

EFETOS DA INTERRUÇÃO DA TERAPIA DE REPOSIÇÃO ENZIMÁTICA EM CAMUNDONGOS COM MUCOPOLISSACARIDOSE TIPO I (MPS I)



Schneider A¹, Pasqualim G², Mayer F¹, Martinelli B¹, Carvalho T², Tavares A⁴, Baldo G⁴, Giugliani R³, Matte U².

¹Centro de Terapia Gênica, Centro de Pesquisa Experimental/HCPA, Porto Alegre, Brasil

²Programa de Pós Graduação em Genética e Biologia Molecular/UFRGS, Porto Alegre, Brasil

³Departamento de Genética/UFRGS, Serviço de Genética Médica/HCPA, Porto Alegre, Brasil

⁴Departamento de Fisiologia/UFRGS, Porto Alegre, Brasil

akschneider@hcpa.ufrgs.br



INTRODUÇÃO

A mucopolissacaridose tipo I (MPS I) é uma doença lisossômica causada por mutações que afetam o gene da alfa-L-iduronidase (IDUA). Nesta, a enzima cuja função é de hidrolisar os glicosaminoglicanos (GAGs) heparan e dermatan sulfato tem sua atividade reduzida ou ausente. Como tratamento alternativo ao transplante de células tronco hematopoiéticas, a terapia de reposição enzimática (TRE) para MPS I foi aprovada há mais de uma década. Embora seja eficiente na correção de alguns aspectos da doença, a obtenção da enzima pelos pacientes através do sistema público de saúde torna difícil e muitas vezes leva à interrupção do tratamento.

OBJETIVO

O objetivo deste trabalho foi verificar os efeitos da interrupção de tratamento em camundongos nocautes para o gene *Idua* (camundongos MPS I).

MÉTODOS

Foram usados camundongos C57BL6 divididos em 4 grupos experimentais (n=4-11/grupo) (Figura 1). O desenho experimental do tratamento dos animais está demonstrado na figura 2. Amostras de urina dos animais controles foram coletadas ao final dos seis meses. Nestes, foram avaliados os níveis de GAGs urinário e tecidual, a função cardíaca, o comportamento, a distensão da aorta e a formação de anticorpos. Todos os animais foram eutanasiados aos 6 meses de idade. As análises estatísticas foram realizadas pelos testes ANOVA e *Tukey post hoc* e um valor de $p < 0,05$ foi considerado significativo.

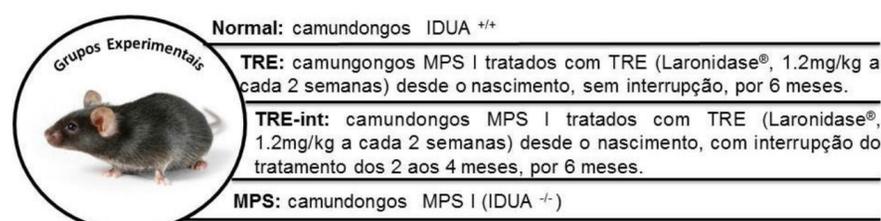


Figura 1: Grupos experimentais.

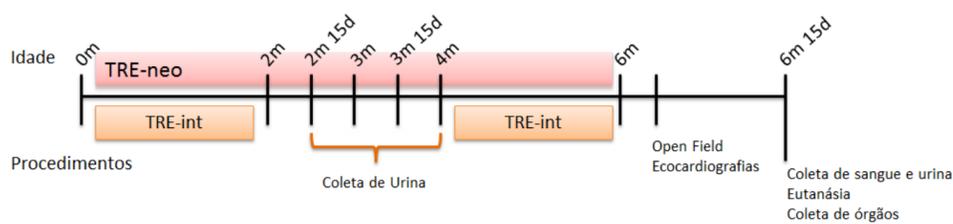


Figura 2: Desenho experimental dos animais submetidos ao tratamento de reposição enzimática (TRE).

RESULTADOS

Os níveis de GAGs urinários foram significativamente reduzidos em ambos os grupos tratados, se mantendo baixos mesmo durante o período de interrupção de tratamento. A análise histológica por H-E demonstrou normalização no conteúdo de GAG no fígado, coração e pulmão. Aos 6 meses, os valores de fração de ejeção de ambos os grupos de animais tratados eram semelhantes aos animais normais, o mesmo observado nos valores de fração de encurtamento. O comportamento no teste de campo aberto também foi normalizado nos grupos tratados. Já as paredes da aorta estavam significativamente mais distendidas no grupo TRE-int. Curiosamente, a interrupção do tratamento não levou à formação de anticorpos após a sua reintrodução, sugerindo que a TRE neonatal induziu uma tolerância imunológica que foi mantida.

Distensão da Aorta

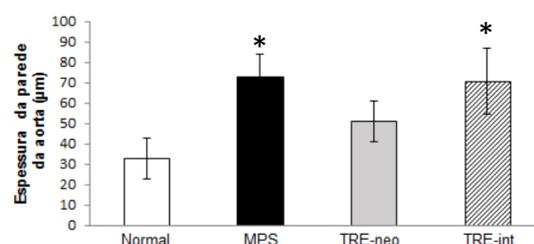


Figura 3: Distensão da parede da Aorta em micrometros. *: $p < 0,05$ comparado com o grupo Normal.

Anticorpos anti-Laronidase

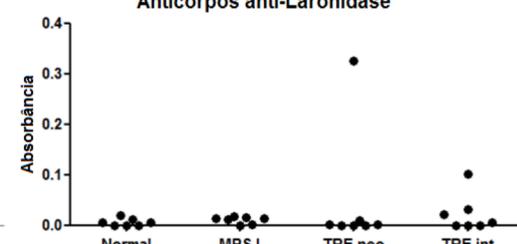


Figura 4: Formação de anticorpos. Anticorpos anti-Laronidase no plasma em camundongos nos 6 meses. Cada ponto representa o resultado individual de cada animal.

Open field

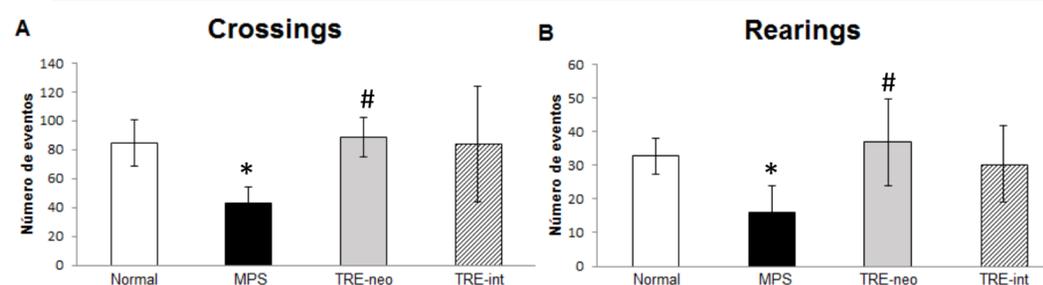


Figura 5: Teste de campo aberto (Open field) usado para mensurar a atividade locomotora (*crossings*) e exploratória (*rearing*). *: $p < 0,05$ comparado com o grupo Normal. #: $p < 0,05$ comparado com o grupo MPS.

Tabela 1: Parâmetros do miocárdio analisados por ecocardiografias. Legenda: LVEF – fração de ejeção do ventrículo esquerdo; LVSF – fração de encurtamento do ventrículo esquerdo; FAC – fractional area change; Ta/Te – tempo de aceleração/ tempo de ejeção; DD – diâmetro diastólico do ventrículo esquerdo. *: $p < 0,05$ comparado com o grupo Normal. #: $p < 0,05$ comparado com o grupo MPS.

Parâmetros	Normal	MPS	TRE	TRE-int
LVSF (%)	36,71 ± 7,41	27,09 ± 6,05*	40,50 ± 7,99#	35,84 ± 7,32
LVEF (%)	60,23 ± 8,66	49,57 ± 12,19*	58,55 ± 6,97	59,61 ± 15,91
FAC (%)	51,52 ± 10,41	42,52 ± 11,05*	53,324 ± 7,10	44,3 ± 10,2
Ta/Te	0,246 ± 0,05	0,195 ± 0,05*	0,243 ± 0,04#	0,214 ± 0,06*
DD (cm)	0,392 ± 0,05	0,414 ± 0,08	0,374 ± 0,03	0,365 ± 0,04

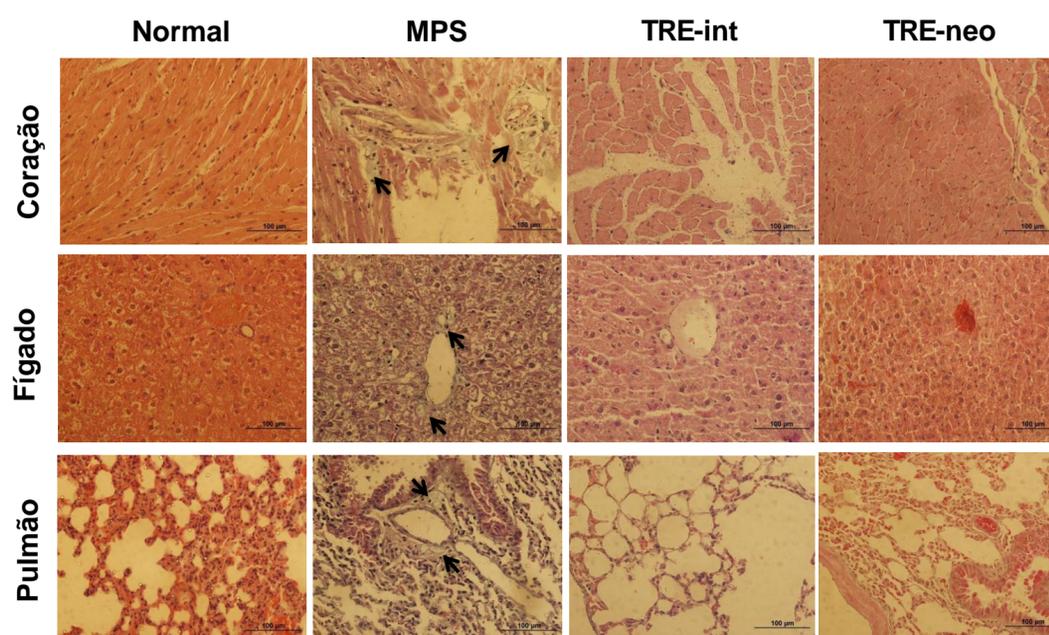


Figura 7: Análise histológica de coração, fígado e pulmão aos 6 meses. O acúmulo de GAGs foi analisado em camundongos normais, MPSI e tratados usando a técnica de H-E/Alcian blue. Setas: depósitos de GAGs.

CONCLUSÃO

Logo, sugerimos que a interrupção do tratamento pode ter efeitos deletérios sobre os órgãos que, durante o curso da doença, sofrem mudanças estruturais, como, por exemplo, as aortas. Além disso, os níveis de GAGs urinários podem não refletir com precisão o estado da doença, uma vez que estes não se apresentaram alterados após algumas semanas de interrupção, quando efeitos deletérios já eram encontrados em alguns órgãos.