

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
PPG GENÉTICA E BIOLOGIA MOLECULAR-UFRGS

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

**MUCOPOLISSACARIDOSE IIIB: AVALIAÇÃO CLÍNICA, BIOQUÍMICA E  
EPIDEMIOLÓGICA DE PACIENTES BRASILEIROS**

**YORRAN HARDMAN A. MONTENEGRO**

PORTO ALEGRE – RS

OUTUBRO - 2020

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
PPG GENÉTICA E BIOLOGIA MOLECULAR-UFRGS

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

**MUCOPOLISSACARIDOSE IIIB: AVALIAÇÃO CLÍNICA, BIOQUÍMICA E  
EPIDEMIOLÓGICA DE PACIENTES BRASILEIROS**

**YORRAN HARDMAN A. MONTENEGRO**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Genética e Biologia Molecular da UFRGS como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Genética e Biologia Molecular.

Orientador: GUILHERME BALDO, PhD

PORTO ALEGRE – RS

OUTUBRO – 2020

## **INSTITUIÇÕES E FONTES DE FINANCIAMENTO**

O presente trabalho foi desenvolvido no Hospital de Clínicas de Porto Alegre no Centro de Terapia Gênica (Centro de Pesquisa Experimental) em parceria com a Rede MPS Brasil (Serviço de Genética Médica) e Instituto Nacional de Genética Médica e Populacional (INAGEMP).

O CNPq, através do Ministério da Ciência e Tecnologia, foi o responsável pelo financiamento da presente bolsa a qual me possibilitou realizar o presente trabalho e apresentá-lo para a obtenção da titulação no Programa de Pós-Graduação em Genética e Biologia Molecular da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

“A VIDA SEM A CIÊNCIA É UMA ESPÉCIE DE MORTE”

SÓCRATES.

## **AGRADECIMENTOS**

Em primeiro lugar, agradeço ao apoio incondicional de toda minha família nesta trajetória acadêmica que, particularmente, tem se revelado uma montanha-russa de descobertas pessoais e profissionais maravilhosa. No entanto, preciso antes de quaisquer coisa elucidar o que eu considero como família: i) Aos laços de sangue que acompanharam todo meu desenvolvimento pessoal: minha mãe, Adriana Araújo Rodrigues Montenegro; meu pai, Hardman Montenegro Barbosa; minha irmã, Letícia Yohanna Araújo Montenegro; minha avó, Maria do Carmo Araújo Rodrigues; meu avô, Pedro Rodrigues dos Santos; meu tio, Williams Araújo Rodrigues; minha tia, Adriana Rodrigues; ii) Os laços não-sanguíneos mas indubitavelmente fortes: minhas irmãs, Kevlyn Guedes, Maria Barbara E. O. Costa, Rayssa Renally, Adriana Córdova, Tamara Marciel, Vanessa Wilson, Fernanda Nocchi, Maria do Socorro Lacerda Rolim; meus irmãos, Gustavo Córdova, Pedro Amaral e Carlos Moreno; iii) Os laços profissionais que, através do convívio, tornam-se família: meus colegas, Esteban Gonzalez, Luisa Pimentel, Hallana Souza, Martiela Freitas, Paola Barcelos, Ágnis Iohana, Luiza Rodrigues, Camila Vieira, Pamella Borges, Rose Schuh, Francine Kubasky, Isabelly Lima, ÉdinaCristal, e, por ventura, aqueles aos quais posso ter esquecido de mencionar.

O quarto laço familiar que acabei de descobrir de forma inteiramente nova em minha experiência acadêmica, de forma mais incisiva, neste início de vida acadêmica, é aquele de amigo-orientador. De modo especial agradeço imensamente a duas pessoas que foram imprescindíveis para minha paixão por Erros Inatos do Metabolismo, de especial modo, foram responsáveis pela minha confirmação sobre linha de pesquisa e de dedicação científica: Guilherme Baldo, um verdadeiro amigo e irmão de convívio que, como mais velho, conseguiu me instruir e me receber de braços abertos a uma distância amistosa de 3 mil km de minha cidade natal; e, Roberto Giugliani, um verdadeiro pai científico, sempre pronto para responder minhas dúvidas e me apoiar em todos os planos os quais desenvolvi, desenvolvo e irei continuar trabalhando nestes próximos anos. Outra figura importante neste interim foi a professora Úrsula Matte; resumo meu agradecimento em uma frase: obrigado por me fazer crescer e amadurecer.

Neste novo parágrafo, dedico aqui todos os profissionais que me auxiliaram ao longo de minha vida acadêmica, uma vez que, a cada novo passo conquistado, a cada

novo degrau alcançado, a possibilidade disto ocorrer iniciou com os primeiros ajuntamentos que estes profissionais me proporcionaram: Simone Silva dos Santos Lopes, Beatriz Ovrusky de Ceballos, Vanessa Almeida, Thiago de Assis, Aline de Mannam, Marcos Lia Fook, Karla Luna, André Pessanha, Roberta Simária, Érica Caldas e Avany Gusmão.

Finalmente, agradeço aos locais aos quais pertenci e aos quais ainda pertenço com vínculos ativos: Universidade Estadual da Paraíba, Laboratório de Genética e Biologia Molecular, Laboratório de Biomateriais do Nordeste (CERTBIO) – agradeço pela jornada na graduação; Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, eterno Centro de Terapia Gênica, Instituto Nacional de Genética Médica e Populacional, Rede MPS Brasil, CEUA (e todos os profissionais incríveis que me acompanharam em todos os desafios metodológicos) – ainda teremos outros anos de convívio, pois ainda estarei atuante.

Aos órgãos de fomento, FINEP, CNPq; obrigado por financiarem a vida de tantos jovens pesquisadores que desejam influenciar positivamente na história da ciência no Brasil. Junto a estes, assino embaixo.

Obrigado.

## SUMÁRIO

<b>RESUMO.....</b>	<b>8</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>9</b>
<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>10</b>
<i>Erros Inatos do Metabolismo.....</i>	<i>11</i>
<i>Doenças de Depósito Lisossomal.....</i>	<i>16</i>
<i>Mucopolissacaridoses.....</i>	<i>22</i>
<i>Mucopolissacaridose tipo III.....</i>	<i>25</i>
<i>Mucopolissacaridose tipo IIIB.....</i>	<i>28</i>
<i>Rede MPS Brasil.....</i>	<i>30</i>
<b>OBJETIVOS.....</b>	<b>31</b>
<i>Objetivo Geral.....</i>	<i>32</i>
<i>Objetivos Específicos.....</i>	<i>32</i>
<b>CAPÍTULO 01: ARTIGO I.....</b>	<b>33</b>
<b>CAPÍTULO 02: ARTIGO II.....</b>	<b>48</b>
<b>CAPÍTULO 03: ARTIGO III.....</b>	<b>67</b>
<b>DISCUSSÃO GERAL.....</b>	<b>73</b>
<b>CONCLUSÕES.....</b>	<b>79</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>81</b>
<b>APÊNDICE I.....</b>	<b>88</b>
<b>APÊNDICE II.....</b>	<b>90</b>

## **RESUMO**

A deficiência da atividade enzimática da NAGLU e o subsequente acúmulo de Heparan sulfato nos tecidos corporais causam a Mucopolissacaridose IIIB, uma doença lisossomal caracterizada por manifestações principalmente neurológicas, mas em menor grau, em manifestações somáticas. Não há uma caracterização clínica completa dos pacientes com MPS IIIB diagnosticados pela Rede MPS Brasil, e tal informação é essencial para que possam ser desenvolvidos ensaios clínicos de avaliação de tratamentos no país. O objetivo deste trabalho foi, desta forma, caracterizar os pacientes com MPS IIIB no Brasil com relação a aspectos clínicos e laboratoriais, buscando avaliar a progressão da doença. Foi observado que a maior parte dos pacientes é diagnosticada tardiamente (por volta dos 12 anos), mas que nos grandes centros esse tempo de diagnóstico é menor. A heterogeneidade pode ser explicada pelo perfil de distribuição dos pacientes ao redor de todo o país. Foram obtidos dados de vinte e dois pacientes para avaliação da progressão. Identificou-se que os pacientes com MPS IIIB apresentam inicialmente atraso na fala, seguido de alterações motoras e comportamentais. Ao final da primeira década de vida, as manifestações somáticas (hepatoesplenomegalia, alterações cardiorrespiratórias) se tornam mais frequentes. Os pacientes morrem a partir da segunda década de vida, sendo a maioria por causas respiratórias. Estes dados irão contribuir para a avaliação de terapias para a MPS IIIB, uma vez que fornecem o perfil epidemiológico de nossos pacientes no território brasileiro.



## **ABSTRACT**

The deficiency of NAGLU's enzymatic activity and the subsequent accumulation of Heparan sulfate in the tissues cause Mucopolysaccharidosis IIIB, a lysosomal disease characterized mainly by neurological manifestations, and, to a lesser extent, by somatic alterations. There is no complete clinical characterization of patients with MPS IIIB diagnosed by the MPS Brazil Network, and such information is essential for clinical trials to evaluate treatments in the country. The objective of this work was to characterize patients with MPS IIIB in Brazil with regard to clinical and laboratory aspects, seeking to assess the progression of the disease. It was observed that most patients are diagnosed late (around 12 years old), but, in large centers, this time of diagnosis is shorter. Heterogeneity can be explained once, the distribution profile of our patients it is around all country. Data were obtained from twenty-two patients to assess progression. It was identified that patients with MPS IIIB initially present speech delay, followed by motor and behavioral changes. At the end of the first decade of life, somatic manifestations (hepatosplenomegaly, cardiorespiratory changes) become more frequent. Patients die from the second decade of life, most of them due to respiratory causes. These data will contribute to the assessment of therapies for MPS IIIB, once offers a epidemiological profile of our patients in Brazilian territory.

## **INTRODUÇÃO**

## 1. INTRODUÇÃO

### *1.1. Erros Inatos do Metabolismo*

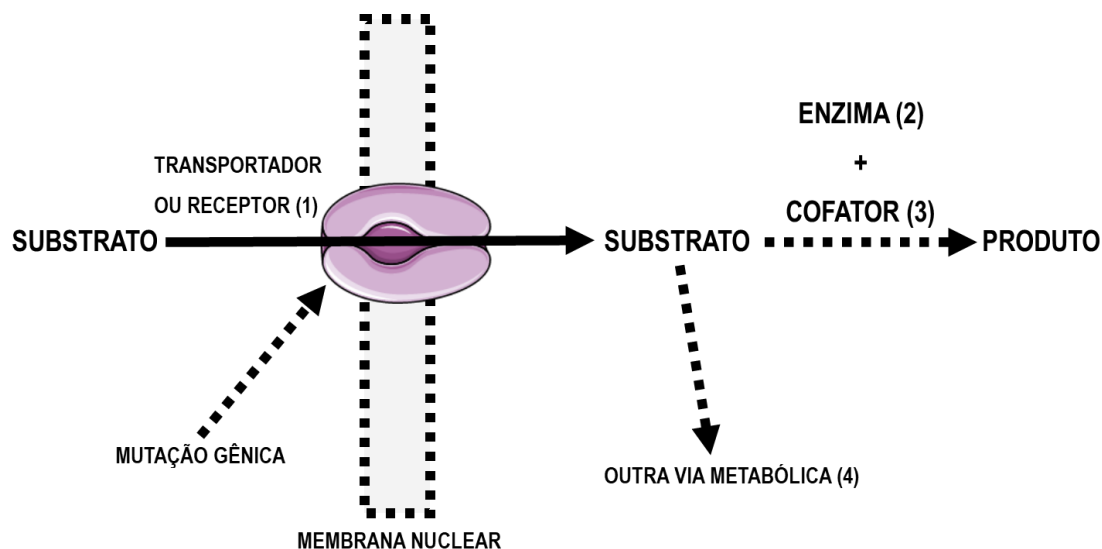
O termo “Erros Inatos do Metabolismo” (EIM) foi cunhado pela primeira vez em 1908 pelo médico londrino, Sir Archibald Garrod, levado a público em sua clássica obra “*Inborn Errors of Methabolism*”, publicado pela primeira vez pela Universidade de Oxford em 1909 (Saíinz; Monteagudo, 2002). Em seus anos como professor no curso de medicina em Oxford, Garrod deparou-se com diversas doenças misteriosas. Particularmente uma o levou ao patamar de importância científica, pela sua na área da genética médica. Esta doença em questão deixava a urina dos pacientes com uma coloração escura quando exposta ao ar, a alcaptonúria. Antes de que Garrod pudesse desvendar as nuances que permeavam a patologia, acreditava-se que era uma bactéria que se alimentava dos compostos da urina e que causava os quadros clínicos nos pacientes, uma vez que quadros de artrite eram presentes nestes indivíduos. Posteriormente, a alcaptonúria foi finalmente desvendada, e revelou-se como uma doença causada pela deficiência de uma enzima denominada Homogentisato 1,2-dioxigenase, responsável por converter ácido homogentísico (HGA) em ácido maleilacetoacético no ciclo de degradação da tirosina (Introne et al., 2003). A cor escura que a urina adquiria ao ser exposta ao ar era devido a uma reação de oxidação do HGA, gerando como produto final um pigmento escuro (Sharabi; Goudar, 2020).

A importância de citarmos a consolidação do termo EIM no estudo de doenças genéticas é devido ao que representaram as primeiras contribuições na caracterização patológica deste conjunto de doenças genéticas que, atualmente, perfazem um número aproximado de mil desordens conhecidas (Ferreira; Karnebeek, 2019). Embora “mil” represente um número elevado, a incidência de portadores para estas deficiências enzimáticas é relativamente baixa. Por exemplo, no Reino Unido, a incidência estimada de EIM é de 20:100.000 nascidos vivos (Ahrens-Nicklas et al., 2015). Estes números nos mostram um dos grandes motivos de considerarmos tais patologias, embora numericamente expressivas quanto aos seus tipos, como doenças raras.

A definição moderna para descrever os EIM pode ser resumida como: “Distúrbio de ordem bioquímica, geneticamente determinada, que afeta a síntese, degradação,

processamento e/ou transporte de certos tipos de metabólitos no organismo afetado” (Bicalho, 2015).

Este distúrbio bioquímico geralmente é herdado de forma autossômica recessiva, salvo exceções como, por exemplo: i) a porfiria e a hipercolesterolemia familiar (autossômicas dominantes); ii) raquitismo hipofosfatêmico ou resistente à vitamina D, síndrome de Hunter e síndrome de Lesh-Nyhan (ligadas ao X); e, iii) desordens de produção proteica, biossíntese de coenzima Q<sub>10</sub> (desordens mitocondriais). Geralmente os portadores de tais patologias apresentam o acúmulo de produtos não degradados que resultam em um quadro clínico-patológico de efeitos tóxicos e deficiência de produtos bioquímicos para o correto funcionamento celular (Figura 01) (Ezgu, 2016; Chinnery, 2020).



**Figura 01: Representação esquemática da patofisiologia geral dos Erros Inatos do Metabolismo.**

Neste esquema, observa-se que o defeito genético pode estar associado a uma mutação em um transportador ou receptor de membrana (1), a uma enzima que converte um determinado substrato em um produto secundário (2), a um cofator que se faz necessário para uma atividade enzimática ótima (3), ou, finalmente, em a inibição de uma via metabólica alternativa (4) levando ao acúmulo de um substrato não-degradado ou catalisado. (Fonte: Autor. Adaptado de Ezgu, 2016)

Segundo Saudubray e Garcia-Cazorla (2018), os fisiologistas estão modernizando o sistema de classificação dos EIM, dispondo-os em duas principais categorias, baseadas em suas características clínicas-patológicas: Categoria 01) Distúrbios que envolvem apenas 01 sistema funcional, como, por exemplo, o sistema endócrino, sistema

imunológico, sistema cardíaco; ou que afetem apenas um órgão ou sistema anatômico, como, por exemplo, intestino, túbulos renais, tecido conjuntivo. Categoria 02) Inclui o grupo de distúrbios que envolvam uma rota bioquímica que afete um determinado conjunto de órgãos e células (doenças de distúrbios lisossomais, por exemplo); ou um distúrbio cuja patologia é restrita a um único órgão, no entanto, a progressão clínica começa a ter consequências humorais ou sistêmicas (como a hiperamonemia causada por defeitos no ciclo da ureia, por exemplo). Esta categoria número 02, segundo o modelo proposto por Saudubray e Garcia-Cazorla pode, ainda, ser subdividida em três subcategorias: 1) distúrbios do metabolismo intermediário que afetam pequenas moléculas; 2) distúrbios que envolvam principalmente o metabolismo energético; e, 3) desordens que envolvam moléculas complexas.

Embora o modelo proposto demonstre ser promissor, a classificação clássica dos EIM os divide em 17 grupos principais de doenças, que se agrupam especialmente por tipo de substratos não-degradados, principais organelas celulares atingidas, sintomatologia neurológica (aproximadamente 85% dos EIM apresentam caracterizações clínicas neurológicas), sintomatologia extraneurológica e achados laboratoriais (Ferreira; Karnebeek, 2019; Saudubray; Garcia-Cazorla, 2018). Este sistema de classificação está resumido na Tabela 01.

Dentre os integrantes do sistema de classificação clássica está um grupo de doenças classificadas como Doenças de Depósito Lisossomal. Estas são de pertinente interesse para o presente trabalho.

**Tabela 01: Classificação dos Erros Inatos do Metabolismo em 17 grupos clássicos.**

<b>EIM</b>	<b>Sintomatologia Neurológica</b>	<b>Sintomatologia Extraneurológica</b>	<b>Achados Laboratoriais</b>
<i>Desordens do Ciclo da Ureia</i>	Encefalopatia.	Doença do Fígado.	Hiperamonemia. Alcalose respiratória.
<i>Acidemias Orgânicas</i>	Encefalopatia. Coreoatetose.	Citopenia. Pancreatite. Cardiomiopatia (PA). Doença renal (MMA).	Hiperamonemia. Acidose metabólica de iato iônico elevado. Hiperglicinemia cetótica.
<i>Distúrbios de metabolismo da biotina</i>	Encefalopatia.	Eritroderma ou ictiose.	Hiperamonemia. Acidose metabólica de alto-ânion. Acidose láctica. Cetose.
<i>Doença da urina de xarope de bordo</i>	Encefalopatia. Opistótono. Movimentos de bicicleta/esgrima.	Cheiro doce na urina.	Cetose. Hipernatremia. Aumento de BCAAs e BCKAs.
<i>Defeitos na oxidação de ácidos graxos</i>	Encefalopatia.	Miopatia de armazenamento de lipídios. Doença hepática. Cistos renais (GA2)	Hipoglicemia hipocetótica.
<i>Acidose Láctica primária</i>	Encefalopatia. Parkinsonismo infantil.	Características dismórficas (deficiência de PDH)	Acidose Láctica
<i>Encefalopatia glicina</i>	Convulsões.	Nenhum.	Alta concentração de glicina no Líquido Cerebrospinal e no plasma
<i>Deficiência de cofator de molibdênio/sulfito-oxidase</i>	Convulsões. Hiperecplexia.	Nenhum.	S-sulfocisteína elevada. Baixa cisteína. Alta taurina. Aumento de AASA e ácido pipecólico.
<i>Desordens no metabolismo de GABA</i>	Convulsões. Hipersonolência. Coreoatetose.	Supercrescimento	Elevado Ácido 4-hidroxiбутírico na urina (SSADH). GABA elevado. Beta-alanina e homo-carnosina (GABAT).

**Tabela 01: continuação.**

<b>EIM</b>	<b>Sintomatologia Neurológica</b>	<b>Sintomatologia Extraneurológica</b>	<b>Achados Laboratoriais</b>
<i>Epilepsia dependente de piridoxina</i>	Convulsões.	Nenhuma.	Aumento de AASA e de ácido pipercolico
<i>Transtorno de biossíntese de serina</i>	Microcefalia. Convulsões.	Ictiose. Ectrópio, eclábio (neu-laxova).	Baixa serina no plasma e no Líquido Cerebrospinal.
<i>Desordens de Depósito Lisossomal</i>	Neurodegeneração. Hipotonia (Pompe).	Hidropsia fetal. Melanose dérmica. Ictiose (Gaucher tipo 2).	CK aumentada (Pompe).
<i>Desordens Peroxissomais</i>	Hipotonia. Convulsões.	Colestase. Cistos renais. Pontilhado epifisário. Características dismórficas.	VLCFA elevado. Ácido Fitânico. Intermediários de Ácido Biliar. Ácido Pipercolico. Baixo Nível de plasmalogênios.
<i>Distúrbios da biossíntese de colesterol</i>	Microcefalia. Hipotonia.	Características Dismórficas. Fotossensibilidade.	Colesterol baixo. Elevado 7DHC.
<i>Distúrbios congênitos de glicosilação</i>	Hipotonia. Convulsões.	Mamilos invertidos. Almofadas de gordura anormais.	Transaminases elevadas. Coagulopatia. Anormalidades Endócrinas.
<i>Distúrbios do Metabolismo do Cobre</i>	Convulsões.	Pili torti. Cutis laxa. Divertículos de bexiga. Lesões metafisárias.	Cobre e ceruloplasmina séricos baixos. Urina com alta concentração de cobre.
<i>Deficiência de GLUT1</i>	Convulsões. Movimentos anormais nos olhos.	Anemia Hemolítica. Pseudohipercalemia. Catarata (mutação específica).	Baixa glicose e lactose no líquido cérebro espinal. Baixa concentração de glicose no líquido cérebro espinal e no soro.

Abreviaturas: 7DHC, 7-desidrocolesterol; AASA, semialdeído a-aminoalifático; BCAAs, aminoácidos de cadeia ramificada; BCKAs, cetoácidos de cadeia ramificada; BGF, gânglios basais; CC, corpo caloso; DWI, imagem ponderada por difusão; GA2, acidúria glutárica tipo 2; GABAT, GABA transaminase; Glx, glutamina / glutamato; MMA, acidemia metilmalônica; MSUD, doença da urina do xarope de bordo; NAA, N-acetilaspártato; PA, acidemia propiônica; PC, piruvato carboxilase; PDE, epilepsia dependente de piridoxina; PDH, piruvato desidrogenase; SLO, síndrome de Smith – Lemli – Opitz; WM, matéria branca. (FONTE: Ferreira; Karnebeck, 2019.)

## ***1.2. Doenças de Depósito Lisossomal***

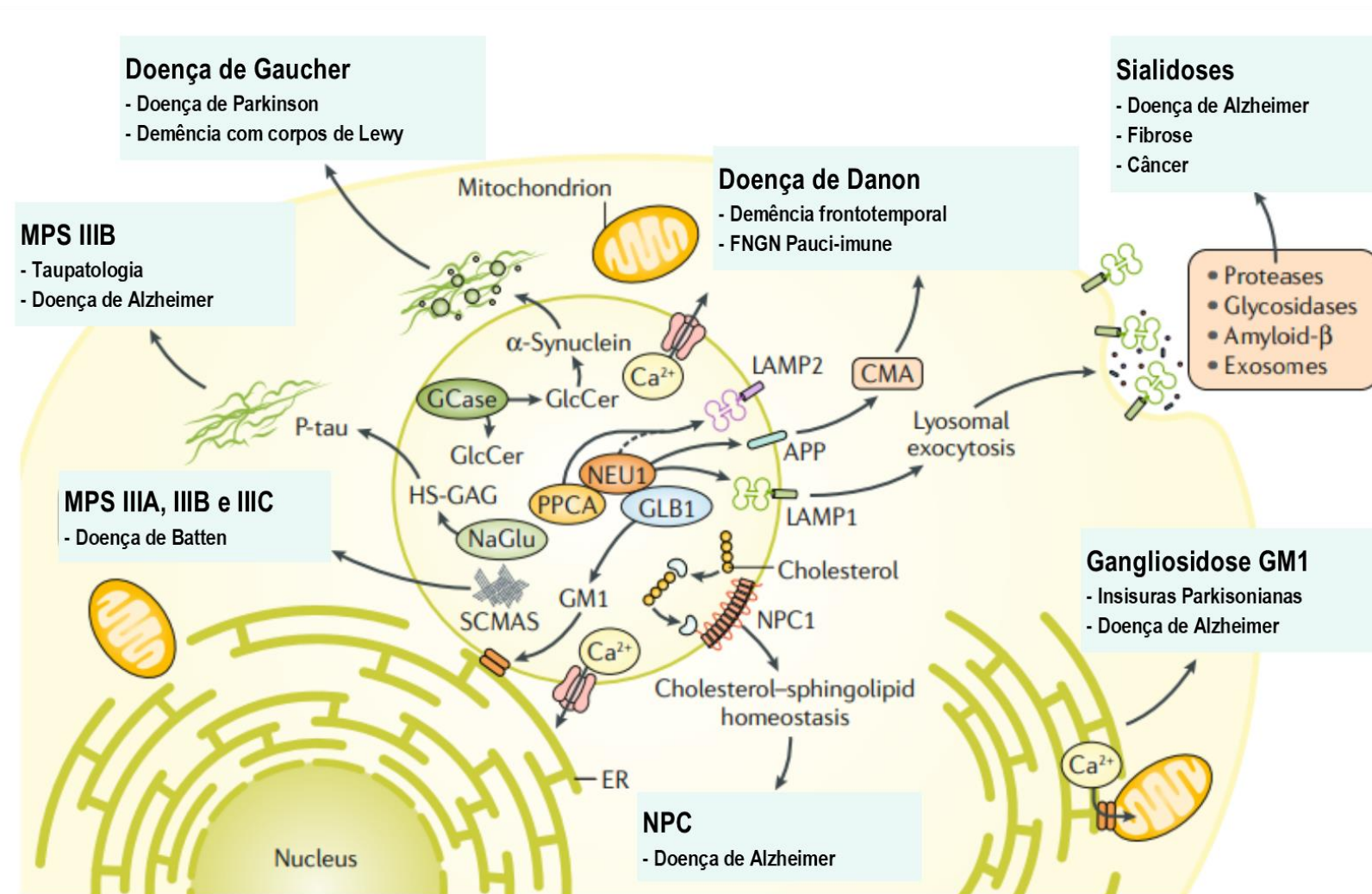
Nestas enfermidades, o protagonista, como o próprio nome já nos diz, é o lisossomo. Esta organela é responsável pela degradação e reciclagem de macromoléculas, como, por exemplo, carboidratos, lipídios, ácidos nucleicos e proteínas, adquirindo uma função de centro metabólico celular (Platt et al., 2018).

O centro metabólico celular é coordenado por um conjunto de aproximadamente 60 diferentes hidrolases ácidas pertencentes às mais variadas famílias como, por exemplo, as glicosilases, sulfatases, peptidases, fosfatases, lipases e nucleases; além de uma integração de sinais fornecidos pelas chamadas proteínas não-lisossomais que participam da modulação do próprio lisossomo (Parenti et al., 2015). A presença destas proteínas não-lisossomais é de extrema importância para a manutenção do dinamismo lisossomal. É através deste conjunto proteico que esta organela pode fundir-se com autofagossomos, fagossomas, membrana plasmática, endossomos, mitocôndria e retículo endoplasmático; formando uma estrutura de contato funcional conhecidas como microdomínios de sinalização que permitem a transferência de lipídios e troca de metabólitos e íons de cálcio entre as organelas, além de funções como a comunicação célula-célula e célula-matriz extracelular (Platt et al., 2018).

Mutações nestas diferentes proteínas lisossomais (hidrolases, proteínas de membrana, transportadores, modificadores, co-ativadores enzimáticos) são responsáveis por causar os diferentes tipos de Doença de Depósito Lisossomal ou Doenças Lisossomais (DDL) (Figura 02-B). Estas mutações em genes específicos, que contribuem para o funcionamento lisossomal, levam a uma deposição primária aberrante de produtos não degradados ou parcialmente degradados no interior da organela, transporte prejudicado de lipídios e metabólitos, e até mesmo um armazenamento secundário de moléculas proteicas não-enzimáticas, podendo ser responsáveis por processos patológicos comuns a outras doenças (Marques; Saftig, 2019).

Estima-se que atualmente sejam conhecidos 70 tipos de DDL monogênicas que afetem as atividades catabólicas nos lisossomos, sendo estas herdadas, principalmente, por um mecanismo autossômico recessivo, com exceções de três delas com herança X-específica (Platt et al., 2018; Belletatto et al., 2018). Embora o número possa parecer expressivo, estima-se que existam aproximadamente 1300 genes envolvidos no metabolismo lisossômico, e dentre o número estimado de DDLs, apenas 50 estão relacionadas diretamente com deficiências enzimáticas, resultando em uma subclassificação clínica de DDLs (Parenti et al., 2015).



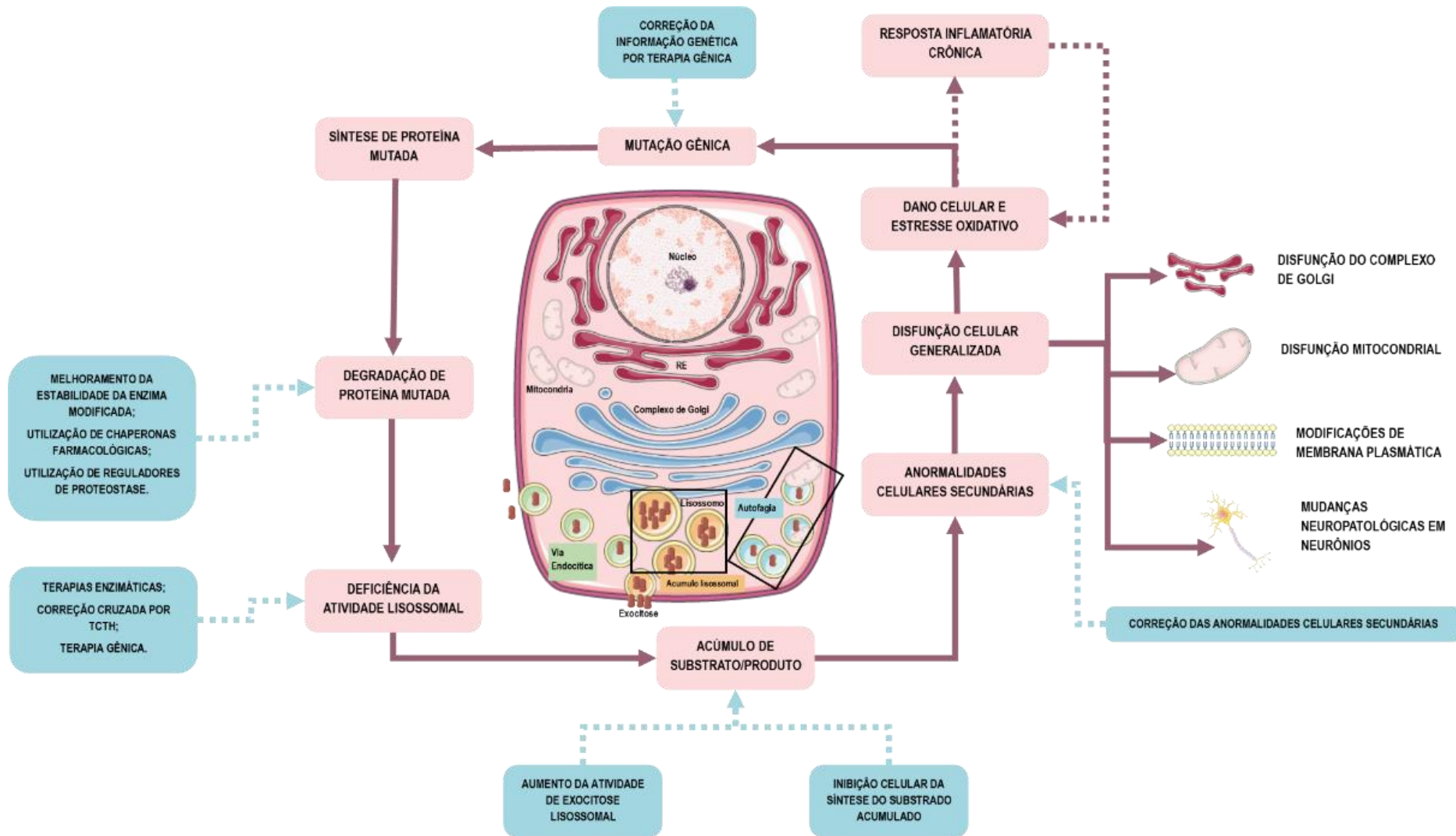


**Figura 02: Complexidade de proteínas, suas funções e patologias associadas às DDL.** A) As diferentes composições proteicas presentes na estrutura dos lisossomos o tornam suscetível a uma série de doenças classificadas como Doenças de Depósito Lisossomal. A alteração na homeostase lisossomal pode estar relacionada também com processos patológicos comuns a outras doenças. Na imagem podemos ilustrar certos tipos de deficiências enzimáticas relacionadas a diferentes tipos de patologias. A doença de Gaucher é causada pela deficiência de beta-gluco cerebrosidase (GCCase) e o acúmulo de Glicosilceramida (GlcCer), que, como efeito reflexo, causa um acúmulo de alfa-sinucleína, característica da doença de Parkinson, bem como deposição de corpos de Lewy associados à quadros de demência. A Mucopolissacaridose tipo IIIB é causada pela deficiência da enzima alfa-N-acetilglucosaminidase (NaGlu) e o acúmulo de sulfato de heparan, que, como efeito reflexo, causa um acúmulo de proteína tau-fosforilada presente em doenças neurodegenerativas como o Alzheimer. A doença de Niemann-Pick tipo C, é causada pela deficiência de NPC1, que contribui para doenças neurodegenerativas como Alzheimer, fibrose e câncer. Na Galactosialidose, associada a defeitos na degradação de LAMP2, há um aumento de autofagia aberrante por deficiência da catepsina A, causando demência frontotemporal. Outros eventos como acúmulo de gangliosídeo GM1 nas membranas intracelulares e o distúrbio da homeostase do cálcio podem ocasionar sintomatologias relacionadas à doença de Alzheimer. Nos casos de Mucopolissacaridose IIIA, IIIB e IIIC, bem como em doenças como lipofuscinose ceróide neuronal, ocorrem alterações mitocondriais que resultam de processos interativos entre mitocôndria-lisossomo. APP, proteína precursora mielóide. RE, Retículo Endoplasmático. FNGN, Glomerulonefrite necrosante local. GLB1, Beta-galactosidase. CMA, *Chaperone-mediated autophagy*. SCMAS, *Subunit c of Mitochondrial ATP Synthase*. HS-GAG, Heparan Sulfato Glicosaminoglicano. (Adaptado de Platt et al., 2018.)

As DDLs podem ser subclassificadas de acordo com o defeito em uma rota bioquímica específica e o tipo de material acumulado (por exemplo, esfingolipidoses, mucopolissacaridoses e glicoproteinoses), ou podem incluir proteínas não enzimáticas. Logo, dentre as DDLs envolvidas por proteínas constituintes ou associadas aos lisossomos, existem 7 desordens de proteínas integrais de membrana, 12 desordens em organelas relacionadas aos lisossomos e 14 desordens envolvendo a produção de lipofuscina, as quais não se relacionam diretamente com as atividades catalíticas lisossomais, por exemplo (Platt et al., 2018).

Embora as DDLs sejam heterogêneas, o perfil patológico a nível molecular é bastante parecido. A partir das análises dos diversos mecanismos patogênicos das doenças lisossomais, criou-se o que ficou conhecido como *Hipótese da Citotoxicidade do Armazenamento Lisossomal*. A base desta hipótese científica parte do pressuposto de que mutações que ocorrem em um determinado gene específico, neste caso codificadores de proteínas lisossomais, levam à perda de função de uma determinada via enzimática da organela, resultando no acúmulo de produtos não-degradados e não-metabolizados que inicia uma cascata de eventos bioquímicos secundários, provocando uma disfunção celular, comprometimento de mecanismos de reciclagem vesicular e disfunção associada a organelas de contato com o lisossomo, como o Complexo de Golgi, Retículo Endoplasmático e a Mitocôndria (Kigma et al., 2015; Bellettato et al., 2018). Esta hipótese resume tudo o que já citamos nesta seção a respeito dos mecanismos de DDL e a base citofisiológica destes processos está resumida na Figura 03.

Entre as doenças em que este processo parece ser um dos principais mecanismos patológicos, estão as Mucopolissacaridoses (MPS).



**Figura 03: Mecanismo citofisiológico básico das Doenças de Depósito Lisossomal e tratamentos disponíveis.** Os eventos patogênicos das DDL iniciam com mutações específicas em genes que compõem o aparato de homeostase lisossomal. Enquanto mutações *nonsense* levam à degradação precoce do mRNA, certas variantes, como as *missense*, levam à produção de uma proteína mutante instável, que é degradada. Sua falta leva ao acúmulo de macromoléculas no lisossomo, que podem gerar anormalidades secundárias como estresse oxidativo, dano celular e resposta inflamatória que, ao ser induzida, pode gerar mecanismos de *feedback* positivo, tornando o quadro crônico. O maior entendimento da patologia geral das DDLs pode revelar estratégias terapêuticas interessantes. Em azul estão as estratégias terapêuticas que podem agir em diferentes etapas do mecanismo patológico. A mutação de um gene específico pode ser corrigida usando terapia gênica. A enzima mutante também pode ser estabilizada utilizando-se chaperonas farmacológicas ou reguladores de proteostase (no caso de certas mutações *missense*). Outra estratégia é fornecer uma enzima recombinante por via intravenosa, a terapia de reposição enzimática. Ainda, pode-se realizar o transplante de células-tronco hematopoiéticas, por transplante alogênico. Estratégias menos usuais para o tratamento de DDLs envolvem a redução da síntese do substrato utilizado pela enzima defeituosa ou manipulação de vias metabólicas celulares. (Fonte: Autor. Adaptado de Parenti et al., 2015; Bellettato et al., 2018)

### ***1.3. Mucopolissacaridoses***

As Mucopolissacaridoses (MPS) são caracterizadas como um grupo de doenças genéticas resultantes de deficiências em enzimas lisossomais responsáveis por degradar macromoléculas conhecidas como Glicosaminoglicanos (GAGs). Estas macromoléculas são polissacarídeos responsáveis por diversas funções celulares e de matriz extracelular. Restringindo-se aos seres humanos, as funções relativas aos GAGs podem ser exemplificadas pela sua função na lubrificação das articulações, crescimento celular (participantes dos processos de ligação entre fatores de crescimento e seus respectivos receptores de membrana), regulação da proliferação celular e co-participantes nos processos de adesão celular (Neufeld; Muenzer, 2001; Vieira et al., 2008; Stapleton et al., 2018). Eventualmente, a composição química desses GAGs é variável. No entanto, de forma comum, todos são degradados por enzimas lisossomais específicas que funcionam de forma sequencial para reduzir uma, duas ou três das principais cadeias polissacarídicas a moléculas de monossacarídeos como, por exemplo, o sulfato de heparan, sulfato de queratan e sulfato de dermatan (Bigger et al., 2018; Stapleton et al., 2018).

Dependendo de qual seja a deficiência enzimática relacionada à degradação de GAGs, diferentes conjuntos de compostos não-degradados acumulam-se no interior das organelas lisossomais afetando diferencialmente vários tecidos e órgãos do corpo, especialmente onde estas macromoléculas atuam. Um exemplo destas peculiaridades clínicas, por exemplo, é a MPS IVA, um subtipo de MPS que é caracterizado por mutações no gene GALNS, que codifica a enzima Galactose-6-sulfatase. Sua deficiência causa a deposição de moléculas de queratan e condroitin sulfato nos lisossomos e afeta principalmente as articulações, uma vez que, neste caso, esses GAGs são essenciais na lubrificação das mesmas. No entanto, diferentemente da MPS IVA, a MPS III é um conjunto de doenças que não tem muitas características clínicas associadas à dificuldade de locomoção, uma vez que nesta se acumula o heparan sulfato, e sua principal sintomatologia relaciona-se com o atraso do desenvolvimento neurológico dos pacientes (Suarez-Guerrero et al., 2016). Esses exemplos ilustram a heterogeneidade das MPS devido a diversidade de GAGs afetados por mutações em genes que codificam para distintas enzimas. Um panorama geral a respeito dos tipos de MPS, genes afetados e principais características clínicas estão resumidas na Tabela 02.

**Tabela 02: Classificação das Mucopolissacaridoses**

<b>MPS</b>	<b>NOME</b>	<b>ENZIMA</b>	<b>GAG ACUMULADO</b>	<b>GENE</b>	<b>LOCUS</b>	<b>SINAIS CLÍNICOS</b>	<b>HERANÇA</b>
<b>I</b>	Síndrome de Hurler (OMIM #607014); Síndrome de Hurler/Scheie (OMIM #607015); Síndrome de Scheie (OMIM #607016)	Alfa-L-iduronidase	Dermatan e Heparan Sulfato	IDUA	4p16.3	Transtorno cognitivo, face dismórfica, degeneração da retina, opacidade da córnea, miocardiopatia, hepatoesplenomegalia.	Autossômica Recessiva
<b>II</b>	Síndrome de Hunter (OMIM #309900)	Iduronato-L-sulfatase	Dermatan e Heparan Sulfato	IDS	Xq28	Transtorno cognitivo, face dismórfica, degeneração da retina, miocardiopatia, hepatoesplenomegalia.	Recessiva ligada ao X
<b>III</b>	Síndrome de Sanfilippo A (OMIM #252900); Síndrome de Sanfilippo B (OMIM #252920); Síndrome de Sanfilippo C (OMIM #252930); Síndrome de Sanfilippo D (OMIM #252940)	Heparan-N-sulfatase Alfa-N-acetilglucosaminidase Alfa-glucosamina-N-acetiltransferase N-acetilglucosamina-6-sulfatase	Heparan Sulfato	SGSH NAGLU HGSNAT GNS	17q25.3 17q21.2 8p11.21 12q14.3	Retardo mental, deterioração cognitiva progressiva, hiperatividade, disfunção motora.	Autossômica Recessiva
<b>IV</b>	Síndrome de Morquio A (OMIM #253000); Síndrome de Morquio B (OMIM #253010)	Galactosamina-6-sulfato-sulfatase Beta-galactosidase	Queratan e condroitin sulfato Queratan sulfato	GALNS GLB1	16q24.2 3p22.3	Displasia esquelética, disfunção motora, hiperflexibilidade articular, opacidade da córnea. Não apresentam transtorno cognitivo.	Autossômica Recessiva

**Tabela 02: continuação.**

<b>MPS</b>	<b>NOME</b>	<b>ENZIMA</b>	<b>GAG ACUMULADO</b>	<b>GENE</b>	<b>LOCUS</b>	<b>SINAIS CLÍNICOS</b>	<b>HERANÇA</b>
<b>VI</b>	Síndrome de Maroteaux-Lamy (OMIM #253200)	N-acetilgalactosamina-4-sulfatase (ou Arilsulfatase-6)	Condroitin sulfato, dermatan sulfato	ARSB	5q14.1	Displasia esquelética, disfunção motora, cifose, defeito cardíaco, opacidade da córnea. Não apresentam transtorno cognitivo.	Autossômica Recessiva
<b>VII</b>	Síndrome de Sly (OMIM #233230)	Beta-glucuronidase	Dermatan e Heparan sulfato	GUSB	7q11.21	Hidropsia fetal, hepatomegalia, displasia esquelética, opacidade da córnea, retardo mental.	Autossômica Recessiva.
<b>IX</b>	Síndrome de Natowicz (OMIM #601492);	Hialuroglucosaminidase-1	Ácido hialurônico	HYAL1	3p21.31	Massas de tecido macio periarticulares, mudanças faciais, baixa estatura.	Autossômica Recessiva

(Fonte: Adaptado de Suarez-Guerrero et al., 2016)



Apesar dos quadros sintomatológicos na MPS serem variáveis dependendo do tipo de defeito enzimático, há uma concordância geral: o diagnóstico precoce na fase assintomática é o jeito mais eficaz de preservar e melhorar a função orgânica através de terapias de intervenção eficazes disponíveis atualmente, como, por exemplo, a Terapia de Reposição Enzimática (Zhou et al., 2020). Uma das principais formas de garantir um diagnóstico precoce para a MPS é através dos métodos de Triagem Neonatal, especialmente para os subtipos da doença que possuem terapias disponíveis, que podem garantir uma melhora na qualidade de vida dos pacientes. Estes métodos de triagem podem ser utilizados especialmente em regiões do país que possuem alta incidência para determinados tipos de MPS. Uma visão parecida com a que compartilho nestas linhas foi defendida por Donati e colaboradores (2018) para a criação de um sistema de triagem neonatal para a MPS I, ou Síndrome de Hurler, em nascidos vivos no Reino Unido, uma vez que a incidência destes portadores no país mostra níveis elevados. No Brasil, a parceria da Casa dos Raros junto à Rede MPS tenta implementar novos sistemas de triagem neonatal relacionados com Erros Inatos do Metabolismo de maior incidência na população brasileira; o que pode gerar, em um futuro próximo, resultados promissores e uma melhora significativa na qualidade de vida dos portadores de doenças raras.

Dentre os subtipos da MPS, chamo atenção em especial para a Mucopolissacaridose tipo III, que é o foco do presente trabalho.

#### ***1.4. Mucopolissacaridose tipo III***

A Mucopolissacaridose III (MPS III) ou Síndrome de Sanfilippo (ORPHA: 581; CID E79.2) é uma doença de armazenamento lisossomal associada com os genes que codificam as enzimas Heparan-N-sulfatase (MPS IIIA) (OMIM # 252900), N-acetil-alfa-glucosaminidase (MPS IIIB) (OMIM #252920), Alfa-glucosamina-N-acetiltransferase (MPS IIIC) (OMIM #252930), N-acetil glucosamina-6-sulfato sulfatase (MPS IIID) (OMIM # 252940), de caráter autossômico recessivo com uma taxa de prevalência de 1-9: 1.000.000 nascidos vivos (Giugliani et al., 2017; Hamano et al., 2008).

A rota enzimática referente à Síndrome de Sanfilippo é composta por nove enzimas diferentes, relacionadas aos processos de degradação do Sulfato de Heparan (HS); cinco das quais diretamente ligada aos processos de remoção de grupos sulfato presentes em diferentes posições dos GAGs e do ácido idurônico/glucurônico (Kowalewski et al., 2015). Um defeito nesta etapa catalítica resulta no acúmulo progressivo de resíduos terminais do produto HS não degradado, afetando diretamente os

processos de endocitose, macroautofagia, homeostase do cálcio, atividade mitocondrial, homeostase do retículo endoplasmático, síntese de fosfolipídios, crescimento de neuritos; refletindo-se em condições neuroinflamatórias que presumivelmente agravam a condição neurodegenerativa da doença lisossomal (Lemonnier et al., 2011).

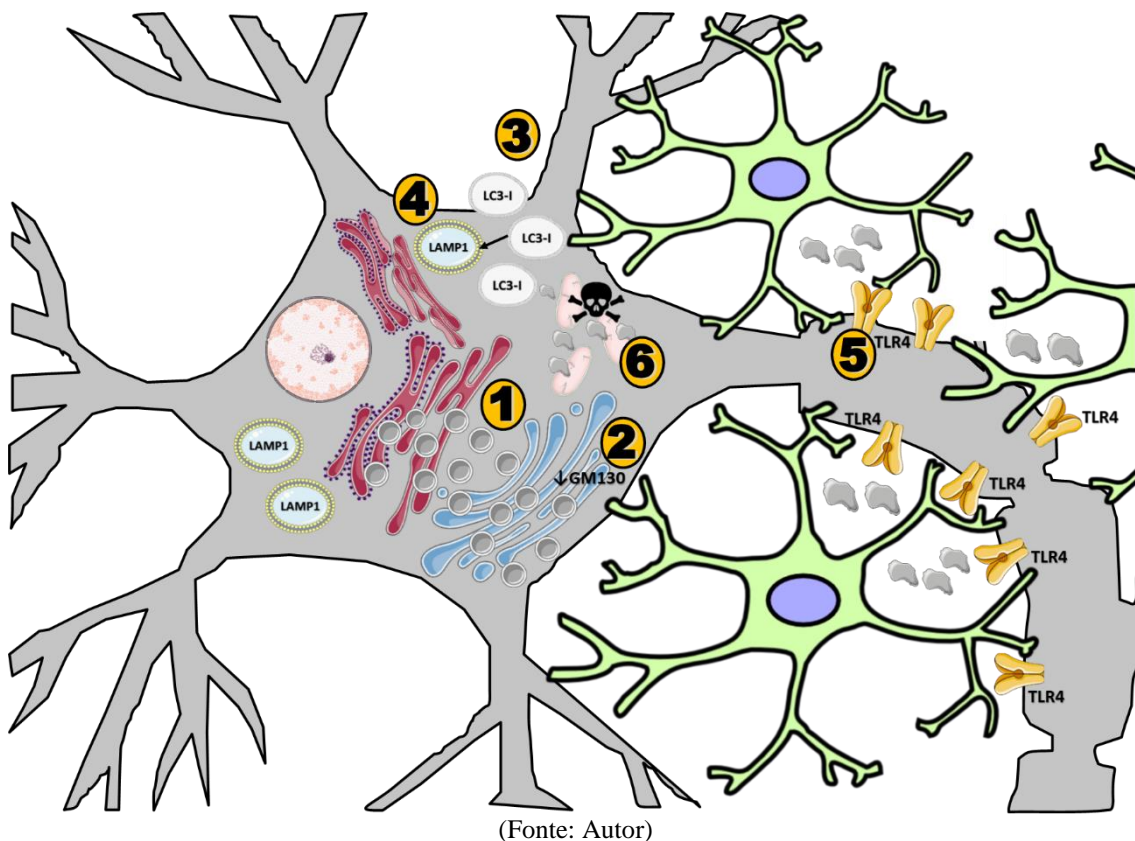
O HS está localizado em toda a superfície da célula e é secretado diretamente na matriz extracelular, participando de numerosas funções relacionadas a vias metabólicas distintas, além de ser continuamente reciclado nos compartimentos lisossomais da célula (Webber et al., 2018). O defeito em sua rota enzimática resulta em seu acúmulo, comprometendo, dessa forma, os processos de vacuolização citoplasmática e acarretando uma dilatação lisossomal característica de doenças neurodegenerativas associadas a depósitos lisossomais (Webber et al., 2018; Vitry et al., 2010).

Outros subprodutos também são acumulados em sistemas endocelulares, como glicosídeos GM2 e GM3, subunidade-c mitocondrial da ATP sintase (ScMAS), ubiquitina e lisozimas (esses produtos estão relacionados a lesões ubiquitina-positivas, distrofia axonal, perda de densidade celular de Purkinje e morte celular generalizada ) (Vitry et al., 2010; Beard et al., 2017).

O processo neuroinflamatório na Síndrome de Sanfilippo pode ser resumido em quatro etapas principais: i) As células da microglia são ativadas por meio da interação de seus receptores Toll-like 4 (TLR4) com fragmentos HS não degradados; ii) Há um acúmulo de produtos secundários como GM2 e GM3 principalmente em neurônios das regiões cerebrais corticais e cerebelares; iii) o acúmulo progressivo de agregados proteicos na via de sinalização autofágica lisossomal ocorre principalmente nas regiões do córtex medial e giro dentado; e, iv) O acúmulo progressivo leva a reações de sinalização adversas em neurônios cerebrais, induzindo, entre outras proteínas, a expressão de GM130, seguida de alterações subsequentes na arquitetura do complexo de Golgi, redução da proliferação de neuritos e potencialização de alterações relacionadas às vias de migração neuronal e apoptose mitocondrial (Figura 04) (Martins et al., 2015).

Precisamos ter a ideia de que os processos moleculares intrínsecos da patologia celular referente à MPS-III são contribuintes para todas as características sintomatológicas clínicas em macroescala. Trazer à tona os processos patológicos base da doença é uma das formas de entendermos a complexidade e magnitude que os EIM se mostram.

**Figura 04: Representação esquemática dos processos neuroinflamatórios na Mucopolissacaridose Tipo III.** (Ponto 01) O tráfego vesicular intracelular tem seu início de forma normal,; (ponto 02), porém, há um descompasso no complexo de Golgi, pela baixa expressão de GM130, levando ao acúmulo de produtos colaterais (vesículas GM2 positivas) em fonte de vesículas não lisossomais. (Ponto 03) Apesar de haver atividade endocítica normal, a formação do complexo de vesículas de degradação madura via fusão com vesículas lisossomais LAMP1-positivas não ocorre de forma eficiente (Ponto 04), observando uma falha no processo de degradação de proteínas e maturação das endovesículas. (Ponto 05) A ativação neuroinflamatória nos neurônios está associada à via glial, pois a dispersão de produtos associados ao estresse oxidativo, como no caso do óxido nítrico, bem como a liberação de citocinas, desencadeia, via receptores TLR4, processos intracelulares de ativação molecular de vias pró-inflamatórias, bem como, causam estresse oxidativo nas mitocôndrias. O estresse mitocondrial (ponto 06) leva à indução mitocondrial de vesículas GM2 não degradadas, revelando-se vesículas mitocondriais inativas positivas para acúmulo de produtos secundários, como GM2 e GM3, e vesículas mitocondriais. Acredita-se que esta atividade inflamatória crônica possa gerar a neurodegeneração.



As características clínicas da doença se restringem, principalmente, ao sistema nervoso central; uma vez que as características somáticas nestes pacientes são mais brandas. Entre 2-6 anos de idade iniciam-se os primeiros sintomas neurológicos associados, principalmente, ao atraso de linguagem, hiperatividade sem resposta medicamentosa, atrasos no desenvolvimento e comportamento agressivo (Andrade et al., 2015). As dificuldades relacionadas ao comportamento iniciam-se aos 2-3 anos e

agravam-se gradativamente, evoluindo para comportamentos destrutivos até que por volta de 5-10 anos de idade ocorre uma perda progressiva e severa dos processos intelectuais e das funções motoras (Fedele, 2015).

Podemos subdividir o curso da MPS III em três principais fases: 1) 1-3 anos ou superior a três anos em pacientes com fenótipos leves: o principal sintoma nesta fase é o atraso neurológico dos pacientes, caracterizado principalmente por distúrbios de fala acompanhado pelos problemas comportamentais acima relatados; 2) 3-4 anos: declínio cognitivo progressivo acompanhado de distúrbios de sono, agressividade, hiperatividade, ansiedade e comportamento autista; e, 3) início na adolescência: declínio acentuado da disfunção motora, redução dos problemas comportamentais, demência severa, espasticidade e dificuldades de deglutição (Zhou et al., 2020). A evolução do quadro pode levar ao paciente a um estágio vegetativo e morte em torno da segunda e terceira década de vida (Andrade et al., 2015).

Outras características clínicas associadas à MPS III incluem: infecções recorrentes do trato respiratório e ouvido, levando os pacientes a realizarem procedimentos cirúrgicos como a tonsilectomia e adenotonsilectomia; diarreia, constipação em pacientes mais velhos, retinite pigmentosa, crises convulsivas, epilepsia e comportamentos do tipo autista (Valstar et al., 2008).

Estima-se que a incidência global para a MPS III seja de 1 a cada 70.000 nascidos vivos, podendo variar, dependendo da área geográfica; destes, observa-se que o diagnóstico de MPS IIIA e IIIB são os mais comuns quando comparados aos subtipos IIIC e IIID (Zeilei et al., 2018).

### **1.5. Mucopolissacaridose IIIB**

A MPS IIIB afeta aproximadamente 1 a cada 250.000 nascidos vivos ao redor do mundo, variando a cada determinada região geográfica (Whitley et al., 2018). Atualmente foram detectadas aproximadamente 120 variantes do gene *NAGLU* (localização cromossômica 17q21.1, constituído por seis éxons codificantes de uma cadeia polipeptídica de 743 aminoácidos, que após a clivagem sítio específica na sequência-sinal de seis sítios de asparagina, origina uma proteína madura de 720 aminoácidos com massa aproximada de 80kDa), responsáveis por gerar o fenótipo patogênico da MPS IIIB, dividindo-se em variantes *missense*, mutações sem sentido, deleções, inserções e sítios de mutação associados aos processos de *splicing* alternativo (Gaffke et al., 2018; Fedele; 2015; Valstar et al., 2008).

A deficiência da atividade enzimática da *NAGLU* e o subsequente acúmulo de HS nos tecidos corporais causam uma variedade de sintomatologias clínicas que, conforme mencionado anteriormente, afetam principalmente o sistema nervoso central. No entanto, outras manifestações, em menor grau, incluem: sintomatologias musculoesqueléticas, respiratórias, de ouvido, nariz e garganta, gastroenterológicas, cardíacas e oculares. Estes sintomas secundários ocorrem de forma heterogênea, variando de paciente para paciente. Alguns sintomas são compartilhados entre as MPS. Destes, incluem-se: face dismórfica, sobrancelhas grossas, cabelo grosso, perda auditiva, hepatoesplenomegalia, patologia esquelética, problemas de crescimento e degeneração das articulações (embora menos pronunciada quando comparada a MPS I, por exemplo) (Lavery et al., 2017).

Os primeiros sintomas da MPS IIIB surgem por volta dos 2-6 anos de idade; no entanto, pacientes com a forma atenuada da patologia podem apresentar os primeiros sinais da doença de forma mais tardia, como, por exemplo, 18 anos (Valstar et al., 2008). As crianças começam apresentando um retardo no desenvolvimento neuropsicomotor acompanhado de manifestações somáticas como recorrentes infecções do trato respiratório (ouvido, nariz e garganta). A evolução clínica destas apresentações se caracterizam por problemas de comportamento (hiperatividade e distúrbios do sono), progredindo até os pacientes chegarem a uma idade aproximada de 5-10 anos (Whitley et al., 2018). Geralmente os problemas de comportamento não são atenuados com uso de medicação, mas, aos poucos, vão reduzindo sua manifestação no decorrer da degeneração neuronal, levando a um estágio grave de retardo neurológico (Valstar et al., 2008).

Os primeiros sintomas são seguidos por declínio intelectual progressivo (iniciado por volta dos 4 anos de idade), início de demência grave, problemas de disfunção motora, aumento da espasticidade, convulsões, e, por fim, dependência completa do seu cuidador (Cross et al., 2014; Kim et al., 2016). Outros sintomas incluem diarreia recorrente e deficiência visual (Cross et al., 2014). A progressão destas sintomatologias resulta em um quadro vegetativo e morte geralmente por volta da segunda/terceira década de vida (Valstar et al., 2010).

O diagnóstico é realizado detectando-se os níveis de GAGs na urina; e, posteriormente, confirmando-se a suspeita dos achados fenotípicos com o diagnóstico molecular relacionado à deficiência da enzima *NAGLU* e identificação de mutação patológica do gene codificante (Whitley et al., 2018).

Embora não se tenha nenhuma terapia para a MPS IIIB, estudos tem sido realizado para alcançar esse objetivo e promover uma melhora significativa na qualidade de vida

destes pacientes. Dentre as expectativas, incluem-se terapias gênicas (a entrega da sulfamidase junto a SUMF1 via intravenosa utilizando um carreador adenoassociado); aplicação medicamentosa de genisteína, um isoflavonoide que reduz os níveis de GAGs; dentre outras estratégias que ainda estão em estudo (Fedele, 2015).

Embora raras, estas doenças genéticas necessitam de máxima atenção, especialmente para garantir que seja realizado um diagnóstico precoce que possibilite que, quanto mais cedo, os indivíduos que com determinadas patologias genéticas e que, estas patologias apresentem terapias efetivas, possam ser encaminhados e submetidos para que, assim, possam ter uma melhor qualidade de vida. Além disso, dados sobre idade ao diagnóstico, características e progressão da doença nos pacientes irão permitir que estudos clínicos intervencionais possam ser realizados no futuro. No Brasil, a iniciativa que visa contribuir para o diagnóstico, encaminhamento e acompanhamento de pacientes com MPS é a Rede MPS Brasil e, agora, em desenvolvimento, a Casa dos Raros.

#### ***1.6. Rede MPS Brasil***

A Rede MPS Brasil é um serviço especializado no diagnóstico de Mucopolissacaridoses, sendo um centro de referência nacional, atuando em colaboração com a Organização Mundial da Saúde para o treinamento e educação de genética médica voltado para as MPS (Vieira et al., 2019). A atuação da Rede MPS Brasil é realizada através de uma rede integrada de centros de genética brasileiros que visa facilitar o acesso da comunidade à informações sobre o manejo e tratamento de MPS (Dornelles et al., 2014). A Rede recebe amostras de todo Brasil (principalmente), bem como de outros países.

A Rede MPS Brasil publica um boletim trimestral denominado “Caiu na Rede”, com depoimentos de profissionais de saúde, *feedback* sobre terapias disponíveis, notícias sobre ensaios clínicos, relatórios de reuniões e tudo que possa vir a interessar a comunidade de pais e pacientes com MPS.

Esta aproximação com a comunidade é realizada através do vínculo com associações de famílias e organizações não-governamentais que, através de encontros regulares organizamos pela Rede MPS Brasil, conseguem organizar-se e atualizar-se de todo o universo científico que referencia a patologia em questão (Vieira et al., 2019).

## **OBJETIVOS**

## 2. OBJETIVOS

### *2.1. Objetivo Geral*

Estudar as principais características dos pacientes com MPSIII-B diagnosticados pela Rede MPS Brasil.

### *2.2. Objetivos Específicos*

- Através de revisão das fichas de pacientes da Rede MPS Brasil, obter informações sobre idade de diagnóstico;
- Identificar a origem dos pacientes, buscando por potenciais *Clusters*;
- Obter informações bioquímicas como atividade da enzima NAGLU, níveis de GAG urinários e possíveis correlações destes últimos com idade dos pacientes;
- Descrever as principais suspeitas e sinais clínicos reportados nos pacientes ao diagnóstico;
- Estudar a progressão da doença nos pacientes diagnosticados em grandes centros do país;
- Fornecer informações relevantes para a realização de um estudo clínico terapêutico para esta patologia.





## SITUAÇÃO: EM PREPARAÇÃO

### Journal of Inherited Metabolic Disease

#### Sanfilippo syndrome type B: a snapshot of patients diagnosed by the MPS Brazil Network

Yorran Hardman Araújo Montenegro<sup>1,2</sup>; Luciana Giugliani<sup>1</sup>, Franciele Barbosa Trapp<sup>1,3,4</sup>, Maira Graeff Burin<sup>1,4</sup>, Kristiane Michelin-Tirelli<sup>1,4</sup>, Sandra Leistner-Segal<sup>1,4</sup>, Ana Carolina Brusius Facchin<sup>1,4</sup>, Erlane Marques Ribeiro<sup>5</sup>, Charles Marques Lourenço<sup>6</sup>, Augusto César Cardoso-dos-Santos<sup>7</sup>, Márcia Gonçalves Ribeiro<sup>8</sup>, Chong Ae Kim<sup>9</sup>, Matheus Augusto Araújo Castro<sup>10</sup>, Emília Katiane Embiruçu<sup>11</sup>, Carlos Eduardo Steiner<sup>12</sup>, Guilherme Baldo<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Medical Genetics Service, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Porto Alegre, Brazil

<sup>2</sup> Post-graduate Program in Genetics and Molecular Biology, Department of Genetics/UFRGS, Porto Alegre, Brazil

<sup>3</sup> INAGEMP, Porto Alegre, Brazil

<sup>4</sup> MPS Brazil Network, Medical Genetics Service, HCPA, Porto Alegre, Brazil

<sup>5</sup> Medical Genetics Service, Hospital Infantil Albert Sabin, Fortaleza, Brazil

<sup>6</sup> Centro Universitário Estácio, Ribeirão Preto, Brazil

<sup>7</sup> Medical Genetics Service, Hospital Infantil Albert Sabin, Fortaleza, Brazil

<sup>8</sup> Medical Genetics Service, Instituto de Puericultura e Pediatria Martagão Gesteira/UFRJ, Rio de Janeiro, Brazil

<sup>9</sup> Genetic Unity, Instituto da Criança HC FMUSP, São Paulo, Brazil

<sup>10</sup> Hospital de Clínicas, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, São Paulo, Brazil

<sup>11</sup> Science of Life Department, Complexo Hospitalar Universitário Professor Edgar Santos/UFBA, Bahia, Brazil

<sup>12</sup> Medical Genetic and Genomic Medicine Department, Faculdade de Ciências Médicas/UNICAMP, São Paulo, Brazil

#### Corresponding author

Yorran Hardman A. Montenegro

Gene Therapy Center, Hospital de Clinicas de Porto Alegre, 2350 Ramiro Barcelos, Porto Alegre, RS 90035-003, Brazil. E-mail: ymontenegro@hcpa.edu.br

Word count: 1685

Number of figures: 03

Supplementary figure: 01

Number of tables: 02

## **ABSTRACT**

Mucopolysaccharidosis type IIIB is a rare disorder characterized by deficiency of the enzyme N-acetyl-alpha-d-glucosaminidase (NAGLU), which leads to storage of Heparan sulphate and a series of alterations, mostly neurologic. In this study we obtained clinical, epidemiological and biochemical data from MPS IIIB patients diagnosed from 2004-2019 by the MPS Brazil Network (Rede MPS Brazil), which was created with the goal to provide a comprehensive investigation for all MPS types. One hundred and ten MPS IIIB patients were diagnosed during this period. Our data indicate that mean age at diagnosis was 10.96 years. Patients were from all over Brazil, with a few from abroad, with a possible cluster of MPS IIIB being identified in Ecuador. All patients from our cohort had low NAGLU activity and elevated urinary glycosaminoglycans levels. Main clinical symptoms reported at diagnosis were coarse face and neuropsychomotor delay. We conclude that our patients are diagnosed much later than in the rest of the world, and reasons for that may include the low prevalence of the disease associated with limited knowledge of MPS IIIB by health professionals.

**KEYWORDS:** Mucopolysaccharidosis type IIIB, Sanfilippo Syndrome, clinical features.

## 1. INTRODUCTION

Mucopolysaccharidosis type IIIB (MPS IIIB, OMIM #252920), also known as Sanfilippo syndrome type B, is a rare lysosomal disease that leads to progressive neurocognitive degeneration (Tomatsu et al., 2013; Valstar et al., 2008). The disorder is caused by the accumulation of undegraded heparan sulfate oligosaccharides due to deficiency of the enzyme N-acetyl-alpha-d-glucosaminidase (NAGLU, EC 3.2.1.50) caused by variants in *NAGLU*, located on chromosome 17q21.1 (ORPHA; 2018, Fedele, 2015).

Typically manifesting at 1 to 4 years of age, the most prominent progressive symptoms of MPS IIIB are neurologic. Children appear normal at birth and throughout early infancy, and early symptoms can initially be misdiagnosed as autism. As a child reaches preschool or school age the symptoms of this debilitating disease become more apparent. Affected children slowly progress through four phases from developmental delays, dying on the second or third decade of life (Héron et al., 2011; Valstar et al., 2011).

There is currently no market-approved drugs available for patients with Sanfilippo syndrome (Valstar et al., 2008; Fedele, 2015). In the absence of effective therapies, patient care is limited to symptom management and palliative support (Lavery et al., 2017). Disease-specific treatments are being studied, including forms of enzyme replacement therapy (ERT), substrate reduction therapy, hematopoietic stem cell transplantation, and gene therapy, with some of them reaching the mid-to-late stages of clinical development at the moment (Fedele, 2015). To be able to optimize current management and evaluate the effectiveness of novel treatments for Sanfilippo syndrome, it is important to understand when the diagnosis is usually made, clinical characteristics of patients, and their progression. (Lavery et al., 2017).

In 2004, the Brazilian MPS Network (Rede MPS Brasil) was established, as a network whose goal was to provide a comprehensive investigation for all MPS types. It receives more than sixty monthly requests for investigation of MPS, with an average of six new cases of MPS diagnosed per month. The MPS Brazil network has diagnosed more than 1,000 patients so far. Most of them are from Brazil, but it also receives samples from other countries (Giugliani et al, 2016). Data from the MPS IIIB patients diagnosed by the network were never deeply evaluated, therefore we gather this information to obtain a more robust picture of biochemical, epidemiological and clinical data from these patients.

## **2. METHODS**

### ***2.1 Patients and Ethics***

The study was approved by the Ethics Research Committee of Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA) (GPPG: 17-0664) and all patients or their legal representative allowed the use of data. This is a retrospective cross-sectional study involving the review of all patients diagnosed with MPS IIIB by the MPS Brazil Network from 2004 to January 2019. The confirmed diagnosis of MPS IIIB was provided by enzymatic activity or genetic analysis. NAGLU activity was performed by fluorimetric assay using specific substrate, as previously reported (Marsh; Fensom, 1985). An additional test included quantification of urinary glycosaminoglycans (GAGs) by the DMB method (Khan et al., 2019).

### ***2.2 Statistical analysis***

Data was entered into a Microsoft Excel spreadsheet. SPSS version 12.0 for Windows (SPSS Inc, Chicago, IL) was used for statistical analysis. Results are shown as descriptive data. Correlation between 2 variables were performed by Pearson's correlation test. A  $p < 0.05$  was considered significant.

## **3. RESULTS**

Up to 2019, 1,582 MPS patients have been diagnosed by MPS Brazil Network. Of those, one hundred and ten (6.95%) had MPS IIIB.

Ninety-four patients were from Brazil (44 men and 50 women), and sixteen from abroad. The patients studied came from 86 unrelated families. Age at diagnosis was available for 106 patients. The mean age of the patients at the diagnosis reported was 10.96 years (range 1-33 years). In total, only 24.52% of the patients were diagnosed before four years of age, which is detailed in figure 1 (Figure 01).

The distribution of the patients was uneven. The Brazilian state with higher number of patients was São Paulo (20%), followed by Rio Grande do Sul (15.45%), Rio de Janeiro (9.09%), Minas Gerais (8.18%) and Santa Catarina (5.45%). The other Brazilian states had less than 5%. Therefore, most of our patients come from the southeast (Figure 02). The other countries listed were Ecuador (11.82% of the patients in the present study), Algeria (0.90%), Emirates (0.90%) and Nicaragua (0.90% of the patients).

Most patients were referred to the network as having a clinical suspicion of MPS III (30.18%), without a specific subtype. In several cases the suspicion was less specific, including “inborn error of metabolism” (12.26%) or even a suspicion of a more common MPS, such as “Mucopolysaccharidosis type I” (12.26%) (Table 01).

Our findings evidenced that NAGLU activity in patients is always lower than 10% of reference values (lower limit of normal). The mean plasma activity of NAGLU was 0.16 nmol/17h/mL (interquartile range, 0.1-0.235 nmol/17h/mL; reference values: 10-34 nmol/17h/mL). (figure 3A). Urinary GAG levels were available in 53 of the 110 patients included in the present study, with elevated levels in all of them (Figure 3B). No significant correlation was found between age and GAG levels ( $p>0.05$ ,  $F=0.002141$ ) (Figure 3C). No correlation was found between NAGLU residual activity and urinary GAG levels ( $p>0.05$ ,  $F=1.970$ ) (Figure 3D). No correlation was found between age at diagnosis and residual NAGLU activity as well (supplementary figure 1).

The clinical information obtained at diagnosis is summarized in Table 2. The most frequent symptoms presented by the patients were coarse face (51.88%), developmental delay (49.05%), hepatomegaly (34.90%), skeletal abnormalities (24.52%), splenomegaly (21.69%) and agitation/aggressiveness/behavior changes (21.69%).

#### **4. DISCUSSION**

The present study evaluated the data from patients diagnosed with MPS IIIB by the Rede MPS Brazil. This is the study with the highest number of patients reported so far. One of the first relevant data obtained was mean age of diagnosis. Previous studies have shown that, in a group of patients from developed countries (USA, UK and Germany), the mean age at diagnosis was 6.2 years (Whitley et al, 2018). In Taiwan it was even earlier, at 4.2 years (Lin et al, 2018). These data show that we diagnose our patients much later than the rest of the world. This is in agreement with our previous observation, that pointed that there is, on average, a 4.8-year delay between the onset of signs/symptoms and the establishment of the diagnosis of MPS patients in Brazil (Vieira et al, 2008). Part of that can be attributed to the fact that the disease is unknown to part of the physicians, which can be observed by our results from table 01. It shows that in more than 10% of the cases, samples came for investigation of an unknown “inborn error of metabolism”.

Most of our Brazilian patients came from the Southeast and the South of the country. This is probably related to the fact that these are the more developed regions of

the country, rather than for a higher prevalence. On the other hand, fourteen patients came from Ecuador. Considering the small size of the country, this is a possible case of a cluster of MPS IIIB patients, which is currently being investigated in depth regarding prevalence, mutation origin and possible founder effect.

The biochemical data obtained from our sample confirms that assessing NAGLU activity can differ patients from controls in all cases, which was expected due to our inclusion criteria. Our data also point that urinary GAG levels are a reliable biomarker and are elevated at any age. In a previous study, all patients demonstrated GAG levels higher than controls (Whitley et al, 2018) which is in agreement with our data.

Coarse face features demonstrated to be the most easily detected symptomatology in most of our patients, corroborating the findings of Valstar et al. (2008). Although in the studies of other authors, such as Lin et al. (2018), Delgadillo et al. (2013), the neurological findings have overlapped those of the physical characteristics. For the physicians who gather data for the current study, the physical characteristics have called greater attention to suppose some genetic problem. These two characteristics, added to hepatosplenomegaly and bone problems together can provide a strategy for the recognition of patients with Mucopolysaccharidosis type IIIB. In our set of patients, the problems related to behavior may not have been as evident as in the studies by Delgadillo et al. (2013), for being diagnosed later, since the symptomatology window has already softened.

## **5. CONCLUSIONS**

Our study indicates that, in our case, the MPS IIIB patients are diagnosed much later than reported by groups from other countries. This can make it difficult for clinical therapeutic studies to be conducted in our population, depending on the study design. The reasons for this apparent delay might be due to a scattered distribution of the patients, with no cluster being identified in Brazil (although one possible in Ecuador) associated to a limited knowledge of the disease by part of the physicians, due to its low frequency.

The present study can reveal strategies to reduce the time of diagnosis in these patients based the most frequent symptoms reported, serving as support for the physicians recognition and diagnosis of these patients.

## REFERENCES

Delgadillo V., O'Callaghan, M. D. M., Gort, L., Coll M. J., Pineda, M. Natural history of Sanfilippo syndrome in Spain. *Orphanet Journal of Rare Diseases*. 2013; 8:189.

Fedele AO. Sanfilippo syndrome: causes, consequences, and treatments. *Appl Clin Genet*. 2015;8:269–81.

Giugliani R, Vairo FP, Riegel M, de Souza CF, Schwartz IV, Pena SD. Rare disease landscape in Brazil: report of a successful experience in inborn errors of metabolism. *Orphanet J Rare Dis*. 2016 Jun 10;11(1):76.

Héron B, Mikaeloff Y, Froissart R, Caridade G, Maire I, Caillaud C, et al. Incidence and natural history of mucopolysaccharidosis type III in France and comparison with United Kingdom and Greece. *Am J Med Genet A* 2011;155A:58-68.

Khan S A, et al. Glycosaminoglycans analysis in blood and urine of patients with mucopolysaccharidosis. *Mol Genet Metab*. 2019; Sep; 125(1-2):44-52.

Lavery C, Hendriksz CJ, Jones SA. Mortality in patients with Sanfilippo syndrome. *Orphanet J Rare Dis*. 2017 Oct 23;12(1):168. doi: 10.1186/s13023-017-0717-y.

Lin HY, Chuang CK, Lee CL, Tu RY, Lo YT, Chiu PC, Niu DM, Fang YY, Chen TL, Tsai FJ, Hwu WL, Lin SJ, Chang TM, Lin SP. Mucopolysaccharidosis III in Taiwan: Natural history, clinical and molecular characteristics of 28 patients diagnosed during a 21-year period. *Am J Med Genet A*. 2018 Sep;176(9):1799-1809.

Marsh J, Fensom A H. 4-methylumbelliferyl  $\alpha$ -N-acetylglucosaminidase activity for diagnosis of Sanfilippo B disease. *Clinical Genetics*. 1985; 27(3):258-262.

Mucopolysaccharidosis type 3.

[http://www.orpha.net/consor/cgi-bin/OC\\_Exp.php?Expert=581](http://www.orpha.net/consor/cgi-bin/OC_Exp.php?Expert=581). Accessed 23 Feb 2018.



Taiane Vieira I, Ida Schwartz, Verónica Muñoz, Louise Pinto, Carlos Steiner, Márcia Ribeiro, Raquel Boy, Victor Ferraz, Ana de Paula, Chong Kim, Angelina Acosta, Roberto Giugliani. Mucopolysaccharidoses in Brazil: what happens from birth to biochemical diagnosis? *Am J Med Genet A* 2008 Jul 1;146A(13):1741-7. doi: 10.1002/ajmg.a.32320.

Tomatsu S, Fujii T, Fukushi M, Oguma T, Shimada T, Maeda M, et al. Newborn screening and diagnosis of mucopolysaccharidoses. *Mol Genet Metab* 2013;110:42-53.

Valstar MJ, Ruijter GJ, van Diggelen OP, Poorthuis BJ, Wijburg FA. Sanfilippo syndrome: a mini-review. *J Inherit Metab Dis*. 2008;31:240–52.

Valstar MJ, Marchal JP, Grootenhuis M, Colland V, Wijburg FA. Cognitive development in patients with mucopolysaccharidosis type III (Sanfilippo syndrome). *Orphanet J Rare Dis* 2011;6.

Whitley CB, Cleary M, Eugen Mengel K, Harmatz P, Shapiro E, Nestrasil I, Haslett P, Whiteman D, Alexanderian D. Observational Prospective Natural History of Patients with Sanfilippo Syndrome Type B. *J Pediatr*. 2018 Jun;197:198-206.e2.

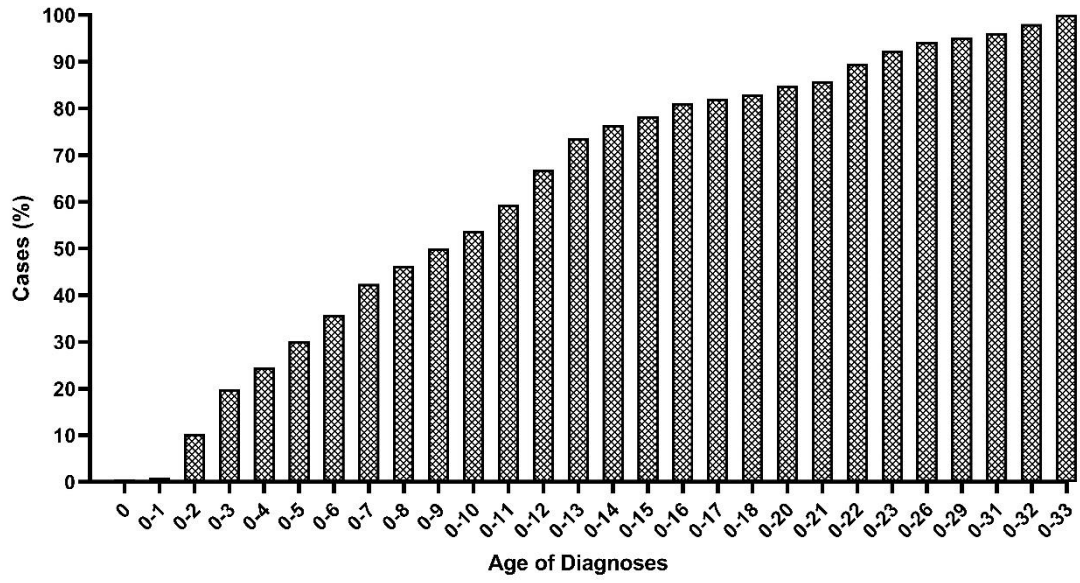


Figure 1. Age of MPS IIIB patients at diagnosis. Results are presented as cumulative percentage of patients. The total N was 106.

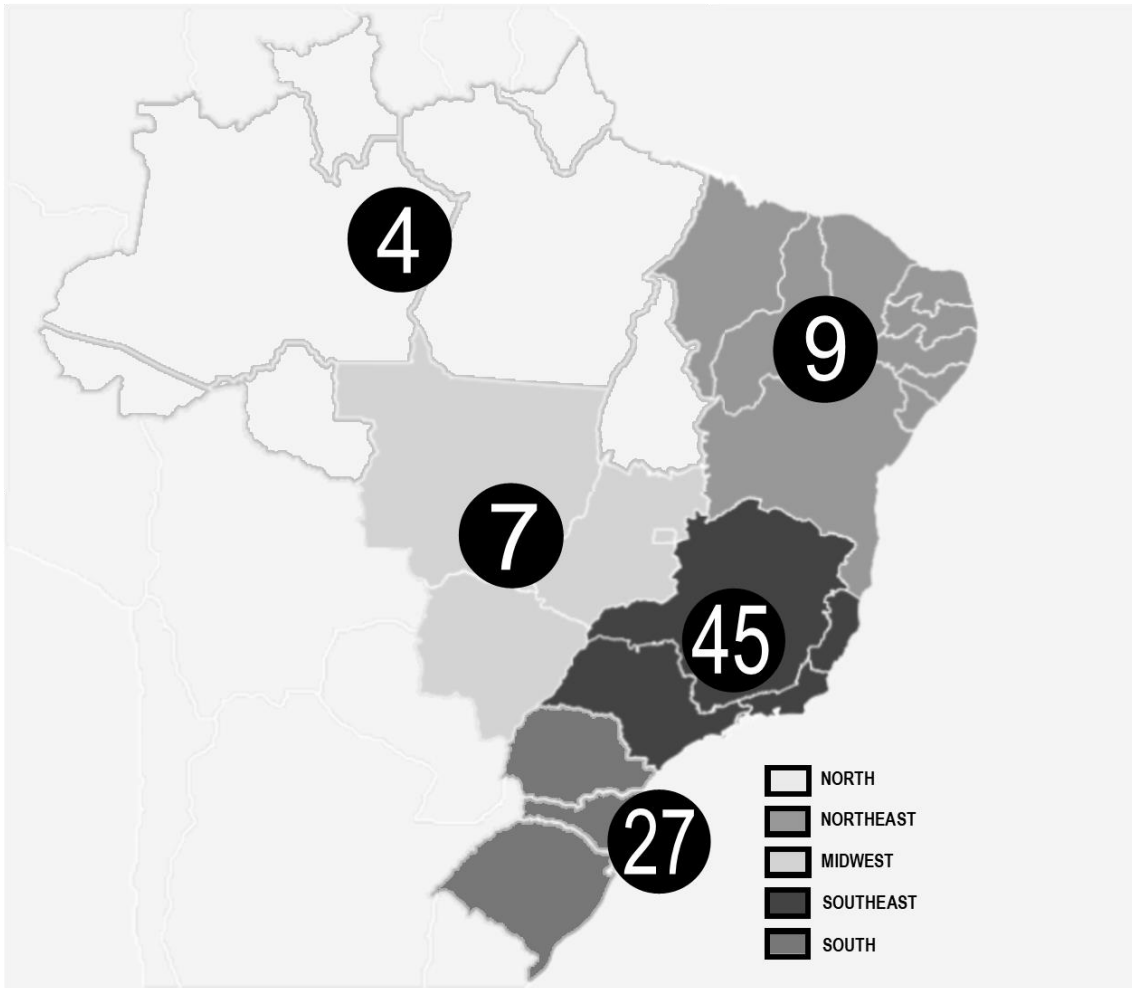


Figure 2: Distribution of Brazilian MPS IIIB patients diagnosed by the MPS Brazil Network, according to region.

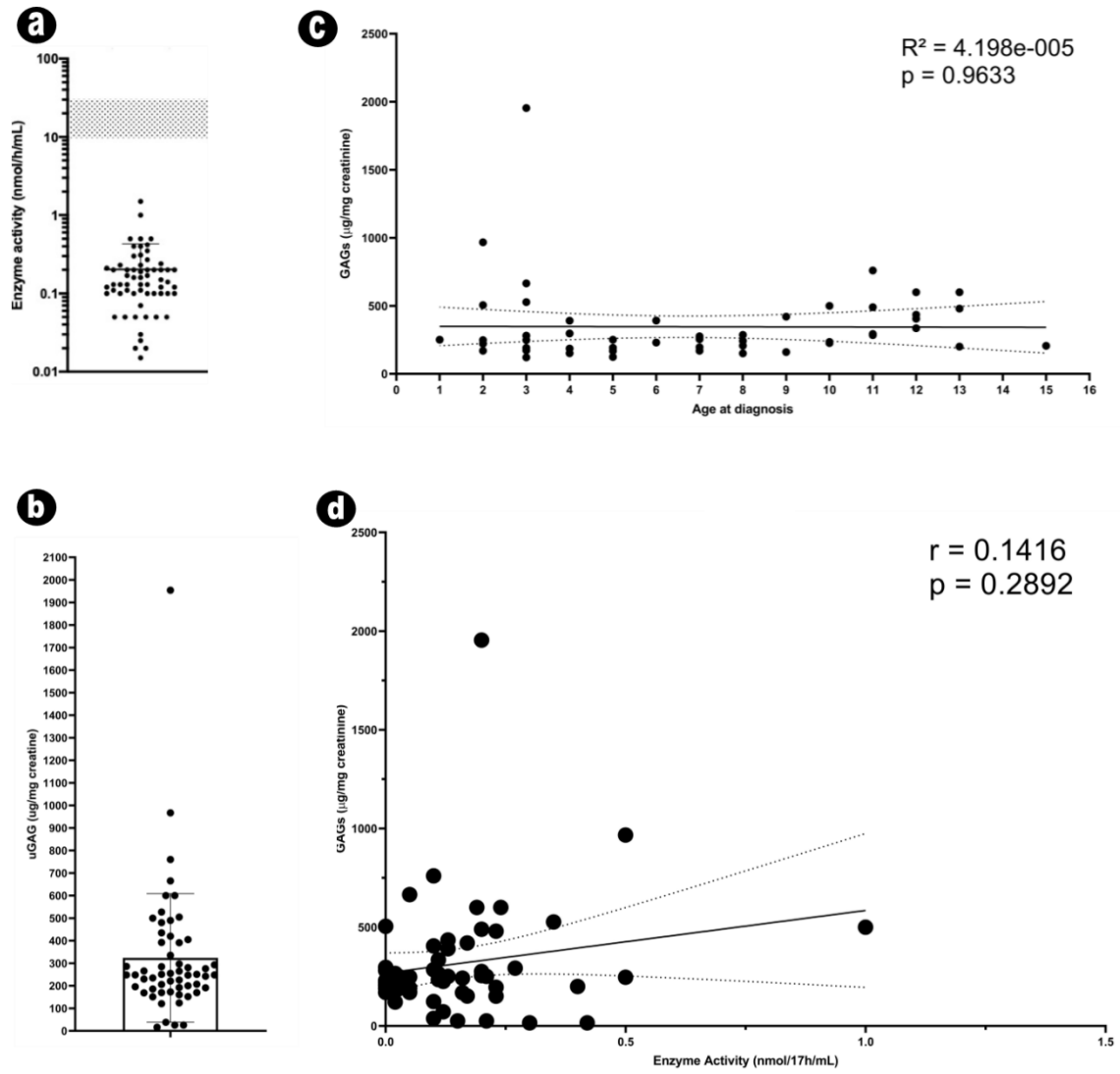


Figure 3: NAGLU activity and Urinary GAG levels. A) NAGLU activity in leucocytes in nmol/17h/mg (the grey line corresponds to reference values) and b) Urinary GAG (ug/mg creatinine) levels at the moment of diagnosis. GAG reference levels vary depending on age (Normal range: 7-296 ug/mg creatinine) with all patients presenting levels higher than reference for their ages. C) Correlation between GAG levels and age of diagnosis. D) Correlation between residual enzyme activity and urinary GAG.

Table 01: Diagnostic hypothesis of the 106 patients with Mucopolysaccharidosis type IIIB included in this study

	<b>All patients (n=106*)</b>
Age at diagnosis (years)	
<i>Range</i>	1-33
<i>Median (interquartile range)</i>	10.96 (8.22-13.70)
Consanguineous parents (n)	26
Diagnostic Hypothesis*	
<i>Mucopolysaccharidosis</i>	29/106 (27.35%)
<i>Mucopolysaccharidosis type I</i>	13/106 (12.26%)
<i>Mucopolysaccharidosis type II</i>	11/106 (10.37%)
<i>Mucopolysaccharidosis type III</i>	32/106 (30.18%)
<i>Mucopolysaccharidosis type IIIb</i>	16/106 (15.09%)
<i>Inborn Error of Metabolism</i>	13/106 (12.26%)
<i>Lange's syndrome</i>	01/106 (00.90%)
<i>Leukodystrophy</i>	01/106 (00.90%)

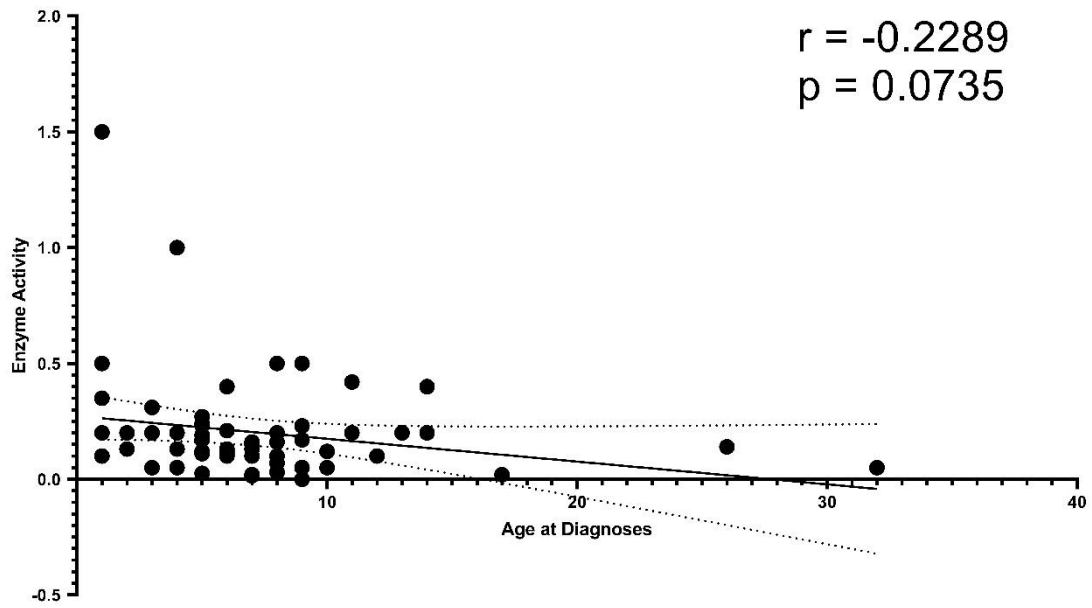
\*in some cases, more than one diagnostic hypothesis was suspected

Table 02: Clinical Symptoms in patients with Mucopolysaccharidosis type IIIB at diagnosis

---

Symptoms	
<i>Coarse face</i>	55/106 (51.88%)
<i>Neuropsychomotor developmental delay</i>	52/106 (49.05%)
<i>Hepatomegaly</i>	37/106 (34.90%)
<i>Skeletal abnormalities</i>	26/106 (24.52%)
<i>Splenomegaly</i>	23/106 (21.69%)
<i>Agitation/Agressivity/Behaviour changer</i>	23/106 (21.69%)
<i>Respiration and sleep abnormalities</i>	22/106 (20.75%)
<i>Neurological regression</i>	20/106 (18.86%)
<i>Hearing difficult</i>	17/106 (16.03%)
<i>Macrocephaly and Hidrocefaly</i>	16/106 (15.09%)
<i>Growth retardation</i>	14/106 (13.20%)
<i>Umbilical/Inguinal hernia</i>	13/106 (12.26%)
<i>Hirsutims/tick hair or eyebrows</i>	08/106 (07.54%)
<i>Dismorphies</i>	08/106 (07.54%)
<i>Heart Problems</i>	07/106 (06.60%)
<i>Seizures</i>	06/106 (05.66%)
<i>Diarrhea</i>	03/106 (02.83%)
<i>Enlarged tongue</i>	02/106 (01.88%)

---



Supplementary figure 01: Correlation between Enzyme Activity (NAGLU, in nmol/17h/mg) and Age at Diagnoses.

**CAPÍTULO 02: ARTIGO II**



## SITUAÇÃO: EM PREPARO

### JOURNAL OF INHERITED METABOLIC DISEASES

#### Disease progression in Sanfilippo type B: a case series of Brazilian patients

Yorran Hardman Araújo Montenegro<sup>1,2</sup>, Franciele Barbosa Trapp<sup>3</sup>, Erlane Marques Ribeiro<sup>4</sup>, Charles Marques Lourenço<sup>5</sup>, Augusto César Cardoso-dos-Santos<sup>6</sup>, Márcia Gonçalves Ribeiro<sup>7</sup>, Chong Ae Kim<sup>8</sup>, Matheus Augusto Araújo Castro<sup>9</sup>, Emília Katiane Embiruçu<sup>10</sup>, Carlos Eduardo Steiner<sup>11</sup>, Filippo Vairo<sup>12</sup>, Guilherme Baldo<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Medical Genetics Service, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Porto Alegre, Brazil

<sup>2</sup> INAGEMP, Porto Alegre, Brazil

<sup>3</sup> MPS Brazil Network, Medical Genetics Service, HCPA, Porto Alegre, Brazil

<sup>4</sup> Medical Genetics Service, Hospital Infantil Albert Sabin, Fortaleza, Brazil

<sup>5</sup> Centro Universitário Estácio, Ribeirão Preto, Brazil

<sup>6</sup> Medical Genetics Service, Hospital Infantil Albert Sabin, Fortaleza, Brazil

<sup>7</sup> Medical Genetics Service, Instituto de Puericultura e Pediatria Martagão Gesteira/UFRJ, Rio de Janeiro, Brazil

<sup>8</sup> Genetic Unity, Instituto da Criança HC FMUSP, São Paulo, Brazil

<sup>9</sup> Medical Resident, Hospital de Clínicas, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, São Paulo, Brazil

<sup>10</sup> Science of Life Department, Complexo Hospitalar Universitário Professor Edgar Santos/UFBA, Bahia, Brazil

<sup>11</sup> Medical Genetic and Genomic Medicine Department, Faculdade de Ciências Médicas/UNICAMP, São Paulo, Brazil

<sup>12</sup> Mayo Clinic, Rochester, USA

#### Corresponding author

Yorran Hardman A. Montenegro

Gene Therapy Center, Hospital de Clinicas de Porto Alegre, 2350 Ramiro Barcelos, Porto Alegre, RS 90035-003, Brazil. E-mail: ymontenegro@hcpa.edu.br

Word count: 1955

Number of figures: 3

Supplementary figure: 01

Number of tables: 3

## **ABSTRACT**

Mucopolysaccharidosis type III B (MPS IIIB, Sanfilippo syndrome type B) is caused by deficiency of alpha-N-acetylglucosaminidase, leading to storage of heparan sulphate oligosaccharides. The disease is characterized by intellectual disability and hyperactivity, but other somatic features (hepatosplenomegaly, joint contractures, cardiovascular abnormalities) are also present. Here we studied retrospective data from twenty-two MPS IIIB patients from Brazil, aiming to evaluate disease progression. Mean age at diagnosis was 6.2 years. Speech delay was one of the first symptoms to be identified, around 2-3 years of age. Behavioral alterations include hyperactivity and aggressiveness, starting around age four. By the end of the first decade, patients lost acquired abilities such as speech and ability to walk. Furthermore, respiratory, cardiovascular and articular abnormalities were found in more than 50% of the patients, along with organomegaly. Most common cause of death was due to respiratory problems. The disease progression was characterized in multiple systems, and hopefully these data will help designing appropriate clinical trials.

**KEYWORDS:** Mucopolysaccharidosis type IIIB, Sanfilippo Syndrome, clinical features.

## **1. INTRODUCTION**

Mucopolysaccharidosis type III (MPS III, Sanfilippo syndrome) is a group of lysosomal storage disorders resulting from a deficiency in one enzyme involved in the degradation of heparan sulfate. The MPS IIIB is caused by deficiency of alpha-N-acetylglucosaminidase (OMIM 252920) (Neufeld & Muenzer, 2001). The main characteristic of MPS III is intellectual disability and hyperactivity due to neurodegeneration. Common presenting somatic features include coarse facial features, macrocephaly, cardiac alterations and hearing loss.

The age of onset and progression of the disease is variable, but three stages of the disease are reported (Cross et al., 2014; Kim et al., 2016). The first stage comprises the first 2 years of life. After an initial normal development, developmental delay appears. The second stage is characterized by progressive mental deterioration and behavioral problems, and begins around 3 to 4 years of age. In the third stage, motor retardation, swallowing difficulties and spasticity appear, while the behavioral alterations tend to disappear. Patients usually die by the second or third decade of life (Valstar et al., 2011).

The progression of MPS IIIB has been recently reported by groups from countries such as USA, UK and Taiwan, but no data regarding South American patients is available so far (Whitley et al., 2018; Lin et al., 2018). In the present study, we gathered information of twenty-two Brazilian MPS IIIB patients from different centers. We assessed clinical and biochemical information of these patients to analyze disease progression.

## **2. PATIENTS AND METHODS**

A retrospective study was carried out for patients diagnosed with MPS IIIB born from 1989 to 2016 in the following medical centers from Brazil: Universidade de Campinas (Campinas, São Paulo), Hospital Universitário Professor Edgard Santos (HUPES) (Salvador, Bahia), Hospital Infantil Albert Sabin (HIAS) (Fortaleza, Ceará), Centro Universitário Estácio de Ribeirão Preto (Ribeirão Preto, São Paulo), Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA) (Porto Alegre, Rio Grande do Sul), Instituto da Criança do Hospital das Clínicas da FMUSP (São Paulo, São Paulo). To be included in the study, patient had to have biochemical (NAGLU activity) and/or mutational analysis confirming NAGLU deficiency. Patients' charts were reviewed for biochemical findings, medical history, clinical manifestations and assessments. Any available results of the following investigations were also recorded: electroencephalography (EEG); electrocardiography

(ECG); echocardiography; hearing assessment by pure-tone audiometry; tympanometry; physical exam; polysomnography, as well as other information relevant to the course of disease, including surgical procedures and use of medication. The study was approved by the ethics committee from Hospital de Clínicas de Porto Alegre (GPPG: 17-0664). Written informed consent was acquired from a parent for children or from patients over 18 years, allowing the use of images. Results are expressed as the mean  $\pm$  SD or by descriptive statistics.

### 3. RESULTS

We were able to obtain clinical records for 22 patients from birth to their last visit to the physician, with 16 unrelated patients. We firstly looked for possible neonatal findings. A percentage of 54.5% of births were by cesarean delivery and 45.5% of births by vaginal delivery. Newborns had an average weight of 3,154g (IQ 2,862g – 3,550g) (n=22), with an average length of 48.7cm (IQ 46.8cm – 50.3cm) (n=16) and cephalic perimeter of 34.5cm (IQ 33.87cm – 35cm) (n=8). One patient showed extensive Mongolian spots at birth. Other neonatal conditions reported in a single patient were: jaundice after 48 hours, oligohydramnios, coarse face, umbilical hernia, neonatal asphyxia, nuchal cord requiring hospitalization, hypertrichosis, synophrys, and hepatosplenomegaly. A summary can be found in Table 1.

#### *Initial Symptoms*

The mean reported age of onset of symptoms was 26 months (range: 0 - 72 months). Mean age of diagnosis was 6.4 years (n = 21, range 0.6-22 years). The mean value of NAGLU activity in leukocytes was  $0.17 \pm 0.16$  nmol/17h/mg (range 0-0.5) (n=16). The average urinary GAG levels were 263  $\mu$ g/mg creatinine (range 39-600  $\mu$ g/mg creatinine) (n=17). The first symptoms reported that made physicians suspect of a genetic disorder were speech delay (n = 9, mean age 31.2 months, range 18-60 months), developmental delay (n = 8, mean age 49.9 months, range 12-216 months), behavioral problems (n = 5, mean age 47.8 months, range 17-72 months) and macrognathism (n = 2, ages 3 months and two years). Other findings were found in a single patient (Figure 1). The progression of the phenotype was very obvious, as can be seen in supplement figure 1.

### *Neuropsychomotor Development*

An initial normal neuropsychomotor development was described in almost all cases, but alterations in parameters such as the average time to start walking were observed. However, a high heterogeneity was observed in parameters such as acquisition of control of sphincters and speaking abilities. Loss of acquired abilities, especially related to speaking, was also observed in available cases (Table 02). We only had available electroencephalograms from three patients. They demonstrate different changes related to MPS pathology. Findings include diffuse disorganization and disorganization of the rhythms of the base in the right frontal focus.

### *Cardiac Findings*

Echocardiogram was available for thirteen patients. Out of those, nine (69%) presented at least one pathological alteration. The cardiac alterations usually appeared later in life (average of  $9.0 \pm 3.2$  years), and were considered either mild or moderate. The most common abnormalities were related to the heart valves (aortic, mitral and tricuspid). Other findings were related to myocardial abnormalities, with two cases of left ventricle dilatation, one case of systolic dysfunction (Figure 2). In one patient persistency of the arterial duct was identified, and surgery was necessary.

Electrocardiograms were available in only three patients, with one normal and two of them showing alterations in T wave. One of those patients had inversion of T wave and myocardial ischemia at an early age (four years old).

### *Other somatic findings*

Patients presented multisystemic alterations. Sixty-eight percent of patients (13/19) developed hepatomegaly. Splenomegaly was also common (44%). Most of the patients (64%) had sleep apnea, which was the most common respiratory issue. Joint contractures were present in 58% of patients at their last visit to the ambulatory. Thirty percent of patients (3/10) reported hearing impairment. In one case, hearing loss was reported at age 5, the patient had a retrocochlear alteration and was submitted to cochlear transplantation. In another case a patient had hearing loss of unknown cause at age 14. Third case reported was caused by secretory otitis at age 9 that caused mild right auditory loss.

Corneal opacity, common to other MPS such as MPS I, was not reported in any patient. Other specific less common features can be found in table 3.

### *Surgical Procedures and drug administration*

Out of twenty-two patients, fourteen patients had to undergo surgical procedures. The procedures usually were performed early in life (average of  $4.6 \pm 4.5$  years). The most common procedures reported (n = 5 patients) were Adenoidectomy (average of  $3.8 \pm 1.5$  years, n=4), Tonsillectomy (n = 4 patients) (average of  $3.3 \pm 1.5$  years, n = 3), and Gastrostomy (n = 4 patients) (average of  $7.0 \pm 4.0$  years, n = 3). Other interventions are reported in Figure 3.

Antiepileptic drugs were for 35% of our patients to control seizures, while over 25% were using antipsychotics. In five patients (22%), the use of anti-hypertensive drugs of different classes was prescribed as well.

### *Deaths*

Up to this moment, five of these twenty two patients had died, with average age of death being at 17 years. The main cause of death registered was pneumonia (60% of the cases). In one case cardiorespiratory failure was reported (20% of the cases) and in one case, the cause was unknown (Table 01).

## **4. DISCUSSION**

The present study assessed retrospective data of MPS IIIB patients diagnosed and followed in the main medical centers from Brazil. Age at diagnosis was 6.4 years, much younger than the average time previously reported for patients from all the country (manuscript in preparation) and similar to findings from Taiwan, USA, UK and Germany (Whitley et al., 2018; Lin et al., 2018).

Characterization of developmental delay revealed the progressive nature of the disease. Patients presented speech delay as the main early finding that physicians use to suspect MPS IIIB, and our data suggest a delay in forming 2-syllable words. Speech and language delay are reported as the most frequent initial symptoms of MPS IIIB, and hearing impairment, also observed in a significant fraction of our patients, may contribute to the speech and language delay (Shapiro et al., 2017). In the following years, the patients started losing the ability of walk, followed by losing the acquired speech and communicating skills, though high variability was observed, which may indicate that in our population we have patients with both slow and rapid progressive forms of the disease

(Héron et al., 2011). Seizures are reported in 30% of MPS III patients, and might underrepresented in our sample. The use of different anticonvulsivants in our patients suggest that it is indeed the case (Héron et al., 2011).

MPS IIIB is mostly considered a neurologic disease, but our findings show that other somatic manifestations are also very prevalent. Cardiac abnormalities were found in almost 70% of our patients with available data, showing that these abnormalities are more common than expected. A recent study revealed that almost 40% of MPS IIIB patients develop valve disease, which was also the most common finding in our sample (Lin et al., 2019). Although usually mild to moderate, it is important to notice that one of our patients died due to cardiorespiratory failure, which suggests that this aspect of the disease slowly progresses with age, and should be monitored carefully.

Our data also point to a high frequency of other somatic abnormalities, including hepatosplenomegaly and joint contractures. Other findings such as dysostosis multiplex might be underrepresented and is a limitation of this work. As previously reported in a study (Berger et al, 2013), respiratory issues such as sleep apnea and upper airway infections were very common in our sample. Three of the patients died of Pneumonia, due to recurrent airway infection, and one died during sleep of an unknown causes. Most of the surgeries were performed in an attempt to ameliorate the respiratory function of the patients. Therefore, future therapies should focus not only on improving brain disease, but also the other somatic alterations, since they lead to high morbidity and are the cause of death of most patients as well (Whitley et al, 2018)

Altogether, our results show diagnosis of MPS IIIB patients in the main medical centers from Brazil is performed at a similar age as in other countries. We also showed that MPS IIIB patients have abnormalities that progress with age. The disease progression was characterized in multiple systems, and hopefully these data will help designing appropriate clinical trials.

## **ACKNOWLEDGEMENTS**

The authors would like to thank the families and patients. This study was supported by CAPES, CNPq and FAPERGS.

## REFERENCES

Berger KI, Fagondes SC, Giugliani R, Hardy KA, Lee KS, McArdle C, Scarpa M, Tobin MJ, Ward SA, Rapoport DM. Respiratory and sleep disorders in mucopolysaccharidosis. *J Inher Metab Dis*. 2013 Mar;36(2):201-10. doi: 10.1007/s10545-012-9555-1.

Cross et al.: An investigation of the middle and late behavioural phenotypes of Mucopolysaccharidosis Type-III. *Journal of Neurodevelopmental Disorders* 2014 6:46. Doi: 10.1186/1866-1955-6-46.

Héron B, Mikaeloff Y, Froissart R, Caridade G, Maire I, Caillaud C, Levade T, Chabrol B, Feillet F, Ogier H, Valayannopoulos V, Michelakakis H, Zafeiriou D, Lavery L, Wraith E, Danos O, Heard JM, Tardieu M. Incidence and natural history of mucopolysaccharidosis type III in France and comparison with United Kingdom and Greece. *Am J Med Genet A*. 2011 Jan;155A(1):58-68.

Kim J. H. et al. Long-term clinical course of a patient with mucopolysaccharidosis type IIIB. *Korean J Pediatr* 2016;59(Suppl 1):S37-40. Doi: 10.3345/kjp.2016.59.11.S37

Lin HY, Chuang CK, Lee CL, Tu RY, Lo YT, Chiu PC, Niu DM, Fang YY, Chen TL, Tsai FJ, Hwu WL, Lin SJ, Chang TM, Lin SP. Mucopolysaccharidosis III in Taiwan: Natural history, clinical and molecular characteristics of 28 patients diagnosed during a 21-year period. *Am J Med Genet A*. 2018 Sep;176(9):1799-1809.

Lin, H., Chen, M., Lin, S. et al. Cardiac characteristics and natural progression in Taiwanese patients with mucopolysaccharidosis III. *Orphanet J Rare Dis* 14, 140 (2019). <https://doi.org/10.1186/s13023-019-1112-7>

Neufeld EF, Muenzer J (2001) The Mucopolysaccharidoses. *The Metabolic and Molecular Basis of Inherited Disease*, C. Scriver, A. Beaudet, W. Sly, and D. Vaele, eds. (New York: Mc Graw-Hill), pp. 3421-3452.



Shapiro E., Ahmed A., Whitley C., Delaney K. Observing the advanced disease course in mucopolysaccharidosis, type IIIA; a case series. *Molecular Genetics and Metabolism*. 2017; 123:2; 123-126. Doi: 10.1016/j.ymgme.2017.11.014.

Valstar MJ, Marchal JP, Grootenhuis M, Colland V, Wijburg FA. Cognitive development in patients with mucopolysaccharidosis type III (Sanfilippo syndrome). *Orphanet J Rare Dis* 2011;6.

Whitley CB, Cleary M, Eugen Mengel K, Harmatz P, Shapiro E, Nestrasil I, Haslett P, Whiteman D, Alexanderian D. Observational Prospective Natural History of Patients with Sanfilippo Syndrome Type B. *J Pediatr*. 2018 Jun;197:198-206.e2.

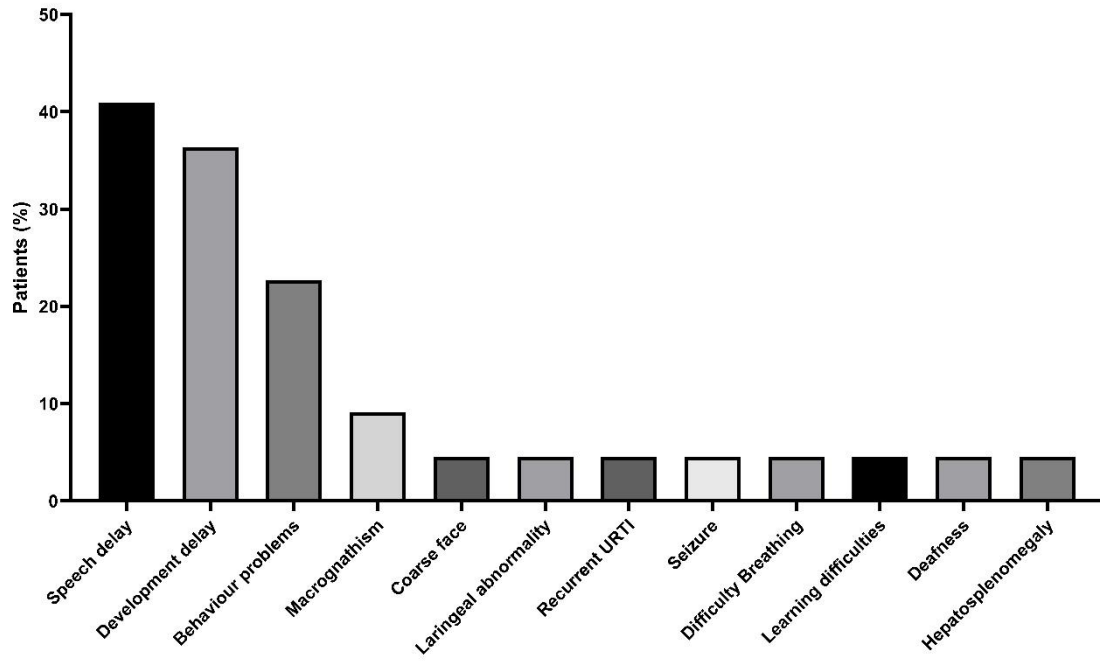


Figure 01: Clinical findings reported at the moment of diagnosis. Mean age at diagnosis was 6.4 years. N = 22 patients. URTI: Upper respiratory tract infection.

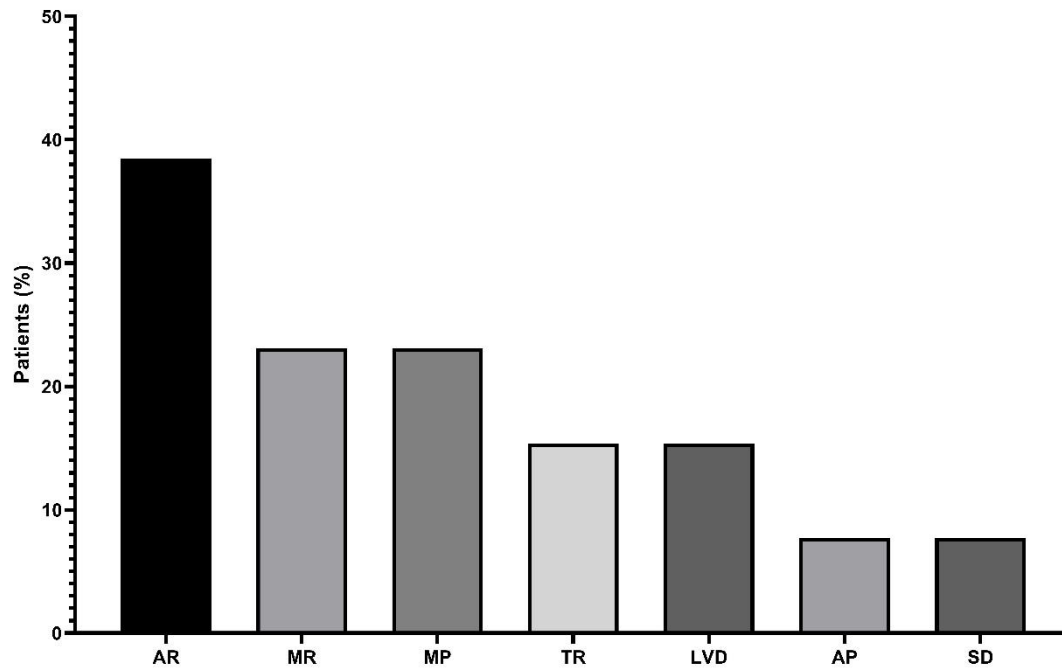


Figure 02: Echocardiogram Findings in patients with MPS IIIB (n=13). Mean age of abnormalities was at nine years. AR: Aortic Regurgitation. MR: Mitral Regurgitation. MP: Mitral Prolapse. TR: Tricuspid Regurgitation. LVD: Left Ventricle Dilatation. AP: Aortic Prolapse. SD: Systolic Dysfunction.

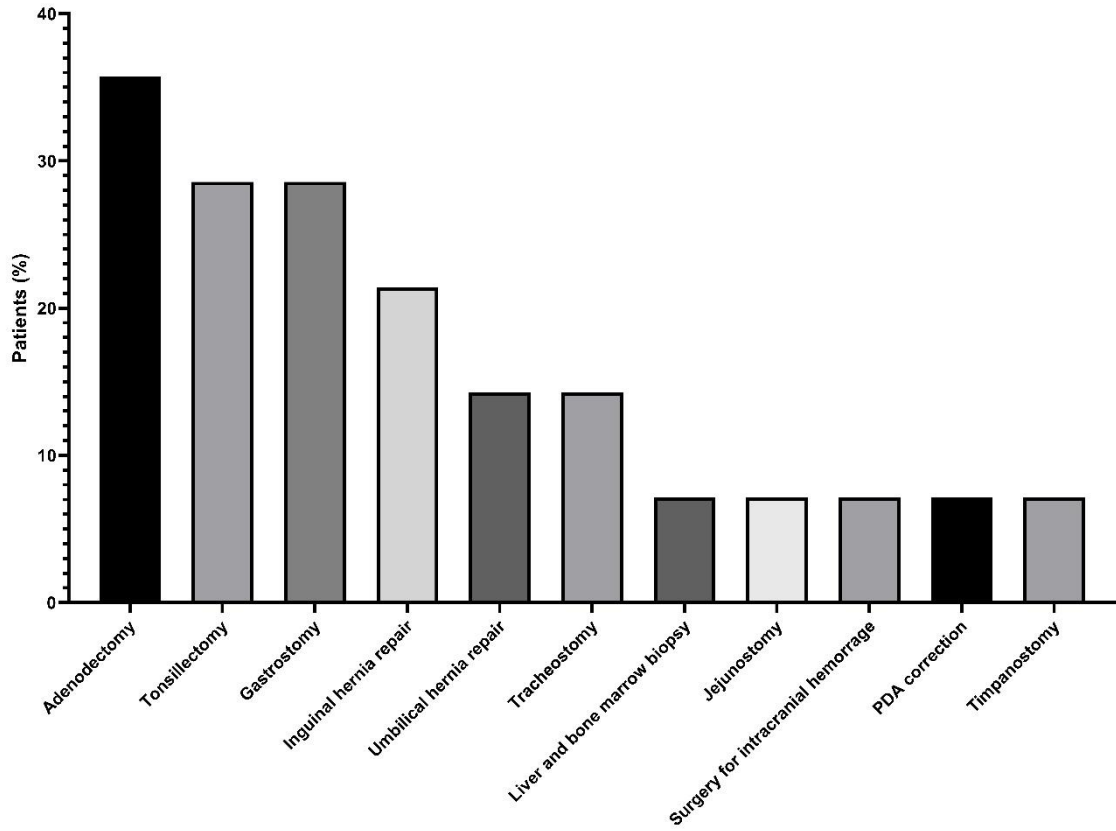


Figure 03: Surgical Procedures performed in MPS IIIB patients. Fourteen out of twenty-two patients had to undergo at least one surgery. PDA: patent ductus arteriosus.

Table 1: Clinical and biochemical data on Brazilian MPS IIIB patients.

No	Gender	Current age (Yrs)	Age at diagnosis (Yrs)	NAGLU activity (reference)	Urinary GAG (ref ug/mg creatinine)	Age at onset of symptoms (yrs)	Initial symptoms	Age at first seizure (year)	Behavioral problems (age)	Cause of death (age)
1	F	7	3	0.05 (10-34)	-	2	Coarse face and Development Delay	NR	Sleepwalking, night terror, agitation, aggression.	Alive
2	F	5	3	0.31 (10-34)	-	NR	NR	NR	Agitation and Aggressiveness	Alive
3	F	4	0.8	0.5 (10-34)	-	0.6	Gingival Hyperplasia	NR	NR	Alive
4	F	12	10	0.12 (10-34)	226 (26-97)	1	Developmental Delay	NR	Agitation, Anxiety, Aggressiveness and Insomnia	Alive
5	M	5	1	0.00 (10-34)	505 (79-256)	0.3	Macrocephaly	NR	Irritability, Aggressiveness, Poor visual interaction	Alive
6	M	18	4	0.27 (6.6-19)	600 (67-124)	2	Speech Delay	NR	NR	Alive
7	M	12	9	0.5 (10-34)	176 (26-97)	2	Macrocephaly	NR	Aggressiveness, Irritability	Alive
8	M	7	1	0.35 (10-34)	527 (133-274)	1	Upper Airway Infection	NR	Apathy	Alive
9	F	22	18	0.19 (10-34)	77 (13-45)	6	Agitation	18	Agitation (6) and Aggressiveness	Alive
10	F	5	3	0.00 (10-34)	123 (64-127)	2	Speech Delay	NR	Hyperactivity (3)	Alive
11	M	7	5	0.3 (>1.5)	-	2	Developmental Delay	NR	NR	Alive
12	M	Deceased	20	NR <sup>a</sup>	-	1	Failure to thrive, Hepatomegaly and Diarrhea	NR	Aggressiveness (12)	Pneumonia (21)
13	F	Deceased	10	0.05 (10-34)	192 (26-97)	4	Developmental Delay	NR	Agitation (10)	Pneumonia (13)
14	M	Deceased	6	0.00 (10-34)	263 (26-97)	5	Agitation	9	Agitation	Pneumonia (13)
15	F	Deceased	22	0.12 (11-37)	124 (13-45)	5	Speech Delay, Ataxia and Neurological Regression	NR	Hyperactivity (5)	Cardiorespiratory arrest (28)
16	M	19	5	0.00 (10-34)	340 (53-115)	2	Speech Delay	NR	Agitation (5)	Alive

Table 1: Continuation

No	Gender	Current age (Yrs)	Age at diagnosis (Yrs)	NAGLU activity (reference)	Urinary GAG (ref ug/mg creatinine)	Age at onset of symptoms (yrs)	Initial symptoms	Age at first seizure (year)	Behavioral problems (age)	Cause of death (age)
17	F	18	7	0.3 (11-37)	164 (67-124)	5	Speech Delay and Hyperactivity	NR	Hyperactivity, Psychosis, aggressiveness	Alive
18	F	7	2	0.00 (10-34)	297 (68-188)	1	Developmental delay and Irritability	NR	Irritability and Agitation	Alive
19	M	11	1	0.1 (10-34)	286 (67-124)	0.4	Difficulty breathing	NR	Austistic Behavior and Aggressiveness	Alive
20	F	13	NR	0.1 (11-37)	194 (26-97)	2	Learning Issues and Speech Delay	8	Hyperactivity (3), Anxiety and Agitation	Alive
21	F	22	7	0.12 (11-37)	39 (5.7-13)	1	Developmental Delay	7	NR	Alive
22	M	Deceased	5	0.1 (11-37)	335 (53-115)	0	Hepatosplenomegaly	NR	Agitation	Unknown(10)

NR: Not Reported. F: Female. M: Male. <sup>a</sup>Despite not having the result from NAGLU activity available, patient 12 was included because we had molecular analysis of NAGLU.

NAGLU reference values vary according to method (Leucocytes 10-34 nmol/17h/mg; plasma 11-37 nmol/h/mL; filter paper >1.5 nmol/h/mL)

Table 02: Age of acquisition and loss of neuropsychomotor developmental milestones in Brazilian Muchopolysaccharidosis type IIIB patients.

Neuropsychomotor developmental milestone	Age	
	Mean	SD
Head Control		
Acquisition (Months) (n=11)	3.8	1.0
Loss (Years) (n=1)	8	-
Sitting without support		
Acquisition (Months) (n=16)	7.75	1.34
Loss	-	-
Walking		
Acquisition (Months) (n=15)	15.4	3.5
Loss (Years) (n=3)	7.3	2.1
Bladder sphincter control		
Acquisition (Months) (n=4)	46.5	28.7
Loss (years) (n=2)	16	2.8
Anal Sphincter Control		
Acquisition (Years) (n=3)	4.7	1.5
Loss (years) (n=1)	18	-
Speaking two-syllable words		
Acquisition (Months) (n=14)	21.7	10.7
Loss (years) (n=5)	11	7.4
2-word Phrases		
Acquisition (months) (n=5)	33.3	13.3
Loss (years) (n=4)	8.3	6.7

Table 03: Data from Brazilian MPS IIIB patients obtained at last recorded visit.

No	AGE (YEARS)	WEIGHT (KG)	LENGHT (CM)	HEAD CIRCUMFERENCE (CM)	SLEEP APNEA/ABNORMALITIES	JOINT CONTRACTURES	HEPATOMEGALY	SPLENOMEGALY	HEARING ABNORMALITIES	OTHER FINDINGS
1	4	20.2	105	52	Yes	No	Yes	No	No	Thick hair, Downsanting palpebral fissures depressed nasal bridge , Gingival hiperplasia, Umbilical hernia
2	4	15.6	100	NR	Yes	No	Yes	No	NR	Dolicocephalia, depressed nose and retrognathism
3	1	12.1	84	48.5	Yes	No	No	No	No	Sinofrys, small nose with anteverted nostrils, gingival hyperplasia
4	11	32.8	152.5	NR	Yes	No	Yes	No	Yes	NR
5	4	16.5	98	54	Yes	No	Yes	Yes	No	Facial dysmorphia
6	NR	49.6	151	58	NR	Yes	No	No	NR	Coarse face, thick eyebrows
7	NR	32.3	130	58	Yes	Yes	No	No	NR	Hirsutism, thick eyebrows
8	NR	11	88	50	Yes	Yes	Yes	Yes	NR	Bilateral inguinal hernia, Dysostosis multiplex, cortical atrophy
9	22	55	147	54	Yes	Yes	No	No	NR	NR
10	NR	NR	NR	NR	No	NR	NR	NR	NR	Hirsutism
11	NR	NR	NR	NR	No	NR	NR	NR	NR	Ear infections
12	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	Yes	Retinal deterioration at 18 years
13	NR	NR	54	NR	NR	Yes	Yes	No	Yes	Coarse face, thick hair, cerebral atrophy
14	13	28	NR	56	No	Yes	Yes	Yes	NR	NR
15	24	32.2	NR	56	NR	Yes	No	No	NR	Spasticity, hyperreflexia, ventricular dilatation and hydrocephaly
16	6	27.9	120	55.5	Yes	No	Yes	No	No	NR
17	17	62	167	56	No	Yes	Yes	Yes	No	Tremors. Facial dyskinesia
18	6	23	113	52	NR	No	No	Yes	NR	NR



Table 03: Continuation...

No	AGE (YEARS)	WEIGHT (KG)	LENGHT (CM)	HEAD CIRCUMFERENCE (CM)	SLEEP APNEA/ ABNORMALITIES	JOINT CONTRACTURES	HEPATOMEGALY	SPLENOMEGALY	HEARING ABNORMALITIES	OTHER FINDINGS
19	5	22.8	108	54	Yes	Yes	Yes	NR	No	NR
20	10	30	128	57	No	No	Yes	Yes	No	NR
21	7	21	122	54	No	Yes	Yes	Yes	NR	NR
22	9	NR	120	50	Yes	Yes	Yes	Yes	NR	NR
<b>Summary</b>	-	-	-	-	11/17	11/19	13/19	8/18	3/10	-

NR: Not Reported.



Supplementary Figure 01: The progression of the phenotype in MPS IIIB patients. A) A female patient with 2, 3 and 5 years of age. B) Progression of the phenotype in a male patient from birth.

**CAPÍTULO 03: ARTIGO III**

**SITUAÇÃO: EM PREPARAÇÃO**

*Molecular Genetics and Metabolism Reports*

*Case Report*

**Schizophreniform disorder in a patient with  
Mucopolysaccharidosis type IIIB:  
A case report**

Yorran Hardman Araújo Montenegro<sup>1-4</sup>, Guilherme Baldo<sup>1-5</sup>, Ruy Pires De Oliveira Sobrinho<sup>5</sup>, Carlos  
Eduardo Steiner<sup>5</sup>

<sup>1</sup>*INAGEMP, Porto Alegre, Brazil*

<sup>2</sup>*MPS Brazil Network, Medical Genetics Service, HCPA, Porto Alegre, Brazil*

<sup>3</sup>*Gene Therapy Center, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Porto Alegre, Brazil*

<sup>4</sup>*Post-graduate Program in Genetics and Molecular Biology, UFRGS, Porto Alegre, Brazil*

<sup>5</sup>*Department of Medical Genetics and Genomic Medicine, Faculdade de Ciências Médicas/UNICAMP, São Paulo, Brazil*

**Corresponding author**

Yorran Hardman A. Montenegro

Gene Therapy Center, Hospital de Clinicas de Porto Alegre, 2350 Ramiro Barcelos,  
Porto Alegre, RS 90035-003, Brazil. E-mail: yorran\_montenegro@hotmail.com

Word count: 790 words

Number of figures: 01

Number of tables: 00

## **INTRODUCTION**

Mucopolysaccharidosis III type B (MPS-IIIB) is a rare lysosomal disorder that leads to a progressive neurocognitive degeneration. The disorder is caused by the accumulation of heparan sulphate, due to deficiency of the enzyme alpha-N-acetylglucosaminidase (NAGLU), caused by mutations in the *NAGLU* gene, located on chromosome 17q21.1 [1,2].

In addition to common characteristics, such as delay in neuromotor development, hyperactivity, aggressivity, and cognitive decline, some patients present unusual manifestations, such as autistic behavior [3]. Our report describes a patient with MPS-IIIB who was diagnosed with schizophrenic disorder, a finding that, to the best of our knowledge, has not been previously described on this condition.

## **CASE REPORT**

The patient is a female with normal development in the first years of life, despite some speech delay. At 5 years of age an adenoidectomy was performed, and at 6 years hyperactivity was noticed. During early school age she was noted to present learning disabilities, especially for writing. After concluding basic education, she was referred to a secondary school for students with special needs. Until then she was functional and independent in activities of daily living, showing social interaction with other children. At the age of 18 she presented a first psychiatric outbreak, spending a month screaming and with poor sleeping. Behavioral problems became apparent, especially hyperactivity, destructive and chaotic behavior, anxiety, and aggressivity. Thereafter she presented marked regression in the cognition, accompanied by loss of control of sphincters, of ability to verbalize words with at least two syllables and sentence formation. Other symptoms included stirred and hyperkinetic behavior. Psychiatric evaluation disclosed absent interaction, absent verbal communication, and presence of stereotyped walking. The diagnosis of a schizophreniform disorder with negative symptoms (ICD 10 F20.8) was proposed, and she was admitted in the psychiatric inpatient unit for further investigation. She was initially managed with haloperidol, periciazine, promethazine, carbamazepine, and diazepam. She improved in attention and visual contact, but verbal communication remained restricted to two words. After 2 weeks she was managed only with clozapine. Tonic-clonic seizures were then reported, which were controlled with phenytoine. In the following weeks she remained clinically stable, verbal communication improved to complete sentences and singing. She was discharged from the hospital after

52 days. In the follow-up a first EEG showed slow background activity, but subsequent EEGs resulted normal. Fundoscopy was essentially normal, and imaging records indicated a volumetric reduction of the brain with compensatory increase in cisterns, fissures and ventricular system (Figure 1B). Clinical genetics evaluation revealed short stature, coarse facies, macroglossia, gum hypertrophy, coarse thick hair, and mild hepatomegaly (Figure 1A), and the suspicion of MPS was raised.

Laboratory tests performed at the age of 18 years indicated urinary glycosaminoglycans (GAGs) of 77 mg/g of creatine (age-related reference values: 13-45), with a marked increase in heparan sulphate. NAGLU activity in leucocytes was 0.19nmol/17h/mg protein (reference value: 10-34). Sequencing of the NAGLU gene disclosed the mutations c.1318G>C (p.Gly440Arg) (novel mutation, undescribed in literature, likely-pathogenic) and c.1834A>G (p.Ser612Gly) (pathogenic mutation), confirming the diagnosis of MPS-IIIB.

## **DISCUSSION AND CONCLUSION**

According to the literature, in MPS-III the behavioral problems progress with the age with a growing loss of skills, development of gait abnormalities, pyramidal signs, progressive and severe loss of intellectual processes and motor functions, and complete loss of initiative[1,4], leading to a vegetative state and death, in general in the early 30s[1].

Seizures are not rare in MPS-III, especially in older children[2,5]. To date, no record has indicated other cases of patients with Mucopolysaccharidosis type III and schizophrenia. However, an Iranian study[6] reported a case of a patient with MPS-IIIB that developed normally until the age of four, when behavioral symptoms started, such as auditory agnosia and decreased verbal communication. Progression of his symptoms to seizure and ataxia, brain perfusion scan and electroencephalography features suggested Landau-Kleffner syndrome (LKS), a pathological condition that shows symptoms related to autistic-like behavior[3]. Wijburg[6] previously reported that the behavioral diagnosis in MPS-III is confounded with aspects of autistic disorders, leading to a series of "easily misdiagnosed" cases. We believe that autistic and schizophrenic behavioral disorders can appear in older patients, as a characteristic of the progression of the disease, as recently suggested by Rezavi et al[3].

This first report of schizophreniform symptoms in a MPS-IIIB patient highlights the complexity and heterogeneity of this disease. Further observations about the

psychiatric manifestations in patients with MPS-III may help the understanding of the wide phenotypic spectrum of this disease.

#### **STATEMENT OF AUTHORSHIP**

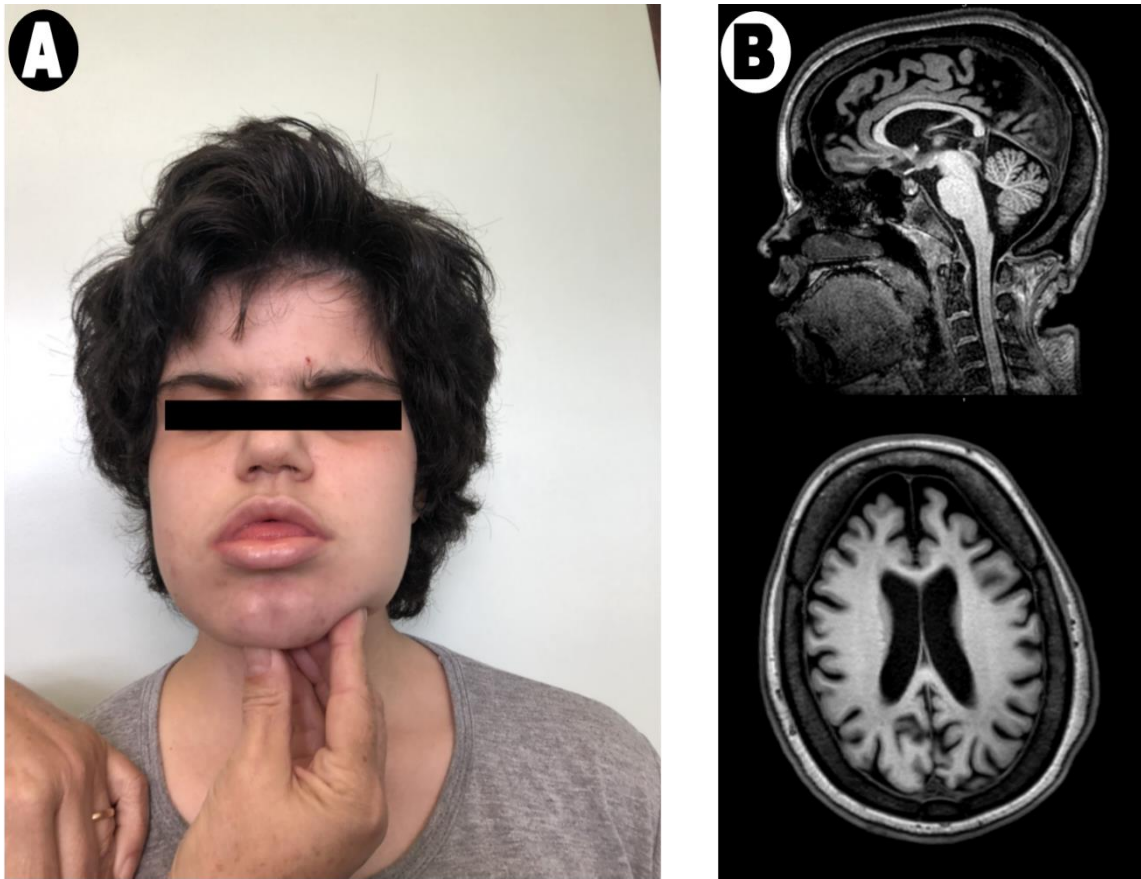
C.E.S. and R.P.O.S. followed the case of the patient in question at the UNICAMP teaching hospital outpatient clinic. R.G. and G.B. provided support for the evaluation of clinical conduction, molecular diagnosis and text review. Y.M. performed the stage of data analysis, text construction and authorship.

#### **FUNDING ACKNOWLEDGEMENT**

This work was supported by National Council for Scientific and Technological Development (CNPq).

#### **REFERENCES**

1. Valstar MJ, Ruijter GJ, van Diggelen OP, Poorthuis BJ, Wijburg FA. Sanfilippo syndrome: a mini-review. *J Inher Metab Dis*. 2008;31:240–52.
2. Andrade F., Aldámiz-Echevarría L., Llarena M., Couce M. L.. Sanfilippo syndrome: Overall review. *Pediatrics International*. 2015/57:331-38.
3. Rezayi, A. et al. An Uncommon Presentation of Mucopolysaccharidosis Type IIIb. *Iran Journal of Child Neurology*. 2019;13(3),105-111. Doi: 10.22037/ijcn.v13i3.16536
4. Lavery C, Hendriksz CJ, Jones SA. Mortality in patients with Sanfilippo syndrome. *Orphanet J Rare Dis*. 2017 Oct 23;12(1):168. doi: 10.1186/s13023-017-0717-y.
5. Zelei, T., Csetneki, K., Vokó, Z., Siffel, C. Epidemiology of Sanfilippo syndrome: results of a systematic literature review. *Orphanet Journal of Rare Diseases*. 2018;13(53),1-11.
6. Wijburg F.A. et al. Mucopolysaccharidosis type III (Sanfilippo syndrome) and misdiagnosis of idiopathic developmental delay, attention deficit/hyperactivity disorder or autism spectrum disorder. *Acta Paediatrica*. 2013;102(5);462-470. Doi: 10.1111/apa.12169



**Figure 01:** A) Patient at the age of 22 years. Phenotypic characteristics of mucopolysaccharidosis type III are observed, such as thick eyebrows, thick lips, and thick hair. B) Magnetic Resonance Imaging of the brain at the age of 20 years. There is an indication of the presence of a volumetric reduction of the brain (brain, brainstem and cerebellum) with compensatory increase in cisterns, fissures and ventricular system.



**DISCUSSÃO GERAL**

## DISCUSSÃO GERAL

A construção de um perfil brasileiro para a mucopolissacaridose tipo IIIB relacionado ao trabalho da Rede MPS Brasil contribuiu para evidenciar algumas limitações importantes relacionadas ao diagnóstico, quando comparado a outros locais no mundo.

O nosso primeiro contato com os dados presentes na Rede MPS Brasil (Artigo 01) nos revelou, um atraso de aproximadamente 05 anos no diagnóstico de pacientes com a Síndrome de Sanfilippo (Vieira et al., 2008) quando comparado a outros países (Lin et al., 2018). Identificar as possíveis causas relacionadas com essa diferença foi um dos principais pontos discutidos no primeiro trabalho.

As proporções continentais e as assimetrias regionais, no caso do território brasileiro, se mostram uma barreira importante quando tratamos de doenças genéticas. As nossas observações mostram que a maior parte dos diagnósticos são realizados nos estados das regiões Sudeste e Sul do país (Tabela 3). Esse dado, sob nossa óptica, não significa necessariamente que nestas regiões brasileiras há mais casos da doença, mas sim que o diagnóstico é realizado de forma mais eficiente, podendo haver subdiagnóstico principalmente nas regiões menos desenvolvidas do país. Isso se confirma no momento em que, ao analisarmos pacientes apenas de centros maiores (artigo 02) o tempo para o diagnóstico caiu para pouco mais de 6 anos, similar ao de países desenvolvidos (Whitley et al, 2018). O fato de a média de idade ao diagnóstico ser de quase 11 anos nos pacientes da Rede MPS é preocupante se considerarmos que, na coorte do artigo 02 há relatos de pacientes que faleceram dos 10 aos 13 anos, e que, portanto, nem teriam sido diagnosticados.

Outro importante fator que pode ter contribuído para o atraso no diagnóstico é a falta de conhecimento substancial, por parte dos médicos, das características clínicas associadas a MPS IIIB, por ser uma doença tão rara. Como nossos dados no primeiro artigo demonstram, embora a maior parte dos médicos tenha sugerido uma hipótese diagnóstica de Mucopolissacaridose, em muitos casos não havia uma definição clara de qual subtipo da doença. Há ainda outras sugestões de diagnóstico amplas, como por exemplo, suspeita de “Erro Inato do Metabolismo”. Por fim, este atraso pode também, em parte, ser explicado pela heterogeneidade dos sintomas apresentados pelos pacientes com Síndrome de Sanfilippo, especialmente nas diferenças de desenvolvimento clínico

da doença associadas a quadros leves ou graves da mesma (Valstar et al.,2010; Cross et al., 2014; Kim et al., 2016; Nijmeijer et al., 2019; Wijburg et al., 2013).

Um dos exemplos que demonstramos com a apresentação do quadro clínico refere-se as alterações de ordem neurológica. A MPS IIIB destaca-se por ser uma doença de cunho, quase que primordialmente, neurológico (Valstar et al., 2010; Kim et al., 2016). Em pacientes com um quadro clínico leve da doença, os primeiros sinais podem apresentar-se de forma branda e ser um importante elemento de confusão para o médico que irá atendê-los. No Artigo 03 observamos o caso de um paciente que possuía características clínicas possivelmente associadas à um distúrbio de caráter esquizofreniforme como um exemplo de diagnóstico difícil de ser realizado.

**Tabela 3: Distribuição de pacientes de MPS IIIB por região, país e estado.**

REGIÃO	ESTADO	N	%
NORTE	Pará	2	4.54%
	Acre	1	
	Amazonas	1	
NORDESTE	Ceará	5	8.18%
	Bahia	4	
CENTRO-OESTE	Mato Grosso	3	6.36%
	Distrito Federal	3	
	Mato Grosso do Sul	1	
SUDESTE	São Paulo	22	40.90%
	Rio de Janeiro	10	
	Minas Gerais	9	
	Espírito Santo	4	
SUL	Rio Grande do Sul	17	24.54%
	Santa Catarina	6	
	Paraná	4	
EQUADOR	Portoviejo	8	11.81%
	San Jacinto	1	
	El Junco Charapoto	1	
	Quito	2	
OUTROS	Manabi	1	4.54%
	Alger (Algeria)	1	
	Saudi Arabia (Dubai)	1	
	Managua (Nicaragua)	1	
	Desconhecido	2	

Na tentativa de contornar essas interpretações equivocadas das sintomatologias clínicas, no Artigo 01, identificamos um grupo de sintomas que são facilmente percebidos

pelos médicos e que podem servir como um indicativo para a suspeita de MPS IIIB: a face dismórfica, atraso do desenvolvimento neuropsicomotor, hepatoesplenomegalia e problemas comportamentais. Outros trabalhos também reportaram que estes sintomas são os mais facilmente observáveis no início do desenvolvimento da doença (Delgadillo et al., 2013; Lin et al., 2018).

Embora os problemas comportamentais estejam presentes no grupo de sintomas que podem ser um indicativo estratégico para a suspeita de MPS IIIB, as fichas da Rede MPS Brasil mostraram que eles são menos identificados pelos nossos clínicos. Uma das possíveis causas relacionadas com essa menor percepção está associada com a idade na qual os indivíduos são diagnosticados: é uma idade tardia. Segundo as fases de desenvolvimento da Síndrome de Sanfilippo, no fim da primeira década de vida, os sintomas relacionados aos problemas comportamentais se reduzem devido ao avanço da neurodegeneração (Valstar et al., 2010; Cross et al., 2014; Kim et al., 2016; Nijmeijer et al., 2019; Wijburg et al., 2013).

O caso clínico do manuscrito 03 nos levou a questionar quais possíveis sintomas estariam relacionados à MPS IIIB quando a doença se manifestava de forma tardia, uma vez que a expectativa de vida dos pacientes tem demonstrado um aumento quando comparado aos índices de quando a Síndrome de Sanfilippo foi descrita (Rezavi et al., 2019). Estas observações nos levam a sugerir a importância de incluir a MPS IIIB no diagnóstico diferencial de pacientes com um fenótipo comportamental e psiquiátrico precoce, seguido por um quadro de declínio cognitivo progressivo, assim como sugerido por Bready e colaboradores (2017). Instaurar diagnósticos diferenciais pode ser uma chave importante para realizar o diagnóstico precoce da patologia, especialmente quando possíveis tratamentos sejam incorporados à rotina de diagnóstico de MPS IIIB (Shapiro et al., 2017).

A melhor compreensão deste caso clínico pôde nos proporcionar uma nova iniciativa: estudar a fundo a progressão natural da doença. Para tanto, contactamos os médicos que diagnosticaram os pacientes relatados no primeiro trabalho, enviando novamente o formulário da Rede MPS Brasil (Apêndice II) com o objetivo de estudar a progressão da doença na população brasileira. Os resultados foram relatados no Artigo 02.

Os primeiros sintomas relacionados à população brasileira de MPS IIIB que acompanhamos iniciam-se por volta dos 26 meses com o atraso na linguagem e retardo no desenvolvimento neuropsicomotor, seguido de problemas de comportamento,

corroborando com os achados em grandes centros de países desenvolvidos (Whitley et al., 2018). A média de idade, como reportado anteriormente, também corrobora com o trabalho supracitado.

O atraso na fala foi evidente, com os pacientes começando a falar palavras de 2 sílabas próximo aos 2 anos de idade (sendo que alguns pacientes foram excluídos desta análise por nunca ter conseguido adquirir este marco, o que elevaria a média ainda mais). Outros marcos do desenvolvimento, como caminhar sem auxílio, também se mostraram acima do percentil 95% da população normal (WHO MULTICENTRE GROWTH REFERENCE STUDY GROUP, 2006). Já a perda de funções neuropsicomotoras como, por exemplo, formar palavras com duas sílabas e formar frase com duas palavras, gira em torno dos nove anos idade; e o agravamento da função motora exemplificado pela incapacidade de caminhar, em torno dos 7.4 anos, faz com que o indivíduo necessite do total suporte por parte do seu cuidador, concordando mais uma vez com os dados reportados anteriormente na literatura (Valstar et al., 2008; Valstar et al., 2010; Valstar et al., 2011). Segundo os trabalhos de Valstar e colaboradores (2008), o quadro neurológico progride até deixar o paciente em um estado vegetativo, com perda das funções básicas de controle neurológico. Levando em consideração que o controle dos esfíncteres anal e vesical é um importante indicativo do quadro neurológico de um paciente, nosso estudo demonstra (embora com “n“ muito limitado) que a perda desse controle ocorre por volta dos 17 anos, demonstrando um agravamento da condição neurológica nestes pacientes. Ao final da primeira década de vida, outros sintomas somáticos ficam mais prevalentes e pronunciados, incluindo alterações cardiovasculares, articulares e respiratórias. Este quadro progressivo leva à morte dos portadores por volta da segunda e terceira década de vida (Valstar et al., 2008), corroborando com nossos achados de idade média de morte por volta dos 17 anos de idade.

Embora a presente dissertação demonstre uma ampla gama de perspectivas relacionadas aos pacientes diagnosticados com MPS IIIB pela Rede MPS Brasil; ao longo do desenvolvimento tivemos algumas limitações. Inicialmente realizamos a montagem de sondas de detecção de mutações mais comuns relacionadas a MPS IIIB para que pudéssemos realizar o diagnóstico molecular destes pacientes. Infelizmente, devido ao quadro de pandemia mundial, a chegada destas sondas em tempo hábil não aconteceu. No futuro então avaliaremos as mutações relacionadas aos pacientes brasileiros e de outros países e pretendemos confirmar, através das análises moleculares, o possível *cluster* de pacientes no Equador.

Outra limitação está relacionada à quantidade de informações disponíveis. Alguns exames clínicos não puderam ser realizados devido à infraestrutura limitada de alguns centros ou a não-realização dos mesmos por outros motivos. Em alguns centros, a realidade na oferta destes exames é diferente dos centros em regiões mais desenvolvidas, corroborando com a ideia de como estes diferentes perfis socioeconômicos contribuem para o diagnóstico e manejo destas patologias.

Apesar destas limitações, os dados aqui obtidos traçam claramente as principais características da MPS IIIB na nossa população, que é o objetivo principal do presente estudo.

## **CONCLUSÕES**

## CONCLUSÕES

O presente trabalho permitiu que as seguintes conclusões fossem atingidas:

- a) A idade média de diagnóstico dos pacientes foi de aproximadamente 11 anos de idade, muito mais tardia que o reportado na literatura. Ao avaliarmos apenas pacientes acompanhados em centros maiores, esta média de idade caiu para 6,4 anos, mais próximo da média mundial.
- b) Os pacientes diagnosticados pela rede MPS são originários principalmente das regiões Sudeste e Sul do Brasil. A ampla distribuição dos mesmos pelos estados brasileiros sugere que não existem potenciais *clusters* de pacientes no território do país. No entanto, um potencial cluster foi identificado no Equador.
- c) A atividade da enzima *NAGLU* se mostrou sempre baixa nos pacientes, com valores inferiores a 10% dos encontrados em pessoas sem a doença. Os níveis de GAG urinários se mostraram aumentados em todos pacientes. Não se encontrou qualquer correlação entre atividade de enzima, nível de GAG e idade dos pacientes.
- d) Ao diagnóstico, os principais sinais clínicos encontrados nos pacientes da Rede MPS Brasil foram face grosseira e atraso no desenvolvimento neuropsicomotor.
- e) Foi estudada a progressão de 22 pacientes com MPS IIIB dos principais centros do país. Nestes casos, os achados iniciais incluíam principalmente atrasos na fala. Em seguida os pacientes evoluem com outras alterações no desenvolvimento neuropsicomotor e alteração no comportamento. Posteriormente, outros achados somáticos ficavam aparentes e mais frequentes, incluindo alterações articulares, cardiovasculares, respiratórias e de organomegalia. Os pacientes morrem por volta dos 17 anos de idade (em média) principalmente por alterações respiratórias.
- f) Os dados compilados na presente dissertação permitem que ensaios clínicos futuros possam ser desenhados de forma a permitir que intervenções terapêuticas possam ser avaliadas.



## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AHRENS-NICKLAS, Rebecca C.; SLAP, Gail; FICICIOGLU, Can (2015). Adolescent Presentations of Inborn Errors of Metabolism. *Journal Of Adolescent Health*, [s.l.], v. 56, n. 5, p.477-482. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jadohealth.2015.01.008>.

ANDRADE, Fernando; ALDÁMIZ-ECHEVARRÍA, Luis; LLARENA, Marta; COUCE, María Luz. (2015) Sanfilippo syndrome: overall review. *Pediatrics International*, [S.L.], v. 57, n. 3, p. 331-338. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/ped.12636>.

BEARD H. et al. (2017) Axonal dystrophy in the brain of mice with Sanfilippo syndrome. *Experimental Neurology*. 295; 243-355.

BELLETTATO, Cinzia Maria et al (2018). Inborn Errors of Metabolism Involving Complex Molecules. *Pediatric Clinics Of North America*, [s.l.], v. 65, n. 2, p.353-373. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.pcl.2017.11.011>.

BICALHO, C (2015). Avaliação do comprometimento auditivo em pacientes com Mucopolissacaridose. FIOCRUZ: Salvador.

BIGGER, Brian W.; BEGLEY, David J.; VIRGINTINO, Daniela; PSHEZHETSKY, Alexey V. (2018). Anatomical changes and pathophysiology of the brain in mucopolysaccharidosis disorders. *Molecular Genetics And Metabolism*, [S.L.], v. 125, n. 4, p. 322-331. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ymgme.2018.08.003>.

CHINNERY PF. Mitochondrial Disorders Overview. (1993-2020). In: Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, et al., editors. GeneReviews® [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1224/>

CROSS et al. (2014): An investigation of the middle and late behavioural phenotypes of Mucopolysaccharidosis Type-III. *Journal of Neurodevelopmental Disorders*. 6:46. Doi: 10.1186/1866-1955-6-46.

DELGADILLO V., O'CALLAGHAN, M. D. M., GORT, L., COLL M. J., PINEDA, M. (2013). Natural history of Sanfilippo syndrome in Spain. *Orphanet Journal of Rare Diseases*. 8:189.

DONATI, Maria Alice; PASQUINI, Elisabetta; SPADA, Marco; POLO, Giulia; BURLINA, Alberto (2018). Newborn screening in mucopolysaccharidoses. *Italian Journal Of Pediatrics*, [S.L.], v. 44, n. 2, p. 25-34. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/s13052-018-0552-3>.

DORNELLES, Alícia Dorneles; PINTO, Louise Lapagesse de Camargo; PAULA, Ana Carolina de; STEINER, Carlos Eduardo; LOURENÇO, Charles Marques; KIM, Chong Ae; HOROVITZ, Dafne Dain Gandelman; RIBEIRO, Erlane Marques; VALADARES, Eugênia Ribeiro; GOULART, Isabela. (2014). Enzyme replacement therapy for Mucopolysaccharidosis Type I among patients followed within the MPS Brazil Network. *Genetics And Molecular Biology*, [S.L.], v. 37, n. 1, p. 23-29. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s1415-47572014000100006>

EZGU, Fatih (2016). Inborn Errors of Metabolism. *Advances In Clinical Chemistry*, [S.L.], v. 73, n. 1, p. 195-250. Elsevier. <http://dx.doi.org/10.1016/bs.acc.2015.12.001>.

FEDELE, Anthony. (2015) Sanfilippo syndrome: causes, consequences, and treatments. *The Application Of Clinical Genetics*, [S.L.], p. 269-281. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.2147/tacg.s57672>.

FERREIRA, Carlos R.; VAN KARNEBEEK, Clara D.M. (2019). Inborn errors of metabolism. *Handbook Of Clinical Neurology*, [S.L.], v. 162, n. 1, p. 449-481. Elsevier. <http://dx.doi.org/10.1016/b978-0-444-64029-1.00022-9>.

GAFFKE, Lidia; PIERZYNOWSKA, Karolina; PIOTROWSKA, Ewa; WęGRZYN, Grzegorz. (2017). How close are we to therapies for Sanfilippo disease? *Metabolic Brain Disease*, [S.L.], v. 33, n. 1, p. 1-10. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s11011-017-0111-4>.

GIUGLIANI R., FEDERHEN A., MICHELIN-TIRELLI K., RIEGEL M., BURIN M. (2017). Relative frequency and estimated minimal frequency of Lysosomal Storage Diseases in Brazil: Report from a Reference Laboratory. *Genetics and Molecular Biology*. 40(1):31-39.

HAMANO K., HAYASHI M., SHIODA K., FUKATSU R., MIZUTANI S. (2008). Mechanisms of neurodegeneration in mucopolysaccharidoses II and IIIB: analysis of human brain tissue. *Acta Neuropathol*. 115:547-559.

INTRONE WJ, GAHL WA. Alkaptonuria (2003). In: Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, et al., eds. *GeneReviews®*. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; May 9.

KIM J. H. et al. (2016) Long-term clinical course of a patient with mucopolysaccharidosis type IIIB. *Korean J Pediatr*. 59(Suppl 1):S37-40. Doi: 10.3345/kjp.2016.59.11.S37

KINGMA, S.D. et al. (2015), Epidemiology and diagnosis of lysosomal storage disorders; challenges of screening. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*, v.29, p.145-157.

KOWALEWSKI B. et al. (2015). Ataxia is the major neuropathological finding in arylsulfatase G-deficient mice: similarities and dissimilarities to Sanfilippo disease (mucopolysaccharidosis type III). *Oxford Academy*. 24(7):1856-1868.

LAVERY, Christine; HENDRIKSZ, Chris J.; JONES, Simon A. (2017). Mortality in patients with Sanfilippo syndrome. *Orphanet Journal Of Rare Diseases*, [S.L.], v. 12, n. 1, p. 1-7, 23. Springer Science and Business Media LLC.  
<http://dx.doi.org/10.1186/s13023-017-0717-y>.

LEMONNIER T. et al. (2011). Modeling neuronal defects associated with a lysosomal disorder using patient-derived induced pluripotent stem cells. *Human molecular genetics*. 20(18); 3653-3666.

LIN HY, Chuang CK, Lee CL, Tu RY, Lo YT, Chiu PC, Niu DM, Fang YY, Chen TL, Tsai FJ, Hwu WL, Lin SJ, Chang TM, Lin SP. (2018) Mucopolysaccharidosis III in Taiwan: Natural history, clinical and molecular characteristics of 28 patients diagnosed during a 21-year period. *Am J Med Genet A*. 176(9):1799-1809.

MARQUES, André R. A.; SAFTIG, Paul (2019). Lysosomal storage disorders – challenges, concepts and avenues for therapy: beyond rare diseases. *Journal Of Cell Science*, [S.L.], v. 132, n. 2, p. 1-14. The Company of Biologists. <http://dx.doi.org/10.1242/jcs.221739>.

MARTINS C. et al. (2015) Neuroinflammation, mitochondrial defects and neurodegeneration in mucopolysaccharidosis III type C mouse model. *BRAIN*. 138; 336-355.

NEUFELD, E. F.; MUENZER, J. (2011). The Mucopolysaccharidoses. In: *The online Metabolic & Molecular Bases of Inherited Disease*. New York: McGraw-Hill Companies, p. 3421-3452.

NIJMEIJER S. C. M. et al. (2019) The attenuated end of the phenotypic spectrum in MPS III: from late-onset stable cognitive impairment to a nonneuronopathic phenotype. *Orphanet Journal of Rare Diseases*. 14:249, 1-10. Doi: 10.1186/s13023-019-1232-0.

PARENTI, Giancarlo; ANDRIA, Generoso; BALLABIO, Andrea (2015). Lysosomal Storage Diseases: from pathophysiology to therapy. *Annual Review Of Medicine*, [S.L.], v. 66, n. 1, p. 471-486. Annual Reviews. <http://dx.doi.org/10.1146/annurev-med-122313-085916>.

PLATT, Frances M.; D'AZZO, Alessandra; DAVIDSON, Beverly L.; NEUFELD, Elizabeth F.; TIFFT, Cynthia J. (2018). Lysosomal storage diseases. *Nature Reviews Disease Primers*, [S.L.], v. 4, n. 1, p. 1-25. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/s41572-018-0025-4>.

REZAYI, A. et al. (2019). An Uncommon Presentation of Mucopolysaccharidosis Type IIIb. *Iran Journal of Child Neurology*.13(3),105-111. Doi: 10.22037/ijcn.v13i3.16536

SAINZ CM, MUÑOZ CZ, MONTEAGUDO AGQ (2002). Errores innatos del metabolismo. Enfermedades lisosomales. *Rev Cubana de Pediatría*; v.74, n.1, p.68-76.

SAUDUBRAY, Jean-Marie; GARCIA-CAZORLA, Angela (2018). An overview of inborn errors of metabolism affecting the brain: from neurodevelopment to neurodegenerative disorders. *Dialogues In Clinical Neuroscience*, [S.L.], v. 20, n. 4, p. 301-326. Servier International. <http://dx.doi.org/10.31887/dcns.2018.20.4/jmsaudubray>.

SAUDUBRAY, Jean-Marie; GARCIA-CAZORLA, Àngels (2018). Inborn Errors of Metabolism Overview. *Pediatric Clinics Of North America*, [S.L.], v. 65, n. 2, p. 179-208. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.pcl.2017.11.002>.

SHAPIRO E., AHMED A., WHITLEY C., DELANEY K. (2017). Observing the advanced disease course in mucopolysaccharidosis, type IIIA; a case series. *Molecular Genetics and Metabolism*. 123:2; 123-126. Doi: 10.1016/j.ymgme.2017.11.014.

SHARABI AF, Goudar RB. Alkaptonuria (2020). In: *StatPearls*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; August 14.

STAPLETON, Molly; ARUNKUMAR, Nivethitha; KUBASKI, Francyne; MASON, Robert W.; TADAO, Orii; TOMATSU, Shunji (2018). Clinical presentation and diagnosis of mucopolysaccharidoses. *Molecular Genetics And Metabolism*, [S.L.], v. 125, n. 1-2, p. 4-17. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ymgme.2018.01.003>

SUAREZ-GUERRERO, Jorge Luis; HIGUERA, Pedro José Iván Gómez; FLÓREZ, Juan Sebastian Arias; CONTRERAS-GARCÍA, Gustavo Adolfo (2016). Mucopolisacaridosis: características clínicas, diagnóstico y de manejo. *Revista Chilena de Pediatría*, [S.L.], v. 87, n. 4, p. 295-304. Sociedad Chilena de Pediatría. <http://dx.doi.org/10.1016/j.rchipe.2015.10.004>.

VALSTAR M. J. et al. (2010). Mucopolysaccharidosis type IIIB may predominantly present with an attenuated clinical phenotype. *J Inher Metab Dis.* 33:759–767. Doi: 10.1007/s10545-010-9199-y.

VALSTAR MJ, Marchal JP, Grootenhuis M, Colland V, Wijburg FA. (2011) Cognitive development in patients with mucopolysaccharidosis type III (Sanfilippo syndrome). *Orphanet J Rare Dis.* 6.

VALSTAR, M. J.; RUIJTER, G. J. G.; VAN DIGGELEN, O. P.; POORTHUIS, B. J.; WIJBURG, F. A. (2008). Sanfilippo syndrome: a mini-review. *Journal Of Inherited Metabolic Disease*, [S.L.], v. 31, n. 2, p. 240-252. Wiley.  
<http://dx.doi.org/10.1007/s10545-008-0838-5>.

VALSTAR, M. J.; RUIJTER, G. J. G.; VAN DIGGELEN, O. P.; POORTHUIS, B. J.; WIJBURG, F. A. (2008). Sanfilippo syndrome: a mini-review. *Journal Of Inherited Metabolic Disease*, [S.L.], v. 31, n. 2, p. 240-252. Wiley.  
<http://dx.doi.org/10.1007/s10545-008-0838-5>.

VIEIRA T, Schwartz I, Muñoz I, Pinto L, Steiner C, Ribeiro M, Boy R, Ferraz V, Paula A, Kim C, Acosta A, Giugliani R. (2008) Mucopolysaccharidoses in Brazil: what happens from birth to biochemical diagnosis? *Am J Med Genet A.* 1;146A(13):1741-7. doi: 10.1002/ajmg.a.32320.

VIEIRA, Taiane Alves; TRAPP, Franciele Barbosa; SOUZA, Carolina Fischinger Moura de; FACCINI, Lavínia Schuler; JARDIM, Laura Bannach; SCHWARTZ, Ida Vanessa Doederlein; RIEGEL, Mariluce; VARGAS, Carmen Regla; BURIN, Maira Graeff; LEISTNER-SEGAL, Sandra. (2019). Information and Diagnosis Networks – tools to improve diagnosis and treatment for patients with rare genetic diseases. *Genetics And Molecular Biology*, [S.L.], v. 42, n. 11, p. 155-164. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/1678-4685-gmb-2018-0214>.

VITRY S. et al. (2010) Storage vesicles in neurons are related to Golgi complex alterations in Mucopolysaccharidosis IIIB. *The American Journal of Pathology*. 117(6);2985-2999.

WEBBER D. L. et al. (2018) Neuronal-specific impairment of heparan sulfate degradation in *Drosophila* reveals pathogenic mechanisms for Mucopolysaccharidosis type IIIA. *Experimental Neurology*. 303:38-47.

WHITLEY, Chester B.; CLEARY, Maureen; MENGEL, Karl Eugen; HARMATZ, Paul; SHAPIRO, Elsa; NESTRASIL, Igor; HASLETT, Patrick; WHITEMAN, David; ALEXANDERIAN, David. (2018) Observational Prospective Natural History of Patients with Sanfilippo Syndrome Type B. *The Journal Of Pediatrics*, [S.L.], v. 197, p. 198-206. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jpeds.2018.01.044>.

WHO MULTICENTRE GROWTH REFERENCE STUDY GROUP (2006) WHO Motor Development Study: Windows of achievement for six gross motor development milestones. *Acta Paediatrica*. Suppl 450, p. 86-95. Taylor & Francis Group. <http://dx.doi.org/10.1080/08035320500495563>

WIJBURG F. A., WEZGRZYN G., BURTON B. K., TYLKI-SZYMANSKA A. (2013). Mucopolysaccharidosis type III (Sanfilippo syndrome) and misdiagnosis of idiopathic developmental delay, attention deficit/hyperactivity disorder or autism spectrum disorder. *Acta Paediatrica*. 102, 462-470. Doi: 10.1111/apa.12169.

ZELEI, Tamás; CSETNEKI, Kata; VOKÓ, Zoltán; SIFFEL, Csaba. (2018). Epidemiology of Sanfilippo syndrome: results of a systematic literature review. *Orphanet Journal Of Rare Diseases*, [S.L.], v. 13, n. 1, p. 1-11. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/s13023-018-0796-4>.

ZHOU, Jing; LIN, Jing; LEUNG, Wing Ting; WANG, Ling. (2020) A basic understanding of mucopolysaccharidosis: incidence, clinical features, diagnosis, and management. *Intractable & Rare Diseases Research*, [S.L.], v. 9, n. 1, p. 1-9. International Research and Cooperation Association for Bio & Socio-Sciences Advancement (IRCA-BSSA). <http://dx.doi.org/10.5582/irdr.2020.01011>.

**APÊNDICE I**



Apêndice I: Parecer do Comitê de Ética Institucional do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA)



HCPA - HOSPITAL DE CLÍNICAS DE PORTO ALEGRE  
GRUPO DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

COMISSÃO CIENTÍFICA

A Comissão Científica do Hospital de Clínicas de Porto Alegre analisou o projeto:

**Projeto:** 170664

**Data da Versão do Projeto:** 14/12/2017

**Pesquisadores:**

ROBERTO GIUGLIANI


FRANCIELE BARBOSA TRAPP

**Título:** MUCOPOLISSACARIDOSES NO BRASIL: UM ESTUDO CLÍNICO, EPIDEMIOLÓGICO, GENÉTICO, BIOQUÍMICO E MOLECULAR COM IMPACTO NO DIAGNÓSTICO, MANEJO E PREVENÇÃO

Este projeto foi APROVADO em seus aspectos éticos, metodológicos, logísticos e financeiros para ser realizado no Hospital de Clínicas de Porto Alegre. Esta aprovação está baseada nos pareceres dos respectivos Comitês de Ética e do Serviço de Gestão em Pesquisa.

- Os pesquisadores vinculados ao projeto não participaram de qualquer etapa do processo de avaliação de seus projetos.

- O pesquisador deverá apresentar relatórios semestrais de acompanhamento e relatório final ao Grupo de Pesquisa e Pós-Graduação (GPPG)

 Porto Alegre, 20 de dezembro de 2017.  
Prof. José Roberto Goldim  
Coordenador CEP/HCPA

**APÊNDICE II**

Apêndice II: Ficha de Avaliação Clínicas dos pacientes encaminhados e acompanhados  
pela Rede MPS Brasil.



Ficha nº _____
Família _____
EIM _____
DNA _____

**REDE MPS BRASIL**

**Ficha de Registro de Dados Clínicos e Laboratoriais**

DATA DE PREENCHIMENTO: \_\_\_\_\_

CENTRO ASSOCIADO: \_\_\_\_\_

RESPONSÁVEL: \_\_\_\_\_

**NOME DO PACIENTE:** \_\_\_\_\_

DATA DE NASCIMENTO: \_\_\_\_\_ SEXO: \_\_\_\_\_

NACIONALIDADE: \_\_\_\_\_ NACIONALIDADE: \_\_\_\_\_

COR: \_\_\_\_\_

PAI: \_\_\_\_\_

MÃE: \_\_\_\_\_

ENDEREÇO ATUAL: \_\_\_\_\_

TELEFONE: \_\_\_\_\_ E-MAIL: \_\_\_\_\_

SERVIÇO DE ORIGEM: \_\_\_\_\_

MÉDICO RESPONSÁVEL: \_\_\_\_\_

ENDEREÇO/TELEFONE/E-MAIL DO MÉDICO RESPONSÁVEL: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

**DADOS DO NASCIMENTO:**

-TIPO DE PARTO: \_\_\_\_\_

-PESO: \_\_\_\_\_

-COMPRIMENTO: \_\_\_\_\_

-PERÍMETRO CEFÁLICO: \_\_\_\_\_

-RELATO DE MANCHAS MONGÓLICAS EXTENSAS? ( ) SIM ( ) NÃO

-OUTROS: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

---



---



---

**HISTÓRIA FAMILIAR:**

-CONSANGÜINIDADE? ( )SIM ( )NÃO

-OUTROS AFETADOS NA FAMÍLIA? INDICAR NOME E GRAU DE PARENTESCO

---



---

-FAZER HEREDOGRAMA NO VERSO

	SOBRENOME	NOME	LOCAL NASCIMENTO	ASCENDÊNCIA
PAI				
MÃE				
AVÔ PATERNO				
AVÔ PATERNA				
AVÔ MATERNO				
AVÔ MATERNA				

**IDADE DE INÍCIO DA SINTOMATOLOGIA:** \_\_\_\_\_

DEFINIR A SINTOMATOLOGIA INICIAL: \_\_\_\_\_

**DESENVOLVIMENTO NEUROPSICOMOTOR:**

	IDADE DE AQUISIÇÃO	IDADE DE PERDA
SUSTENTO CEFÁLICO		
SENTAR SEM APOIO		
CAMINHAR SEM APOIO		
CONTROLE ESFÍNCTER VESICAL (DIURNO E NOTURNO)		
CONTROLE ESFÍNCTER ANAL (DIURNO E NOTURNO)		
PALAVRAS COM NO MÍNIMO DUAS SÍLABAS		
FORMAR FRASES		

**PROBLEMAS DE COMPORTAMENTO?** ( ) SIM ( ) NÃO

QUAIS? \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

**ESCOLARIDADE:** \_\_\_\_\_

**INTERNAÇÕES HOSPITALARES (DATA, MOTIVO):**

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

**PROCEDIMENTOS CIRÚRGICOS (DATA, PROCEDIMENTO, INTERCORRÊNCIAS):**

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

**TEM SÍNDROME DA APNÉIA OBSTRUTIVA DO SONO? FEZ ALGUM ESTUDO ESPECÍFICO PARA AVALIAR A PRESENÇA DESTA COMPLICAÇÃO (POR EXEMPLO, POLISONOGRAFIA?)**

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

**TEM OU TEVE CRISES CONVULSIVAS?** \_\_\_\_\_

IDADE DO PRIMEIRO EPISÓDIO: \_\_\_\_\_

**FEZ AVALIAÇÃO OFTALMOLÓGICA? RESULTADOS.**

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

**FEZ AVALIAÇÃO CARDIOLÓGICA? RESULTADOS.**

---

---

---

---

**TEM HIPOACUSIA? FEZ ALGUMA AVALIAÇÃO ESPECÍFICA PARA AVALIAR A PRESENÇA DESTA COMPLICAÇÃO? RESULTADOS.**

---

---

---

---

**FAZ USO DE ALGUMA MEDICAÇÃO? QUAL?**

---

---

---

---

**CPAP/BiPAP:** ( ) SIM ( ) NÃO

**PRÓTESE AUDITIVA:** ( ) SIM ( ) NÃO

**ÚLTIMO EXAME FÍSICO:**

-DATA: \_\_\_\_\_

-IDADE: \_\_\_\_\_

-PESO: \_\_\_\_\_

-COMPRIMENTO: \_\_\_\_\_

-PERÍMETRO CEFÁLICO: \_\_\_\_\_

-OPACIFICAÇÃO DE CórNEA? \_\_\_\_\_

-LESÕES PAPULARES NA PELE? \_\_\_\_\_

-CONTRATURAS ARTICULARES? \_\_\_\_\_

-GIBA TORACOLOMBAR? \_\_\_\_\_

-HEPATOMEGALIA? \_\_\_\_\_

-ESPLENOMEGALIA? \_\_\_\_\_

-OUTROS:

---

---

---

---

---

**EM CASO DE ÓBITO:**

**IDADE DO ÓBITO:** \_\_\_\_\_

**CAUSA DO ÓBITO:** \_\_\_\_\_

**RESULTADOS DOS ESTUDOS BIOQUÍMICOS PRÉVIOS:**

( / / ) DOSAGEM QUANTITATIVA DE GAGS NA URINA: \_\_\_\_\_ MG/G CREAT.

(VALORES NORMAIS PARA A FAIXA ETÁRIA \_\_\_\_\_)

LABORATÓRIO: \_\_\_\_\_

( / / ) CROMATOGRAFIA DE GAGS NA URINA \_\_\_\_\_

LABORATÓRIO: \_\_\_\_\_

**MEDIDAS DE ATIVIDADE DE ENZIMAS (INFORMAR ENZIMA DE REFERÊNCIA)**

( / / ) MATERIAL: \_\_\_\_\_ ENZIMA \_\_\_\_\_ RESULTADO: \_\_\_\_\_

( / / ) MATERIAL: \_\_\_\_\_ ENZIMA REF: \_\_\_\_\_ RESULTADO: \_\_\_\_\_

LABORATÓRIO: \_\_\_\_\_

( / / ) MATERIAL: \_\_\_\_\_ ENZIMA \_\_\_\_\_ RESULTADO: \_\_\_\_\_

( / / ) MATERIAL: \_\_\_\_\_ ENZIMA REF: \_\_\_\_\_ RESULTADO: \_\_\_\_\_

LABORATÓRIO: \_\_\_\_\_

( / / ) MATERIAL: \_\_\_\_\_ ENZIMA \_\_\_\_\_ RESULTADO: \_\_\_\_\_

( / / ) MATERIAL: \_\_\_\_\_ ENZIMA REF: \_\_\_\_\_ RESULTADO: \_\_\_\_\_

LABORATÓRIO: \_\_\_\_\_

( / / ) MATERIAL: \_\_\_\_\_ ENZIMA \_\_\_\_\_ RESULTADO: \_\_\_\_\_

( / / ) MATERIAL: \_\_\_\_\_ ENZIMA REF: \_\_\_\_\_ RESULTADO: \_\_\_\_\_

LABORATÓRIO: \_\_\_\_\_

**RESULTADO DAS ANÁLISES MOLECULARES PRÉVIAS:**

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

**OUTROS RESULTADOS:**

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_