

A detailed black and white architectural line drawing of the main facade of the University of Paraná. The drawing shows a grand neoclassical building with a prominent portico supported by tall, fluted columns. The pediment above the columns is inscribed with the text 'UNIVERSIDADE DO PARANÁ'. The drawing is oriented vertically on the page, with the top of the building at the top of the page.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

DEBORA BRIGHENTE BERTHOLDO

**CORRELAÇÃO DO ENVOLVIMENTO CEREBRAL ATRAVÉS DE
ESPECTROSCOPIA DE PRÓTONS POR RESSONÂNCIA MAGNÉTICA
COM GRAVIDADE DE DOENÇA ÓSSEA EM PACIENTES COM DOENÇA
DE GAUCHER TIPO 1**

CURITIBA

2016

DEBORA BRIGHENTE BERTHOLDO

**CORRELAÇÃO DO ENVOLVIMENTO CEREBRAL ATRAVÉS DE
ESPECTROSCOPIA DE PRÓTONS POR RESSONÂNCIA MAGNÉTICA
COM GRAVIDADE DE DOENÇA ÓSSEA EM PACIENTES COM DOENÇA
DE GAUCHER TIPO 1**

Dissertação apresentada como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre em Medicina Interna e Ciências da Saúde da Universidade Federal do Paraná

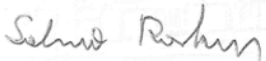
Orientador: Prof. Dr. Dante Luiz Escuissato
Coorientadora: Prof. Dra. Ida Vanessa Doederlein Schwartz
Coorientador: Prof. Dr. Arnolfo de Carvalho Neto

CURITIBA

2016

Ata da Reunião Extraordinária do Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Medicina Interna realizada nos termos da Resolução da UFPR-Resolução nº 65/09 - CEPE

Aos vinte e quatro do mês de junho do ano de dois mil e dezesseis, às oito horas e trinta minutos, no Auditório do Departamento de Clínica Médica do HC/UFPR, teve início a avaliação da dissertação de conclusão do mestrado do **Programa de Pós-Graduação em Medicina Interna da Universidade Federal do Paraná**, da aluna **DÉBORA BRIGHENTE BERTHOLDO** intitulada: “CORRELAÇÃO DO ENVOLVIMENTO CEREBRAL ATRAVÉS DE ESPECTROSCOPIA DE PRÓTONS POR RESSONANCIA MAGNÉTICA COM GRAVIDADE DE DOENÇA ÓSSEA EM PACIENTES COM DOENÇA DE GAUCHER TIPO 1”. A sessão foi aberta pelo Professor Dr. Dante Luiz Escuissato, que procedeu à apresentação dos componentes da banca examinadora e da aluna. A Banca Examinadora foi constituída pelos Professores: Dr. Salmo Raskin (PUC-PR), Dr. Arnolfo de Carvalho Neto (UFPR) e Prof. Dr. Dante Luiz Escuissato (UFPR) - Orientador. A candidata dispôs de trinta minutos para apresentar o trabalho, seguindo-se a argüição pela Banca Examinadora em que cada membro dispôs de trinta minutos para argüir, com igual tempo concedido a aluna para defesa. Concluída a argüição, retirou-se a Banca Examinadora para consignaçoão dos conceitos com lavratura do Parecer Conjunto que considerou o trabalho **aprovado**, sem modificaçoões substanciais na forma e conteúdo, porem com as devidas inclusões sugeridas, o qual deve ter sua publicação nos meios de divulgaçoão científica. No decurso das argüiçoões e para que tudo constasse na forma do que se legalmente institui, foi a presente ata lavrada por mim Valeria Knapp secretaria, e vai assinada pelos componentes da Banca Examinadora para posterior homologaçoão do Colegiado do Programa de Pós-Graduaçoão em Medicina Interna.


Prof. Dr. Salmo Raskin


Prof. Dr. Arnolfo de Carvalho Neto



Prof. Dr. Dante Luiz Escuissato

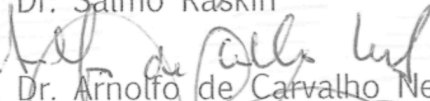


Ministério da Educação
Universidade Federal do Paraná
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA
= MESTRADO e DOUTORADO =

PARECER

Aos vinte e quatro de junho de dois mil e dezesseis, a banca examinadora constituída pelos Professores: Dr. Salmo Raskin (PUC-PR), Dr. Arnolfo de Carvalho Neto (UFPR) e Prof. Dr. Dante Luiz Escuissato (UFPR) – Orientador, exarou o presente parecer sobre a dissertação elaborada por **DÉBORA BRIGHENTE BERTHOLDO**, aluna concluinte do Programa de Pós-Graduação em Medicina Interna – Mestrado/Doutorado da Universidade Federal do Paraná, intitulada: “CORRELAÇÃO DO ENVOLVIMENTO CEREBRAL ATRAVÉS DE ESPECTROSCOPIA DE PRÓTONS POR RESSONANCIA MAGNÉTICA COM GRAVIDADE DE DOENÇA OSSEA EM PACIENTES COM DOENÇA DE GAUCHER TIPO 1”. A Banca examinadora considerou que a aluna apresentou trabalho adequado para dissertação e o defendeu com segurança e propriedade nas argüições que lhe foram feitas, de modo a merecer a sua **aprovação**, sendo recomendado à Universidade Federal do Paraná que lhe seja concedido o título de **Mestre em Medicina Interna**, após publicação de artigo em revista técnico-científica com corpo editorial, depois de incorporadas as sugestões apresentadas no decurso das argüições, cumpridas outras exigências previstas em normativas da pós-graduação.


Prof. Dr. Salmo Raskin

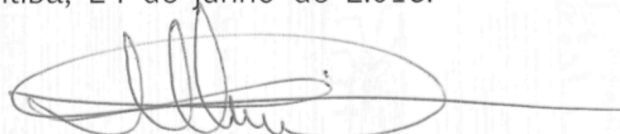

Prof. Dr. Arnolfo de Carvalho Neto


Prof. Dr. Dante Luiz Escuissato

DECLARAÇÃO

Declaro para fins curriculares que **DÉBORA BRIGHENTE BERTHOLDO**, aluna concluinte do Programa de Pós-Graduação em Medicina Interna, apresentou e defendeu sua dissertação de mestrado, intitulada: “CORRELAÇÃO DO ENVOLVIMENTO CEREBRAL ATRAVÉS DE ESPECTROSCOPIA DE PRÓTONS POR RESSONANCIA MAGNÉTICA COM GRAVIDADE DE DOENÇA ÓSSEA EM PACIENTES COM DOENÇA DE GAUCHER TIPO 1”. A banca examinadora foi composta pelos Professores: Dr. Salmo Raskin (PUC-PR), Dr. Arnolfo de Carvalho Neto (UFPR) e Prof. Dr. Dante Luiz Escuissato (UFPR) - Orientador. Tendo a aluna concluinte sido aprovada, foi recomendada a Universidade Federal do Paraná, que lhe seja concedida o título de Mestre em Medicina Interna, após publicação da dissertação em veículo de divulgação conveniente, depois de incorporadas às sugestões apresentadas no decurso das argüições.

Curitiba, 24 de junho de 2016.



Professora Dra. Iara Taborda de Messias – Reason
Coordenadora de Pós-Graduação em Medicina Interna
Mestrado e Doutorado da UFPR.

AGRADECIMENTOS

À Prof. Dra. Ida Schwartz, co-orientadora desse trabalho, pela pessoa de grande conhecimento e pela orientação, tempo dedicado e estímulo à pesquisa .

Aos Professores Dr. Arnolfo de Carvalho Neto e Dr. Dante Luiz Escuissato, co-orientador e orientador desse trabalho, por toda ajuda, orientação e amizade.

Ao Serviço de Genética Médica do HCPA, por sempre estarem dispostos a cooperar.

Aos pacientes com doença de Gaucher do HCPA.

RESUMO

A doença de Gaucher (DG) é uma das doenças lisossômicas mais frequentes. Ela é causada pela atividade reduzida da enzima lisossomal glicocerebrosidase, o que leva ao acúmulo de glicocerebrosídeo nas células. A DG tipo 1 é classicamente conhecida como a forma não neuronopática da doença, com alterações ósseas e viscerais sendo o principal achado. Entretanto, manifestações clínicas neurológicas já foram descritas nesses pacientes. A espectroscopia de prótons por ressonância magnética (ERM) é uma ferramenta diagnóstica não invasiva para detectar e quantificar diferentes metabólitos. Já foi demonstrado que formas neuronopáticas de DG (tipos 2 e 3) apresentam pico de lipídio e uma maior relação colina / creatina em estudos por ERM. Na forma não neuronopática da DG, também foi encontrado aumento da relação colina/ creatina na ERM. A ressonância magnética (RM) pode ser usada como método semiquantitativo para avaliar a gravidade de doença óssea em pacientes com DG. O escore mais usado atualmente é o escore *bone marrow burden* (BMB), que varia de 0 (normal) até 16 (envolvimento mais grave). O objetivo do estudo é correlacionar os metabólitos cerebrais por ERM com a gravidade de doença óssea usando o escore BMB. Onze paciente com DG tipo 1 (média de idade: 30,3 anos; desvio padrão: 10,8) foram submetidos à RM do encéfalo, coluna lombar e fêmur. ERM foi realizada nos núcleos da base e as relações colina/creatina e n-acetil-aspartato/creatina foram calculados. O estudo por RM da coluna lombar e dos fêmures foi realizado no mesmo dia e o escore BMB foi calculado. A razão dos metabólitos encontrados foi correlacionado com o escore ósseo de cada paciente. A média do escore BMB foi de 7,7. Observou-se uma correlação baixa positiva entre o escore BMB e a razão colina/ creatina ($r=0,16$) e um correlação moderada negativa entre o escore BMB e a razão n-acetil-aspartato/creatina ($r=0,40$). Conclui-se que um escore BMB maior em pacientes com DG tipo 1 pode estar relacionado a uma maior relação colina/ creatina e menor relação n-acetil-aspartato/creatina em estudos por ERM cerebral.

Palavras chave: doença de Gaucher tipo 1, escore BMB, espectroscopia de prótons.

ABSTRACT

Gaucher's Disease (GD) is one of the most frequent lysosomal disorders. It is caused by reduced activity of the lysosomal enzyme glucocerebrosidase, which leads to intracellular accumulation of glucocerebroside. Type 1 GD is classically known as the non-neuronopathic form, with bone and visceral abnormalities being its main clinical findings. However, clinical neurological manifestations have been described on these patients. Proton Magnetic Resonance Spectroscopy (1H-MRS) is a diagnostic non-invasive imaging tool to detect and quantify different metabolites. It has been demonstrated that neuronopathic forms of GD (types 2 and 3) shows a lipid peak and a higher choline/creatine ratios in brain 1H-MRS studies. For the non-neuronopathic form of GD, 1H-MRS has also depicted higher choline/creatine ratios. Magnetic Resonance Imaging (MRI) is a semiquantitative method to evaluate severity of bone marrow infiltration in patients with GD. The most used score is the bone marrow burden score (BMB) which goes from 0 (normal) to 16 (most severe involvement). The aim of our study is to correlate 1H-MRS brain metabolites to severity of bone marrow involvement using BMB score. Eleven patients with type 1 GD (mean age of 30,3 years) were submitted to brain, lumbar spine, and femur MRI. 1H-MRS was performed on basal ganglia and choline/creatine and N-acetyl-aspartate/ creatine ratios were calculated. Lumbar spine and femur MRI were performed at the same day and the BMB score was calculated. 1H-MRS metabolite ratios were compared to the BMB score. BMB average score was 8. There was a low positive correlation between BMB score and choline/creatine ($r=0,16$) and a moderate negative correlation between BMB score and N-acetyl-aspartate/ creatine ($r=-0,40$). In conclusion, a higher BMB score in type 1 GD may correlate to a higher choline/creatine and lower N-acetyl-aspartate/ creatine in brain 1H-MRS.

Key-words: type 1 Gaucher's disease, BMB score, proton spectroscopy.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 –	POSICIONAMENTO DO VOI NA ESPECTROSCOPIA DE PRÓTONS POR RESSONÂNCIA MAGNÉTICA.....	19
FIGURA 2 –	RESSONÂNCIA MAGNÉTICA DA COLUNA LOMBAR E DOS FEMURES EM PACIENTE COM DOENÇA DE GAUCHER TIPO 1.....	20

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – ESCORE <i>BONE MARROW BURDEN</i>	21
TABELA 2 – DADOS CLÍNICOS, ESPECTROSCOPIA POR RESSONÂNCIA MAGNÉTICA E ESCORE <i>BONE MARROW BURDEN</i>	22

LISTA DE SIGLAS

BMB	–	<i>bone marrow burden</i>
Cho	–	colina
Cr	–	creatina
DG	–	doença de Gaucher
DP	–	doença de Parkinson
ERM	–	espectroscopia por ressonância magnética
NAA	–	n-acetil-aspartato
PRESS	–	<i>point resolved surface coil spectroscopy</i>
RM	–	ressonância magnética
SNC	–	sistema nervoso central
SSI	–	escore de severidade
TE	–	tempo de eco
TR	–	tempo de repetição
TRE	–	terapia de reposição enzimática
VOI	–	<i>voxel of interest</i>

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	11
2	OBJETIVO.....	13
3	REVISÃO DE LITERATURA.....	14
3.1	DEFINIÇÃO.....	14
3.2	EPIDEMIOLOGIA.....	14
3.3	APRESENTAÇÃO CLÍNICA.....	15
3.4	GENÉTICA.....	16
3.5	ESPECTROSCOPIA DE PRÓTONS POR RESSONÂNCIA MAGNÉTICA.....	17
4	METODOLOGIA.....	18
4.1	PACIENTES.....	18
4.2	ANÁLISE E AQUISIÇÃO DAS IMAGENS.....	18
4.3	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	21
5	RESULTADOS.....	22
6	DISCUSSÃO.....	23
7	CONCLUSÃO.....	25
8	REFERÊNCIAS	26

1 INTRODUÇÃO

A doença de Gaucher (DG) é uma das doenças lisossomais mais frequentes, com uma alta prevalência em judeus Ashkenazi (MEIKLE e HOPWOOD, 2003; MISTRY et al., 2011). Ela é causada por mutações bialélicas no gene *GBA1*, levando a uma deficiência da enzima glicocerebrosidase. A atividade deficiente de glicocerebrosidase resulta no acúmulo do substrato glicosfingolípido em vários órgãos, particularmente no baço, fígado, medula óssea e pulmões, mas também no encéfalo. A DG apresenta um fenótipo de largo espectro e, portanto, pode ser subclassificada de acordo com o envolvimento do SNC. A DG tipo 1 é conhecida como a forma não neuronopática, com acometimento ósseo e visceral sendo sua principal característica. No entanto, estudos mostraram que, embora a DG tipo 1 seja chamada de forma não-neuronopática, esses pacientes podem manifestar sintomas neurológicos leves, como parestesias, tremor, fraqueza muscular (BIEGSTRAATEN et al., 2010, 2012). Além disso, já foi comprovada a associação entre mutações no gene *GBA 1* e o aumento do risco de desenvolver doença de Parkinson (DP) e demência por corpos de Lewy, interrogando se a DG tipo 1 realmente é uma forma não neuronopática (TAYEBI et al., 2003; AHARON-PERETZ et al., 2004; NEUMANN et al., 2009; e SIDRANSKY et al., 2009).

A espectroscopia por ressonância magnética (ERM) é uma ferramenta diagnóstica não invasiva para detectar e quantificar diferentes metabólitos. Nas formas neuronopáticas da DG (tipo 2 e 3), um estudo com ERM do encéfalo mostrou pico de lipídio e um aumento na relação colina (Cho)/ creatina (Cr) (ABDEL et al., 2013). Mercimek-Mahmutoglu et al. (2007), em um estudo com 9 pacientes com DG tipo 1, encontrou aumento da Cho em quatro pacientes. Pacientes com DP associados a mutação *GBA* também apresentam alterações na ERM do encéfalo, com níveis reduzidos de n-acetil-aspartato (NAA) nos núcleos putames e no mesencéfalo (BROCKMANN et al., 2012).

A infiltração óssea pelas células de Gaucher com complicações esqueléticas resulta em morbidade significativa em pacientes com DG. Diferentes métodos de imagem estão disponíveis para avaliar a presença e a

gravidade da doença óssea. A RM é um método semiquantitativo para avaliar a infiltração da medula óssea (MAAS et al., 2003; ROBERTSON et al., 2007). O escore BMB varia de 0 (medula óssea normal) a 16 (infiltração grave da medula óssea) de acordo com a intensidade de sinal nas ponderações T1 e T2 da medula óssea da coluna lombar e dos fêmures.

2 OBJETIVOS

Correlacionar os níveis dos metabólitos cerebrais por espectroscopia de prótons por ressonância magnética com o acometimento ósseo, avaliado pelo escore *bone marrow burden*.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 DEFINIÇÃO

A DG é a mais comum das doenças lisossômicas. Ela é causada pela falta ou baixa atividade da enzima glicocerebrosidase. Essa alteração enzimática é decorrente de mutações em ambos os alelos do gene que codifica essa enzima, o qual está situado no cromossomo 1q21.31 (gene *GBA1*). A glicocerebrosidase atua no metabolismo dos esfingolipídeos no interior das células. Sua falta ou baixa leva a acúmulo progressivo de glicocerebrosídeo (seu substrato), levando às manifestações clínicas da doença (GIRALDO et al., 2001; SOBREIRA et al., 2007).

O diagnóstico da DG é feito através da demonstração da redução da atividade da enzima glicocerebrosidase em células nucleadas (CHARROW et al., 1998). A medida da atividade da enzima nos leucócitos do sangue ou em fibroblastos encontra-se de 10 a 30% abaixo do normal nos pacientes com a doença de tipo I (DE FOST et al., 2003). O teste de DNA analisa as mutações e confirma o diagnóstico trazendo informações adicionais, já que algumas das mutações estão relacionadas à gravidade da doença.

Durante muitos anos, o tratamento da DG era sintomático e com medidas paliativas, tais como a esplenectomia. A esplenectomia era utilizada para atenuar alterações hematológicas, o atraso no crescimento e a compressão abdominal. A partir da década de 90, iniciou-se a terapia de reposição enzimática (TRE) com imiglucerase. A TRE leva à reversão de muitos sinais e sintomas e permite a melhoria da qualidade de vida desses pacientes (MISTRY; ABRAHAMOV, 1997). Atualmente, outras enzimas além da imiglucerase são comercializadas e, como tratamento alternativo, tem-se usado a terapia de redução de substrato (COX et al. 2000).

3.2 EPIDEMIOLOGIA

A estimativa precisa da frequência da DG é difícil de ser obtida, especialmente em populações não judaicas. Entretanto, registros da DG, em vários países, estimam que a doença tem uma frequência que varia de 1 para

40.000 a 1 para 200.000 na população geral não-judaica. Assim, acredita-se que aproximadamente 30.000 pessoas são portadoras de DG em todo o mundo (COX; SHOFIELD, 1997).

A DG é pan-étnica, embora tenha maior prevalência entre os judeus Ashkenazi, chegando a afetar 1 em 450 indivíduos, sendo uma em cada 10 a 15 pessoas heterozigota para mutações em *GBA1*.

O Gaucher Registry é o maior banco de dados internacional sobre a DG, de natureza cooperativa e observacional, criado em 1991 sob a coordenação do International Collaborative Gaucher Group (ICGG) (www.gaucherregistry.com). Esse registro é financiado pela indústria produtora de imiglucerase (Sanofi/Genzyme). O registro brasileiro de Gaucher, vinculado ao Gaucher Registry, iniciou suas atividades em 2001. Ao final de 2006, as características demográficas dos pacientes brasileiros incluídos no Gaucher Registry mostravam que a maioria dos pacientes (96%) era do tipo I e que 59% era do sexo feminino. Segundo Ministério da Saúde, existem atualmente 700 pacientes brasileiros com DG, em tratamento.

3.3 APRESENTAÇÃO CLÍNICA

Em relação às manifestações clínicas, a DG caracteriza-se pela heterogeneidade de sinais e sintomas. Alguns pacientes apresentam achados mais brandos; outros têm uma clínica mais intensa. Os pacientes costumam ser classificados em três tipos, conforme sinais e sintomas clínicos, sendo que o aspecto mais relevante para essa subdivisão é a presença e gravidade do envolvimento neurológico.

O tipo 1 é o mais frequente (>90%), correspondendo à forma não neuronopática, que afeta crianças e adultos e que cursa com hepatoesplenomegalia, pancitopenia, osteopenia, fraturas ósseas e sintomas sistêmicos. O grupo de judeus Ashkenazi é o mais acometido e a sobrevida se assemelha à da população geral (70 anos) (MARTINS et al., 2003). O acometimento pulmonar é incomum e leve.

A forma neuronopática é dividida em tipo 2 e 3, dependendo da gravidade do acometimento do SNC. A DG tipo 2 corresponde à forma neuronopática aguda e afeta lactentes com 4-5 meses de vida. Compromete

sistema nervoso central, baço, fígado e pulmão, com envolvimento neurológico grave e morte nos dois primeiros anos. Sinais clínicos comuns incluem hipertonia cervical, apnéia, alterações na amamentação e convulsões.

A DG tipo 3, forma neuronopática crônica, afeta crianças e adolescentes (mais frequente entre suecos do Condado de Norbotten) e compromete SNC, baço, fígado e ossos. A evolução é menos grave do que no tipo 2, sendo que os pacientes podem apresentar sobrevida até a segunda ou terceira décadas de vida.

As formas neuronopáticas da DG são patologicamente caracterizadas por intensa perda neuronal, astrocitose e proliferação microglial. Alguns estudos demonstraram que alterações inflamatórias podem estar envolvidas na patogênese da forma neuronopática da DG, levando até mesmo a quebra de barreira hemato-encefálica (VITNER et al., 2012). O mecanismo que induz essa neuroinflamação é ainda desconhecido.

A ressonância magnética (RM) nos pacientes com as formas neuronopáticas podem demonstrar atrofia cerebral difusa ou unilateral. No entanto, exames de imagem normal não excluem envolvimento neurológico (CHANG et al., 2000).

3.4 GENÉTICA

A DG é uma doença autossômica recessiva devido a mutações no gene *GBA1* localizado no cromossomo 1q21.31 (PELLED et al., 2005). Mais de 350 mutações já foram descritas (HOITSEMA et al., 2016). A mutação mais encontrada é a mutação c.1226A>G (N370S), que compreende 53% dos alelos mutados e é encontrada mais comumente em europeus não-judeus e em judeus Ashkenazi (SUN; GRABOWSKI 2010). A mutação c.1448T>C (L444P), corresponde a 18% dos alelos mutados, é mais comum na Suécia e no norte da Europa. Essa mutação, quando presente em homozigose, corresponde geralmente a um fenótipo neuronopático.

3.5 ESPECTROSCOPIA DE PRÓTONS POR RESSONÂNCIA MAGNÉTICA

A ERM permite quantificar diferentes metabólitos no encéfalo, como Cho, Cr, NAA e lipídios. O nível de Cho medido por ERM é um marcador de atividade de membrana celular (síntese ou degradação de fosfolipídios) e pode refletir proliferação celular. O aumento do nível de Cho pode também representar quebra da mielina, como em doenças desmielinizantes. Na DG, no entanto, o aumento de Cho pode ser causado por um mecanismo diferente. Mercimek-Mahmutoglu et al. (2007) acreditam que a elevação da Cho é causada pelo acúmulo de glicosilceramida, uma vez que a glicosilceramida aumenta a atividade da enzima fosfocolina-citidiltransferase, que regula a síntese de fosfatidilcolina, o maior compartimento fosfolipídico do SNC. NAA é um metabólito que é sintetizado nos neurônios mitocondriais. Ele é encontrado exclusivamente no SNC e sistema nervoso periférico e é um marcador de integridade e densidade neuronal e axonal. A redução dos níveis de NAA é um sinal de perda ou degradação neuronal.

4 METODOLOGIA

4.1 PACIENTES

Onze pacientes com diagnóstico confirmado de DG tipo 1 que acompanham no centro de Centro de Referência para tratamento de doença de Gaucher do Rio Grande do Sul foram incluídos no estudo. Todos os pacientes tinham o diagnóstico de DG confirmado pela atividade reduzida da glicocerebrosidase em leucócitos e/ou por análise do gene *GBA1*. Para a determinação do estado clínico geral, os pacientes foram avaliados através do escore de gravidade (SSI) desenvolvido por Zimran et al. (1992). O escore SSI inclui perguntas sobre a presença/ausência de citopenias, esplenomegalia, esplenectomia, hepatomegalia, sinais de doença hepática, envolvimento de SNC e envolvimento de outros sistemas (como pulmão e rins), assim como doença óssea. Todos os pacientes assinaram um consentimento informado e o estudo foi aprovado pelo comitê de ética local.

4.2 AQUISIÇÃO E ANÁLISE DAS IMAGENS

Os exames de RM foram realizados em um equipamento 1.5T (Philips Achieva 1.5T). Foram realizadas RM do encéfalo, coluna lombar e fêmures e ERM de todos os pacientes. O estudo do encéfalo inclui uma sequência ponderada em T2 no plano axial para localização do VOI (TR = 4650ms, TE = 100ms, matriz = 368x292, *flip angle* = 90°, espessura de corte = 5 mm). A ERM foi realizada com técnica 3D multi-voxel, usando a sequência point resolved surface coil spectroscopy (PRESS) com pulso seletivo para supressão da água e TE de 144ms. Os VOIs foram localizados no nível dos núcleos da base. Os VOIs localizados nos núcleos putamen e globo pálido foram analisados. A FIGURA 1 mostra o posicionamento do VOI.

Os picos de ressonância de NAA em 2.02 ppm, Cr em 3.9 ppm e Cho em 3.2 ppm foram determinados no espectro de Fourier após processamento. A relação dos metabólitos NAA/ Cr e Cho/ Cr foi calculada.

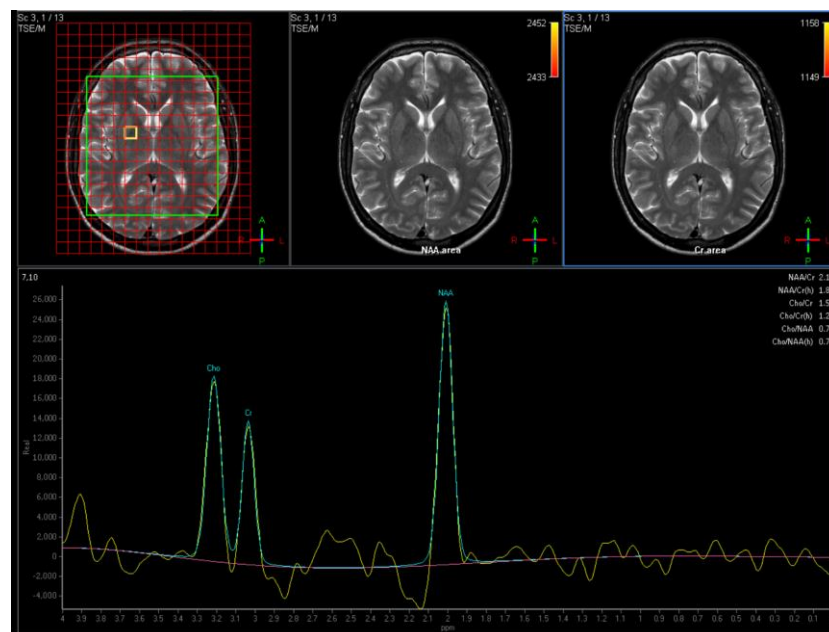
Para avaliação da infiltração da medular óssea, foram realizadas imagens na coluna lombar e fêmures. O estudo da coluna lombar consistiu de

imagens sagitais ponderadas em T1 (TR = 482 ms, TE = 8 ms, matriz = 388 x 276, flip angle = 90°, espessura de corte = 4 mm) e ponderadas em T2 (TR = 3890 ms, TE = 120 ms, matriz = 388 x 276, flip angle = 90°, espessura de corte = 4 mm) (FIGURAS 2a e 2b). O estudo dos fêmures foi realizado com imagens coronais ponderadas em T1 (TR = 863 ms, TE = 15 ms, matriz = 576x 471, flip angle = 90°, espessura de corte = 5 mm) e ponderadas em T2 (TR = 3124 ms, TE = 60 ms, matriz = 576x 471, flip angle = 90°, espessura de corte = 5 mm) (FIGURAS 2c e 2d). As imagens de cada paciente foram vistas em formato DICOM usando o software Osirix pela autora e foi calculado o escore BMB de Maas et al. (MASS et al., 2003).

O escore BMB final foi obtido através da soma referente à intensidade de sinal da medular óssea nas ponderações T1 e T2 e a distribuição das anormalidades tanto na coluna lombar quanto nos fêmures (TABELA 1). O radiologista era cego quanto às manifestações clínicas e ao tratamento dos pacientes.

Os valores de BMB foram classificados como sem doença óssea (0-2), doença óssea discreta (3-7), doença óssea moderada (8-12) e doença óssea grave (13-16).

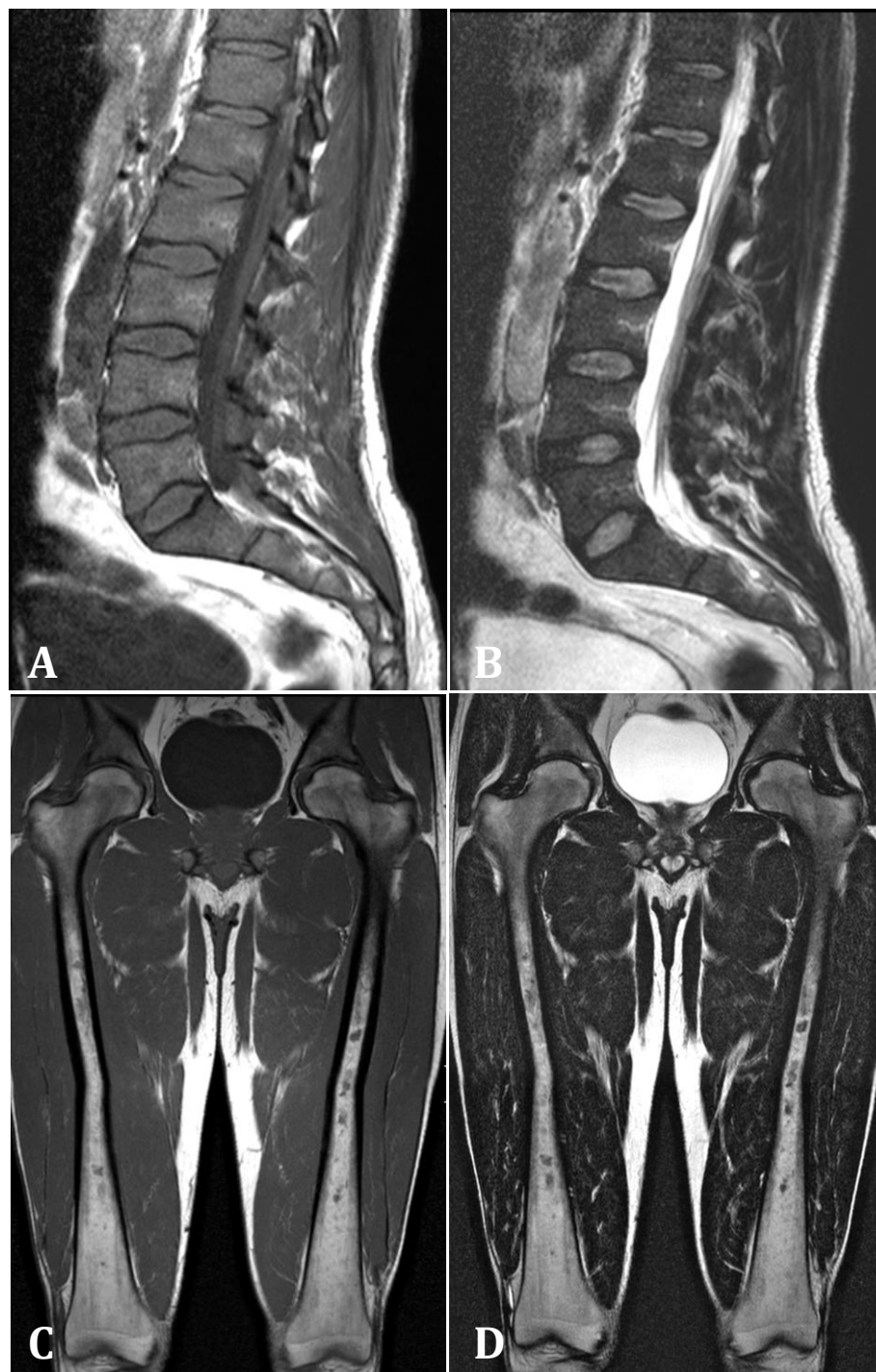
FIGURA 1 – POSICIONAMENTO DO VOI NA ESPECTROSCOPIA DE PRÓTONS POR RESSONÂNCIA MAGNÉTICA



FONTE: O autor

NOTA: O VOI foi posicionado nos núcleos putame e globo pálido.

FIGURA 2 – RESSONÂNCIA MAGNÉTICA DA COLUNA LOMBAR E DOS FEMURES EM PACIENTE COM DOENÇA DE GAUCHER TIPO 1



FONTE: O autor

NOTA: O escore BMB calculado foi 8 (doença óssea moderada), sendo 5 para coluna lombar e 3 para o fêmur.

TABELA 1 – ESCORE *BONE MARROW BURDEN*

		Descrição	Pontuação
Coluna lombar	T1	Discretamente hiperintenso	0
		Isointenso	1
		Discretamente hipointenso	2
		Definitivamente hipointenso	3
	T2	Isointenso	0
		Discretamente hipointenso	1
		Definitivamente hipointenso	2
	Distribuição	Heterogênea	1
		Difusa	2
Envolvimento da gordura ao redor das veias basivertebrais		3	
Fêmures	T1	Discretamente hiperintenso ou isointenso	0
		Discretamente hipointenso	1
		Hipointenso	2
		Padrão misto	3
	T2	Isointenso	0
		Discretamente hipointenso	1
		Definitivamente hipointenso	2
	Extensão	Diáfise e metáfise	0
		Epifise proximal	1
		Epifise distal	2

FONTE: Adaptado de Maas 2003

4.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise estatística foi realizada usando o software estatístico IBM SPSS, versão 2.0 (IBM Corp., Armonk, NY). Foram utilizados os testes Kolmogorov-Smirnov e Shapiro-Wilk para a análise a normalidade. Em ambos os testes o escore BMB e as relações Cho/Cr e NAA/ Cr mostraram distribuição normal.

Como a amostra apresentava uma distribuição normal, foi calculado o coeficiente de correlação de Pearson (r) para analisar a correlação entre o escore BMB e a relação Cho/Cr e o entre o escore BMB e a relação NAA/Cr. O valor de significância estatística usado foi $p < 0.05$.

5 RESULTADOS

O grupo de estudo incluiu 5 mulheres e 6 homens. A média de idade foi de 30,3 anos, variando de 17 a 47 anos. O genótipo mais encontrado foi a mutação N370S/L444P (7 pacientes). Outros genótipos encontrados foram N370S/RecNcil (um paciente) e E349K/S366N (um paciente). Um paciente apresentava o genótipo N370S/desconhecido e outro paciente o genótipo era desconhecido. Dos onze pacientes, 10 estavam sendo tratados com imiglucerase e um não havia iniciado tratamento. Nenhum dos pacientes tinha sintomas neurológicos, exceto um que apresentou discreta perda de memória. Um paciente era esplenectomizado. A média do SSI foi de 1,3, variando de 0 a 3. Nenhum dos pacientes apresentou doença de Parkinson.

A média do BMB foi de 7,7, variando de 0 a 14. A média da relação Cho/Cr foi de 1,07 e variou de 0,73 a 1,58. A média da relação NAA/Cr foi de 2,30 e variou de 1,53 a 3,17. Foi encontrada uma correlação positiva baixa entre o escore BMB e a relação Cho/Cr ($r=0,16$) e uma correlação negativa moderada entre escore BMB e a relação NAA/Cr ($r=0,40$). Todos os dados estão resumidos na tabela 2.

TABELA 2 - DADOS CLÍNICOS, ESPECTROSCOPIA DE PRÓTONS POR RESSONÂNCIA MAGNÉTICA E ESCORE *BONE MARROW BURDEN*

Paciente/ Gênero/ Idade	Genótipo	Sintomas	Esplenectomia	SSI	Tempo em tratamento (meses)	Tipo de tratamento	Cho/Cr	NAA/Cr	BMB
1/m/22	N370S/?	nenhum	não	1	123	imiglucerase	1,08	2,46	10
2/f/17	N370S/L444P	nenhum	não	0	107	imiglucerase	0,76	2,77	0
3/m/40	N370S/L444P	nenhum	não	3	141	imiglucerase	1,09	1,72	8
4/m/22	N370S/L444P	nenhum	não	2	182	imiglucerase	0,82	2,18	11
5/f/20	N370S/L444P	nenhum	não	2	49	imiglucerase	0,82	1,53	3
6/f/37	N370S/L444P	nenhum	sim	3	111	imiglucerase	1,58	2,80	6
7/m/37	370S/RecNcil	nenhum	não	2	95	imiglucerase	1,53	2,12	8
8/m/47	N370S/L444P	nenhum	não	0	41	imiglucerase	1,13	2,94	3
9/f/27	N370S/L444P	discreta perda de memória	não	1	122	imiglucerase	0,73	1,59	9
10/m/18	?	nenhum	não	1	146	imiglucerase	1,02	2,03	13
11/f/46	E349K/S366N	nenhum	não	0	nenhum	-	1,24	3,17	14

FONTE: dados do trabalho

NOTA: m - masculino; f - feminino

6 DISCUSSÃO

Manifestações clínicas neurológicas já foram descritas em pacientes com DG tipo 1 (BIEGSTRAATEN et al 2010, 2012; CHERIN, 2010), como polineuropatia periférica e alterações cognitivas leves. Cherin et al. (2010), em um estudo que incluiu 101 pacientes com DG tipo 1, encontraram sintomas neurológicos em 51 (49%). Existe ainda uma relação bem estabelecida entre pacientes com mutação do gene *GBA* e sinucleinopatias, como DP e demência com corpos de Lewy (TAYEBI et al. 2003; AHARON-PERETZ et al. 2005; CLARK et al. 2007; SIDRANSKY et al, 2009; SIEBERT, 2014; BROCKMANN e BERG, 2014).

Estudos convencionais por RM do encéfalo são geralmente normais em pacientes com DG tipo 1. Entretanto, alguns estudos mostraram alterações na ERM cerebral. Mercimek-Mahmutoglu et al. (2007) mostraram aumento do pico de Cho em pacientes com DG tipo 1 e Brockmann et al. (2012) encontraram níveis reduzidos de NAA no putamen e mesencéfalo em pacientes com DP e mutação do gene *GBA1*.

Em nossos estudos, foram comparadas as relações Cho/Cr e NAA/Cr com a gravidade de doença óssea. Embora quase todos nossos pacientes não apresentavam manifestações neurológicas clínicas, o grau de doença óssea foi bem heterogêneo. Dois pacientes apresentaram doença óssea grave (BMB de 13 e 14) e 5 apresentaram doença óssea moderada. O único paciente com discreta perda de memória apresentou doença óssea moderada, com BMB de 9. Portanto, a gravidade de doença óssea não teve correlação com sintomas neurológicos neste estudo. Entretanto, a relação Cho/Cr, que pode representar acúmulo de glicosilceramida no encéfalo, teve uma correlação positiva com o grau de infiltração óssea e a relação NAA/Cr, um marcador de perda neuronal, teve uma correlação negativa. Portanto, uma doença óssea mais grave pode também refletir um maior acúmulo de glicosilceramida no encéfalo e maior perda neuronal.

Uma das principais limitações do estudo é o pequeno número de nossa amostra. Além disso, não foi utilizado um grupo controle para determinar valores normais de Cho e NAA em nossa população. Novos

estudos com maior número de pacientes e grupo controle seriam importantes para comprovar os achados.

7 CONCLUSÃO

Existe correlação positiva entre a razão colina/creatina e negativa entre a razão NAA/ creatina com o escore BMB. Embora não seja possível definir envolvimento cerebral na DG com base apenas nos achados de ERM, um maior nível de Cho na ERM do encéfalo pode refletir acúmulo de glicosilceramida cerebral. Portanto, uma maior gravidade da doença óssea pode estar relacionado a maior acúmulo de glicosilceremida no encéfalo.

8 REFERÊNCIAS

AHARON-PERETZ, J.; ROSENBAUM, H.; GERSHONI-BARUCH, R. Mutations in the glucocerebrosidase gene and Parkinson's disease in Ashkenazi Jews. **The New England Journal of Medicine**, p. 1972-1977, 2004.

BADARNY, S.; ROSENBAUM, H.; GERSHONI-BARUCH, R.; Mutations in the glucocerebrosidase gene and Parkinson disease: Phenotype-genotype correlation. **Neurology**, v. 65, n. 9, p. 1460–1461, 2005.

BIEGSTRAATEN, M.; MENGEL, E, MARÓDI, L.; et al. Peripheral neuropathy in adult type 1 Gaucher disease: A 2-year prospective observational study. **Brain**, v. 133, n. 10, p. 2909–2919, 2010.

BIEGSTRAATEN, M.; WESNES, K.A.; LUZY, C.; et al. The cognitive profile of type 1 Gaucher disease patients. **Journal of Inherited Metabolic Disease**, v. 35, n. 5, p. 1093-1099, 2012.

BROCKMANN, K.; HILKER, R.; PILATUS, U.; et al. GBA-associated PD. Neurodegeneration, altered membrane metabolism, and lack of energy failure. **Neurology**, v. 79, n. 3, p. 213-220, 2012.

BROCKMANN, K.; BERG, D. The significance of GBA for Parkinson's disease. **Journal of Inherited Metabolic Disease**, v. 37, p. 643–648, 2014.

CHANG, Y. C.; HUANG, C. C.; CHEN, C. Y.; ZIMMERMAN, R. A. MRI in acute neuropathic Gaucher's disease. **Neuroradiology**, vol. 42, p. 48–50, 2000.

CHARROW, J.; ESPLIN, J.A.; GRIBBLE, T.J.; et al. Gaucher Disease Recommendations on Diagnosis, Evaluation, and Monitoring. **Archives of Internal Medicine**, v. 159, n. 16, p. 1756-1760, 1998.

CHÉRIN, P.; ROSE, C.; DE ROUX-SERRATRICE, C.; et al. The neurological manifestations of Gaucher disease type 1: the French Observatoire on Gaucher disease (FROG). **Journal of Inherited Metabolic Disease**, v. 33, n. 4, p. 331-338, 2010.

CLARK, L. N.; ROSS, B. M.; WANG, Y. et al. Mutations in the glucocerebrosidase gene are associated with early-onset Parkinson disease. **Neurology**, v. 69, n. 12, p. 1270–1277, 2007.

COX, T.M., SCHOFIELD, J.P. Gaucher's disease: clinical features and natural history. **Baillière's Clinical Haematology**, vol. 10, p. 657-689, 1997.

COX, T.; LACHMANN, R.; HOLLAK, C.; et al. Novel oral treatment of Gaucher's disease with N-butyldeoxynojirimycin (OGT 918) to decrease substrate biosynthesis. **Lancet**, vol. 355, n. 9214, p. 1481-1485, 2000.

DE FOST, M.; AERTS, J. M. F. G.; HOLLAK, C. E. M. Gaucher disease: From fundamental research to effective therapeutic interventions. **Netherlands Journal of Medicine**, vol. 61, n. 1, p.3-8, 2003.

GAUCHER REGISTRY. Disponível em www.gaucherregistry.com. Acesso em 20 de junho de 2016.

GIRALDO P. et al. Enfermedad de Gaucher. In: SANJURJO, P; BALDELLOU,A. **Diagnóstico y tratamiento de las enfermedades metabólicas hereditárias**. Madrid, Ediciones Esgon S.A., 2001.

HOITSEMA, K.; AMATO, D.; KHAN, A.; et al. Identification of novel splice site mutation IVS9 + 1(G > A) and novel complex allele G355R/R359X in Type 1 Gaucher patients heterozygous for mutation N370S. **Meta Gene**, vol. 23, n. 9, p. 47-51, 2016.

MAAS, M.; VAN KUIJK, C.; STOKER, J.; et al. Quantification of bone involvement in Gaucher disease: MR imaging bone marrow burden score as an alternative to Dixon quantitative chemical shift MR imaging--initial experience. **Radiology**, vol. 229, n. 2, p. 554–561, 2003.

MARTINS, A.; LOBO C. L., SOBREIRA E. A. P.; et al. et al. Tratamento da Doença de Gaucher: um consenso brasileiro. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, vol. 25, p. 89-95,. 2003.

MEIKLE, P.J.; HOPWOOD, J.J. Lysosomal storage disorders: emerging therapeutic options require early. **European Journal of Pediatrics**, vol. 162, 2003.

MERCIMEK-MAHMUTOGLU, S.; GRUBER, S.; ROLFS, A.; et al. Neurological and brain MRS findings in patients with Gaucher disease type 1. **Molecular Genetics and Metabolism**, vol. 91, p. 390–395, 2007.

MISTRY, P. K.; CAPPELLINI, M. D.; LUKINA, E.; et al. A reappraisal of Gaucher disease-diagnosis and disease management algorithms. **American Journal of Hematology** , vol. 86, p. 110–115, 2011.

MISTRY, P. K.; ABRAHAMOV, A. A practical approach to diagnosis and management of Gaucher's disease. **Baillière's Clinical Haematology**, vol. 10, n. 4, p. 817–838, 1997.

NEUMANN, J.; BRAS, J.; DEAS, E.; et al. Glucocerebrosidase mutations in clinical and pathologically proven Parkinson's disease. **Brain**, vol. 132, p. 1783–1794, 2009.

PELLED, D.; TRAJKOVIC-BODENNEC, S.; LLOYD-EVANS, E.; et al. Enhanced calcium release in the acute neuronopathic form of Gaucher disease. **Neurobiology of Disease**, vol. 18, n. 1, p. 83-88, 2005.

ROBERTSON, P. L.; MAAS, M.; GOLDBLATT, J. Semiquantitative assessment of skeletal response to enzyme replacement therapy for Gaucher's disease using the bone marrow burden score. **American Journal of Roentgenology**, vol. 188, n. (6), p 1521–1528, 2007.

SIDRANSKY, E.; NALLS, M. A; AASLY, J. O; et al. Multicenter analysis of glucocerebrosidase mutations in Parkinson's disease. **The New England Journal of Medicine**, vol. 361, p. 1651–1661, 2009.

SIEBERT, M. SIDRANSKY, E; WESTBROEK, W. Glucocerebrosidase is shaking up the synucleinopathies. **Brain**, vol. 137, p. 1304–1322, 2014.

SOBREIRA, E.; PIRES, R. F.; CIZMARIK, M.; GRABOWSKI, G. A. Phenotypic and genotypic heterogeneity in Gaucher disease type I: A comparison between Brazil and the rest-of-the-world. **Molecular Genetics and Metabolism**, vol. 90, p. 81-86, 2007.

SUN, Y.; GRABOWSKI, G.A. Impaired autophagosomes and lysosomes in neuronopathic Gaucher disease. **Autophagy**, vol. 6, n. 5, p. 648-649, 2010.

TAYEBI, N.; WALKER, J.; STUBBLEFIELD, B.; et al. Gaucher disease with parkinsonian manifestations: Does glucocerebrosidase deficiency contribute to a vulnerability to parkinsonism? **Molecular Genetics and Metabolism**, vol 79, n. 2, p. 104-109, 2003.

VITNER, E. B.; FARFEL-BECKER, T.; EILAM, R.; et al. Contribution of brain inflammation to neuronal cell death in neuronopathic forms of Gaucher's disease. **Brain**, vol. 135, p. 1724-1735, 2012.

ZIMRAN, A.; KAY, A.; GELBART, T.; et al. Gaucher disease. Clinical, laboratory, radiologic, and genetic features of 53 patients. **Medicine**, vol. 71, n. 6, p. 337–353, 1992.