); C: MPS III (and its subtypes, when available); D: MPS IV (and its subtypes, when available); E: MPS VI; F: MPS VII



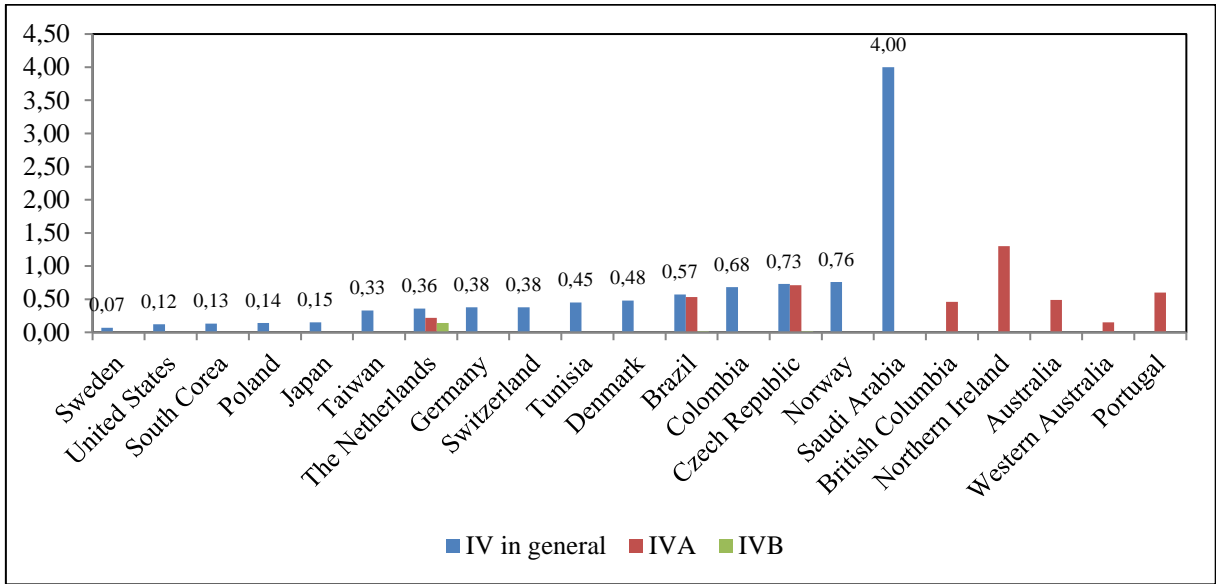
B: MPS II



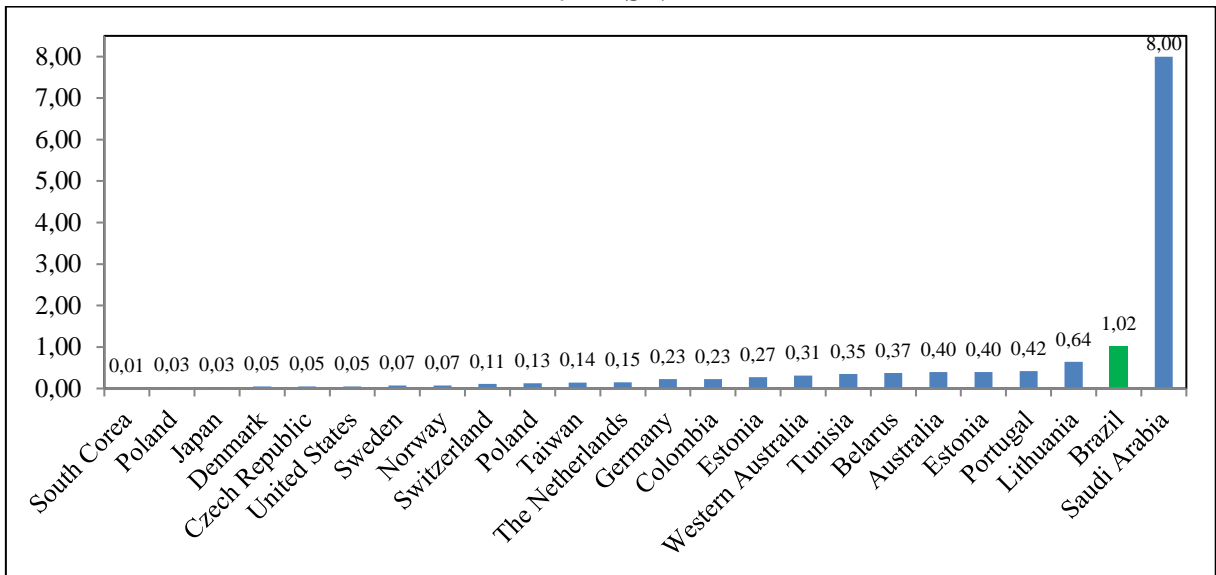
C: MPS III

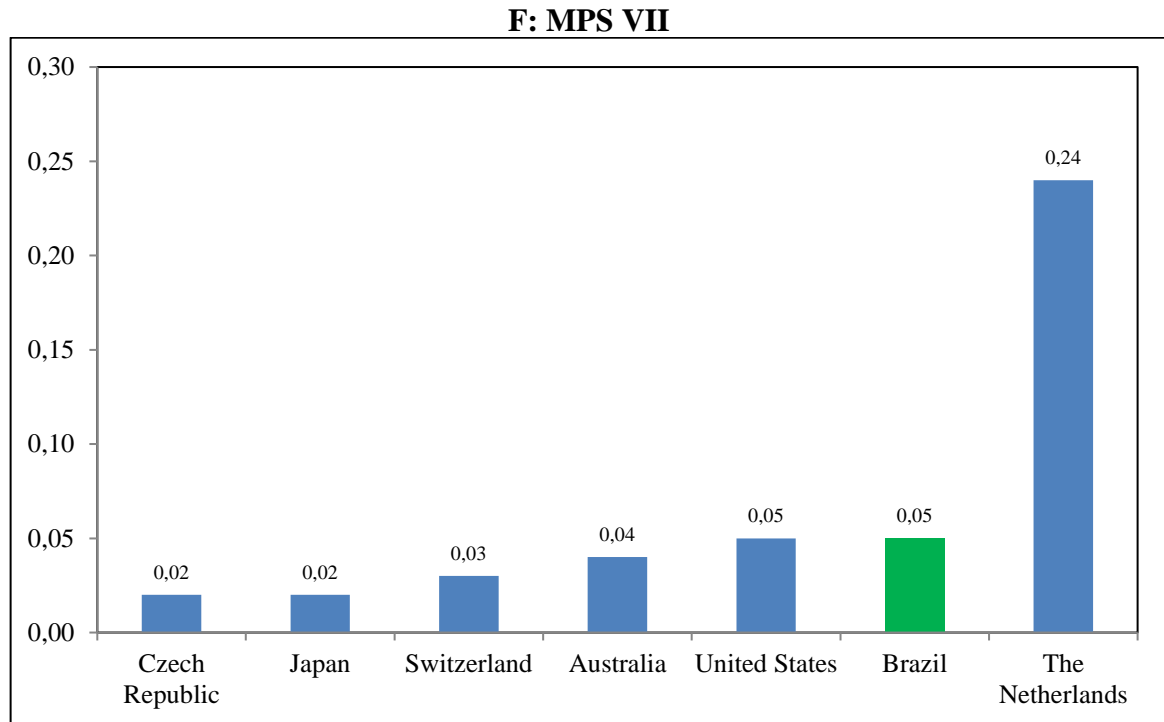


D: MPS IV



E: MPS VI





Source: The authors (2017).

5 DISCUSSION

Parental consanguinity was positive in 32.4% of patients for whom this information was available, a rate higher than those reported in two previous studies of Brazilian patients [20.6% (VIEIRA *et al.*, 2008) and 27% (AZEVEDO *et al.*, 2004)]. Most patients with a history of consanguinity were from the Southeast and Northeast regions. In the latter, previous studies have reported high rates of consanguinity in specific areas of such states as Bahia (COSTA-MOTTA *et al.*, 2014), Paraíba (WELLER *et al.*, 2012) e Rio Grande do Norte (SANTOS *et al.*, 2010). According to a March of Dimes report, an estimated 1 to 10% of unions in South America are consanguineous (CHRISTIANSON; HOWSON; MODELL, 2006), a rate far below that found in the present study and in the aforementioned investigations. It is possible that the cases with no consanguinity are under reported (as this would be a *default* situation), artificially increasing the positive result among the cases that provided information about consanguinity.

Regarding recurrence, most patients with other cases in the family had MPS II. This makes sense, as two-thirds of all patients are male and this is the most common type of MPS diagnosed in Brazil.

It is important to highlight that it was not possible to evaluate the diagnosed patients according to the different families they were from, as this information was not available in the medical records for most patients. Therefore, in the group of patients with positive consanguinity as well as in the group of positive recurrence probably there are patients from same families, a fact that may have interfered in the results obtained.

According to the regional distribution, although MPS II is frequent across all regions of the country, there appear to be differences in the relative frequency of some MPS types in certain regions. MPS types I and IIIB are more common in the South, while MPS VI is more common in the Northeast region, as reported in a previous study (COSTA-MOTTA *et al.*, 2014).

The median age at diagnosis in the present study was 5.8 years. Vieira *et al.* reported a mean delay of 4.8 years between onset of signs and symptoms and diagnostic confirmation in Brazilian patients (VIEIRA *et al.*, 2008), which suggests that many patients born in the last 5 years (i.e., since 2012) remain undiagnosed. Furthermore, due to the broad clinical heterogeneity of MPS, many attenuated forms are believed to be diagnosed late or never diagnosed at all (GIUGLIANI, 2012).

The birth prevalence of MPS I in the state of RS was quite similar to those reported in Northern Ireland (NELSON, 1997) and in Northern Portugal (PINTO *et al.*, 2004). The Brazilian estimate, although lower, still exceeds the rates found in most countries, particularly Asian ones such as Japan, South Korea, and Taiwan, and represents double the rate estimated for Colombia (LIN *et al.*, 2009; GÓMEZ; GARCÍA-ROBLES; SUÁREZ-OBANDO, 2012; CHO; SOHN; JIN, 2014; KHAN *et al.*, 2017).

MPS II had a particularly high prevalence at birth, lower only than those found in Israel, Australia, and Estonia (SCHAAP; BACH, 1980; MEIKLE *et al.*, 1999; KRABBI *et al.*, 2012).

The frequency of MPS III (all subtypes) was intermediate compared to the reports of other countries. Analysis of the IIIB subtype, which is the most common form of MPS III in Brazil, found a prevalence similar to that reported in Australia, the Netherlands, Taiwan, and Northern Portugal, where the frequency of IIIB is also quite higher than that of other MPS III subtypes (MEIKLE *et al.*, 1999; POORTHUIS *et al.*, 1999; PINTO *et al.*, 2004; LIN *et al.*, 2009).

MPS IVA and IVB together had prevalence similar to that of MPS type III in Brazil. Similar rates were reported in Tunisia (BEN TURKIA *et al.*, 2009) and in several European countries, such as Denmark, Germany, and Switzerland (BAEHNER *et al.*, 2005; MALM *et al.*, 2008; KHAN *et al.*, 2017). Unlike MPS I, II, and III, which had a prevalence in Brazil twice as high as that observed in Colombia, MPS IV was less prevalent in Brazil than in this neighboring country (GÓMEZ; GARCÍA-ROBLES; SUÁREZ-OBANDO, 2012).

The prevalence of MPS type VI in Brazil was the highest reported in the world except in Saudi Arabia, where the nearly eightfold prevalence compared to Brazil is probably attributable to the high rate of consanguinity (MOAMMAR *et al.*, 2010).

MPS VII is quite rare in most countries, and no cases were reported in the majority of studies. The estimated prevalence of MPS VII in Brazil was close to that calculated in the United States (PUCKETT *et al.*, 2017).

Any case of MPS IIID and IX was diagnosed.

Considering all MPS types, the prevalence of these conditions at birth in Brazil is among the highest in the world, only slightly lower than that reported for Portugal (PINTO *et al.*, 2004).

6 CONCLUSIONS

Conducting a reliable assessment of the frequency of a disease as rare as MPS in a large country as Brazil, which has very few centers of excellence for the diagnosis and management of these conditions, is a challenging undertaking. This was the first epidemiological study of MPS in Brazil, and the first anywhere in the world to estimate MPS frequency on the basis of testing a MPS-associated gene variant in healthy individuals. However, our results are only estimates, and should be interpreted cautiously. Although some factors interfere with this estimation, such as delay in diagnosis, underdiagnosis, and the use of a sample of healthy volunteers from a single Brazilian state for gene variant analysis, our findings do suggest that Brazil has one of the highest frequencies of MPS anywhere in the world.

Our results provide a comprehensive picture about the birth prevalence of MPS and MPS types in Brazil, and provide valuable information to support screening, diagnosis, treatment and prevention initiatives in the MPS field in the country. In addition, our innovative approach to estimate birth prevalence of a group of genetic diseases based on frequency of heterozygotes for a specific gene variant opens the door for similar studies in other diseases and/or in other parts of the world.

SUPPORT

The present study was supported by the National Institute for Population Medical Genetics (*Instituto Nacional de Genética Médica Populacional*, INAGEMP, grant # 573993/2008-4) and by FIPE-GPPG (grant # 15-0450 and 16-0398).

ACKNOWLEDGMENTS

The investigators thank the Postgraduate Program in Child and Adolescent Health, Universidade Federal do Rio Grande do Sul; the Medical Genetics Service and Hematology Service, Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA); Instituto Vidas Raras; the volunteer donors of the HCPA Blood Bank; and the MPS Brazil Network.

REFERENCES

- APPLEGARTH, D. A.; TOONE, J. R.; LOWRY, R. B. Incidence of inborn errors of metabolism in British Columbia, 1969-1996. **Pediatrics**, v. 105, n. 1, p. e10, 2000.
- AZEVEDO, A. C. *et al.* Clinical and biochemical study of 28 patients with mucopolysaccharidosis type VI. **Clin. Genet.**, v. 66, n. 3, p. 208-13, 2004.
- BAEHNER, F. *et al.* Cumulative incidence rates of the mucopolysaccharidoses in Germany. **J. Inherit. Metab. Dis.**, v. 28, n. 6, p. 1011-7, 2005.
- BEN TURKIA, H. *et al.* Incidence of mucopolysaccharidoses in Tunisia. **Tunis. Med.**, v. 87, n. 11, p. 782-5, 2009.
- BRASIL. Ministério do Planejamento, Orçamento e Gestão. **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**. 2017. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/estatisticas-novoportal/sociais/populacao/9103-estimativas-de-populacao.html?edicao=16985&t=resultados> 2017. Acesso em: 1 out. 2017.
- CHO, S. Y.; SOHN, Y. B.; JIN, D. K. An overview of Korean patients with mucopolysaccharidosis and collaboration through the Asia Pacific MPS Network. **Intractable Rare Dis. Res.**, v. 3, n. 3, p. 79-86, 2014.
- CHRISTIANSON, A.; HOWSON, C. P.; MODELL, B. **March of dimes**: Global report on birth defects. New York: March of Dimes Birth Defects Foundation, 2006.
- COSTA-MOTTA, F. M. *et al.* A community-based study of mucopolysaccharidosis type VI in Brazil: the influence of founder effect, endogamy and consanguinity. **Hum. Hered.**, v. 77, n. 1-4, p. 189-96, 2014.
- FEDERHEN, A. *et al.* Minimal estimated incidence of MPS I, II, IV-A and VI in Brazil and comparison to the rest of the world. *In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON MPS AND RELATED DISEASES*, 14th., 2016, Bonn, Germany. **Proceedings [...]**. Bonn, Germany: [s. l.], 2016. p. 1-82.

GIUGLIANI, R. Mucopolysaccharidoses: From understanding to treatment, a century of discoveries. **Genet. Mol. Biol.**, v. 35, n. 4 (suppl), p. 924-31, 2012.

GÓMEZ, A. M.; GARCÍA-ROBLES, R.; SUÁREZ-OBANDO, F. [Estimation of the mucopolysaccharidoses frequencies and cluster analysis in the Colombian provinces of Cundinamarca and Boyacá]. **Biomedica**, v. 32, n. 4, p. 602-9, 2012.

HARRIS, P. A. *et al.* Research electronic data capture (REDCap)--a metadata-driven methodology and workflow process for providing translational research informatics support. **J. Biomed. Inform.**, v. 42, n. 2, p. 377-81, 2009.

HERON, B. *et al.* Incidence and natural history of mucopolysaccharidosis type III in France and comparison with United Kingdom and Greece. **Am. J. Med. Genet. A.**, v. 155a, n. 1, p. 58-68, 2011.

JURECKA, A. *et al.* Mucopolysaccharidosis type VI in Russia, Kazakhstan, and Central and Eastern Europe. **Pediatr. Int.**, v. 56, n. 4, p. 520-5, 2014.

JURECKA, A. *et al.* Prevalence rates of mucopolysaccharidoses in Poland. **J. Appl. Genet.**, v. 56, n. 2, p. 205-10, 2015.

KHAN, S. A. *et al.* Epidemiology of mucopolysaccharidoses. **Mol. Genet. Metab.**, v. 121, n. 3, p. 227-240, 2017.

KRABBI, K. *et al.* The live-birth prevalence of mucopolysaccharidoses in Estonia. **Genet. Test. Mol. Biomarkers**, v. 16, n. 8, p. 846-9, 2012.

LIN, H. Y. *et al.* Incidence of the mucopolysaccharidoses in Taiwan, 1984-2004. **Am. J. Med. Genet. A.**, v. 149a, n. 5, p. 960-4, 2009.

LOWRY, R. B. *et al.* An update on the frequency of mucopolysaccharide syndromes in British Columbia. **Hum. Genet.**, v. 85, n. 3, p. 389-90, 1990.

LOWRY, R. B.; RENWICK, D. H. Relative frequency of the Hurler and Hunter syndromes. **N. Engl. J. Med.**, v. 284, n. 4, p. 221-2, 1971.

MALM, G. *et al.* Mucopolysaccharidoses in the Scandinavian countries: incidence and prevalence. **Acta Paediatr.**, v. 97, n. 11, p. 1577-81, 2008.

MEIKLE, P. J. *et al.* Prevalence of lysosomal storage disorders. **Jama**, v. 281, n. 3, p. 249-54, 1999.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Datasus**. Brasília: Ministério da Saúde, 2017. Disponível em: <http://datasus.saude.gov.br/>. Acesso em: 18 out. 2017.

MOAMMAR, H. *et al.* Incidence and patterns of inborn errors of metabolism in the Eastern Province of Saudi Arabia, 1983-2008. **Ann. Saudi. Med.**, v. 30, n. 4, p. 271-7, 2010.

MOORE, D. *et al.* The prevalence of and survival in Mucopolysaccharidosis I: Hurler, Hurler-Scheie and Scheie syndromes in the UK. **Orphanet. J. Rare. Dis.**, v. 3, p. 24, 2008.

NELSON, J. *et al.* Incidence of the mucopolysaccharidoses in Western Australia. **Am. J. Med. Genet. A.**, v. 123a, n. 3, p. 310-3, 2003.

NELSON, J. Incidence of the mucopolysaccharidoses in Northern Ireland. **Hum. Genet.**, v. 101, n. 3, p. 355-8, 1997.

NEUFELD, E.; MUENZER, J. The mucopolysaccharidosis. *In: SCRIVER, C. et al. (Eds.). The metabolic and molecular basis of inherited disease.* New York: McGraw-Hill, 2001. p. 3421-52.

PINTO, R. *et al.* Prevalence of lysosomal storage diseases in Portugal. **Eur. J. Hum. Genet.**, v. 12, n. 2, p. 87-92, 2004.

POORTHUIS, B. J. *et al.* The frequency of lysosomal storage diseases in The Netherlands. **Hum. Genet.**, v. 105, n. 1-2, p. 151-6, 1999.

POUPETOVÁ, H. *et al.* The birth prevalence of lysosomal storage disorders in the Czech Republic: comparison with data in different populations. **J. Inherit. Metab. Dis.**, v. 33, n. 4, p. 387-96, 2010.

PUCKETT, Y. *et al.* Epidemiology of mucopolysaccharidoses (MPS) in the United States: Challenges and opportunities. **Mol. Genet. Metab.**, v. 120, n. 1, p. S111, 2017.

SANTOS, S. *et al.* Inbreeding levels in Northeast Brazil: Strategies for the prospecting of new genetic disorders. **Genet. Mol. Biol.**, v. 33, n. 2, p. 220-3, 2010.

SCHAAP, T.; BACH, G. Incidence of mucopolysaccharidoses in Israel: Is Hunter disease a "Jewish disease"? **Hum. Genet.**, v. 56, n. 2, p. 221-3, 1980.

VIEIRA, T. *et al.* Mucopolysaccharidoses in Brazil: What happens from birth to biochemical diagnosis? **Am. J. Med. Genet. A.**, v. 146a, n. 13, p. 1741-7, 2008.

WELLER, M. *et al.* Consanguineous unions and the burden of disability: A population-based study in communities of Northeastern Brazil. **Am. J. Hum. Biol.**, v. 24, n. 6, p. 835-40, 2012.

YOUNG, I. D.; HARPER, P. S. Incidence of Hunter's syndrome. **Hum. Genet.**, v. 60, n. 4, p. 391-2, 1982.

6.2 ARTIGO CIENTÍFICO 2 – A SER SUBMETIDO AO MGM REPORTS

Title: Variant types in mucopolysaccharidosis patients: important information in the age of precision medicine.

Authors:

Andressa Federhen^a, Gabriela Pasqualim^{b,c}, Ana Carolina Brusius-Facchin^c, Sandra Leistner-Segal^c, Ursula Matte^{a,b,c,d}, Roberto Giugliani^{a,b,c,d}

^a Postgraduate Program in Child and Adolescent Health, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil.

^b Postgraduate Program in Genetics and Molecular Biology, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil.

^c Medical Genetics Service, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Porto Alegre Brasil

^d Department of Genetics, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil.

Abstract: Mucopolysaccharidoses (MPS) are diseases caused by a deficiency of the lysosomal enzymes responsible for degrading glycosaminoglycans. A number of pathogenic variants in the genes responsible for synthesizing such enzymes cause the disease. Classified as personalized medicine or precision medicine, certain innovative therapeutic strategies are indicated based on the variant type involved. Few studies have been published on the variant profile of Brazilian MPS patients. Objective: The purpose of this study was to evaluate the types of pathogenic variants found in Brazilian MPS patients to estimate the potential benefit of variant-dependent therapeutic strategies. Study design: Patients diagnosed with MPS I, II, IIIA, IIIB, IIIC, IVA and VI according to the available genotyping by the *Rede MPS Brasil* (Brazilian

MPS Network) from 1982 to 2016 were included in this study. Only index cases were considered. Patients were classified according to region of origin within the country. The variants were classified according to Human Gene Mutation Database (HGMD) definitions. Results: A total of 819 alleles were identified in 499 patients. The most frequent variants were substitutions in MPS types I, II, IIIB, IVA and VI, the majority of which were missense. In MPS IIIA small deletions were as frequent as substitutions, while in MPS IIIC splice site variants predominated. Regional differences in the proportion of variants were observed in MPS IIIB, with small deletions more frequent in patients from the South, as well as in MPS VI, with splice site variants more common in patients from the Northeast. For the most part, patients with a known genotype were homozygous, and considerable allelic heterogeneity was observed in all types of MPS. Conclusion: The molecular profile of Brazilian MPS patients is similar to that reported in the HGMD, indicating that the majority of patients could benefit from therapies that act to stabilize incorrectly folded proteins (chaperones, for missense mutations) or suppress premature stop (stop codon read-through).

Keywords: Mucopolysaccharidoses, genetic variants, mutations, frequency, molecular genetic analysis.

1 INTRODUCTION

1.1 MUCOPOLYSACCHARIDOSES

Mucopolysaccharidoses (MPS) are a group of metabolic diseases caused by a deficiency of the lysosomal enzymes responsible for catabolizing glycosaminoglycans (GAGs). Large amounts of these molecules are excreted in the urine and are also stored in cells. Progressive accumulation of GAGs in lysosomes causes irreversible cell and tissue damage (GIUGLIANI;

HARMATZ; WRAITH, 2007). As a consequence, patients are afflicted by a series of signs and symptoms, such as a coarse face, joint contractures, hepatosplenomegaly, multiple dysostosis, deafness, corneal opacification, heart disease, chronic obstructive pulmonary disease, sleep apnea and, in some cases, mental retardation (NEUFELD; MUENZER, 2001). Clinical manifestations vary according to MPS type and the severity of the phenotype (KHAN *et al.*, 2017). There are eleven known enzyme deficiencies for the seven major types of MPS (NEUFELD; MUENZER, 2001). Several therapeutic strategies have been employed in MPS (hematopoietic stem-cell transplantation, enzyme replacement therapy, etc.), with success in some areas and clear limitations in others. New therapies have been studied and some of them are variant-dependent, such as pharmacological chaperones (more suitable for select missense mutations) and those that act on translation, such as stop codon read-through, (GIUGLIANI *et al.*, 2016). Thus, knowing the proportion of different variants in each type of MPS has become important in evaluating the potential of the new therapeutic alternatives developed from a precision medicine perspective.

1.2 MOLECULAR GENETICS

1.2.1 MPS I

Pathogenic variants in a gene called IDUA are responsible for causing α -L-iduronidase enzyme deficiency. This gene has 14 exons and is located on the short arm of chromosome 4, at position 16.3 (4p16.3). Complete inactivation of the enzyme, which generally occurs in homozygotes or heterozygotes of p.Glu70Ter or p.Trp402Ter variants, is associated with the most severe form of the disease. The attenuated phenotype is usually associated with a variant in one of the alleles that allows the enzyme some residual activity. Up to 70% of the pathogenic

variants are recurrent and help predict the disease phenotype (CLARKE, 2002). However, it is not always possible to establish a genotype-phenotype correlation because there are many non-recurrent variants in the gene (TERLATO; COX, 2003). As of August 2016, 223 variants associated with MPS I had been described, most of which were classified as substitutions (missense/non-sense substitutions – COOPER *et al.*, 2013).

1.2.2 MPS II

The gene that encodes the iduronate-2-sulfatase enzyme is called IDS. It contains 9 exons and is located on the long arm of the X chromosome (Xq28). Deletions of exons or the whole gene, as well as complex rearrangements, have been associated with faster progression of the disease. Although the genotype-phenotype relationship for point mutations has not been established for MPS II (SCARPA, 1993), some pathogenic missense variants, such as p.Arg468Gln, p.Arg468Trp and p.Ser333Leu, have been found in patients with rapid disease progression, as well as in those with the most attenuated form (SCARPA, 1993). As of August 2016, 553 variants had been identified in the IDS gene (COOPER *et al.*, 2013), most of which were classified as point mutations and small deletions (FROISSART; DA SILVA; MAIRE, 2007), and new mutations are still being identified (BRUSIUS-FACCHIN *et al.*, 2014).

1.2.3 MPS III

MPS III is classified into four subtypes (IIIA, IIIB, IIIC and IIID) depending on the deficient enzyme. In MPS IIIA the deficient enzyme is called heparan-N-sulfatase (SGHS) and is encoded by the SGSH gene, which has eight exons and is located on the long arm of chromosome 17 (17q25.3) (SCOTT *et al.*, 1995). As of August 2016, 142 variants had been

described, most of which were classified as substitutions (COOPER *et al.*, 2013). In MPS IIIB, the α -N-acetylglucosaminidase (NAGLU) enzyme is deficient. The gene responsible for encoding NAGLU is also found on chromosome 17 (17q21.3) and has six exons (ZHAO *et al.*, 1996). By August 2016, 156 different variants in the gene had been described, most of which, as in MPS IIIA, are classified as substitutions (COOPER *et al.*, 2013). Variants in the HGSNAT gene cause deficiency of the α -glucosaminidase acetyltransferase enzyme and subtype IIIC. The gene is located on chromosome 8 (8p11.1) and has 18 exons (FAN *et al.*, 2006). By August 2016, 66 variants had been described in this gene, most of which are also substitutions (COOPER *et al.*, 2013). The less frequent subtype of MPS III, IIID, is caused by a deficiency of the N-acetylglucosamine 6-sulfatase (GNS) enzyme. The GNS gene is on chromosome 12 (12q14.3) and has 14 exons. As of August 2016, 23 variants had been reported, most of them missense/non-sense variants and small deletions and insertions (COOPER *et al.*, 2013).

1.2.4 MPS IV

MPS IV has two subtypes. Subtype IVA is caused by variants in the GALNS gene, which is responsible for synthesizing the N-acetylgalactosamine 6-sulfatase enzyme. This gene is on chromosome 16 (16q24.3) and has 14 exons (REGIER; OETGEN; TANPAIBOON, 1993). Most of the 326 variants reported until August 2016 are classified as substitution (COOPER *et al.*, 2013). In a study by Dung *et al.* (2013), 53 different mutations were identified in 55 patients, 39 of them associated with the severe phenotype of the disease and 10 with the attenuated form. However, the heterogeneity of the variants makes it difficult to interpret the molecular results, since new variants of uncertain significance are often identified (MORRONE *et al.*, 2014). MPS IVB is caused by variants in the GLB1 gene, which encodes the β -galactosidase enzyme, which is responsible for degrading ganglioside GM1 and keratan sulfate.

When GM1-ganglioside accumulation predominates, the patient is diagnosed with GM1-Gangliosidosis. If keratan sulfate deposition predominates, the patient is diagnosed with MPS IVB (KHAN *et al.*, 2017). The GLB1 gene is located on chromosome 3 (3p22.3) and has 18 exons. As of August 2016, 209 variants in this gene had been reported, most of which were substitutions associated with GM1-gangliosidosis (COOPER *et al.*, 2013).

1.2.5 MPS VI

Variants in the ARSB gene are responsible for a deficiency of the lysosomal enzyme N-acetylgalactosamine-4-sulfatase, which causes MPS VI. This gene is on chromosome 5 (5q11-q13) and contains 8 exons. As of August 2016, 192 variants had been described in this gene. More than 70% of these variants are classified as substitutions (COOPER *et al.*, 2013). Patients in whom both variant alleles synthesize a non-functional enzyme, such as non-sense variants, small insertions and/or deletions tend to have the most severe phenotype (LITJENS; HOPWOOD, 2001), although it is often not possible to establish a genotype-phenotype correlation due to the wide molecular heterogeneity associated with this gene (VAIRO *et al.*, 2015).

1.2.6 MPS VII

MPS VII is caused by variants in the GUSB gene, which synthesizes the enzyme β -D-glucuronidase. This gene is on chromosome 7 (7q21.11) and has 12 exons. By August 2016, 63 variants of this gene had been reported, most of which were substitutions (COOPER *et al.*, 2013).

1.2 MUCOPOLYSACCHARIDOSES IN BRAZIL

In Brazil several studies have been conducted on the frequency and type of mutations in certain forms of MPS. In 2000, Matte *et al.* (2000) evaluated the frequency of 10 common variants in MPS I in 24 index cases. Six of the 10 variants were identified in 54% of the alleles, two classified as non-sense and four as missense. Three years later a new study of 29 Brazilian MPS I patients found 10 recurrent mutations and 13 new mutations (MATTE *et al.*, 2003). Regarding MPS II, 103 unrelated patients from South America, mostly Brazil, were investigated for variants in the IDS gene. Small insertions/deletions/indels and point mutations were identified in 80% of the patients, including 30 new variants. Variants such as inversions and partial or total deletions of the gene were found in almost 20% of the patients (BRUSIUS-FACCHIN *et al.*, 2014). A study of 163 patients with MPS IVA from different countries identified 99 variants in the GALNS gene, 39 of which had not been previously described. In this group of patients, only three Brazilian patients were included (MORRONE *et al.*, 2014). Regarding MPS VI, a study in a small city in the Brazilian Northeast, where the frequency of the disease is estimated at 1:5,000 live births, identified the same missense variant in all 13 included patients (COSTA-MOTTA *et al.*, 2011). No Brazilian studies have been published on MPS III, MPS IVB or MPS VII variant frequencies. Thus, the objective of this study was to evaluate the molecular profile of MPS I, II, IIIA, IIIB, IIIC, IVA and VI in each region of Brazil and compare it with data published in the Human Gene Mutation Database (HGMD).

2 MATERIALS AND METHODS

Since 1982, the Medical Genetics Service of the *Hospital de Clínicas de Porto Alegre* has been a reference in Latin America for diagnosing congenital metabolic errors, including

MPS. In 2004, under the leadership of this service, the *Rede MPS Brasil* (RMB: Brazil MPS Network), a partnership between Brazilian centers that assist patients with MPS or suspected MPS, was created. Through the RMB, patients with clinical suspicion of MPS have access to laboratory investigation without cost. Once the disease has been confirmed through biochemical diagnosis, patients are also given access to molecular genetic investigation techniques to identify the variants responsible for the disease. This study included patients with MPS I, II, IIIA, IIIB, IIIC, IVA and VI diagnosed by the RMB between 1982 and 2016 whose genotype results were available. In cases where there was more than one affected member of the family, only the index case was considered. The patients were classified according to MPS type and region of origin. For those unsure of their place of birth, the region of the referring institution or physician was used. The variants were classified according to HGMD (COOPER *et al.*, 2013) and Human Genome Variation Society criteria (DEN DUNNEN *et al.*, 2016), as shown in Table 10.

Table 10 – Definition of variant nomenclature according to the Human Gene Mutation Database and the Human Genome Variation Society

Nomenclature	Definition
Substitutions (missense/non-sense)	Substituting a single pair of bases in the coding region.
Splicing	Variants with consequences for the splicing process.
Small deletions	Microdeletions of 20 pb or less
Small Insertions	Microinsertions of 20 pb or less
Small indels	Microindels of 20 pb or less
Large deletions	Deletions larger than 20 pb
Large Insertions	Insertions larger than 20 pb
Complex rearrangements	Indels larger than 20 pb
Repetitions	Repetitions of small sequences in tandem

Source: The authors (2017).

3 RESULTS

From 1982 to 2016, the RMB identified 1472 Brazilian patients with MPS. Forty patients were not considered in this analysis because they were diagnosed with MPS III or IV without a defined subtype, MPS IVB or MPS VII. Of the total remaining patients (1432), 303 were diagnosed with MPS I, 420 with MPS II, 56 with MPS IIIA, 96 with MPS IIIB, 60 with MPS IIIC, 171 with MPS IVA and 326 with MPS VI. Table 11 shows the number of patients on whom molecular genetic research was conducted.

Table 11 – Patients according to MPS type, the number of patients with molecular research available and the number of index cases considered in this study

Type of MPS	Total patients (n)	Patients with molecular investigation n (% do total)	Patients considered in this study (n)	Number of studied alleles
I	303	102 (33.6)	96	192
II	420	215 (51.2)	179	179
IIIA	56	12 (21.4)	12	24
IIIB	96	22 (22.9)	22	44
IIIC	60	10 (16.6)	10	20
IVA	171	79 (46.2)	66	132
VI	326	136 (41.7)	114	228
All	1432	576 (40.2)	499	819

Source: The authors (2017).

Considering MPS as a group, variants classified as substitutions (556, 67.9%), followed by splice site variants and small deletions, predominated among the alleles, as shown in Table 12.

Table 12 – Classification of variants in Brazilian MPS patients

Variant classification	Number of alleles in each type of MPS							All MPS
	I	II	IIIA	IIIB	IIIC	IVA	VI	
Substitution	169	106	11	26	5	124	115	556
Splicing site	9	15	2	-	9	4	70	109
Small deletions	12	13	11	11	2	2	15	67
Large deletions	-	10	-	-	-	-	22	32
Small insertions	-	10 ^a	-	1	4	-	2	16
Large insertions	-	-	-	-	-	-	-	-
Small indels	-	1	-	-	-	-	-	1
Complex rearrangements	-	24 ^b	-	-	-	-	-	24
No variants identified	2	0	0	6	0	2	4	14

Source: The authors (2017).

a. Of these, two are duplications; and in one allele an insertion and a substitution were found;

b. Of these, 12 are inversions.

Table 13 shows the substitutions classified according to their repercussions on the protein.

Table 13 – Proportion of non-sense and missense variants among alleles with substitutions

MPS type	Non-sense variant	Missense variant	Total
	N (%)	N (%)	
I	86 (50.9)	83 (49.1)	169
II	31 (29.2)	75 (70.3)	106
IIIA	0 (0)	11 (100)	11
IIIB	0 (0)	26 (100)	26
IIIC	0 (0)	5 (100)	5
IVA	0 (0)	124 (100)	124
VI	11 (9.6)	104 (90.4)	115
All types	128 (23.0)	428 (77.0)	556

Source: The authors (2017).

With respect to the distribution of variants, the patients were classified according to Brazilian region of origin, as shown in Tables 14, 15, 16, 17, 18.

Table 14 – MPS I patients according to region and variant type

MPS I by region	Patients	Alleles with identified variants	Variant classification							
			Substitutions	Splicing	Small deletions	Large deletions	Small insertions	Large insertions	Small indels	Complex rearrangements
S	38	75 ^a	66	3	6	-	-	-	-	-
SE	28	56	52	1	3	-	-	-	-	-
NE	23	45 ^a	37	5	3	-	-	-	-	-
MW	6	12	12	-	-	-	-	-	-	-
N	1	2	2	-	-	-	-	-	-	-

Source: The authors (2017).

a. In one allele no variant was found; S: South; SE: Southeast; NE: Northeast; MW: Midwest; N: North; The dash (-) indicates that no variant of this type has been identified.

Table 15 – MPS II patients according to region and variant type

MPS II by region	Patients	Alleles with identified variants	Variant classification							
			Substitutions	Splicing	Small deletions	Large deletions	Small insertions	Large insertions	Small indels	Complex rearrangements
S	35	35	20	2	5	3	-	-	-	5
SE	80	80	45	8	5	6	5	-	1	10
NE	45	45	29	4	2	-	4	-	-	6
MW	13	13	10	1	-	-	1	-	-	1
N	6	6	2	-	1	1	-	-	-	2

Source: The authors (2017).

S: South; SE: Southeast; NE: Northeast; MW: Midwest; N: North; The dash (-) indicates that no variant of this type has been identified.

Table 16 – MPS III patients according to region and variant type

MPS III by region	Patients	Alleles with identified variants	Variant classification								
			Substitutions	Splicing	Small deletions	Large deletions	Small insertions	Large insertions	Small indels	Complex rearrangements	
IIIA											
S	2	4	2	-	2	-	-	-	-	-	-
SE	4	8	2	-	6	-	-	-	-	-	-
NE	5	10	5	2	3	-	-	-	-	-	-
MW	1	2	2	-	-	-	-	-	-	-	-
N	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
IIIB											
S	9	14 ^a	5	-	9	-	-	-	-	-	-
SE	9	18	16	-	1	-	1	-	-	-	-
NE	3	4 ^b	4	-	-	-	-	-	-	-	-
MW	1	2	1	-	1	-	-	-	-	-	-
N	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
IIIC											
S	4	8	1	3	-	-	-	4	-	-	-
SE	4	8	1	5	2	-	-	-	-	-	-
NE	2	4	3	1	-	-	-	-	-	-	-
MW	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
N	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Source: The authors (2017).

a. In four alleles no variant was found; B. In two alleles no variant was found; S: South; SE: Southeast; NE: Northeast; MW: Midwest; N: North. The dash (-) indicates that no variant of this type has been identified.

Table 17 – MPS IVA patients according to region and variant type

MPS IVA by region	Patients	Alleles with identified variants	Variant classification							
			Substitutions	Splicing	Small deletions	Large deletions	Small insertions	Large insertions	Small indels	Complex rearrangements
S	18	35 ^a	35	-	-	-	-	-	-	-
SE	16	32	31	1	-	-	-	-	-	-
NE	29	57 ^a	53	3	1	-	-	-	-	-
MW	1	2	2	-	-	-	-	-	-	-
N	2	4	4	-	-	-	-	-	-	-

Source: The authors (2017).

a. In one allele no variant was found; S: South; SE: Southeast; NE: Northeast; MW: Midwest; N: North; The dash (-) indicates that no variant of this type has been identified.

Table 18 – MPS VI patients according to region and variant type.

MPS VI by region	Patients	Alleles with identified variants	Variant classification							
			Substitutions	Splicing	Small deletions	Large deletions	Small insertions	Large insertions	Small indels	Complex rearrangements
S	10	20	13	2	1	4	-	-	-	-
SE	41	81 ^a	45	15	5	14	2	-	-	-
NE	55	107 ^b	48	47	8	4	-	-	-	-
MW	6	12	6	5	1	-	-	-	-	-
N	2	4	3	1	-	-	-	-	-	-

Source: The authors (2017).

a. In one allele no variant was found; b. In three alleles no variant was found; S: South; SE: Southeast; NE: Northeast; MW: Midwest; N: North; a dash (-) indicates that no variant of this type was identified.

Patients were also classified according to variants in homozygosis or heterozygosis, except MPS II due to its X-linked inheritance, as shown in Table 19. Fourteen patients were not classified because a variant was identified in only one allele.

Table 19 – Proportion of homozygotes and compound heterozygotes for each type of MPS

MPS type	Homozygotes	Compound heterozygotes	Total
	N	N	
I	44	50	94
III A, B and C	26	12	38
IVA	51	13	64
VI	62	48	110
All types	183	123	306

Source: The authors (2017).

Among the 819 alleles evaluated in this study, 234 different variants were found. In MPS I, 45 different variants were found in 192 alleles; in MPS II there were 95 different variants in 179 alleles; in MPS IIIA, IIIB and IIIC there were 38 different variants in 88 alleles; in MPS IVA 22 different variants were found in 132 alleles; and in MPS VI there were 34 different variants in 228 evaluated alleles. In Table 20, the variants we found are compared with those described in the HGMD.

Table 20 – Variants identified in this study compared to variants described in the HGMD for MPS I, II, III, IVA and VI

Variant classification	MPS I		MPS II		MPS III A, B and C		MPS IVA		MPS VI	
	HGMD*	This study**	HGMD*	This study**	HGMD*	This study**	HGMD*	This study**	HGMD*	This study**
	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)
Substitution	130 (58.4)	29 (64.5)	284 (51.3)	56 (58.9)	251 (69.3)	24 (63.2)	241 (73.9)	18 (81.8)	143 (74.5)	23 (69.6)
Splice site	36 (16.2)	7 (15.5)	51 (9.2)	12 (12.6)	21 (5.8)	6 (15.8)	32 (9.9)	3 (13.6)	11 (5.7)	2 (6.1)
Small deletions	31 (13.9)	9 (20.0)	102 (18.5)	13 (13.8)	45 (12.5)	6 (15.8)	32 (9.9)	1 (4.6)	24 (12.6)	4 (12.1)
Large deletions	4 (1.7)	-	41 (7.5)	6 (6.3)	9 (2.5)	-	9 (2.7)	-	6 (3.1)	2 (6.1)
Small Insertions	16 (7.3)	-	45 (8.1)	7 (7.4)	27 (7.4)	2 (5.2)	5 (1.5)	-	6 (3.1)	2 (6.1)
Large Insertions	1 (0.4)	-	4 (0.7)	-	5 (1.4)	-	2 (0.6)	-	-	-
Small indels	1 (0.4)	-	11 (1.9)	1 (1.0)	3 (0.8)	-	2 (0.6)	-	2 (1.0)	-
Complex rearrangements	3 (1.3)	-	15 (2.8)	***	1 (0.3)	-	3 (0.9)	-	-	-
Regulatory region	1 (0.4)	-	-	-	-	-	-	-	-	-
All	223 (100)	45 (100)	553 (100)	95 (100)	362 (100)	38 (100)	326 (100)	22 (100)	192 (100)	33 (100)

Source: The authors (2017).

HGMD: Human Genome Mutation Database; * Different variants described; ** Different variants identified in this study; *** 12 complex rearrangements and 12 inversions were not considered.

4 DISCUSSION

In MPS I patients, 64% of the identified variants were substitutions, present in almost 89% of the investigated alleles. No significant difference was observed in the ratio of alleles with non-sense and missense variants among the substitutions. There were also no regional differences in the proportion of variants in MPS I. In MPS II patients, 95 different variants were found in the 179 alleles surveyed, confirming the considerable allelic heterogeneity reported in a previous study (BRUSIUS-FACCHIN *et al.*, 2014). Although substitutions were the most common variants, small and large deletions were also frequent, totaling 20% of the variants identified in this group. There were no regional differences in the proportion of variants. In MPS IIIA, small deletions were as frequent as substitutions, unlike MPS IIIB, in which most variants were substitutions, and MPS IIIC, in which splice site variants appeared in 45% of the alleles. Most of the small deletions in MPS IIIB, as well as the small insertions in MPS IIIC, were from the South. Substitutions were also the predominant variant type in MPS IVA, appearing in almost 98% of the analyzed alleles. All substitutions were classified as missense. A total of 22 variants were found in the 132 alleles surveyed, which appeared in homozygosis in almost 80% of the patients. No regional differences were observed in the proportion of variants. Substitutions were the most frequent allelic variant in MPS VI. Splice site variants were also observed in 70 alleles, totaling 31% of the surveyed alleles. Despite the high proportion, only two different variants were identified in these 70 alleles. This differs from the results of Petry *et al.*, who found large deletions to be the most frequent variant (PETRY *et al.*, 2003). A high frequency of splice site variants was observed in patients from the Northeast, very similar to that of substitutions, which are already known to be common in this region (COSTA-MOTTA *et al.*, 2014).

It is important to emphasize that we excluded patients we knew to be from the same family from the analysis, considering only index cases. However, some patients' records reported other family cases without providing the relative's name, and we were occasionally unable to identify this family member. Therefore, we cannot categorically state that all included patients belong to different families.

5 CONCLUSIONS

Our general conclusion is that the molecular genetic profile of Brazilian MPS patients is similar to that reported in the HGMD, emphasizing that substitutions appear more frequently in MPS I, II, IIIB, IVA and VI. Missense substitutions were more frequent than non-sense substitutions, except in MPS I, in which their proportions were similar. Regarding the regional distribution, it appears that small deletions in MPS IIIB and small insertions in MPS IIIC are more common in the South. In the MPS VI, the results suggest that splice site variants are more frequent in the Northeast. Although most patients were homozygous, a great deal of allelic heterogeneity was observed in all types of MPS, suggesting that genotyping programs based on frequent mutation research would not be a suitable strategy for this country. Although this study has comprehensively evaluated the molecular genetic profile of MPS in Brazil, further studies are needed to determine the most frequent variants in each type of MPS. Nevertheless, the high proportion of substitution variants is an important finding, indicating that this group of diseases should be considered as a target for novel therapies designed for missense mutations (pharmacological chaperones, for example) or non-sense mutations (stop codon read-through), for example.

SUPPORT

This study was supported by Rede MPS Brasil, INAGEMP (project CNPq 573993/2008-4) and FIPE (project 16-0398).

ACKNOWLEDGMENTS

The authors would like to thank the Graduate Program in Child and Adolescent Health of the Universidade Federal do Rio Grande do Sul, the Instituto Nacional de Genética Médica Populacional and the Medical Genetics Service of the Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

REFERENCES

- BRUSIUS-FACCHIN, A. C. *et al.* Mucopolysaccharidosis type II: Identification of 30 novel mutations among Latin American patients. **Mol. Genet. Metab.**, v. 111, n. 2, p. 133-138, 2014.
- CLARKE, L. A. Mucopolysaccharidosis Type I. **GeneReviews**, 31 out. 2002. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1162/>. Acesso em: 1 out. 2017.
- COOPER, D. N. *et al.* **The human gene mutation database**. U.K.: Cardiff, 2013. Disponível em: <http://www.hgmd.cf.ac.uk/ac/index.php>. Acesso em: 1 out. 2017.
- COSTA-MOTTA, F. M. *et al.* A community-based study of mucopolysaccharidosis type VI in Brazil: The influence of founder effect, endogamy and consanguinity. **Hum. Hered.**, v. 77, n. 1-4, p. 189-96, 2014.
- COSTA-MOTTA, F. M. *et al.* Genetic studies in a cluster of mucopolysaccharidosis type VI patients in Northeast Brazil. **Mol. Genet. Metab.**, v. 104, n. 4, p. 603-7, 2011.
- DEN DUNNEN, J. T. *et al.* HGVS recommendations for the description of sequence variants: 2016 Update. **Hum. Mutat.**, v. 37, n. 6, p. 564-9, 2016.
- DUNG, V. C. *et al.* Mucopolysaccharidosis IVA: Correlation between genotype, phenotype and keratan sulfate levels. **Mol. Genet. Metab.**, v. 110, n. 1-2, p. 129-38, 2013.

- FAN, X. *et al.* Identification of the gene encoding the enzyme deficient in mucopolysaccharidosis IIIC (Sanfilippo disease type C). **Am. J. Hum. Genet.**, v. 79, n. 4, p. 738-44, 2006.
- FROISSART, R.; DA SILVA, I. M.; MAIRE, I. Mucopolysaccharidosis type II: An update on mutation spectrum. **Acta Paediatr. Suppl.**, v. 96, n. 455, p. 71-7, 2007.
- GIUGLIANI, R. *et al.* Emerging drugs for the treatment of mucopolysaccharidoses. **Expert Opin. Emerg. Drugs**, v. 21, n. 1, p. 9-26, 2016.
- GIUGLIANI, R.; HARMATZ, P.; WRAITH, J. E. Management guidelines for mucopolysaccharidosis VI. **Pediatrics**, v. 120, n. 2, p. 405-18, 2007.
- KHAN, S. A. *et al.* Epidemiology of mucopolysaccharidoses. **Mol. Genet. Metab.**, v. 121, n. 3, p. 227-240, 2017.
- LITJENS, T.; HOPWOOD, J. J. Mucopolysaccharidosis type VI: Structural and clinical implications of mutations in N-acetylgalactosamine-4-sulfatase. **Hum. Mutat.**, v. 18, n. 4, p. 282-95, 2001.
- 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.
- MATTE, U. *et al.* Unique frequency of known mutations in Brazilian MPS I patients. **Am. J. Med. Genet.**, v. 90, n. 2, p. 108-9, 2000.
- MORRONE, A. *et al.* Molecular testing of 163 patients with Morquio A (Mucopolysaccharidosis IVA) identifies 39 novel GALNS mutations. **Mol. Genet. Metab.**, v. 112, n. 2, p. 160-70, 2014.
- NEUFELD, E.; MUENZER, J. The mucopolysaccharidosis. *In: SCRIVER, C. et al. (Eds.). The metabolic and molecular basis of inherited disease.* New York: McGraw-Hill, 2001. p. 3421-3452.
- PETRY, M. F. *et al.* Identification of a novel mutation in the ARSB gene that is frequent among Brazilian MPSVI patients. **Genet. Test.**, v. 7, n. 4, p. 347-9, 2003.
- REGIER, D. S.; OETGEN, M.; TANPAIBOON, P. Mucopolysaccharidosis Type IVA. *In: PAGON, R. A. et al. (Eds.). GeneReviews(R).* Seattle (WA): University of Washington, 1993.
- SCARPA, M. Mucopolysaccharidosis Type II. *In: PAGON, R. A. et al. (Eds.). Gene Reviews.* Seattle (WA): University of Washington, 1993.
- SCOTT, H. S. *et al.* Cloning of the sulphamidase gene and identification of mutations in Sanfilippo A syndrome. **Nat. Genet.**, v. 11, n. 4, p. 465-7, 1995.
- 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.

VAIRO, F. *et al.* Diagnostic and treatment strategies in mucopolysaccharidosis VI. **Appl. Clin. Genet.**, v. 8, p. 245-55, 2015.

ZHAO, H. G. *et al.* The molecular basis of Sanfilippo syndrome type B. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, v. 93, n. 12, p. 6101-5, 1996.

7 CONCLUSÕES

7.1 EM RELAÇÃO AO OBJETIVO GERAL DESTE DO ESTUDO

Estimar a frequência das MPS no Brasil: A frequência foi estimada e apresentada como prevalência ao nascimento. Utilizando o método empregado pela maioria dos trabalhos publicados, ou seja, considerando os casos diagnosticados em relação aos nascidos vivos, o valor encontrado foi 1,39 casos em 100.000 NV (ou 1:71.505). Já a estimativa a partir da frequência da variante patogênica no gene *IDUA* em indivíduos saudáveis, encontrou um valor, pelo menos, três vezes maior, a saber, 4,62 casos em 100.000 NV, o que representa 1 caso a cada 21.598 NV. Este valor está entre os mais altos quando comparado a outros países, ficando um pouco abaixo, apenas, do valor encontrado em Portugal.

7.2 EM RELAÇÃO AOS OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Estimar a FR dos diferentes tipos de MPS no Brasil: O tipo mais frequentemente diagnosticado foi o tipo II, seguido dos tipos MPS VI e I. A MPS tipo II também é o tipo mais frequente na Colúmbia Britânica, na Austrália, na Alemanha, na Estônia, em Taiwan, na Coreia do Sul e no Japão.

Estimar a frequência total e a FR dos diferentes tipos de MPS nas diferentes regiões do Brasil: A maior parte dos pacientes identificados no estudo vinha da região Sudeste, seguida da região Nordeste, o que é esperado uma vez que estas são as regiões mais populosas do país. A MPS II é frequente em todas as regiões do país, enquanto as MPS tipo I e IIIB são mais frequentes na região Sul e a MPS VI é mais comum na região Nordeste.

Avaliar a frequência de consanguinidade e de recorrência familiar nos diferentes tipos de MPS nas diferentes regiões do Brasil: Com exceção da MPS II, a frequência de consanguinidade entre os diferentes tipos de MPS foi parecida. Quanto às regiões, maior parte dos pacientes com consanguinidade positiva vinha das regiões Sudeste e Nordeste, que são as regiões de origem da maioria dos pacientes incluídos neste estudo.

Avaliar o perfil molecular dos diferentes tipos de MPS nas diferentes regiões do Brasil: O perfil genético-molecular dos pacientes brasileiros com MPS é semelhante ao registrado nos bancos de dados, com destaque para as substituições aparecendo com maior frequência nas MPS I, II, IIIB, IVA e VI. Quanto à distribuição por região do país, pequenas deleções na MPS IIIB e pequenas inserções na MPS IIIC foram mais frequentes região Sul, enquanto variantes em sítio de *splicing* na MPS VI apareceram com maior frequência no Nordeste. Foi observada uma grande heterogeneidade alélica em todos os tipos de MPS, apesar de a maior parte dos pacientes ser homozigota para as variantes.

8 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Avaliar de forma fidedigna a frequência de uma doença rara como as MPS em um país de dimensões continentais como o Brasil, onde há poucos centros de referência no diagnóstico e manejo desta doença, foi um desafio. De todos os estudos publicados até o momento, este foi o primeiro, em escala global, a estimar a frequência das MPS a partir da frequência de uma variante em indivíduos saudáveis, e o primeiro a estimar de forma abrangente a frequência das MPS no Brasil. Apesar de os resultados obtidos neste trabalho serem apenas uma estimativa – razão pela qual devem ser interpretados com cautela – o valor encontrado foi superior aos resultados relatados na maioria dos estudos. Embora alguns fatores interfiram nesta estimativa, como atraso no diagnóstico, subdiagnóstico e a utilização de voluntários de um único estado do Brasil para o estudo genético em pessoas saudáveis – e a própria metodologia inovadora de análise - os resultados sugerem que o Brasil seja um dos países com maior frequência das MPS no mundo. O método utilizado para estimar a prevalência ao nascimento de um grupo de doenças genéticas, baseado na frequência de heterozigotos para uma variante específica no gene, abre a possibilidade de realizar estudos semelhantes com outras doenças ou em outras partes do mundo.

Em relação à avaliação genético-molecular dos pacientes brasileiros, observamos uma grande heterogeneidade de variantes nos diferentes tipos de MPS, porém, com um tipo de variante (as substituições) bastante frequente e para a qual há novas abordagens terapêuticas sendo estudadas. Embora este estudo tenha avaliado de maneira abrangente a frequência e o perfil genético-molecular das MPS no Brasil, estudos complementares são necessários para avaliar diferenças regionais quanto à frequência dos tipos de MPS e de variantes específicas.

REFERÊNCIAS

- APPLEGARTH, D. A. *et al.* Incidence of inborn errors of metabolism in British Columbia, 1969-1996. **Pediatrics**, v. 105, n. 1, p. e10, 2000.
- ARN, P. *et al.* High rate of postoperative mortality in patients with mucopolysaccharidosis I: Findings from the MPS I Registry. **J. Pediatr. Surg.**, v. 47, n. 3, p. 477-84, 2012.
- BAEHNER, F. *et al.* Cumulative incidence rates of the mucopolysaccharidoses in Germany. **J. Inherit. Metab. Dis.**, v. 28, n. 6, p. 1011-7, 2005.
- BALDO, G. *et al.* Gene delivery strategies for the treatment of mucopolysaccharidoses. **Expert. Opin. Drug. Deliv.**, v. 11, n. 3, p. 449-59, 2014.
- BARTH, M. L. *et al.* Application of a flowchart for the detection of lysosomal storage diseases in 105 high-risk Brazilian patients. **Am. J. Med. Genet.**, v. 37, n. 4, p. 534-8, 1990.
- BEIGUELMAN, B. **Genética de populações humanas**. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética, 2008.
- BEN TURKIA, H. *et al.* Incidence of mucopolysaccharidoses in Tunisia. **Tunis. Med.**, v. 87, n. 11, p. 782-5, 2009.
- BERTOLA, F. *et al.* IDUA mutational profiling of a cohort of 102 European patients with mucopolysaccharidosis type I: Identification and characterization of 35 novel α -L-iduronidase (IDUA) alleles. **Hum. Mutat.**, v. 32, n. 6, p. E2189-210, 2011.
- BESLEY, G. T. *et al.* First trimester diagnosis of inherited metabolic disease: experience in the UK. **J. Inherit. Metab. Dis.**, v. 14, n. 2, p. 128-33, 1991.
- BOADO, R. J. *et al.* Genetic engineering of a lysosomal enzyme fusion protein for targeted delivery across the human blood-brain barrier. **Biotechnol. Bioeng.**, v. 99, n. 2, p. 475-84, 2008.
- 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 Marrow Transplant**, v. 40, n. 3, p. 225-33, 2007.
- BOELEN, J. J. Trends in haematopoietic cell transplantation for inborn errors of metabolism. **J. Inherit. Metab. Dis.**, v. 29, n. 2-3, p. 413-20, 2006.
- BRAILSFORD, J. Chondro-osteo-dystrophy. Roentgenographic & clinical features of a child with dislocation of vertebrae. **Am. J. Surg.**, v. 7, p. 404-410, 1929.
- BRUSIUS-FACCHIN, A. C. *et al.* Mucopolysaccharidosis type II: Identification of 30 novel mutations among Latin American patients. **Mol. Genet. Metab.**, v. 111, n. 2, p. 133-138, 2014.
- BURIN, M. G. *et al.* Investigation of lysosomal storage diseases in nonimmune hydrops fetalis. **Prenat. Diagn.**, v. 24, n. 8, p. 653-7, 2004.

CHAMOLES, N. A. *et al.* Hurler-like phenotype: Enzymatic diagnosis in dried blood spots on filter paper. **Clin. Chem.**, v. 47, n. 12, p. 2098-102, 2001.

CHIH-KUANG, C. *et al.* MPS screening methods, the Berry spot and acid turbidity tests, cause a high incidence of false-negative results in sanfilippo and morquio syndromes. **J. Clin. Lab. Anal.**, v. 16, n. 5, p. 253-8, 2002.

CHO, S. Y. *et al.* An overview of Korean patients with mucopolysaccharidosis and collaboration through the Asia Pacific MPS Network. **Intractable Rare Dis Res**, v. 3, n. 3, p. 79-86, 2014.

CIVALLERO, G. *et al.* Twelve different enzyme assays on dried-blood filter paper samples for detection of patients with selected inherited lysosomal storage diseases. **Clin. Chim. Acta**, v. 372, n. 1-2, p. 98-102, 2006.

COELHO, J. C. *et al.* Selective screening of 10,000 high-risk Brazilian patients for the detection of inborn errors of metabolism. **Eur. J. Pediatr.**, v. 156, n. 8, p. 650-4, 1997.

COSTA-MOTTA, F. M. *et al.* A community-based study of mucopolysaccharidosis type VI in Brazil: The influence of founder effect, endogamy and consanguinity. **Hum. Hered.**, v. 77, n. 1-4, p. 189-96, 2014.

COSTA-MOTTA, F. M. *et al.* Genetic studies in a cluster of mucopolysaccharidosis type VI patients in Northeast Brazil. **Mol. Genet. Metab.**, v. 104, n. 4, p. 603-7, 2011.

DANGEL, J. H. Cardiovascular changes in children with mucopolysaccharide storage diseases and related disorders--clinical and echocardiographic findings in 64 patients. **Eur. J. Pediatr.**, v. 157, n. 7, p. 534-8, 1998.

DE JONG, J. G. *et al.* Dimethylmethylene blue-based spectrophotometry of glycosaminoglycans in untreated urine: A rapid screening procedure for mucopolysaccharidoses. **Clin. Chem.**, v. 35, n. 7, p. 1472-7, 1989.

DE RUIJTER, J. *et al.* Genistein in Sanfilippo disease: A randomized controlled crossover trial. **Ann. Neurol.**, v. 71, n. 1, p. 110-20, 2012.

ERLICH, H. Basic methodology. *In: PCR technology: Principles and applications for DNA amplification.* Londres: Palgrave Macmillan, 1989. p. 1-5.

FEDERHEN, A. *et al.* Minimal estimated incidence of MPS I, II, IV-A and VI in Brazil and comparison to the rest of the world. *In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON MPS AND RELATED DISEASES, 14th., 2016, Bonn, Germany. Proceedings [...].* Bonn, Germany: [s. l.], 2016. p. 1-82.

GELB, M. H. *et al.* Direct multiplex assay of enzymes in dried blood spots by tandem mass spectrometry for the newborn screening of lysosomal storage disorders. **J. Inherit. Metab. Dis.**, v. 29, n. 2-3, p. 397-404, 2006.

GIUGLIANI, R. *et al.* Emerging drugs for the treatment of mucopolysaccharidoses. **Expert. Opin. Emerg. Drugs.**, v. 21, n. 1, p. 9-26, 2016.

- GIUGLIANI, R. *et al.* Errores inatos del metabolismo lisosomal. Parte I: Mucopolisacaridosis. *In: COLOMBO, M. et al. (Eds.). Errores innatos en el metabolismo del niño.* 4. ed. atual. Santiago: Editorial Universitaria, 2017. p. 343-382.
- GIUGLIANI, R. *et al.* Management guidelines for mucopolysaccharidosis VI. **Pediatrics**, v. 120, n. 2, p. 405-18, 2007.
- GIUGLIANI, R. *et al.* Mucopolysaccharidosis I, II, and VI: Brief review and guidelines for treatment. **Genet. Mol. Biol.**, v. 33, n. 4, p. 589-604, 2010.
- GIUGLIANI, R. Mucopolysaccharidoses: From understanding to treatment, a century of discoveries. **Genet. Mol. Biol.**, v. 35, n. 4 (suppl), p. 924-31, 2012a.
- GIUGLIANI, R. Newborn screening for lysosomal diseases: Current status and potential interface with population medical genetics in Latin America. **J. Inherit. Metab. Dis.**, v. 35, n. 5, p. 871-7, 2012b.
- GÓMEZ, A. M. *et al.* [Estimation of the mucopolysaccharidoses frequencies and cluster analysis in the Colombian provinces of Cundinamarca and Boyacá]. **Biomedica**, v. 32, n. 4, p. 602-9, 2012.
- HARMATZ, P. *et al.* Enzyme replacement therapy for mucopolysaccharidosis VI: A phase 3, randomized, double-blind, placebo-controlled, multinational study of recombinant human N-acetylgalactosamine 4-sulfatase (recombinant human arylsulfatase B or rhASB) and follow-on, open-label extension study. **J. Pediatr.**, v. 148, n. 4, p. 533-539, 2006.
- HARRIS, P. A. *et al.* Research electronic data capture (REDCap)--a metadata-driven methodology and workflow process for providing translational research informatics support. **J. Biomed. Inform.**, v. 42, n. 2, p. 377-81, 2009.
- HENDRIKSZ, C. J. *et al.* Efficacy and safety of enzyme replacement therapy with BMN 110 (elosulfase alfa) for Morquio A syndrome (mucopolysaccharidosis IVA): A phase 3 randomised placebo-controlled study. **J. Inherit. Metab. Dis.**, v. 37, n. 6, p. 979-90, 2014.
- HERON, B. *et al.* Incidence and natural history of mucopolysaccharidosis type III in France and comparison with United Kingdom and Greece. **Am. J. Med. Genet. A.**, v. 155a, n. 1, p. 58-68, 2011.
- JONES, S. A. *et al.* A phase 1/2 study of intrathecal heparan-N-sulfatase in patients with mucopolysaccharidosis IIIA. **Mol. Genet. Metab.**, v. 118, n. 3, p. 198-205, 2016.
- JURECKA, A. *et al.* Mucopolysaccharidosis type VI in Russia, Kazakhstan, and Central and Eastern Europe. **Pediatr. Int.**, v. 56, n. 4, p. 520-5, 2014.
- JURECKA, A. *et al.* Prevalence rates of mucopolysaccharidoses in Poland. **J. Appl. Genet.**, v. 56, n. 2, p. 205-10, 2015.
- KAN, S. H. *et al.* Delivery of an enzyme-IGFII fusion protein to the mouse brain is therapeutic for mucopolysaccharidosis type IIIB. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, v. 111, n. 41, p. 14870-5, 2014.

- KHAN, S. A. *et al.* Epidemiology of mucopolysaccharidoses. **Mol. Genet. Metab.**, v. 121, n. 3, p. 227-240, 2017.
- KRABBI, K. *et al.* The live-birth prevalence of mucopolysaccharidoses in Estonia. **Genet. Test. Mol. Biomarkers**, v. 16, n. 8, p. 846-9, 2012.
- KRIVIT, W. Allogeneic stem cell transplantation for the treatment of lysosomal and peroxisomal metabolic diseases. **Springer Semin. Immunopathol.**, v. 26, n. 1-2, p. 119-32, 2004.
- LAKE, B. D. *et al.* Prenatal diagnosis of lysosomal storage diseases. **Brain Pathol.**, v. 8, n. 1, p. 133-49, 1998.
- LANGE, M. C. *et al.* Bone marrow transplantation in patients with storage diseases: A developing country experience. **Arq. Neuropsiquiatr.**, v. 64, n. 1, p. 1-4, 2006.
- LIN, H. Y. *et al.* Incidence of the mucopolysaccharidoses in Taiwan, 1984-2004. **Am. J. Med. Genet. A.**, v. 149a, n. 5, p. 960-4, 2009.
- LOWRY, R. B. *et al.* An update on the frequency of mucopolysaccharide syndromes in British Columbia. **Hum. Genet.**, v. 85, n. 3, p. 389-90, 1990.
- LOWRY, R. B.; RENWICK, D. H. Relative frequency of the Hurler and Hunter syndromes. **N. Engl. J. Med.**, v. 284, n. 4, p. 221-2, 1971.
- MALM, G. *et al.* Mucopolysaccharidoses in the Scandinavian countries: Incidence and prevalence. **Acta Paediatr.**, v. 97, n. 11, p. 1577-81, 2008.
- MAROTEAUX, P. *et al.* A new dysostosis with urinary elimination of chondroitin sulfate B. **Presse. Med.**, v. 71, p. 1849-52, 1963.
- 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.
- MATTE, U. *et al.* Unique frequency of known mutations in Brazilian MPS I patients. **Am. J. Med. Genet.**, v. 90, n. 2, p. 108-9, 2000.
- MEIKLE, P. J. *et al.* Prevalence of lysosomal storage disorders. **Jama**, v. 281, n. 3, p. 249-54, 1999.
- MOAMMAR, H. *et al.* Incidence and patterns of inborn errors of metabolism in the Eastern Province of Saudi Arabia, 1983-2008. **Ann. Saudi. Med.**, v. 30, n. 4, p. 271-7, 2010.
- MOORE, D. *et al.* The prevalence of and survival in Mucopolysaccharidosis I: Hurler, Hurler-Scheie and Scheie syndromes in the UK. **Orphanet. J. Rare. Dis.**, v. 3, p. 24, 2008.
- MORQUIO, L. Sur une forme de dystrophie osseuse familiale. **Arch. Med. Enfants**, v. 32, p. 129-135, 1929.
- MUENZER, J. *et al.* A phase I/II study of intrathecal idursulfase-IT in children with severe mucopolysaccharidosis II. **Genet. Med.**, v. 18, n. 1, p. 73-81, 2016.

MUENZER, J. *et al.* A phase II/III clinical study of enzyme replacement therapy with idursulfase in mucopolysaccharidosis II (Hunter syndrome). **Genet. Med.**, v. 8, n. 8, p. 465-73, 2006.

MUNOZ-ROJAS, M. V. *et al.* Intrathecal administration of recombinant human N-acetylgalactosamine 4-sulfatase to a MPS VI patient with pachymeningitis cervicalis. **Mol. Genet. Metab.**, v. 99, n. 4, p. 346-50, 2010.

MUNOZ-ROJAS, M. V. *et al.* Intrathecal enzyme replacement therapy in a patient with mucopolysaccharidosis type I and symptomatic spinal cord compression. **Am. J. Med. Genet. A.**, v. 146a, n. 19, p. 2538-44, 2008.

NATOWICZ, M. R. *et al.* Clinical and biochemical manifestations of hyaluronidase deficiency. **N. Engl. J. Med.**, v. 335, n. 14, p. 1029-33, 1996.

NELSON, J. *et al.* Incidence of the mucopolysaccharidoses in Western Australia. **Am. J. Med. Genet. A.**, v. 123a, n. 3, p. 310-3, 2003.

NELSON, J. Incidence of the mucopolysaccharidoses in Northern Ireland. **Hum. Genet.**, v. 101, n. 3, p. 355-8, 1997.

NEUFELD, E.; MUENZER, J. The mucopolysaccharidosis. *In: SCRIVER, C. et al. (Eds.). The metabolic and molecular basis of inherited disease.* New York: McGraw-Hill, 2001. p. 3421-52.

OSHIMA, A. *et al.* Cloning, sequencing, and expression of cDNA for human beta-glucuronidase. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, v. 84, n. 3, p. 685-9, 1987.

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. Metab.**, v. 91, n. 1, p. 37-47, 2007.

PINTO, R. *et al.* Prevalence of lysosomal storage diseases in Portugal. **Eur. J. Hum. Genet.**, v. 12, n. 2, p. 87-92, 2004.

POORTHUIS, B. J. *et al.* The frequency of lysosomal storage diseases in The Netherlands. **Hum. Genet.**, v. 105, n. 1-2, p. 151-6, 1999.

POUPETOVÁ, H. *et al.* The birth prevalence of lysosomal storage disorders in the Czech Republic: Comparison with data in different populations. **J. Inherit. Metab. Dis.**, v. 33, n. 4, p. 387-96, 2010.

PRASAD, V. K.; KURTZBERG, J. Transplant outcomes in mucopolysaccharidoses. **Semin. Hematol.**, v. 47, n. 1, p. 59-69, 2010.

PUCKETT, Y. *et al.* Epidemiology of mucopolysaccharidoses (MPS) in the United States: Challenges and opportunities. **Mol. Genet. Metab.**, v. 120, n. 1, p. S111, 2017.

SANFILIPPO, S. *et al.* Mental retardation associated with acid mucopolysacchariduria (heparin sulfate type). **J. Pediat.**, v. 63, p. 837-838, 1963.

SCHAAP, T.; BACH, G. Incidence of mucopolysaccharidoses in Israel: is Hunter disease a "Jewish disease"? **Hum. Genet.**, v. 56, n. 2, p. 221-3, 1980.

SCHEIE, H. G. *et al.* A newly recognized forme fruste of Hurler's disease (gargoylism). **Am. J. Ophthalmol.**, v. 53, p. 753-69, 1962.

SLY, W. S. *et al.* Beta glucuronidase deficiency: Report of clinical, radiologic, and biochemical features of a new mucopolysaccharidosis. **J. Pediatr.**, v. 82, n. 2, p. 249-57, 1973.

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. 286-94, 2003.

VELLODI, A. *et al.* Bone marrow transplantation for mucopolysaccharidosis type I: Experience of two British centres. **Arch. Dis. Child**, v. 76, n. 2, p. 92-9, 1997.

VIEIRA, T. *et al.* Mucopolysaccharidoses in Brazil: What happens from birth to biochemical diagnosis? **Am. J. Med. Genet. A.**, v. 146a, n. 13, p. 1741-7, 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. 872-7, 2005.

WHITLEY, C. B. *et al.* Urinary glycosaminoglycan excretion quantified by an automated semimicro method in specimens conveniently transported from around the globe. **Mol. Genet. Metab.**, v. 75, n. 1, p. 56-64, 2002.

WRAITH, J. E. *et al.* Enzyme replacement therapy for mucopolysaccharidosis I: A randomized, double-blinded, placebo-controlled, multinational study of recombinant human alpha-L-iduronidase (laronidase). **J. Pediatr.**, v. 144, n. 5, p. 581-8, 2004.

YOUNG, I. D.; HARPER, P. S. Incidence of Hunter's syndrome. **Hum. Genet.**, v. 60, n. 4, p. 391-2, 1982.

APÊNDICE A – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido utilizado no estudo em voluntários saudáveis

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Título do Estudo: Identificação de heterozigotos para a Mucopolissacaridose tipo I: investigação da mutação W402X em voluntários doadores de sangue no Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

Pesquisador responsável: Prof. Dr. Roberto Giugliani

Você está sendo convidado a participar do projeto de pesquisa intitulado **Identificação de heterozigotos para a Mucopolissacaridose tipo I: investigação da mutação W402X em voluntários doadores de sangue no Hospital de Clínicas de Porto Alegre**, desenvolvido pelo Serviço de Genética Médica do Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

Este projeto tem como objetivo a identificação de heterozigotos para uma das mutações que causa a Mucopolissacaridose tipo I (MPS I), ou seja, o estudo quer identificar na população em geral pessoas que apresentam uma alteração específica no gene desta doença.

A MPS I é uma doença genética bastante rara, cuja herança se dá de modo autossômico recessivo. Isso significa que para uma pessoa ter a doença, precisa herdar um alelo alterado (mutado) da mãe e outro alelo alterado (mutado) do pai, ou seja, precisa ter duas mutações (ser homozigoto). Apresentar apenas uma mutação (ser heterozigoto) não causa a doença, mas pode representar um risco maior de ter filhos com a doença se seu/sua companheiro/companheira também apresentar esta alteração genética.

Os pesquisadores deste estudo gostariam de coletar uma amostra do seu sangue, de aproximadamente 10 mL (2 colheres de chá), para extrair o DNA e investigar a presença da mutação W402X, que é a mutação mais frequente na MPS I. A pesquisa de heterozigotos para a MPS I na população em geral poderá ajudar a estimar a frequência desta doença e de outros tipos de MPS.

Se você concordar em participar desta pesquisa, sua amostra de sangue será utilizada neste estudo e poderá, caso você autorize, permanecer armazenada em um biorrepositório (banco de amostras que será mantido durante esta pesquisa). Após a conclusão deste estudo, a sua amostra poderá ser guardada para ser utilizada em estudos futuros para doenças genéticas, ou ser descartada imediatamente após o término deste estudo. Você pode optar em ceder a amostra apenas para este estudo ou disponibilizá-la para estudos futuros. A sua decisão não irá interferir no atendimento que você recebe no HCPA. Caso você concorde que os pesquisadores guardem a sua amostra para estudos futuros, você será contato para solicitar sua autorização antes de utilizar sua amostra para um novo estudo. Sua amostra só será utilizada para estudos futuros com um novo consentimento seu.

Iniciais do paciente: _____
Iniciais do pesquisador: _____

Você não terá nenhum custo e também não receberá qualquer tipo de pagamento pela participação neste estudo. Não há riscos esperados em relação à coleta de sangue especificamente para este estudo, uma vez que a amostra de sangue será retirada no momento em que você estiver fazendo a doação de sangue no Hemocentro do HCPA. Existe o risco de você apresentar a mutação W402X. Neste caso, você pode optar por ser contatado e informado sobre este resultado positivo. Se você quiser, também poderá ser marcada uma consulta médica no HCPA para aconselhamento genético. O benefício da sua participação neste estudo consiste em poder auxiliar a estimar a frequência da MPS I e de outras MPS no Rio Grande do Sul e no Brasil.

Caso você concorde com a participação neste estudo, sua identidade será preservada e somente os pesquisadores deste estudo terão acesso a esta informação. Você poderá fazer as perguntas que quiser antes de decidir sobre fornecer a sua amostra de sangue para este estudo.

Você também pode entrar em contato com a equipe deste estudo sempre que novas dúvidas surgirem, nos telefones (51) 3359 6340 ou (51) 9907 9390. Você também pode entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) do HCPA para buscar informações sobre o estudo ou sempre que considerar que algum dos seus direitos enquanto participante de pesquisa não esteja sendo respeitado. O telefone do CEP é (51) 3359 7640, ou você pode ir até o 2º andar do HCPA, sala 2227, de segunda à sexta, das 8h às 17h. Você pode retirar a autorização para uso do seu material a qualquer momento. Basta entrar em contato com a equipe do estudo nos telefones acima e manifestar seu desejo.

Caso você concorde com a participação nesta pesquisa, este documento deve ser assinado por você e pelo pesquisador do estudo em duas vias, sendo que uma delas permanecerá com você.

Leia atentamente e assinale com um "X" as opções que descreverem a sua vontade:

Em relação à participação nesta pesquisa:

Concordo com a participação nesta pesquisa. _____ (iniciais)

Não concordo com a participação nesta pesquisa. _____ (iniciais)

Se você concorda com a participação, por favor, leia as opções abaixo e assinale a que descrever a sua vontade. Se você não concorda com sua participação, a equipe do estudo agradece pela sua atenção.

Em relação ao uso da amostra para estudos futuros:

Autorizo que minha amostra de sangue seja utilizada neste estudo e seja armazenada para estudos futuros em doenças genéticas. _____ (iniciais)

Autorizo que minha amostra de sangue seja utilizada somente neste estudo e solicito que seja descartada após o término da pesquisa. _____ (iniciais)

Iniciais do paciente: _____
Iniciais do pesquisador: _____

Em relação ao contato e informação sobre presença da mutação W402X:

Gostaria de ser contatado e informado sobre qualquer alteração encontrada na investigação da minha amostra. _____ (iniciais)

Não gostaria de ser contatado e informado sobre qualquer alteração encontrada na investigação da minha amostra. _____ (iniciais)

DECLARAÇÃO DE CONSENTIMENTO:

Eu discuti sobre este estudo com um pesquisador da equipe do Prof. Roberto Giugliani. Entendo que a minha participação é voluntária e que posso sair do estudo a qualquer momento sem prejuízo ou perda de benefícios aos quais tenho direito. Tive tempo suficiente para avaliar este documento e para considerar se devo ou não participar deste estudo. Entendo inteiramente as informações apresentadas neste termo de consentimento e todas as minhas perguntas (se houver) foram adequadamente respondidas. Entendo a finalidade, natureza, riscos, benefícios e alternativas (incluindo a não participação) do estudo, conforme foram apresentadas e descritas a mim neste termo.

Nome em letra de forma do participante do estudo

Assinatura do participante do estudo

Data

Declaro que forneci ao participante acima as informações sobre este estudo relativas ao objetivo, método, riscos e benefícios da participação na pesquisa e respondi a todas as perguntas (se houverem) relacionadas ao estudo.

Nome do investigador ou seu representante

Assinatura do investigador ou seu representante

Data

INFORMAÇÕES SOBRE O PARTICIPANTE DE PESQUISA:

Nome completo: _____

Sexo: _____ Data de nascimento: _____ Local de nascimento: _____

Endereço: _____ Cidade: _____

Estado: _____ CEP: _____ Telefone: _____

Email: _____

Iniciais do paciente: _____

Iniciais do pesquisador: _____

**ANEXO A – Parecer de aprovação do CEP/HCPA da pesquisa dos pacientes
diagnosticados com MPS**

HOSPITAL DE CLÍNICAS DE
PORTO ALEGRE - HCPA /
UFRGS



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: MUCOPOLISSACARIDOSES: UM ESTUDO ABRANGENTE SOBRE A EPIDEMIOLOGIA DA DOENÇA NO BRASIL.

Pesquisador: ROBERTO GIUGLIANI

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 55935616.5.0000.5327

Instituição Proponente: Hospital de Clínicas de Porto Alegre

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.627.578

Apresentação do Projeto:

As Mucopolissacaridoses (MPS) são um grupo de DL caracterizadas pelo acúmulo Intralissossômico de glicosaminoglicanos (GAGs), secundário à deficiência na atividade de uma enzima lisossômica envolvida na degradação dessas moléculas. Embora já se tenha um bom conhecimento acerca das bases bioquímicas e moleculares das MPS, há poucos dados disponíveis sobre a frequência destas doenças. Isso se dá devido à raridade destas condições, o longo período de observação necessário para identificar casos suficientes que permitam estimar uma frequência fidedigna e a descrição incompleta dos casos. No Brasil, não há qualquer estudo publicado sobre a frequência das MPS.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Estimar a frequência das MPS no Brasil.

Objetivo Secundário:

- 1) Estimar a frequência relativa dos diferentes tipos de MPS no Brasil.
- 2) Estimar a frequência total e a frequência relativa dos diferentes tipos de MPS nas diferentes regiões do Brasil.
- 3) Avaliar a frequência de consanguinidade e de recorrência familiar nos diferentes tipos de MPS nas diferentes regiões do Brasil.

Endereço: Rua Ramiro Barcelos 2.350 sala 2227 F
Bairro: Bom Fim CEP: 90.035-003
UF: RS Município: PORTO ALEGRE
Telefone: (51)3369-7640 Fax: (51)3369-7640 E-mail: cephcpa@hcpa.edu.br

HOSPITAL DE CLÍNICAS DE
PORTO ALEGRE - HCPA /
UFRGS



Continuação do Parecer: 1.627.576

4) Avaliar o perfil molecular dos diferentes tipos de MPS nas diferentes regiões do Brasil, e comparar com os dados disponíveis na literatura para outros países e regiões do mundo.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos: Não estão previstos riscos físicos aos participantes desta pesquisa pelo fato de serem utilizadas somente informações já disponíveis em bancos de dados sobre a doença. Contudo, sempre há risco de quebra de confidencialidade em projetos que acessam banco de dados ou prontuários.

Benefícios: Estudos sobre a incidência e a prevalência de doenças lisossômicas são de interesse de geneticistas, autoridades da saúde, pacientes e suas famílias, associações de pacientes e de laboratórios envolvidos no diagnóstico e no desenvolvimento de terapias para estas condições. A revisão sistemática dos registros da Rede MPS Brasil, com cruzamento de informações para eliminar a duplicidade, com a associação de ferramentas genético-moleculares e com a avaliação simultânea de bases de dados disponíveis em algumas associações de pacientes, permitiria delinear um panorama abrangente sobre a incidência e prevalência das MPS em nosso país, o que seria importante para fornecer subsídios para dimensionar as necessidades de atendimento, prevenção e tratamento nas diferentes regiões.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Estudo retrospectivo onde serão coletados dados de duas fontes: a Rede MPS Brasil com sede no Serviço de Genética Médica do HCPA e Aliança Brasil de Mucopolissacaridose. Os dados serão cruzados para evitar duplicidade de registro, com objetivo final de estabelecer a incidência dos diferentes tipos de MPS no Brasil.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Foi apresentado Termo de Compromisso para Utilização de Dados.
Como trata-se de estudo retrospectivo há dispensa do uso de TCLE.

Recomendações:

Nada a recomendar.

Endereço: Rua Ramiro Barcelos 2.380 sala 2227 F
Bairro: Bom Fim CEP: 91.035-903
UF: RS Município: PORTO ALEGRE
Telefone: (51)3369-7640 Fax: (51)3369-7640 E-mail: cephcpa@hcpa.edu.br

HOSPITAL DE CLÍNICAS DE
PORTO ALEGRE - HCPA /
UFRGS



Continuação do Parecer: 1.627.576

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

As pendências emitidas para o projeto no parecer 1.555.567 foram adequadamente respondidas pelos pesquisadores, conforme carta de respostas adicionada em 15/06/2016. Não apresenta novas pendências.

Considerações Finais a critério do CEP:

Lembramos que a presente aprovação (versão projeto e TCLE de 15/06/2016 e demais documentos que atendem às solicitações do CEP) refere-se apenas aos aspectos éticos e metodológicos do projeto. Para que possa ser realizado o mesmo deve estar cadastrado no sistema WebGPPG em razão das questões logísticas e financeiras.

O projeto somente poderá ser iniciado após aprovação final da Comissão Científica, através do Sistema WebGPPG.

Qualquer alteração nestes documentos deverá ser encaminhada para avaliação do CEP. Informamos que obrigatoriamente a versão do TCLE a ser utilizada deverá corresponder na íntegra à versão vigente aprovada.

A comunicação de eventos adversos classificados como sérios e inesperados, ocorridos com pacientes incluídos no centro HCPA, assim como os desvios de protocolo quando envolver diretamente estes pacientes, deverá ser realizada através do Sistema GEO (Gestão Estratégica Operacional) disponível na Intranet do HCPA.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_707473.pdf	15/06/2016 17:26:33		Aceito
Outros	Carta_de_resposta_as_pendencias_PD F.pdf	15/06/2016 17:26:07	Andressa Federhen	Aceito
Outros	Carta_de_resposta_as_pendencias_Word.docx	15/06/2016 17:24:10	Andressa Federhen	Aceito
Declaração de Pesquisadores	Carta_de_Concordancia_APMPs_Word.docx	15/06/2016 17:23:18	Andressa Federhen	Aceito
Declaração de Pesquisadores	Carta_de_Concordancia_APMPs_PDF.pdf	15/06/2016 17:22:04	Andressa Federhen	Aceito
Projeto Detalhado	Projeto_de_pesquisa_15Jun2016_alte	15/06/2016	Andressa Federhen	Aceito

Endereço: Rua Ramiro Barcelos 2.350 sala 2227 F
Bairro: Bom Fim CEP: 91.035-903
UF: RS Município: PORTO ALEGRE
Telefone: (51)3360-7640 Fax: (51)3360-7640 E-mail: cephcpa@hcpa.edu.br

HOSPITAL DE CLÍNICAS DE
PORTO ALEGRE - HCPA /
UFRGS



Continuação do Parecer: 1.627.578

/ Brochura Investigador	racoes_destacadas.docx	17:21:25	Andressa Federhen	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_de_pesquisa_15Jun2016_versao_limpa.docx	15/05/2016 17:20:58	Andressa Federhen	Aceito
Declaração de Pesquisadores	Formulario_de_delegacao_de_funcoes.pdf	05/05/2016 11:20:53	Andressa Federhen	Aceito
Declaração de Pesquisadores	Termo_de_compromisso_para_uso_de_dados.pdf	05/05/2016 11:20:21	Andressa Federhen	Aceito
Folha de Rosto	Folha_de_rosto.pdf	05/05/2016 11:19:15	Andressa Federhen	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

PORTO ALEGRE, 05 de Julho de 2016

Assinado por:
José Roberto Goldim
(Coordenador)

Endereço: Rua Ramiro Barcelos 2.350 sala 2227 F
Bairro: Bom Fim CEP: 91.035-903
UF: RS Município: PORTO ALEGRE
Telefone: (51)3359-7640 Fax: (51)3359-7640 E-mail: cephcpa@hcpa.edu.br

ANEXO B – Parecer de aprovação do CEP/HCPA da pesquisa da variante no gene

IDUA

HOSPITAL DE CLÍNICAS DE
PORTO ALEGRE - HCPA /
UFRGS



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: IDENTIFICAÇÃO DE HETEROZIGOTOS PARA A MUCOPOLISSACARIDOSE TIPO I: INVESTIGAÇÃO DA MUTAÇÃO W402X EM VOLUNTÁRIOS DOADORES DE SANGUE NO HOSPITAL DE CLÍNICAS DE PORTO ALEGRE.

Pesquisador: ROBERTO GIUGLIANI

Área Temática:

Versão: 3

CAAE: 48501915.8.0000.5327

Instituição Proponente: Hospital de Clínicas de Porto Alegre

Patrocinador Principal: Hospital de Clínicas de Porto Alegre

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.356.803

Apresentação do Projeto:

O projeto "Identificação de Heterozigotos para a Mucopolissacaridose Tipo I: Investigação da Mutação W402x em Voluntários Doadores de Sangue no Hospital de Clínicas de Porto Alegre" é um estudo prospectivo de detecção de heterozigotos para a mutação mais frequente de MPS I na população em geral. Este estudo pretende identificar heterozigotos para a mutação W402X em amostras de 1000 voluntários doadores de sangue no Banco de Sangue do HCPA e, a partir desta frequência, estimar a frequência de pacientes com a doença.

Objetivo da Pesquisa:

OBJETIVO GERAL

Investigar a presença da mutação W402X na população do Rio Grande do Sul.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 1) Comparar a frequência de heterozigotos para a mutação W402X com a frequência descrita na literatura.
- 2) Estimar a frequência desta mutação na população do Rio Grande do Sul.
- 3) Estimar, a partir da frequência da mutação na população do Rio Grande do Sul e da frequência

Endereço: Rua Ramiro Barcelos 2.350 sala 2227 F
Bairro: Bom Fim CEP: 91.035-903
UF: RS Município: PORTO ALEGRE
Telefone: (51)3369-7640 Fax: (51)3369-7640 E-mail: cep@hcpa.ufrgs.br

HOSPITAL DE CLÍNICAS DE
PORTO ALEGRE - HCPA /
UFRGS



Continuação do Parecer: 1.358.003

relativa da mesma mutação nos pacientes da Rede MPB Brasil, a frequência da MPB I.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

Não há riscos esperados em relação à coleta de sangue especificamente para este estudo, uma vez que a amostra de sangue será retirada no momento em que o participante estiver fazendo a doação de sangue no Hemocentro do HCPA. Existe o risco de o participante apresentar a mutação W402X. Neste caso, ele pode optar por ser contatado e informado sobre este resultado positivo. Se ele quiser, também poderá ser marcada uma consulta médica no HCPA para aconselhamento genético.

Benefícios:

O benefício da participação neste estudo consiste em poder auxiliar a estimar a frequência da MPB I e de outras MPB no Rio Grande do Sul e no Brasil.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Estudos sobre a incidência e a prevalência de doenças lisossômicas são de interesse de geneticistas, autoridades da saúde, pacientes e suas famílias, associações de pacientes e de laboratórios envolvidos no diagnóstico e no desenvolvimento de terapias para estas condições. Além disso, as informações geradas neste tipo de estudo são importantes para as autoridades estimarem o peso dessas doenças para a sociedade e considerarem a implantação de programas de triagem neonatal. Por meio do estudo na população em geral de mutações frequentes nas doenças, é possível estimar a frequência destas doenças numa determinada população. A mutação W402X é a mais comumente encontrada em pacientes com MPB I e foi escolhida para ser pesquisada neste projeto.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

O projeto inclui referencial teórico, justificativa, objetivos, descrição da amostra, critérios de inclusão e exclusão, e breve descrição da metodologia e do número amostral, cronograma de atividades e referências bibliográficas. No Formulário da Plataforma Brasil consta a descrição dos riscos e benefícios. Os autores também incluíram o Formulário de Delegação de Funções, o Termo de Compromisso para Uso de Material Biológico e o TCLE.

Endereço: Rua Ramiro Barcelos 2.350 sala 2227 F
Bairro: Bom Fim CEP: 91.035-903
UF: RS Município: PORTO ALEGRE
Telefone: (51)3389-7640 Fax: (51)3389-7640 E-mail: cephcpa@hcpa.edu.br

HOSPITAL DE CLÍNICAS DE
PORTO ALEGRE - HCPA /
UFRGS



Continuação do Parecer: 1.331.835

Recomendações:

As recomendações foram respondidas pelos autores, como descrito como descrito a seguir:

1) As bibliografias utilizadas para o referencial teórico do projeto não estão totalmente atualizadas, a mais recente data de 2011. Sugiro verificar se não existem publicações mais recentes que possam contribuir para a realização do estudo.

RESPOSTA AUTORES: Foram incluídas novas referências no texto, as quais foram publicadas de 1980 a 2014. Estas referências serão utilizadas para elaboração do artigo de revisão do presente projeto.

RECOMENDAÇÃO ATENDIDA.

2) Os autores mencionam que utilizarão um equipamento da UAMP/CPRE para a realização dos experimentos, porém 2 consumíveis (Outros Materiais: "Placa de 96 poços para PCR em tempo real" e "Selos adesivos ópticos para placas de 96 poços") descritos no orçamento para uso neste equipamento só podem ser utilizados em outro similar e não no citado. Verificar quais são os corretos e rever os respectivos valores dos mesmos.

RESPOSTA AUTORES: Esta informação foi corrigida no projeto de pesquisa. Será utilizado o equipamento Stratagene Mx3000P, da Agilent Technologies, que fica no Centro de Terapia Gênica. O orçamento também foi corrigido em função da alteração do número de participantes no estudo.

RECOMENDAÇÃO ATENDIDA.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

As pendências emitidas para o projeto no parecer nº 1.331.727 foram adequadamente respondidas pelos pesquisadores, conforme carta de respostas adicionada em 23/11/2015. Não apresenta novas pendências.

Considerações Finais a critério do CEP:

Lembramos que a presente aprovação (Projeto versão 2 de 14/10/2015, TCLE versão 3.0 de 23/11/2015 e demais documentos submetidos até a presente data, que atendem às solicitações do CEP) refere-se apenas aos aspectos éticos e metodológicos do projeto. Para que possa ser realizado o mesmo deverá estar cadastrado no sistema WebGPPG em razão das questões logísticas e financeiras. O projeto somente poderá ser iniciado após aprovação final da Comissão Científica, através do Sistema WebGPPG. Qualquer alteração nestes documentos deverá ser encaminhada para avaliação do CEP. Informamos que obrigatoriamente a versão do TCLE a ser

Endereço: Rua Ramiro Barcelos 2.350 sala 2227 F
Bairro: Bom Fim CEP: 91.035-003
UF: RS Município: PORTO ALEGRE
Telefone: (51)3369-7640 Fax: (51)3369-7640 E-mail: cephcpa@hcpa.edu.br

HOSPITAL DE CLÍNICAS DE
PORTO ALEGRE - HCPA /
UFRGS



Continuação do Parecer: 1.368.839

utilizada deverá corresponder na íntegra à versão vigente aprovada. A comunicação de eventos adversos ocorridos no estudo deverá ser realizada através do Sistema GEO – Gestão Estratégica Operacional, disponível na Intranet do HCPA.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_559914.pdf	23/11/2015 12:00:34		Aceito
Outros	Resposta_pendencias_CEP_23Nov2015assinada.pdf	23/11/2015 11:59:41	Andressa Federhen	Aceito
Outros	Resposta_pendencias_CEP_23Nov2015.doc	23/11/2015 11:58:57	Andressa Federhen	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TERMO_DE_CONSENTIMENTO_LIVRE_E_ESCLARECIDO_23Nov2015_versao_com_alteracoes.docx	23/11/2015 11:58:13	Andressa Federhen	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TERMO_DE_CONSENTIMENTO_LIVRE_E_ESCLARECIDO_23Nov2015_versao_final.docx	23/11/2015 11:57:24	Andressa Federhen	Aceito
Folha de Rosto	Folha_de_Rosto.pdf	16/10/2015 13:39:04	Andressa Federhen	Aceito
Outros	Resposta_pendencias_word.docx	16/10/2015 15:06:41	Andressa Federhen	Aceito
Outros	Resposta_pendencias_PDF.pdf	16/10/2015 15:06:04	Andressa Federhen	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	Termo_Consentimento_Livre_e_Esclarecido_14Out2015_alteracoes_destacadas.docx	15/10/2015 15:05:41	Andressa Federhen	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	Termo_Consentimento_Livre_e_Esclarecido_14Out2015_versao_final.docx	15/10/2015 15:04:25	Andressa Federhen	Aceito
Orçamento	Orçamento_15Out2015.xls	15/10/2015 15:02:15	Andressa Federhen	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_Estudo_Deteccao_de_Heterozigotos_versao_2_14Out2015_final.docx	15/10/2015 15:02:01	Andressa Federhen	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_Estudo_Deteccao_de_Heterozigotos_versao_2_14Out2015_alteracoes_destacadas.docx	15/10/2015 15:01:30	Andressa Federhen	Aceito
Projeto Detalhado	Projeto_Estudo_Deteccao_de_Heteroz	24/08/2015	Andressa Federhen	Aceito

Endereço: Rua Ramiro Barcelos 2.380 sala 2027 F
Bairro: Bom Fim CEP: 91.035-003
UF: RS Município: PORTO ALEGRE
Telefone: (51)3369-7640 Fax: (51)3369-7640 E-mail: cepcpa@hcpa.edu.br

HOSPITAL DE CLÍNICAS DE
PORTO ALEGRE - HCPA /
UFRGS



Continuação do Parecer: 1.358.803

/ Brochura Investigador	lgotos_24Ago2015.docx	10:39:08	Andressa Federhen	Acelto
Outros	Formulario_de_delegacao_de_funcoes.pdf	20/08/2015 16:39:13	Andressa Federhen	Acelto
Outros	Termo_de_Compromisso_para_Uso_de_Material_Biologico.pdf	20/08/2015 16:38:00	Andressa Federhen	Acelto
Orçamento	Orçamento_22Jul2015.xls	20/08/2015 16:36:49	Andressa Federhen	Acelto
TGLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TERMO_DE_CONSENTIMENTO_LIVRE_E_ESCLARECIDO_24Jun2015.docx	20/08/2015 16:36:10	Andressa Federhen	Acelto

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

PORTO ALEGRE, 08 de Dezembro de 2015

Assinado por:
José Roberto Goldim
(Coordenador)

Endereço: Rua Ramiro Barcelos 2.350 sala 2027 F
Bairro: Bom Fim CEP: 91.035-903
UF: RS Município: PORTO ALEGRE
Telefone: (51)3369-7640 Fax: (51)3369-7640 E-mail: cephcpa@hcpa.edu.br