



O tema do primeiro dia do *WORLD Symposium* foi Ciência Básica. Confira algumas das interessantes pesquisas apresentadas.

O estudo **Neurônios derivados de células-tronco pluripotentes induzidas (iPSC) de pacientes com mucopolissacaridose III mostram defeitos sinápticos pronunciados** foi apresentado pelo Dr. Travis Moore, do Centro de Pesquisa Sainte-Justine de Montreal, Canadá. Os pesquisadores geraram e caracterizaram neurônios corticais derivados de iPSC de fibroblastos de pacientes com mucopolissacaridose (MPS) IIIA e C. Células progenitoras neuronais (NPCs) de três pacientes com MPS IIIC mostraram expressão robusta de marcadores de fidelidade/diferenciação de NPC semelhantes às NPCs de controles saudáveis, mas mostraram redução significativa da atividade da enzima HGSNAT e aumento do tamanho e da abundância de lisossomos LAMP2+. No dia 28, neurônios corticais MPS IIIC e controles expressaram *in vitro* níveis semelhantes do marcador de fidelidade neuronal NeuN. No entanto, os neurônios MPS IIIC mostraram redução significativa da expressão de PSD-95+, VGLUT1+ e BDNF. Os resultados demonstram que os defeitos sinápticos encontrados em modelos murinos de Sanfilippo repetem-se em neurônios humanos *in vitro*.¹

A Dra. Mahsa Taherzadeh, da Universidade McGill, de Montreal, Canadá, apresentou o estudo **Expressão da proteína HGSNAT misfolded agrava o fenótipo neurológico na mucopolissacaridose tipo IIIC**. Para estudar a fisiopatologia da MPS IIIC causada pelo dobramento incorreto de HGSNAT, os pesquisadores desenvolveram um novo modelo de camundongo (*HgsnatP304L*) que expressa a enzima com um análogo da mutação *missense* humana Pro311Leu. Os resultados demonstram efeitos dominantes negativos da variante HGSNAT Pro304Leu *misfolded* e mostram que esses efeitos são tratáveis com a administração oral de glucosamina, sugerindo que pacientes afetados com mutações *missense*, que impedem o dobramento normal da enzima, podem se beneficiar de terapia com chaperonas.²

A **Comparação da eficácia de AAV9.CB7hIDS (RGX-121) intratecal e intravenoso em um modelo murino de mucopolissacaridose tipo II** foi o tema da pesquisa apresentada pelo Dr. Miles Smith, da Universidade de Minnesota, Estados Unidos. O AAV9.CB7hIDS (RGX-121, vetor AAV9 que codifica a iduronato-2-sulfatase [IDS] humana) administrado por via intratecal é uma estratégia alternativa para tratar as manifestações neurológicas da MPS. O objetivo desse estudo foi determinar se a dosagem intratecal de AAV9.CB7hIDS melhora os resultados sistêmicos e neurológicos em um modelo murino de MPS II. Em doses de $1,0 \times 10^{10}$ vg e $1,0 \times 10^{11}$ vg, tanto intratecal quanto intravenosa, a atividade de IDS no plasma atingiu mais de 100 a 1.000 vezes os níveis do tipo selvagem, e os tecidos mostraram níveis de atividade de IDS iguais ou acima do tipo selvagem com normalização proporcional de GAGs. Os pesquisadores concluíram que a administração intratecal de AAV9.CB7hIDS, especialmente na dose de $1,0 \times 10^{11}$ vg, melhorou a doença neurológica, metabólica e esquelética em camundongos com MPS II, garantindo mais estudos para checar se há benefício semelhante em humanos.³

A Dra. Gisele Pino, da Clínica Mayo, de Rochester, Estados Unidos, ilustrou um esquema de integração de testes e interpretação de oligossacarídeos, glicosaminoglicanos, sulfatídeos e tri-hexosídeos de ceramida como uma triagem eficiente que permite a formulação de um novo algoritmo para o diagnóstico bioquímico de um subconjunto de doenças lisossômicas. O tema da apresentação foi **A sinergia dos testes multiplex para rastrear doenças lisossômicas**. O efeito sinérgico dessa estratégia abrangente e integrada de triagem pela urina melhora a investigação diagnóstica em pacientes com suspeita de doenças lisossômicas, pois reduz o diagnóstico diferencial e agiliza o diagnóstico correto. De acordo com a Dra. Pino, desde a implementação dessa estratégia em 2016, foram identificados 156 pacientes com doenças lisossômicas com características distintas para cada transtorno. "Essa abordagem algorítmica é um uso eficiente e eficaz de uma única amostra de urina", concluiu a médica.⁴

O estudo sobre **Diagnóstico pré-natal de mucopolissacaridose tipo VI por análise do sobrenadante do líquido amniótico na era da espectrometria de massa** foi apresentado pela Dra. Francyne Kubaski, do Hospital de Clínicas de Porto Alegre da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. O estudo pré-natal foi iniciado devido à história familiar prévia de MPS VI no casal. O líquido amniótico foi coletado com 19 semanas de gestação e as células foram cultivadas para realizar ensaios enzimáticos e estudos de genética molecular em amniócitos cultivados. Enquanto isso, os oligossacarídeos específicos da doença foram quantificados no sobrenadante do líquido amniótico por um sistema de cromatografia líquida de ultraeficiência acoplado a espectrometria de massa (UPLC-MS/MS). Encontraram-se níveis elevados dos oligossacarídeos HNAc (1S) e HNAc (2S) no sobrenadante do líquido amniótico. Esses resultados anormais no líquido amniótico foram posteriormente confirmados pelo achado de atividade deficiente da arilsulfatase B (ARSB) e pela análise molecular do gene *ARSB*, ambos realizados em amniócitos de cultura, que revelou heterozigose composta para as variantes patogênicas c.944G>A/c.1143-1G > C. Esse estudo destaca o potencial da MS/MS para a identificação

da MPS VI no sobrenadante do líquido amniótico, proporcionando uma indicação precoce do estado fetal, o que é fundamental no diagnóstico pré-natal.⁵

Pesquisadores da Alemanha desenvolveram o estudo **Isolamento e caracterização de um anticorpo policlonal humano antifármaco como referência na doença de Fabry**. Nesse estudo, os pesquisadores geraram um anticorpo derivado de paciente como referência, permitindo a quantificação de títulos de anticorpos antidroga (ADA) em amostras de sangue individuais. O anticorpo de referência permite a determinação de título e a quantificação de concentrações absolutas de ADA por ELISA. Além disso, os ADAs de pacientes com doença de Fabry apresentaram afinidades comparáveis à α -galactosidase, β -galactosidase e α -galactosidase A produzida em musgo (*Moss-AGAL*).⁶

O **programa piloto de triagem de 3 anos para doenças lisossômicas na região da América Latina (AL) com abordagem enzimática e molecular integrada** foi apresentado pela Dra. Walla Al-Hertani, do Boston Children's Hospital da Faculdade de Medicina de Harvard em Boston, Estados Unidos. Nesse estudo, analisaram-se amostras coletadas de uma grande coorte de pacientes adultos e pediátricos com fenótipos suspeitos de doenças lisossômicas em toda a região da AL. Na abordagem diagnóstica integrada, a triagem enzimática e os testes moleculares confirmatórios em manchas de sangue seco foram realizados para cinco doenças lisossômicas: doença de Gaucher (GD), MPS I, Niemann-Pick tipo A/B (NPA/B), doença de Pompe (DP) e doença de Fabry (DF). No total, 746/18.756 (3,98%) amostras apresentaram baixa atividade enzimática e foram encaminhadas para teste molecular confirmatório. Os resultados foram normais para 325/746 (43,6%), e 421/746 (56,4%) possuíam variantes para as doenças lisossômicas: 50/190 (26,3%) foram diagnosticados para DG; 61/83 (73,5%), para MPS I; 70/148 (47,3%), para DP; 24/39 (61,5%), para NPA/B; 50/286 (17,5%), para DF no sexo masculino. Muitas variantes de significado clínico incerto (VUS) foram identificadas em amostras com atividades enzimáticas significativamente diminuídas, sugerindo que a população da AL apresenta grande número de variantes únicas para essas doenças lisossômicas.⁷

Os resultados de **Quinze anos do Hunter Outcome Survey (HOS): insights do mundo real sobre a população de pacientes que vive com mucopolissacaridose tipo II (MPS II)** foram apresentados pela Dra. Barbara Burton, da Universidade Northwestern, de Chicago, Estados Unidos. O registro observacional global HOS está coletando dados reais e de longo prazo sobre a história natural da MPS II e a terapia de reposição enzimática (idursulfase intravenosa) desde 2005. Os dados clínicos prospectivos são coletados durante as consultas de rotina e também podem ser inseridos retrospectivamente a partir de registros médicos. Mais de 1.350 pacientes (incluindo 13 mulheres) foram inscritos no HOS a partir de 156 clínicas em 34 países da Europa, América do Norte, América Latina e Ásia (dados de julho de 2021). Dos pacientes acompanhados prospectivamente no registro, 86% receberam idursulfase, com média de idade no início do tratamento de 6,2 anos (n=1.019). Os dados coletados permitiram aumentar a compreensão sobre a história natural da MPS II, a carga progressiva dos componentes neurológicos e somáticos da doença e a concordância do fenótipo em irmãos.⁸ "Essas informações podem auxiliar no diagnóstico precoce e na predição de fenótipos", concluiu a pesquisadora.

Referências

1. Moore T, Bose P, Wood J, Durcan T, Pshezhetsky A. iPSC derived neurons of mucopolysaccharidosis III patients show pronounced synaptic defects. *Mol Genet Metab.* 2022;135(2):S85.
2. Taherzadeh M, Pan X, Morales CR, Pshezhetsky AV. Expression of misfolded HGSNAT protein aggravates neurological phenotype in mucopolysaccharidosis type IIIC. *Mol Genet Metab.* 2022;135(2):S118.
3. Smith MC, Belur L, Erlanson OL, Furcish JW, Karlen AD, Lund TC, et al. Comparative effectiveness of intravenous and intrathecal AAV9.CB7hIDS (RGX-121) in a murine model of mucopolysaccharidosis type II. *Mol Genet Metab.* 2022;135(2):S114.
4. Pino G, Nickander K, Studinski A, Peck D, White A, Lacey J, et al. The synergy of multiplex testing to screen for lysosomal disorders (LD). *Mol Genet Metab.* 2022;135(2):S98.
5. Kubaski F, Menezes AC, Herbst ZM, Pereira D, Silva C, Faqueti L, et al. Prenatal diagnosis of mucopolysaccharidosis type VI by analysis of the amniotic fluid supernatant in the mass spectrometry era. *Mol Genet Metab.* 2022;135(2):S69.
6. Lenders M, Scharnetzki D, Heidari A, Di Iorio D, Wegner SV, Brand E. Isolation and characterization of a polyclonal human anti-dru antibody as a reference in Fabry disease. *Mol Genet Metab.* 2022;135(2):S74.
7. Al-Hertani W, Bodamer OA, Merglesberg H, Pollard L, Peake R. A 3-year pilot screening program for lysosomal disorders in the Latin America (LATAM) region using an integrated enzymatic and molecular approach. *Mol Genet Metab.* 2022;135(2):S16.
8. Muenzer J, Scarpa M, Tytki-Szymańska A, Amartino H, Harmatz P, Lin SP, et al. Fifteen years of the Hunter Outcome Survey (HOS): Real-world insights into the patient population living with mucopolysaccharidosis type II (MPS II). *Mol Genet Metab.* 2022;135(2):S86.