



ARTIGO ORIGINAL

PERFIL BIOQUÍMICO, CLÍNICO E MOLECULAR DOS PACIENTES COM DOENÇA DE GAUCHER ATENDIDOS NO INSTITUTO DE HEMATOLOGIA E HEMOTERAPIA DO AMAPÁ (HEMOAP)**BIOCHEMICAL, CLINICAL AND MOLECULAR PROFILE OF GAUCHER'S DISEASE PATIENTS ATTENDED AT THE AMAPÁ HEMATOLOGY AND HEMOTHERAPY INSTITUTE (HEMOAP)**

Joyce Brito Souza¹
Luiz Carlos Santana da Silva²
Ida Vanessa Doerdelein Schwartz³
Witânia do Socorro Cardoso Silva⁴
Mylner Oliveira Fermiano de Souza⁵

RESUMO

A Doença de Gaucher (DG) é uma doença rara, causada pela mutação no gene *GBA* que codifica a enzima beta-glicosidase. O objetivo deste estudo foi traçar o perfil bioquímico, clínico e molecular de pacientes com DG atendidos no Instituto de Hematologia e Hemoterapia do Estado do Amapá. Tratou-se de um estudo transversal, através do acesso aos prontuários dos pacientes previamente diagnosticados, para análise dos dados clínicos e exames laboratoriais, incluindo a dosagem enzimática de quitotriosidase após início do tratamento e análise molecular pela técnica de reação em cadeia da polimerase (PCR). Houve predomínio de sintomas viscerais e hematológicos em 100% e 62,5% dos casos, respectivamente. Os parâmetros bioquímicos de diagnóstico demonstraram deficiência da enzima beta-glicosidase em todos os pacientes e a atividade de quitotriosidase variou de 22 a 5.676 nmol/hora/mL. Em relação à análise molecular foi observado no gene *GBA* 5 pacientes homocigotos para as seguintes mutações: N370S (3), 1309G>A (1) e V374I (1). No gene *CHIT* foi detectado a duplicação de 24 pares de base em 4 pacientes: dois homocigotos recessivos e dois heterocigotos. Constata-se o início das manifestações clínicas ainda na primeira década de vida. A caracterização clínica, bioquímica e molecular da DG é necessária para garantia de tratamento adequado e possibilidade de aconselhamento genético para as famílias em risco.

Descritores: Doença de Gaucher. Quitotriosidase. Terapia de Reposição Enzimática. Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas.

¹Acadêmica do curso de Biomedicina. Faculdade Estácio de Macapá. Macapá-AP, Brasil. E-mail: joycenbritos@gmail.com

²Doutor e Mestre em Bioquímica. Professor Titular do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Pará. Chefe do Laboratório de Erros Inatos do Metabolismo da Universidade Federal do Pará. Macapá-AP, Brasil. E-mail: lcss@ufpa.br

³BRAIN Laboratory, Hospital de Clínicas de Porto Alegre. Serviço de Genética Médica do Hospital de Clínicas de Porto Alegre e Professora Associada do Departamento de Genética da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre-RS, Brasil. E-mail: ischwartz@hcpa.ufrgs.br.

⁴Especialista em Epidemiologia e Gestão Ambiental. Enfermeira Chefe do Instituto de Hematologia e Hemoterapia do Amapá. Macapá-AP, Brasil. E-mail: witania1@hotmail.com

⁵Mestre em Ciências da Saúde. Especialista em Hematologia com Ênfase em Citologia Hematológica. Biomédico do Instituto de Hematologia e Hemoterapia do Amapá. Professor auxiliar da Faculdade Estácio de Macapá. Macapá-AP, Brasil. E-mail: mylner@gmail.com



ABSTRACT

Gaucher disease (DG) is a rare disease, caused by the mutation in the *GBA* gene that encodes a beta-glucosidase enzyme. The enzyme chitotriosidase has been used as a biochemical marker in the treatment of DG, however, the presence in homozygosity of a duplication of 24 base pairs in the *CHIT* gene that encodes this protein limited to its use. The objective of the study was to outline the profile of this biochemist, clinical and molecular of patients with DG treated at the Institute of Hematology and Hemotherapy of the State of Amapá. This was a cross-sectional study, through access to the medical records of previously diagnosed patients, for analysis of clinical data and laboratory tests, including the enzymatic dosage of chitotriosidase after starting treatment and molecular analysis using the polymerase chain reaction (PCR) technique. There was a predominance of visceral and hematological symptoms in 100% and 62.5% of cases, respectively. The biochemical diagnostic parameters demonstrated deficiency of the beta-glucosidase enzyme in all patients and the chitotriosidase activity ranged from 22 to 5,676 nmol / hour / mL. Regarding the molecular analysis, no *GBA* gene was observed in 5 homozygous patients for the following mutations: N370S (3), 1309G> A (1) and V374I (1). In the *CHIT* gene, duplication of 24 base pairs was detected in 4 patients: two recessive homozygotes and two heterozygotes. The clinical manifestations start in the first decade of life. The clinical, biochemical and molecular characterization of DG is necessary to guarantee adequate treatment and the possibility of genetic counseling for families at risk.

Keywords: Gaucher disease. Chitotriosidase. Enzyme Replacement Therapy. Clinical Protocol and Therapeutic Guidelines.

INTRODUÇÃO

A Doença de Gaucher (DG) constitui-se em uma enfermidade rara, autossômica recessiva, classificada como um erro inato do metabolismo de depósito lisossômico, sendo a mais comum dentro de sua categoria e a primeira para a qual foi desenvolvida uma terapia específica. É causada pela deficiência parcial ou total da enzima beta-glicosidase em virtude de uma mutação no gene *GBA*, o que leva a uma diminuição do catabolismo de glicocerebrosídeo acarretando no seu acúmulo progressivo nos macrófagos, originando as “células de Gaucher”^(1,2,3).

Esta patologia possui uma incidência de aproximadamente 1/60.000 habitantes, na população em geral, e prevalência é de cerca de 1/70.000 nascidos vivos^(4,5), e de acordo com Freitas⁽⁶⁾ o Brasil ocupa a posição de terceiro país do mundo com maior número de ocorrências diagnosticadas.

Clinicamente, trata-se de uma doença heterogênea que se apresenta sob diferentes níveis de gravidade, uma vez que as manifestações clínicas derivam do acúmulo e do nível de deficiência da enzima, caracterizando os tipos clínicos da doença⁽⁵⁾. São descritos aproximadamente de 300 tipos de mutações diferentes e ainda assim pacientes com o mesmo tipo de mutação podem divergir quanto às complicações, sintomas e resposta ao tratamento⁽⁷⁾. Os principais achados clínicos encontrados nos pacientes são anemia, plaquetopenia, hepatoesplenomegalia e dor óssea, além do acometimento neurológico presente nas formas graves da doença⁽⁸⁾.



Segundo Mistry⁽⁷⁾, a ampla gama de fenótipos da doença pode estar relacionada à etnia e a origem genética do indivíduo acometido, porém, não está bem elucidado se este fato é em razão das diferentes mutações em diferentes populações ou porque pacientes de alguns países só são diagnosticados quando apresentam manifestações graves.

O diagnóstico se dá por meio da confirmação da baixa atividade de beta-glicosidase por meio de dosagem enzimática realizada em leucócitos do sangue periférico e por achados morfológicos e análise molecular⁽⁹⁾.

Para o tratamento é realizada a Terapia De Reposição Enzimática (TRE), que consiste na aplicação periódica de uma enzima sintética, por via endovenosa em quantidade suficiente para reverter o quadro clínico da doença^(10,11), levando a melhora dos parâmetros hematológicos, estabilizando ou reduzindo a progressão de lesões ósseas e viscerais⁽¹²⁾.

A enzima sintética é planejada para ser absorvida pelos macrófagos através de endocitose mediada por receptores via receptores de manose⁽¹²⁾. A TRE permite a conversão da enzima defeituosa em seu produto, reduzindo o seu acúmulo, promovendo a continuação da cascata de eventos bioquímicos que dão origem às manifestações clínicas da doença⁽⁸⁾.

No Brasil a Portaria Conjunta Nº 4, de 22 de junho de 2017, regulamenta todos os procedimentos inerentes a doença, onde para realização da terapia os pacientes devem atender a critérios, maiores (relacionados ao diagnóstico) ou menores (relacionados à sintomatologia), para serem incluídos no protocolo de tratamento. Recomenda-se também que a terapêutica seja realizada em centros de referência com auxílio de uma equipe multidisciplinar capacitada para avaliar, administrar medicamentos, monitorar e acompanhar os pacientes com propósito de prevenir novas manifestações clínicas e piora de lesões preexistentes⁽⁸⁾.

A quitotriosidase, codificada pelo gene *CHIT*, é uma quinase sintetizada por macrófagos ativado do organismo que em situações fisiopatológicas são produzidos em grandes quantidades. Esta enzima apresenta uma atividade muito elevada no plasma de pacientes com DG e decai a partir do momento que a TRE é iniciada⁽¹³⁾. Assim, a quitotriosidase tem sido utilizada como marcador bioquímico para verificar a eficiência do tratamento da DG. Além disso, os níveis de quitotriosidase antes do tratamento da DG demonstram uma relação com alguns parâmetros, como hemoglobina e níveis de plaquetas e volumes de órgãos⁽¹¹⁾. No entanto, 6% da população é homocigota recessiva para uma duplicação de 24 pares de base localizada no exon 10 do gene *CHIT*, causando deficiência da enzima quitotriosidase e, portanto, pode limitar seu uso como marcador para o tratamento em uma pequena parcela de pacientes com DG⁽¹⁴⁾.



Tendo em vista que doenças raras possuem um caráter crônico e incapacitante, implicando diretamente na qualidade de vida dos seus portadores⁽¹⁵⁾, esta pesquisa teve por objetivo traçar o perfil bioquímico e clínico em pacientes com Doença de Gaucher atendidos no Instituto de Hematologia e Hemoterapia do Amapá (HEMOAP).

MÉTODOS

Trata-se de um estudo transversal, com amostragem não-probabilística, do tipo intencional, através do acesso aos prontuários para análise dos dados clínicos e exames laboratoriais, além da realização de dosagem enzimática da quitotriosidase para avaliar a resposta no quadro clínico após início do tratamento.

O estudo foi realizado no Instituto de Hematologia e Hemoterapia do Amapá (HEMOAP), criado em 1997 como uma autarquia vinculada à Secretaria de Estado da Saúde, situado no Estado do Amapá, no município de Macapá. Este é o único hemocentro do Estado onde é realizado o atendimento e tratamento de pacientes hematológicos e, além disso, dispõe dos serviços de Hematologia, Hemoterapia, Redome, Doação, Captação e Farmácia.

A coleta de dados e acesso aos prontuários teve início após aprovação pelo Comitê de Ética e Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Federal do Amapá (UNIFAP), sob parecer nº 3.416.680, em junho de 2019. O estudo foi realizado respeitando os critérios relacionados à pesquisa com seres humanos e material biológico, conforme as resoluções 466/2012 e 510/2016.

Foram coletadas informações clínicas e bioquímicas dos prontuários, como: sexo, idade, peso, genótipo, dosagem de beta-glicosidase e quitotriosidase, tempo em terapia, tipo de terapia, dose de TRE, níveis de hemoglobina, contagem de plaquetas, níveis de ferritina, existência de hepatomegalia e esplenomegalia. Os dados foram coletados dos prontuários na história clínica de entrada no hemocentro, na primeira infusão e na última infusão.

Para análise das dosagens enzimáticas foram coletadas amostras de sangue dos pacientes, previamente diagnosticados e cadastrados no serviço ambulatorial de hematologia, após esclarecimento do teor da pesquisa e mediante a assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido e Termo de Assentimento Livre e Esclarecido.

As amostras de sangue foram coletadas por punção venosa, antes da medicação, em tubos contendo anticoagulante heparina, EDTA e impregnadas em papel filtro. Nas amostras coletadas com heparina foi realizada centrifugação a 3000 rpm por 5 minutos para a separação do plasma. Os tubos contendo plasma foram identificados e transferidos para alíquotas de 1 mL em tubos coletores com tampa (tipo Eppendorf) e, posteriormente, congelados a - 18°C. As alíquotas foram enviadas ao



Laboratório de Erros Inatos do Metabolismo, localizado na Universidade Federal do Pará (UFPA) para a mensuração da atividade da enzima quitotriosidase. O transporte das amostras obedeceu ao disposto na RDC nº 20 de 2014 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA).

As amostras de sangue em EDTA e impregnado em papel filtro foram encaminhadas para o Serviço de Genética Médica do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (RS) para a realização da análise molecular do exon 10 do gene *CHIT*. Foi realizada extração de DNA e amplificação do éxon 10 pela técnica de reação em cadeia da polimerase (PCR) para avaliar a ausência ou presença da duplicação de 24 pares de base nesta região do gene *CHIT*. Os dados referentes às mutações no gene *GBA* e à mensuração da atividade da enzima beta-glicocerebrosidase foram obtidos a partir de informações registradas nos prontuários clínicos dos pacientes.

Foram incluídos no estudo todos os pacientes com diagnóstico confirmado de DG com tratamento realizado no Instituto de Hematologia e Hemoterapia do Estado do Amapá (HEMOAP) e que tenham aceitado participar da pesquisa mediante assinatura do termo de consentimento livre e/ou esclarecido e termo de assentimento livre e esclarecido. Foram excluídos da pesquisa aqueles pacientes que, mesmo com o diagnóstico confirmado de DG, sejam portadores de mais de uma enfermidade.

Para a análise do perfil clínico, os dados obtidos através dos prontuários foram tabulados utilizando planilha eletrônica, correlacionando os resultados dos exames já registrados nos prontuários, tomando como critério de definição de variáveis, o protocolo de tratamento para pacientes com doença de Gaucher estabelecido pelo Ministério da Saúde, onde a resposta clínica é definida sob os seguintes parâmetros: aumento dos níveis de hemoglobina, aumento da contagem de plaquetas, redução do tamanho do fígado, redução do tamanho do baço, redução da dor óssea, redução do sangramento, aumento da capacidade funcional, melhora da qualidade de vida e desaparecimento de todos os critérios de gravidade presentes no paciente.

RESULTADOS

Foram convidados a participar do estudo nove pacientes, destes, um foi excluído por apresentar mais de uma patologia no período estudado. Três pacientes são do gênero masculino e cinco são do gênero feminino, dentre as quais duas estão grávidas. A faixa etária dos pacientes varia de 2 a 27 anos. Três pacientes são de origem indígena, da etnia Galibi. Três pacientes residem na capital do Estado, Macapá, três no município de Oiapoque, um no município de Porto Grande, e um na comunidade do Ariri. Para manter o sigilo das identidades dos pacientes estes foram nomeados em ordem alfabética de “A” a “H”.



Os pacientes foram encaminhados ao hemocentro após internação ou consulta no Pronto Atendimento Infantil (PAI) ou Hospital de Clínicas Alberto Lima (HCAL) para investigar sintomas clínicos. A confirmação do diagnóstico definitivo se deu por meio da dosagem de betaglicosidase, com idade média de 6,25 anos. Outros exames solicitados foram quitotriosidase e mielograma. Há um caso de consanguinidade entre os pais. Quanto à idade ao diagnóstico 75% possuíam de 0 a 10 anos e 25% de 11 a 20 anos.

Após confirmação diagnóstica, a terapia de reposição enzimática foi iniciada com dose inicial 60 UI kg/dose de imiglucerase. Esta é realizada duas vezes ao mês com acompanhamento médico a cada três meses para anamnese e realização de exames para liberação das infusões, exceto, no caso dos pacientes indígenas onde a reposição é feita uma vez ao mês devido o difícil acesso ao HEMOAP.

Na amostra em estudo dois pacientes estão em tratamento há aproximadamente 17 anos, três a 11 anos, dois a 3 anos e um a 4 anos, destes, os pacientes que possuem maior tempo de tratamento apresentam comprometimento ósseo. Na Tabela 1 é possível observar as características basais dos pacientes em tratamento.

Neste estudo, foi possível identificar cinco pacientes homozigotos recessivos para as seguintes mutações: N370S (3), c.1309G>A (1) e p.V4371 (1). Levando em consideração a sintomatologia e os critérios de definição dos três tipos da doença, um paciente foi considerado como portador de DG tipo 3 por apresentar comprometimento neurológico e os demais portadores de DG tipo 1.

As características clínicas encontradas no quadro inicial dos pacientes, segundo relatado nos prontuários, foram hepatoesplenomegalia, anemia, pancitopenia, baixo peso e aumento do volume abdominal, retardo do crescimento, dor em membros inferiores e superiores, sangramento, febre, comprometimento neurológico. Em dois casos não foi possível aferir a existência de anemia, trombocitopenia e pancitopenia em virtude de inconsistências nos prontuários clínicos desses pacientes (Tabela 2). A tabela 3 sintetiza a evolução dos pacientes na primeira e última infusão.

Conforme os critérios de gravidade do Protocolo de Tratamento da Doença de Gaucher, 75% dos pacientes apresentaram esplenomegalia maciça, 37% apresentaram níveis de hemoglobina abaixo de 8 g/dL e 12% apresentou contagem de plaquetas entre 20.000 e 50.000 (mm³). Em relação ao paciente E não foi possível avaliar com precisão a existência de critérios de gravidade para doença no prontuário (Tabela 4).

Os níveis de quitotriosidase foram analisados em todos os pacientes em tratamento, variando de 31,0 a 5.676,0 nmol/h/mL (Tabela 5). A análise molecular no éxon 10 do gene *CHIT* revelou a presença dos seguintes genótipos para a duplicação de 24 pares: dois homozigotos recessivos e dois heterozigotos.



DISCUSSÃO

Constatou-se a predominância de casos de Doença de Gaucher em pacientes do gênero feminino (62%), dados que coincidem com outros estudos realizados em diferentes regiões do país, apesar de a mesma tratar-se de uma doença sem predileção por gênero^(1,6,9,16).

A doença pode evidenciar-se em qualquer fase da vida do indivíduo acometido. Nessa pesquisa observa-se o início das manifestações clínicas ainda na primeira década de vida (75%) com a idade média ao diagnóstico de 6,25 anos, semelhante ao estudo realizado por Breigeiron⁽⁵⁾. Entretanto, tais dados diferem da média geral estipulada pelo Registro de Gaucher⁽¹⁷⁾ e de dados encontrados em outros estudos onde a média de idade ao diagnóstico é de aproximadamente 20 anos^(9,11,12,16).

A apresentação fenotípica da doença demonstrou semelhança ao descrito na literatura^(6,7,15), constatando-se que a hepatomegalia e esplenomegalia estiveram presentes em todos os pacientes ao diagnóstico, enquanto a baixa nos níveis hematológicos esteve presente em 62,5% dos casos, em semelhança ao encontrado nos estados do Rio Grande Do Sul⁽⁵⁾, Santa Catarina⁽¹⁸⁾, Maranhão⁽¹⁹⁾ e Pará⁽¹⁾ em proporções similares ao deste estudo. Tal fato se deve a infiltração do substrato da enzima deficiente principalmente nos órgãos ricos em elementos do sistema monocítico fagocitário e da resposta inflamatória que resultam no aumento dos níveis viscerais e consequentemente sequestro esplênico e aumento da destruição dos glóbulos vermelhos induzindo os demais sintomas⁽²⁰⁾.

Foi constatado que mais da metade dos pacientes apresentaram baixo peso em relação à idade no diagnóstico⁽²¹⁾, este achado está relacionado à saciedade precoce em decorrência da hepaesplenomegalia, que é corrigida após início da terapia. Em um estudo que avalia o estado nutricional de pacientes com DG, este relata a importância do acompanhamento nutricional para garantir a composição corporal e crescimento ideal e adequado dos pacientes, sendo este um dos alvos terapêuticos do tratamento^(8,22).

Apancitopenia é um achado que ocorre em menor frequência que a anemia e trombocitopenia^(20,21), entretanto, nesta pesquisa foram observadas em uma frequência maior (em 5 pacientes, 62% dos casos) que a de outros estudos onde foi relatada em apenas 30% dos casos⁽¹⁸⁾.

Dentre as manifestações clínicas, sangramento foi a menos comum entre os pacientes da amostra. Uma paciente apresenta episódios recorrentes de sangramento devido à contagem de plaquetas estarem baixas mesmo em tratamento, e apresenta esplenomegalia ainda em curso. Admitindo o Registro de Gaucher como base, na maioria dos casos a trombocitopenia é descrita como leve ou moderada havendo tendência para sangramento nas condições citadas da paciente^(20,21).



O Ministério da Saúde tem desenvolvido protocolos de tratamento com a finalidade reduzir a morbimortalidade, as manifestações secundárias e gerar melhoria da qualidade de vida a essas pessoas^(15,20). Ao iniciar o tratamento, todos pacientes do estudo estavam em conformidade com os critérios para tratamento com terapia de reposição enzimática, estabelecidos pelo Protocolo de Tratamento da Doença de Gaucher, do Ministério da Saúde, sendo estes: diagnóstico clínico e bioquímico de DG, e pelo menos um dos critérios menores, tais como anemia, hepatomegalia ou esplenomegalia moderada, sangramento espontâneo ou decorrente de trauma mínimo⁽⁸⁾.

Quanto à dose para realização de TRE todos os pacientes iniciaram tratamento com 60UI Kg/dose e continuam com as mesmas dosagens atualmente, poucas variações foram observadas no decorrer do tratamento. Segundo o protocolo de tratamento da doença, uma dose inicial de 60 UI kg/dose somente é indicada em casos de doença grave, em qualquer faixa etária e reavaliada para ajustes. À vista disso, 75% dos pacientes apresentou pelo menos 1 critério de gravidade, 37,5% apresentou 2 critérios de gravidade e 12,5 % apresentou 3 critérios de gravidade. Em um dos casos não foi possível avaliar com precisão a existência de critérios de gravidade para doença⁽⁸⁾. A Tabela 5 demonstra a classificação de gravidade da doença estabelecida pelo protocolo de tratamento.

A continuidade entre as doses de início e manutenção para TRE pode ser explicada pela diferença entre resposta e evolução para cada paciente em tratamento e o aparecimento de complicações⁽¹²⁾. Considerando-se que o tratamento visa estabilizar a doença ao prevenir o aparecimento de novos achados clínicos e a piora daquelas já existentes, sem com isso trazer cura, a dose inicial é avaliada conforme resposta clínica do paciente e uma dose de manutenção é iniciada⁽⁸⁾.

Foi descrito que a perturbação na via metabólica da doença resulta em um estado pró-inflamatório que interfere na remodelação óssea e causa o comprometimento ósseo. A progressão e a gravidade variam, incidindo de forma mais agressiva em pacientes diagnosticados ainda na infância⁽³⁾. Mesmo com os pacientes em tratamento, com melhoras substanciais no quadro clínico, isto não impede o surgimento das manifestações ósseas em longo prazo, haja vista que o mecanismo pelo qual ocorrem ainda é incerto⁽²¹⁾. Nesse contexto, notou-se que os cinco pacientes em maior período de tratamento já apresentaram algum sintoma ósseo, tais como dor óssea, baixa densidade ósseas, osteonecrose, osteoporose e alargamento da região metadiáfisário.

A resposta terapêutica é determinada como melhora quando ocorre uma alteração igual ou superior a 20% dos parâmetros hematológicos enquanto para os parâmetros viscerais ocorre uma redução igual ou superior a 20%. A piora é determinada pela diminuição de mais de 20 % dos níveis de hemoglobina e contagem de plaquetas em comparação aos níveis basais e do aumento superior a 20% do tamanho ou volume do baço e fígado⁽⁸⁾. Nesse sentido, houve um notável efeito da terapia de



reposição enzimática em corrigir os parâmetros hematológicos e viscerais, identificando-se a correção dos níveis de hemoglobina e contagem de plaquetas proporcionalmente ao estipulado pelo protocolo no intervalo entre a primeira e a última infusão. Ocorreu a normalização destes parâmetros em quase todos os pacientes e estes se mantêm estáveis no decorrer do tratamento em coincidência ao elucidado em um estudo que analisa os efeitos do tratamento no diagnóstico e após dois, cinco e dez anos⁽⁵⁾.

A hepatomegalia alcançou resolução em quase todos os casos em dois anos de tratamento, em contrapartida, a resolução de esplenomegalia ocorreu em períodos diferentes do tratamento para cada paciente, até mesmo entre irmãos, e quatro pacientes obtiveram resolução em dois anos de tratamento, em três pacientes a resolução se deu em média com 6 anos de tratamento e uma ainda apresenta esplenomegalia. Em estudos que avaliaram eficácia da terapia a resolução das manifestações viscerais deu-se em dois anos de tratamento, enquanto a esplenomegalia foi o principal achado clínico^(1,9). De acordo com Thomas⁽²⁰⁾ esplenomegalia é vista em 90% dos casos com um aumento significativamente maior que o do fígado.

A avaliação de ferretina é recomendada para o monitoramento dos pacientes em tratamento, uma vez que esta pode antecipar a piora das manifestações viscerais e o aparecimento de complicações ósseas^(8,17). Foi observado que na maioria dos casos os níveis de ferritina estavam dentro da faixa de normalidade, porém, em dois casos estavam relativamente aumentados, indicando alguma alteração. No entanto, trata-se de pacientes que já apresentam complicações ósseas e em um caso esta apresenta notável baixa, o que pode estar relacionado à existência de esplenomegalia.

Em relação às gestantes, é restrito o conhecimento do tratamento em pacientes nessas circunstâncias. De acordo com relatos, este estado intensifica a anemia, trombocitopenia, hepatoesplenomegalia e traz um maior risco para doença óssea, por esse motivo, é recomendado que aquelas pacientes que já fazem uso da terapia de reposição não a interrompam, fazendo o ajuste de dose necessário sob supervisão médica e monitoramento durante todo o processo^(8,19). As pacientes gestantes deste estudo não demonstraram agravamentos significativos quanto a sua sintomatologia, nos níveis hematológicos observaram-se discreta redução. Ressalta-se que a paciente D está em sua terceira gravidez e que durante a primeira gravidez apresentou comportamento condizente com desvio de personalidade, pois tratava sua filha como irmã e não tinha noção de sua responsabilidade.

Estudos realizados em pacientes brasileiros com Doença de Gaucher ratificam o relatado na literatura de que os níveis plasmáticos da enzima quitotriosidase são até mil vezes mais elevados nesses enfermos^(11,13). Tylki-Szymańska⁽²⁵⁾ alega a efetividade da TRE em reduzir os níveis da enzima e com isso o seu uso como biomarcador. Em 5 dos 8 pacientes em estudo foi observado altos níveis de quitotriosidase como o previsto⁶, enquanto os demais apresentaram atividade enzimática dentro dos



valores de referência, os pacientes D e G apresentaram homozigose para o alelo dup24, sendo o paciente D indígena, o que esclarece a baixa atividade da quitotriosidase nestes pacientes, por outro lado o paciente C não foi possível realizar análise molecular. Sendo assim, se faz necessária avaliar as implicações no uso da quitotriosidase para monitoramento do tratamento e buscar novas alternativas.

Quanto à redução dos níveis enzimáticos e eficácia da TRE, existem dois fatores que podem interferir em uma análise correta, a primeira está relacionada à frequência dos pacientes em tratamento e a segunda ao tempo que o paciente está em tratamento considerando-se que há uma relação de proporção para os níveis de quitotriosidase. Quando a terapia é iniciada ocorre à diminuição da atividade da quitotriosidase e se esta for interrompida volta a aumentar⁽²⁶⁾. Desse modo, constatou-se que os pacientes em menor período de tratamento apresentam níveis ainda acentuados de atividade plasmática da enzima, ao passo que dois dos pacientes com maior período de tratamento também apresentam uma atividade acentuada em decorrência da irregularidade na frequência no tratamento.

CONCLUSÃO

Evidencia-se que os portadores da Doença de Gaucher no Estado do Amapá são predominantemente do gênero feminino, sendo as principais apresentações clínicas hepatoesplenomegalia e redução dos parâmetros hematológicos, ainda na primeira década de vida. Cinco dos oito pacientes possuem relações de consanguinidade (irmãos) demonstrando a necessidade de aconselhamento genético desta população.

Em relação à terapia de reposição enzimática, esta demonstrou enorme eficiência na melhora e manutenção dos parâmetros viscerais e hematológicos e, com isto, trouxe aos pacientes a possibilidade de gozar de uma considerável qualidade de vida. Todavia, não alcança tal eficiência em relação às complicações ósseas, mas cumpre seu papel em mantê-las estáveis, de acordo com o preconizado pelo protocolo de tratamento da doença.

Quanto aos parâmetros de diagnóstico e monitoramento do tratamento dos pacientes com DG, foi observado que todos os pacientes apresentaram deficiência acentuada da enzima beta-glicosidase e três pacientes apresentaram níveis de quitotriosidase dentro da faixa da normalidade. Porém, em dois deles foi observada a presença da duplicação de 24 pares de base, limitando o uso da quitotriosidase como marcador bioquímico de tratamento pelo menos para estes pacientes em questão. Apenas os pacientes indígenas apresentam os níveis de ferritina alterados após tratamento (C, D e E).

Com tais conhecimentos, considera-se importante a adoção de ações em saúde voltadas para um maior conhecimento da população acerca da doença estudada, visando o acesso ao diagnóstico e tratamento de pacientes ainda não diagnosticados, uma vez que quanto mais precoce o diagnóstico,



maiores são as chances de se alcançar uma efetividade terapêutica e evitar complicações irreversíveis. Este estudo aponta também para a possibilidade de ofertar aconselhamento genético para as famílias em risco.

REFERÊNCIAS

1. Souza AMA, Muniz TP, Brito RM. Study of enzyme replacement therapy for Gaucher Disease: comparative analysis of clinical and laboratory parameters at diagnosis and after two, Five and ten years of treatment. *Rev Bras Hematol Hemoter.*2014; 36(5): 345–350.
2. Matos AG, Gurgel VP, Gonçalves MC. Achados oftalmológicos na doença de Gaucher tipo III: caso clínico. *Rev Bras Oftalmol.*2017; 76(6): 316-8.
3. Mello RAF, Mello MBN, Pessanha LB. Ressonância magnética e o escore BMB na avaliação do acometimento ósseo em pacientes com doença de Gaucher. *Radiol Bras.* 2015; 48(4):216–19.
4. Oliveira CM, Rodrigues HTC, Rocha GB, *et al.* Complicações metabólicas e evolução advindos da doença da deficiência da glucosilceramida beta-glucosidase - uma revisão de literatura. *Rev Saúde em foco.* 2015; 2(1): 80-92.
5. Breigeiron MK, Moraes VC, Coelho JC. Sinais e sintomas na Doença de Gaucher: diagnósticos de enfermagem prioritários. *Rev Bras Enferm [Internet].* 2018; 71(1):113-20.
6. Freitas SEO, Ferreira TTC, Costa BGS. Qualidade de vida de pacientes com doença de gaucher. *Rev enferm UFPE online.* 2017;11(11):4282-8.
7. Mistry PK, Lopes G, Schiffmann R, *et al.* Gaucher disease: Progress and ongoing challenges. *Molecular Genetics and Metabolism.* 2017; 120(1): 8–21.
8. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Portaria Conjunta N° 4 de 22 de junho de 2017. Aprova o Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas da Doença de Gaucher. Brasília, 2017.
9. Sobreira EAP, Bruniera P. Avaliação de dois anos de tratamento da doença de Gaucher tipo 1 com terapia de reposição enzimática em pacientes do estado de São Paulo, Brasil. *Rev Bras Hematol Hemoter.* 2008; 30(3):193-201.
10. Souza MV, Krug BC, Picon PB, *et al.* Medicamentos de alto custo para doenças raras no Brasil: o exemplo das doenças lisossômicas. *Ciência & Saúde Coletiva.* 2010; 15(3):3443-54.
11. Sperb-Ludwig F, Heineck BL, Michelin-Tirelli K, *et al.* Chitotriosidase on treatment-naïve patients with Gaucher disease: A genotype vs phenotype study. *Clinica Chimica Acta.* 2019; 49(2): 1–6.
12. Gras-Colomer E, Martínez-Gomez MA, Climente-Martí M, *et al.* Relationship Between Glucocerebrosidase Activity and Clinical Response to Enzyme Replacement Therapy in Patients With Gaucher Disease Type I. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology.* 2018; 123(1): 65–71.



13. Garcia CS, Wajner A, Coelho JC. Características bioquímicas da quitotriosidase de indivíduos normais e pacientes com Doença de Gaucher com e sem tratamento [trabalho de conclusão de curso]. Porto Alegre: Departamento de Bioquímica, Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 2012.
14. Puri RD, Kapoor S, Kishnani OS, *et al.* Diagnosis and Management of Gaucher Disease in India – Consensus Guidelines of the Gaucher Disease Task Force of the Society for Indian Academy of Medical Genetics and the Indian Academy of Pediatrics. *Indian Pediatrics*. 2018; 55(1): 143-53.
15. Barbosa LA, Sá NM. Linhas de Cuidado e Itinerários Terapêuticos para Doenças Raras no Distrito Federal. *Tempus, actas de saúde colet.* 2016; 10(3): 69-80.
16. Brunelli Mv, Rabhansl MM, Delacre C, *et al.* Home-Based Care for Patients with Lysosomal Storage Disease: Experiences in Argentina. *Journal of Inborn Errors of Metabolism & Screening*. 2019; 7(1):1-8.
17. Stirnemann J, Belmatoug N, Camou F, *et al.* A Review of Gaucher Disease Pathophysiology, Clinical Presentation and Treatments. *Int. J. Mol. Sci.* 2017; 18(441): 1-30.
18. Ferreira JS, Ferreira VLPC, Ferreira DC. Estudo da doença de Gaucher em Santa Catarina. *Rev. bras. hematol. hemoter.* 2008; 30(1):5-11.
19. Oi SSP, Nicolau DI, Santos SKA. Gaucher disease in family from Maranhão. *Rev bras hematolhemoter.* 2014; 36(5): 373–8.
20. Thomas AS, Metha A, Hughes DA. Gaucher disease: haematological presentations and complications. *British Journal of Haematology*. 2014; 165(1):427–40.
21. Deegan PB, Cox TM. Imiglucerase in the treatment of Gaucher disease: a history and perspective. *Drug Design, Development and Therapy*. 2012; 6(1): 81–106.
22. Coradine AVP, Pianovski MAD. Evolução do estado nutricional na doença de Gaucher tipo I em tratamento com reposição enzimática - relato de dois casos. *Rev Bras Saúde Matern Infant*. 2015; 15(2): 231-4.
23. Brasil. Ministério da Saúde. Gabinete do Ministro. Portaria Nº 199, de 30 de janeiro de 2014 Institui a Política Nacional de Atenção Integral às Pessoas com Doenças Raras, aprova as Diretrizes para Atenção Integral às Pessoas com Doenças Raras no âmbito do Sistema Único de Saúde (SUS) e institui incentivos financeiros de custeio. Brasília, 2014.
24. Camelo Junior JS, Dragosky M, Drelichman G. Gaucher disease type 1 in the skeleton: review of latin américa. *Coluna/Columna*. 2016; 15(4): 317-324.
25. Tylki-Szymańska A, Szymańska-Rozek P, Hasiński P, *et al.* Plasma chitotriosidase activity versus plasma glucosylsphingosine in wide spectrum of Gaucher disease phenotypes – A statistical insight. *Molecular Genetics and Metabolism*. 2018; 123: 495–500.
26. Irún P, Alfonso P, Aznarez S, *et al.* Chitotriosidase variants in patients with Gaucher disease. Implications for diagnosis and therapeutic monitoring. *Clinical Biochemistry*. 2013; 46: 1804–1807.

TABELAS

Tabela 1 – Características basais dos pacientes com DG em tratamento no HEMOAP.

Paciente	Sexo	Genótipo	Peso (kg)	Idade ao diagnóstico	Idade atual	Beta-Glicosidase (> 2,2)	Dose/Kg (U / Kg)	Tempo em TER	TER
A	F	-	-	4	22	-	60	17	IMG
B	F	-	-	2	19	-	60	17	IMG
C	M	N370S	30	16	27	0,8	60	11	IMG
D	F	N370S	28	13	24	0,4	60	11	IMG
E	M	N370S	18	8	19	0,7	60	11	IMG
F	F	-	17	3	6	1,6	60	4	IMG
G	F	p.V4371	11,3	2	6	0	60	3	IMG
H	M	c.1309G>A	10,5	2	4	1,37	60	3	IMG

Fonte: Dados da pesquisa (2019).

Nota: Pacientes A e B foram diagnosticadas e acompanhadas pelo Grupo Brasileiro de Doença de Gaucher nos dois primeiros anos de tratamento, sendo considerados seus dados após início do acompanhamento no Hemoap.

Tabela 2 – Manifestações clínicas iniciais dos pacientes.

Variáveis	Nº	%
Anemia	5	62,5
Baixo peso	5	62,5
Dor em membros	2	25
Febre	1	12,5
Esplenomegalia	8	100
Hepatomegalia	8	100
Pancitopenia	5	62,5
Retardo do crescimento	3	37,5
Sangramento	1	12,5
Aumento do Volume abdominal	5	62,5

Fonte: Dados da pesquisa (2019).

Tabela 3 – Parâmetros bioquímicos, hematológicos e físicos dos pacientes em tratamento.

Paciente	Níveis de Hemoglobina			Contagem de Plaquetas			Níveis de Ferritina		Hepatomegalia		Esplenomegalia	
	História clínica	Primeira infusão	Última infusão	História clínica	Primeira infusão	Última infusão	Primeira infusão	Última infusão	Primeira infusão	Última infusão	Primeira infusão	Última infusão
A	-	11,7	12,3	-	133.000	179.000	-	41,4	Sim	0	Sim	0
B	-	12,1	12,9	-	140.000	234.000	-	40,5	Sim	0	Sim	0
C	9,3	9,7	12,7	101.000	69.000	140.000	-	496,3	Sim	0	Sim	0
D	9,0	8,9	10,5	79.000	152.000	160.000	-	363,6	Sim	0	Sim	0
E	10,8	10,4	11,8	168.000	301.000	200.000	-	141,4	Sim	0	Sim	0



F	8,1	8,8	10,7	60.000	140.000	203.000	107,9	134	Sim	0	Sim	0
G	8,7	5,1	10,5	142.000	30.000	42.000	3,9	8,8	Sim	0	Sim	Sim
H	5,0	5,9	10,8	140.000	90.000	259.000	151,4	84,7	Sim	0	Sim	0

Fonte: Dados da pesquisa (2019).

Nota: Pacientes A e B foram diagnosticadas e acompanhadas pelo Grupo Brasileiro de Doença de Gaucher nos dois primeiros anos de tratamento, sendo considerados seus dados após início do acompanhamento no Hemoap.

Os níveis de ferritina só começaram a ser aferidos a partir de 2015 quando foi estabelecido pelo protocolo de 2014.

Tabela 4 - Classificação da gravidade da DG segundo o PCDT do Ministério da Saúde.

Variáveis	Paciente												%	
	A	B	C	D	E	F	G	H	A	B	C	D		
Sintomas gerais incapacitantes	N	S	N	N	N	N	N	N	N	N	S	N	N	0
Hepatomegalia maciça	N	S	N	N	N	N	N	N	N	N	S	N	N	0
Esplenomegalia maciça	S	S	S	S	N	N	S	S	S	S	S	S	S	75
Plaquetas iguais ou abaixo de 20.000/mm ³	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	0
Plaquetas entre 20.000 e 50.000 (mm ³)	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	12,5
Níveis de hemoglobina abaixo de 8g/dl	N	N	N	N	N	N	S	S	S	N	N	N	N	37,5
Necessidade de transfusão sanguínea	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	0
Acometimento hepático	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	0

Fonte: Dados da pesquisa.

N = não apresenta; S = apresenta sintoma clínico.

Tabela 5 – Dosagem enzimática de quitotriosidase e genótipo do gene *CHIT* em pacientes com DG.

Paciente	Quitotriosidase	Genótipo
A	1.079,0	Homozigoto dominante
B	635,0	Homozigoto dominante
C	31,0	SAM
D	22,0	dup24pb/dup24pb
E	1.351,0	SAM
F	5.676,0	dup24pb/ -
G	32,0	dup24pb/dup24pb
H	3.303,0	dup24pb/ -

Fonte: Dados da pesquisa (2019).

SAM: Sem análise molecular do exon 10 do gene *CHIT*. Atividade de quitotriosidase expressa em nmol/h/m.