

Doenças lisossomais de sobrecarga em Portugal: aspetos bioquímicos, genéticos e epidemiológicos

Lysosomal storage diseases in Portugal: biochemical, genetic, and epidemiological aspects

Paulo Gaspar, Raquel Neiva, Lisbeth Silva, Laura Vilarinho

paulo.gaspar@insa.min-saude.pt

Unidade de Rastreio Neonatal, Metabolismo e Genética. Departamento de Genética Humana, Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, Porto, Portugal

_Resumo

As doenças de sobrecarga lisossomal (DLSs) são um grupo de doenças metabólicas hereditárias caracterizado pela acumulação de substratos no interior do lisossoma. Em Portugal, a prevalência descrita das DLS é de 25 por 100 000 nados vivos, notavelmente elevada, quando comparada com outros países. Este trabalho tem por objetivo fornecer uma visão global dos aspetos bioquímicos, genéticos e epidemiológicos das DLSs em Portugal, destacando novas metodologias e os potenciais avanços neste domínio.

A prevalência elevada de certas patologias, assim como a existência de mutações frequentes, sugerem a necessidade de protocolos de alerta, de novos métodos de diagnóstico e monitorização eficazes, tais como o uso de novos biomarcadores. As direções futuras da investigação incluem uma pesquisa mais aprofundada sobre a base genética das DLS em Portugal, estudos funcionais e o desenvolvimento de terapias mais eficazes e personalizadas.

_Abstract

Lysosomal Storage Disorders (LSDs) are a group of inherited metabolic diseases characterized by the accumulation of substrates within lysosomes. In Portugal, the described prevalence of LSDs is 25 per 100,000 live births, which is notably high compared to other countries.

This work aims to provide an overview of the biochemical, genetic, and epidemiological aspects of LSDs in Portugal, highlighting new methodologies and potential advances in this field.

The elevated prevalence of certain diseases, along with the existence of frequent mutations, suggests a need for awareness protocols and new, effective diagnostic and monitoring methods, such as the use of novel biomarkers. Future research directions include a deeper investigation into the genetic basis of LSDs in Portugal, functional studies, and the development of more effective and personalized therapies.

_Introdução

As Doenças Lisossomais de Sobrecarga (DLSs) são um grupo de cerca de 50 doenças, caracterizadas por deficiências de enzimas lisossomais, transportadores de membrana ou outras proteínas, levando a uma acumulação de substratos específicos dentro dos lisossomas (1). A acumulação progres-

siva destes compostos resulta numa disfunção generalizada das células e dos tecidos, provocando uma ampla gama de manifestações clínicas, incluindo organomegalias, neurodegeneração, alterações esqueléticas e mortalidade precoce (2). As DLSs representam um desafio significativo para a saúde pública, devido às manifestações clínicas variadas resultantes da heterogeneidade genética e às diferentes formas de evolução (3). Em 1980, surgiu em Portugal, o Instituto de Genética Médica Doutor Jacinto Magalhães (IGMJM) dedicado ao estudo das Doenças Hereditárias do Metabolismo, onde estava integrada a única unidade dedicada ao estudo e diagnóstico das DLSs, em Portugal. Assim, o estudo singular da prevalência de DLS em Portugal, remonta a 2004, tendo sido relatada uma prevalência de 25 por 100 000 nados-vivos no norte de Portugal, entre 1982 e 2001 (4). Em 2005, surgiu a Unidade do Lisossoma e do Peroxissoma (UniLipe) dedicada, essencialmente, à investigação das DLSs. Posteriormente, a Unidade de I&D e a Unidade de Rastreio Neonatal, Metabolismo e Genética (URN), ambas fazendo parte do Departamento de Genética Humana do Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge (DGH-INSA), tornaram-se um dos principais centros de referência no estudo e investigação deste grupo de patologias. Consequentemente, as bases genéticas das DLSs e a frequência das respetivas mutações observadas na população portuguesa têm sido extensivamente estudadas, melhorando a compreensão das manifestações clínicas, assim como da história natural destas patologias (5-7). Apesar destes avanços, persistem desafios significativos no diagnóstico atempado e tratamento das DLSs, exigindo uma investigação contínua e o desenvolvimento de abordagens inovadoras.

_Objetivo

Este trabalho tem por objetivo fornecer uma visão global dos aspetos bioquímicos, genéticos e epidemiológicos das doenças lisossomais de sobrecarga em Portugal, destacando novas metodologias e os potenciais avanços neste domínio.

_Abordagem bioquímica

A implementação de novos ensaios para determinação de atividade enzimática, utilizando amostras de sangue seco (DBS), simplificou a colheita, o transporte, a análise e o armazenamento das amostras. Esta metodologia simples e rentável, permitiu o estudo de populações de risco, análise de grupos de patologias em simultâneo, exigindo apenas um pequeno volume de amostra de sangue (8). Assim, em muitos casos, tornou-se possível o estabelecimento de um diagnóstico num curto espaço de tempo. A utilização de biomarcadores ganhou importância fulcral no diagnóstico e monitorização de DLSs com tratamento específico. Os

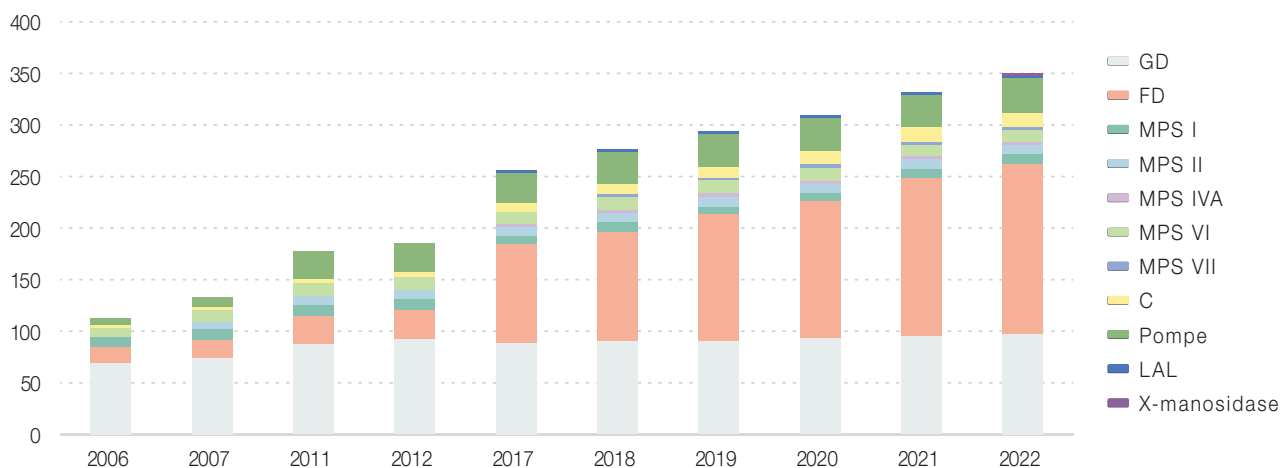
biomarcadores, tais como LisoGb3 (globotriaosilesfingosina), LisoGl1 (glucosilesfingosina), LisoSM (liso-esfingomiéline), e LisoSM-509 (liso-esfingomiéline-509), foram implementados na URN, de modo a permitir um diagnóstico atempado, possibilitar uma monitorização da eficácia do tratamento e compreender a progressão da doença (tabela 1) (9). O facto de se poder analisar estes compostos em simultâneo, permite o estudo de doenças com sobreposição fenotípica e a realização de diagnósticos diferenciais (9).

A deteção de excreção anómala de oligossacarídeos assim como a análise de fragmentos específicos de glicosaminoglicanos, em amostras de urina, são importantes metodologias para o diagnóstico bioquímico de, respetivamente, oligossacaridoses e mucopolissacaridoses. Assim, ao longo dos anos tem-se assistido a um crescente número de diagnósticos de doentes com patologia lisossomal e, conseqüentemente, do número de doentes em tratamento, permitindo assim diminuir/retardar os efeitos mais graves da doença (gráfico 1).

Tabela 1: Biomarcadores para as diferentes Doenças Lisossomais de Sobrecarga.

Doença	Gaucher	Fabry	Niemann-Pick A/B	Niemann-Pick C	Krabbe	Leucodistrofia Metacromática	Gangliosidoses
Biomarcador	LisoGl1	LisoGb3	LisoSM	LisoSM-509	Psicosina	Liso Sulfatídeos	Liso Ganglosídeos

Gráfico 1: Número de doentes em tratamento, por ano, por patologia.



GD – Doença de Gaucher; FD – Doença de Fabry; MPS – Mucopolissacaridose; C – Niemann-Pick, tipo C; Pompe – Doença de Pompe; LAL – Deficiência em Lipase ácida; X-manosidase – Alfa-manosidose

Fonte: Relatórios de atividades da Comissão Coordenadora do Tratamento das Doenças Lisossomais de Sobrecarga (CCTDLS) 2006-2022

_Abordagem bioquímica

A população portuguesa apresenta um amplo espectro de mutações nas DLSS, no entanto, existem certas patologias que apresentam mutações mais frequentes (**tabela 2**) (4).

Para a doença de Fabry, o estudo de populações de risco, conduziu à identificação de vários doentes com a mutação p.Phe113Leu, devido ao efeito fundador (8). Estes resultados enfatizam a importância da georeferenciação, para compreensão da epidemiologia e diversidade genética destas doenças. Atualmente, com recurso à Sequenciação de Nova Geração (NGS), a identificação da base molecular responsável pelas doenças tornou-se mais acessível pois, agrupando doenças com base no fenótipo apresentado, é possível desenhar painéis com diferentes números de genes, ou realizar o estudo de exomas clínicos por NGS (10). Estas novas abordagens, permitiram a identificação da patologia de sobrecarga lisossomal, em doentes que foram rececionados no laboratório com suspeita de outra Doença Hereditária do Metabolismo. O recurso a NGS, permitiu ainda a identificação de novas variantes, em que o estabelecimento de uma correlação com o fenótipo clínico e a apresentação bioquímica, são essenciais para a compreensão destas doenças multissistémicas e para o desenvolvimento de abordagens terapêuticas personalizadas.

_Epidemiologia

A prevalência ao nascimento de 29 DLSS diferentes na população do norte de Portugal é de 25 por 100.000 nados-vivos, sendo o dobro da prevalência descrita nas populações holandesa (14 por 100.000 nados-vivos) e australiana (12,9 por 100.000) (4). A população portuguesa apresentava, igualmente, maior prevalência de gangliosidoses GM2, Niemann-Pick tipo C e Leucodistrofia Metacromática, Mucopolídeses II/III e menor prevalência das doenças de Pompe e Fabry em comparação com as populações holandesa e australiana (4). Entre 1982 e 2001, estavam identificados cerca de 353 doentes com DLSS (4). Atualmente, devido à aplicação de métodos mais sensíveis e específicos, assim como um melhor conhecimento da população portuguesa, a doença de Fabry e a doença de Gaucher, são das doenças mais prevalentes em Portugal, a par da Gangliosidose GM2, variante B1. Para alguns destes casos, foram reconhecidos fenómenos de “efeito fundador”, com uma origem ancestral comum, cujo background genético se foi transmitindo através da descendência, criando focos locais de incidência, em particular, daquela doença (8). No caso da doença de Fabry, por exemplo, foi até possível identificar o primeiro casal portador da doença: as origens da patologia remontam a 1650, a uma freguesia de Guimarães com 1500 habitantes. Só em Guimarães existem mais de 300 casos identificados (8).

Tabela 2: ⚡ Biomarcadores para as diferentes Doenças Lisossomais de Sobrecarga.

Doença (Gene)	Mutações frequentes na população portuguesa
Gangliosidose GM2 – variante B1 (HEXA)	p.Arg178His – muito frequente em casos juvenis
Doença de Gaucher (GBA)	p.Asn370Ser – alelo mais frequente (60% dos alelos identificados) p.Leu444Pro, p.Gly377Ser, p.Asn396Tht, 1066+1G>A outras mutações frequentes na população portuguesa
Leucodistrofia Metacromática (MLD; ARSA)	IVS2+1 G→A alelo mais frequente p.Cys300Phe, p.Pro425Thr, 1190_1191insC, g.2408delC outras mutações frequentes na população portuguesa
Niemann-Pick disease type C (NPC1 / NPC2)	p.Ala1035Val no NPC1
Doença de Fabry (GLA)	p.Phe113Leu

Abordagem terapêutica

As intervenções terapêuticas para as DLSs avançaram significativamente nos últimos 25 anos. Foram desenvolvidas várias abordagens, incluindo a terapia de substituição enzimática (ERT), a terapia de redução de substrato, o transplante de células estaminais hematopoéticas, a terapia com chaperones farmacológicos e a terapia génica (11-13). A ERT tornou-se a terapia de eleição para várias DLSs, embora exija administrações múltiplas e dispendiosas e tenha eficácia limitada para algumas manifestações, nomeadamente as neurológicas, uma vez que as enzimas administradas, não atravessam a barreira hemato encefálica (12).

Nos últimos anos, têm-se registado um aumento no número de doentes em tratamento, devido à disponibilização de novas terapias, assim como a um melhor conhecimento da história natural destas doenças. Recentemente, tem-se assistido a avanços na terapia génica para as DLSs, com estudos pré-clínicos e clínicos a demonstrarem eficácia. Esta abordagem é de particular interesse na correção dos sintomas neurológicos, que não era conseguido com as demais terapias (12). No entanto, apesar destes avanços, muitas DLSs permanecem intratáveis ou inadequadamente tratadas, destacando a necessidade de uma investigação contínua e desenvolvimento de novas abordagens terapêuticas.

Figura 1: Folhetos informativos do projeto LINCE (A) e do projeto FIND (B).



www.spdm.org.pt/recursos/recursos-para-profissionais/projeto-lince-diagnóstico-rápido/



www.projetofind.pt

Investigação e as DLSs

A translação da investigação para a área de prestação de serviços tem sido gradual, havendo uma sediação histórica destas competências na região Norte, IGMJM, UniLiPE e atualmente na URN (DGH-INSA) estendendo a sua ação de forma a abranger todo o país. As implicações dos nossos estudos estendem-se a informar as decisões das políticas de saúde, melhorar a precisão do diagnóstico e orientar o desenvolvimento de novas abordagens terapêuticas. Os programas de sensibilização para populações pediátricas de risco, permitem uma maior consciencialização para certos grupos de patologia, disponibilizando um diagnóstico atempado, uma intervenção precoce e uma melhor compreensão da história natural de certas patologias (14). No caso do projeto LINCE, que visa o estudo de um grupo de doenças lisossomais, as Ceroides Lipofuscinoses Neurais, permitiu a identificação de um caso de NCL tipo I, enquanto o projeto dedicado às mucopolissacaridoses, o projeto FIND, já permitiu o estudo de 14 doentes, que beneficiaram de uma intervenção atempada (figura 1) (14). O modelo Zebrafish surgiu como um modelo vertebrado valioso para estudar as DLSs, assim como outras Doenças Hereditárias do Metabolismo, permitindo uma melhor compreensão da patogénese da doença aliados a diferentes modelos para realização de estudos funcionais e esclarecimento da patogénese das *Variants of Uncertain Significance* (VUS) (15). As terapêuticas baseadas em oligonucleótidos são uma área promissora, com um amplo leque de aplicação, nomeadamente em doenças neurológicas (16).

_Conclusões

As doenças lisossomais de sobrecarga em Portugal são caracterizadas por um perfil epidemiológico e genético distinto, com certas doenças e mutações sendo mais prevalentes devido a efeito fundador e contextos genéticos regionais.

Os avanços na investigação bioquímica, genética e clínica, juntamente com a implementação de estratégias inovadoras de diagnóstico e tratamento, continuam a melhorar a compreensão e o “gestão” desses distúrbios complexos.

A determinação de atividade enzimática residual e os perfis de biomarcadores, associados à caracterização molecular, são importantes para um diagnóstico preciso e para a compreensão da fisiopatologia das DLSS, fornecendo dados importantes à Comissão Coordenadora do Tratamento das Doenças Lisossomais de Sobrecarga (CCTDLS), sediada no INSA, nas suas decisões.

É crucial prosseguir a investigação sobre os aspetos bioquímicos e genéticos destas doenças, a fim de melhorar as estratégias de diagnóstico e as abordagens, progressivamente, mais personalizadas.

- (8) Azevedo O, Gal A, Faria R, et al. Founder effect of Fabry disease due to p.F113L mutation: Clinical profile of a late-onset phenotype. *Mol Genet Metab.* 2020 Feb;129(2):150-60. Epub 2019 Jul 24. <https://doi.org/10.1016/j.ymgme.2019.07.012>
- (9) Gaspar P, Rocha H, Neiva R, et al. Biomarcadores nas doenças lisossomais de sobrecarga: o que são e o que nos dizem? *Boletim Epidemiológico Observações.* 2020 jan-abr;9(26):59-62. <http://hdl.handle.net/10400.18/7089>
- (10) Encarnação M, Coutinho MF, Silva L, et al. Assessing Lysosomal Disorders in the NGS Era: Identification of Novel Rare Variants. *Int J Mol Sci.* 2020 Sep 1;21(17):6355. <https://doi.org/10.3390/ijms21176355>
- (11) Ferla R, Claudiani P, Cotugno G, et al. Similar therapeutic efficacy between a single administration of gene therapy and multiple administrations of recombinant enzyme in a mouse model of lysosomal storage disease. *Hum Gene Ther.* 2014 Jul;25(7):609-18. Epub 2014 Apr 11. <https://doi.org/10.1089/hum.2013.213>
- (12) Kobayashi H. Gene therapy for lysosomal storage diseases. *Brain Dev.* 2025 Aug 8;47(5):104399. <https://doi.org/10.1016/j.braindev.2025.104399>
- (13) Mohamed FE, Al-Gazali L, Al-Jasmi F, et al. Pharmaceutical Chaperones and Proteostasis Regulators in the Therapy of Lysosomal Storage Disorders: Current Perspective and Future Promises. *Front Pharmacol.* 2017 Jul 7;8:448. <https://doi.org/10.3389/fphar.2017.0044>
- (14) Gaspar P, Neiva R, Silva L, et al. Mucopolissacaridoses em população pediátrica: resultados de uma abordagem precoce no âmbito do projeto FIND. *Boletim Epidemiológico Observações.* 2024 mai-ago;13(36):33-38. <http://hdl.handle.net/10400.18/9219>
- (15) Carvalho S, Moreira L, Santos JI, et al. Help Comes from Unexpected Places: How a Tiny Fairy and a Tropical Fish may help us Model Mucopolysaccharidoses. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets.* 2023 Nov 2. (Epub ahead of print). <https://doi.org/10.2174/0118715303277318231024055425>
- (16) Santos JI, Gonçalves M, Matos L, et al. Splicing Modulation as a Promising Therapeutic Strategy for Lysosomal Storage Disorders: The Mucopolysaccharidoses Example. *Life (Basel).* 2022 Apr 19;12(5):608. <https://doi.org/10.3390/life12050608>

Referências bibliográficas:

- (1) Neufeld EF. Lysosomal storage diseases. *Annu Rev Biochem.* 1991;60:257-80. <https://doi.org/10.1146/annurev.bi.60.070191.001353>
- (2) Futerman AH, van Meer G. The cell biology of lysosomal storage disorders. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2004 Jul;5(7):554-65. <https://doi.org/10.1038/nrm1423>
- (3) Cimaz R, Vijay S, Haase C, et al. Attenuated type I mucopolysaccharidosis in the differential diagnosis of juvenile idiopathic arthritis: a series of 13 patients with Scheie syndrome. *Clin Exp Rheumatol.* 2006 Mar-Apr;24(2):196-202. <https://www.clinexprheumatol.org/article.asp?a=2821>
- (4) Pinto R, Caseiro C, Lemos M, et al. Prevalence of lysosomal storage diseases in Portugal. *Eur J Hum Genet.* 2004 Feb;12(2):87-92. <https://doi.org/10.1038/sj.ejhg.5201044>
- (5) Duarte AJ, Ribeiro D, Oliveira P, et al. Mutation Frequency of Three Neurodegenerative Lysosomal Storage Diseases: From Screening to Treatment? *Arch Med Res.* 2017 Apr;48(3):263-69. <https://doi.org/10.1016/j.arcmed.2017.04.001>
- (6) Mangas M, Nogueira C, Prata MJ, et al. Molecular analysis of mucopolysaccharidosis type IIIB in Portugal: evidence of a single origin for a common mutation (R234C) in the Iberian Peninsula. *Clin Genet.* 2008 Mar;73(3):251-6. Epub 2008 Jan 23. <https://doi.org/10.1111/j.1399-0004.2007.00951.x>
- (7) Giraldo P, Alfonso P, Irún P, et al. Mapping the genetic and clinical characteristics of Gaucher disease in the Iberian Peninsula. *Orphanet J Rare Dis.* 2012 Mar 19;7:17. <https://doi.org/10.1186/1750-1172-7-17>