

Gangliosidose GM1, Tipo I, Infantil – A Propósito de 8 Casos

AGUINALDO CABRAL *, TERESA TASSO *, FILOMENA EUSÉBIO *, ANA GASPAR *, JOANNE CHARLTOM*,
HENRIQUETA MARQUES DOS SANTOS **, J. F. MOURA-NUNES ***

* Unidade de Doenças Metabólicas. Serviço de Pediatria. HSM – Lisboa

** Centro de Patogénese Molecular. Faculdade de Farmácia. UL

*** Laboratório de Microscopia Electrónica. IPO – Lisboa

Resumo

São apresentados 8 doentes com Gangliosidose GM1 Tipo I: 3 do sexo masculino, 5 do feminino; cinco são de etnia cigana nascidos de casamentos consanguíneos.

O diagnóstico ocorreu entre os 3-13 meses de idade (média: 5,6).

Observou-se alta incidência de edema neonatal (7/8), anasarca (5/8), ascite (1/8) e predominância étnica não descrita.

A dismorfia facial e esquelética, a organomegália, a hipotonia inicial e hipoactividade, as dificuldades alimentares e as infecções respiratórias recorrentes apontavam para doença lisossomial.

A presença de linfócitos vacuolizados, de oligossacaridúria com padrão cromatográfico típico, os aspectos radiológicos sugestivos, a mancha-cereja macular, a ultraestrutura da pele e, fundamentalmente, a marcada deficiência da β -galactosidase nos leucócitos (8/8) e fibroblastos (1/8), confirmaram o diagnóstico.

Comprovou-se a morte de 4 doentes, antes dos 2 anos de idade, por pneumonia; presume-se o falecimento dos restantes.

Doença degenerativa cerebral sem tratamento específico. Importa fazer diagnóstico precoce e aconselhamento genético, tendo especial atenção com as populações com elevada consanguinidade, como a etnia cigana.

Palavras-Chave: Edema neonatal, dismorfia, displasia óssea generalizada, organomegália, mancha-cereja macular, doença neurodegenerativa, deficiência de β -galactosidase.

Summary

Infantile, Type I, GM1 Gangliosidosis – 8 Case Reports

We present 8 patients with GM1 type I gangliosidosis: 3 males, 5 females; five of them were of ethnic gypsy origin born from consanguineous marriages. Diagnosis was made between 3-13 mo. (average: 5.6).

A high incidence of neonatal edema (7/8), anasarca (5/8), ascites (1/8) was observed. Such ethnic predominance has not been heretofore described.

Facial and skeletal dysmorphism, hepatosplenomegaly, initial hypotonia and hypoactivity, alimentary difficulties and recurrent respiratory infections indicated lysosomal disease.

Laboratory studies and examinations revealed vacuolated lymphocytes, typical chromatographic pattern of oligosaccharides in the urine, bone dysplasia, a macular cherry-red-spots, ultrastructural abnormalities of the skin and, most important, a marked deficiency of β -galactosidase in leukocytes (8/8) and fibroblasts (1/8), confirming the diagnosis.

Four patients were certified dead as a result of pneumonia before 2 years of age; the remaining have been presumed dead.

Such degenerative cerebral disease remains without specific treatment. It is important to make an early diagnosis and offer genetic counselling, paying special attention to populations with high consanguinity i.e. ethnic gypsies.

Key-Words: Neonatal edema, dysmorphism, generalized skeletal dysplasia, visceromegaly, macular cherry-red-spots, neurodegenerative disease, β -galactosidase deficiency.

I – Introdução

A deficiência hereditária da β -galactosidase lisossomial expressa-se clinicamente nos humanos por duas entidades: a Gangliosidose GM1 e o Morquio tipo B, que são mutações alélicas do mesmo gene, com diferentes expressões fenotípicas ^(1, 2).

Correspondência: Aguinaldo Cabral
Unidade de Doenças Metabólicas
Serviço de Pediatria
H. S. M. Lisboa

Aceite para publicação em 03/09/2001.
Entregue para publicação em 20/07/2001.

A β -galactosidase ácida lisossomal (EC 3.2.1.23) tem actividade catalítica sobre os glucoconjugados que possuem uma ligação terminal de β -galactose como os gangliósidos GM1 e seus derivados asialo GA1, oligossacáridos derivados de glicoproteínas e o sulfato de queratano⁽¹⁻⁶⁾. Os distintos fenótipos resultam de diferentes mutações que afectam, de modo diverso, a actividade catalítica da enzima^(1-3, 7, 8).

Os gangliósidos são componentes normais das membranas celulares plasmáticas, membranas neuronais, terminações nervosas e dendrites; o gangliósido GM1 é o gangliósido major no cérebro dos vertebrados, indispensável à neurotransmissão sináptica⁽¹⁾.

A Gangliosidose GM1 representa, por seu lado, um grupo heterogéneo de fenótipos clínicos, descrevendo-se uma forma precoce, infantil (Tipo 1), uma forma infantil tardia/juvenil (Tipo 2) e uma crónica, do adulto (Tipo 3)^(1, 2).

A Gangliosidose GM1 Infantil, Tipo 1 ou Generalizada (McKusick 230500) é o fenotipo mais comum⁽¹⁻³⁾. Trata-se de uma patologia degenerativa cerebral, de início precoce, que combina aspectos clínicos das mucopolissacaridoses como a disostose multiplex e a organomegália, com aspectos sugestivos das neurolipidoses como a presença de mancha-cereja macular (cherry-red spot)⁽¹⁻³⁾.

Neste fenotipo, as alterações estão presentes desde o nascimento ou ocorrem pouco depois, como: edemas, ascite neonatal, hidropsis fetal, dificuldades alimentares, falência em crescer, atraso motor, hipotonia, facies grosseira, hipertrofia gengival, macroglossia, alterações esqueléticas, cifoescoliose, organomegália. Observa-se mancha-cereja macular bilateral em metade dos doentes, achado com significado patognomónico^(1-3, 6, 8-18). Os aspectos dismórficos, por vezes não óbvios de início, e as alterações esqueléticas são progressivas⁽¹⁻³⁾. A cardiomiopatia pode ser uma forma de apresentação com insuficiência cardíaca congestiva^(1-3, 9). A hipotonia precoce é substituída, mais tarde, por espasticidade. Após o primeiro ano de vida, a deterioração neurológica é rápida, as convulsões frequentes, as infecções respiratórias recorrentes. Antes dos 18 meses a maioria dos doentes está cega, surda, com rigoespasticidade generalizada⁽¹⁻³⁾. A morte, geralmente devida a pneumonia, ocorre à volta dos 2 anos de idade^(1, 3).

Existe lipidose neuronal, com inclusões lamelares nos neurónios e células ganglionares da retina, e histiocitose nas vísceras com vacuolização citoplásmica e balonamento das células epiteliais glomerulares renais. Podem detectar-se linfócitos vacuolizados no sangue periférico e medula óssea, e foam-cells nesta última; a vacuolização celular é precoce^(1, 3). O material acumulado nos lisosomas do SNC e nas células ganglionares da retina leva a progressiva atrofia e destruição dos neurónios^(2, 6, 7, 10, 11, 13-21). Estão

descritas anomalias morfológicas, farmacológicas e bioquímicas no cérebro dos doentes humanos e animais com a doença, como: meganeurites, dendrogénese actópica, sinaptogénese anormal, defeitos de neurotransmissão⁽²⁾.

A actividade enzimática pode ser estudada nos leucócitos, fibroblastos, tecidos sólidos, plasma, urina, lágrimas, líquido amniótico, vilosidades coriônicas^(1-3, 6, 12, 16, 19, 22-24).

A deficiência enzimática foi descrita por Okada e O'Brien, em 1968^(1, 16); o gene humano da β -galactosidase foi mapeado no cromossoma 3 (3p21.33), e foi clonado por Oshima, em 1988^(2, 3, 6); para completa expressão do gene são necessários 2 loci, um no cromossoma 3, outro no 22 (ou 20); o mecanismo catalítico da enzima requer 2 resíduos ácidoicos, Glu 268 e Asp 332, no site activo da enzima⁽²⁵⁾.

O diagnóstico pré-natal é possível desde 1973^(19, 26, 27). É doença autossómica recessiva, pan-étnica^(1, 28), com alta incidência na Ilha de Malta e sul do Brasil⁽²⁸⁾.

Não existe tratamento específico. O estudo de modelos animais (cães, gatos, ovinos e bovinos) com doença espontânea, e de um modelo de ratos recentemente criado após disrupção do gene da β -galactosidase, no qual se ensaiou a transferência de genes, permitirá melhor compreensão da patogénese e novas perspectivas terapêuticas^(1, 2, 29).

Pelo facto de se tratar de uma doença catastrófica, sem tratamento eficaz e de mortalidade precoce, importa fazer o diagnóstico correcto atempadamente para o necessário aconselhamento genético.

Apresenta-se a experiência da Unidade de Doenças Metabólicas do Serviço de Pediatria do Hospital de Santa Maria (Lisboa) sobre 8 crianças com Gangliosidose GM1 Tipo 1.

II – Doentes

São apresentados 8 doentes, três do sexo masculino e cinco do feminino; 3 raparigas e 2 rapazes são de etnia cigana (Quadro I).

Registou-se consanguinidade dos progenitores em 6/8 casos; todos os doentes ciganos (5/8) nasceram de casamentos consanguíneos.

Sete pacientes apresentaram desde o nascimento, ou nos primeiros dias de vida, edema generalizado, cinco dos quais intensa anasarca e, num caso, ascite. Dois rapazes apresentaram hidrocelo importante e persistente. Seis doentes tinham edema palpebral significativo na altura do diagnóstico.

Em todas as crianças foi notado, desde cedo, algum grau de dismorfia facial como: hipertrofia gengival (4/8), narinas antevértidas (3/8), filtro longo (2/8), pavilhões

QUADRO I
Clínica. Laboratório. Evolução

Nome	MAS	RFSC	TSC	AC	VMGN	JAC	JSSP	ADV
Sexo. Etnia	(f) cig	(m)	(f) cig	(f) cig	(m) cig	(m) cig	(f)	(f)
Consanguinidade	+	-	+	+	+	+	+	-
Edema neonatal	+	-	+	+	+	+	+	+
Anasarca	+	-	+	-	+	-	+	+
Dificuldades alimentares	+	+	+	+	+	+	+	+
Dismorfia facial	+	+	+	+	+	+	+	+
Alterações esqueléticas	+	+	+	-	-	+	+	-
Organomegália	F	F, B	F, B	F, B	F, B	F, B	F, B	F, B
Cardiomiopatia	-	+	-	+	-	-	+	-
Quadro neurológico	+	+	+	+	+	+	+	+
Mancha-cereja mácula	-	-	+	-	+	-	-	+
Infecções respiratórias	+	+	+	+	+	+	+	+
Morte	?	+	+	+	?	?	+	?
Linfocitos vacuolizados: sp	35%	-	55%		-		45%	-
Linfocitos vacuolizados: med		13%	-					
Mucopolissacaridúria	-	-	-	-	-	-	-	-
Oligossacaridúria	T	T	T	T	T	T	T	T
β -galactosidase: leuc.	0,8%	2,6%	0%	0%	5,6%	0%	4%	0%
β -galactosidase: fibb	0,7%							

F: Fígado - B: Baço - sp: sangue periférico - med: medula óssea - T: típica - leuc.: leucócitos - fibb: fibroblastos - (+): presente, positivo - (-): ausente, negativo.

auriculares baixamente implantados (1/8), depressão da raiz do nariz (1/8).

As dificuldades alimentares foram constantes, com início desde o nascimento (7/8), e mais tardio num caso; em três situações mais graves houve necessidade de recorrer à alimentação por sonda nasogástrica ou parentérica; em três doentes associou-se diarreia frequente, e dois tiveram retorragias.

As alterações esqueléticas foram precocemente referidas em 5 doentes, particularmente o tórax em quilha e a cifose dorsolombar; num caso foram descritos pés botos.

Todos os pacientes apresentaram, na altura do diagnóstico, alterações neurológicas importantes como: atraso psicomotor (8/8), hipotonia axial (7/8), nistagmo (3/8), hipertonia (2/8), hiperreflexia (2/8), convulsões (2/8), estrabismo (1/8), hiperacúcia (1/8).

A presença de organomegália foi constante: hepatoesplenomegália (7/8) e fígado aumentado num caso.

Todas as crianças sofreram, após os primeiros meses de vida, infecções respiratórias de repetição.

III – Métodos

O estudo da oligossacaridúria foi feito por cromatografia em camada fina, em urina de 24 horas, segundo a técnica de Humbel e Collart⁽³⁰⁾; o padrão cromatográfico dos oligossacáridos ricos em galactose excretados é típico da Gangliosidose GM1.

O doseamento do ácido siálico total foi executado numa urina de 24 horas, pelo método de Aminoff modificado⁽³¹⁾, sendo os valores de referência de 0,8-4,5 mg/24h.; no sangue os valores normais variam entre 33-53 mg/dl.

A determinação da actividade da β -galactosidase nos leucócitos foi feita segundo a técnica de Inui⁽³²⁾; a actividade da neuraminidase nos leucócitos foi medida pelo método de Pottier⁽³³⁾; em ambas as determinações a actividade é expressa em nmol/h/mg proteína. O teor proteico foi calculado pelo método de Lowry⁽³⁴⁾.

Num caso, a determinação da actividade da β -galactosidase foi executada nos fibroblastos e leucócitos⁽³⁵⁾, com

valores de referência de 116-2037 nmol/h/mg e 73-585 nmol/h/mg, respectivamente.

A mucopolissacaridúria foi estudada numa urina de 24h. por cromatografia em camada fina, cromatografia de coluna, e doseamento de mucopolissacáridos totais (normal na população portuguesa: 2-10 mg/24 h.)^(36, 37).

IV – Resultados

O diagnóstico definitivo ocorreu entre os 3 e os 13 meses de idade (média: 5,6 m); o diagnóstico mais tardio foi o de um rapaz que, apesar de hipotónico desde sempre, teve regressão lenta após os 8 meses.

A pesquisa de linfócitos vacuolizados, efectuada em 6 doentes, foi positiva em 4, três no sangue periférico (55%, 45%, 35%) e uma na medula óssea (13%), neste caso a vacuolização fora negativa nos linfócitos circulantes.

A disostose multiplex foi confirmada radiologicamente em 4 crianças, salientando-se o achado de «vértebras em anzol» (esporão antero-inferior no corpo vertebral), costelas alargadas e grosseiramente modeladas, displasia acetabular, metacárpicos em «favos de mel» (imagens lacunares), osteoporose.

A mucopolissacaridúria foi negativa em todos os doentes. O doseamento do ácido siálico, sérico e urinário, foi normal em todas as crianças. A cromatografia dos oligossacáridos excretados pela urina mostrou um padrão compatível com o diagnóstico de Gangliosidose GM1, em todos os pacientes. A observação oftalmológica revelou a presença de mancha-cereja macular bilateral (3/8), opacidade da córnea (2/8) e atrofia óptica (1/8).

A observação cardiológica permitiu diagnosticar cardiomiopatia em 3 crianças, em duas de tipo dilatada, noutra de tipo hipertrófica assimétrica; a insuficiência cardíaca ocorreu num caso.

Os estudos de neuro-imagem (TAC-craneocéfálica), só possíveis em 2 crianças, mostraram um padrão normal num paciente, e hipoplasia vermiana e atrofia temporal bilateral noutra. O exame considerado normal pertencia ao doente com regressão lenta e diagnóstico aos 13 meses.

O estudo ultraestrutural da pele revelou, num caso típico (TSC), a existência de vacúolos de diferentes tipos, alguns aparentemente vazios, outros contendo inclusões esféricas densas de pequeno diâmetro, por vezes formadas por lamelas concêntricas, e outros com perfis vesiculosos simples ou múltiplos (Figs. 1 e 2), aspectos compatíveis com Gangliosidose.

A determinação da actividade da β -galactosidase ácida foi efectuada em todos os doentes: nos leucócitos (8/8) onde a actividade variou entre 0-5,6% do normal (média: 1,6%), e num caso também nos fibroblastos (0,7% do normal), confirmando o diagnóstico. A actividade da

neuraminidase foi normal em todos os pacientes, quer nos leucócitos, quer num caso também nos fibroblastos.

Em 4 famílias a actividade enzimática leucocitária dos progenitores revelou níveis sugestivos de heterozigotia.

A evolução dos doentes foi marcada por sucessivas infecções respiratórias, agravamento neurológico, com surgimento de espasticidade, convulsões, agravamento sensorial e pioria da deglutição, acarretando dificuldades acrescidas à alimentação.

O seguimento dos doentes de etnia cigana, a maioria (5/8), foi particularmente difícil, impossibilitando um acompanhamento regular e estudos familiares mais aprofundados. A consanguinidade cruzada em algumas destas famílias, sistematicamente omitida de início, foi admitida com relutância mais tarde.

Foi confirmada a morte de 4 crianças, antes dos dois anos de idade, por infecção respiratória, sendo quase certo o falecimento das restantes.

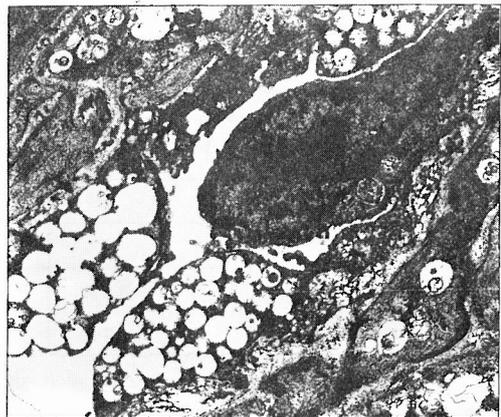


FIG. 1 – Doente TSC. Biópsia de pele. Células endoteliais e pericitos com extensa vacuolização citoplásmica. Alguns vacúolos contêm inclusões densas e perfis membranosos (ampl. 11.800 X).

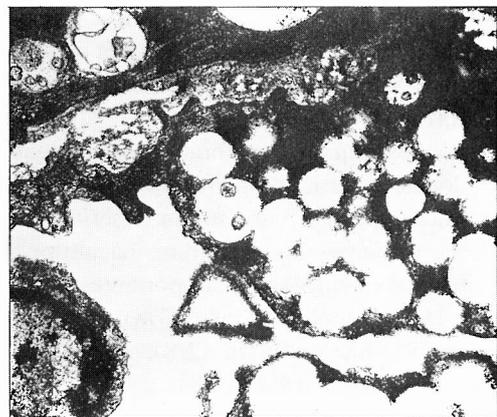


FIG. 2 – Doente TSC. Grande ampliação das inclusões vesiculosas. Notar a presença de lamelas concêntricas e de perfis vesiculosos (ampl. 27.000 X).

V – Discussão

A presença de edema neonatal, de dismorfia, de organomegália, de alterações esqueléticas, de hipotonia e hipoactividade, de infecções respiratórias recorrentes, aponta para uma doença de armazenamento lisossomal.

O edema neonatal pode ser localizado (face, extremidades, escroto, ascite) ou generalizado (anasarca) ^(1-3, 10). O edema neonatal foi referido em 7 dos nossos doentes; cinco tiveram anasarca, um ascite, dois hidrocelo. Um quadro de hidropsis fetal não imune, sem causa evidente, obriga ao estudo de doença lisossomal ^(1, 3).

A dismorfia, particularmente facial, e a displasia óssea são importantes para o diagnóstico da forma infantil ⁽¹⁻³⁾.

A facies pode ser grosseira desde o nascimento ou mostrar mais tarde: bossas frontais, depressão da raiz do nariz, narinas antevertidas, filtro longo, orelhas grandes baixamente implantadas, hipertrofia gengival, macroglossia; estes aspectos acentuam-se com a idade ^(1-3, 38). A dismorfia facial foi assinalada precocemente em todos os doentes apresentados.

As alterações esqueléticas, também progressivas, podem manifestar-se por mãos grosseiras com dedos curtos, rigidez articular, contracturas em flexão dos dedos, cifoescoliose dorsolombar com gibosidade e macrocrânea tardia ^(1-3, 38). A displasia esquelética, especialmente na região toracolombar, foi um achado precoce em metade dos nossos doentes.

A tradução radiológica da displasia é mais significativa nas vértebras toracolombares (esporão antero-inferior: «vértebra em anzol»), nos ossos longos (curtos, alargamento na parte média, estreitamento proximal e distal), no crâneo (espessamento do diploe, sela turca alargada em «tamanco»), nas costelas (alargadas), nos ilíacos (displasia acetabular, cabeças femurais achatadas, luxação da anca), nos metacárpicos (zonas areolares em «favo de mel», afilamento proximal); ossificação e modelação anormal, neoformação óssea subperióstica, atraso da idade óssea ⁽¹⁻³⁾.

Estes aspectos radiológicos foram observados em 4 doentes, contudo, não são específicos, porquanto as mucopolissacaridoses e outras glicoproteinoses podem apresentar alterações similares ⁽²⁾.

A organomegália é comum no fenotipo infantil, quer hepatomegália isolada, quer hepatoesplenomegália ⁽¹⁻³⁾. A histiocitose visceral foi observada no fígado, baço, nódulos linfáticos, timo, pulmão, intestino, pâncreas, medula óssea; os histiocitos têm citoplasma distendido ocupado por material finamente granuloso ⁽¹⁻³⁾. A organomegália foi constante nos doentes apresentados, envolvendo o fígado e baço em 7 casos e apenas o fígado numa criança.

As dificuldades alimentares são frequentes no tipo infantil: sucção ineficaz, deglutição difícil, apetite pobre, falência em ganhar peso, diarreia ⁽¹⁻³⁾. Podem ter início logo após o nascimento, como foi o caso de 7 dos nossos pacientes.

As alterações neurológicas são normalmente notadas cedo, nos primeiros meses de vida; o atraso psicomotor acaba por ser constante. São crianças hipoactivas, desinteressadas, que raramente sorriem, não se sentam, não rolam, têm fraqueza muscular e choro fraco, hipotonia particularmente cervical, reflexos hiperactivos, sinais piramidais e hiperacúsia. A hipotonia inicial dará lugar a espasticidade. Após os 12 meses a deterioração neurológica é rápida, as convulsões frequentes. Aos 16 meses a maioria está cega e surda e apresenta rigidez descerebrada, contracturas em flexão, atrofia óptica e não reagem aos estímulos ⁽¹⁻³⁾. Todos os nossos doentes manifestaram, na altura do diagnóstico, sinais neurológicos significativos, como hipotonia axial, hiperreflexia, sinais piramidais, convulsões, nistagmo, estrabismo, hipertonia; todos tinham atraso psicomotor evidente.

Estes pacientes têm atrofia difusa do cérebro; os neurónios, axónios e dendrites estão preenchidos por numerosos corpos citoplásmicos membranosos; as células gliais contêm várias inclusões: corpos lipídicos pleiomórficos, membrano-vesiculosos e depósitos ovais densos ^(1, 2). O número de neurónios está diminuído, a arquitectura cerebral distorcida, a desmielinização presente ^(1, 3, 20).

A imagiologia cerebral pode evidenciar a atrofia difusa do SNC, atrofia cortical, alargamento do sistema ventricular, perda de mielina na substância branca, atrofia da substância cinzenta no cérebro e cerebelo ⁽¹⁻³⁾. A TAC-craneoencefálica, realizada apenas em 2 doentes, foi normal num caso (doente com regressão lenta após os 8 meses), e mostrou hipoplasia vermiana e atrofia temporal bilateral numa criança cigana com início precoce e deterioração rápida.

A observação de *mancha-cereja macular*, que pode ocorrer em 50% dos doentes, tem significado patogomónico ^(1, 2). É sempre um achado dramático por sugerir patologia lisossomal, como: Gangliosidose GM1, GM2, Niemann-Pick, Sialidose, Galactosialidose, Doença de Farber, ou ainda Leucodistrofia Metacromática, Doença de Krabbe ou Gaucher ^(1, 2, 39). Outras perturbações oculares podem surgir como opacidade da córnea, e atrofia atópica mais tardia por intensa infiltração glial. A cegueira precoce tem origem nas alterações corticais e das células retinianas ^(19, 21, 38, 40). O material acumulado nos olhos difere: sulfato de queratano I na córnea, gangliósidos nas células ganglionares da retina ^(1, 2).

A mancha-cereja macular bilateral foi observada em 3 doentes, opacidade da córnea em 2, e atrofia óptica numa criança.

A *cardiomiopatia* pode ser uma forma de apresentação do tipo infantil, por vezes com falência cardíaca congestiva; a doença de Pompe pode ser evocada ^(1-3, 9). Existe hipertrofia ventricular, dilatação do ventrículo esquerdo, contractilidade pobre ⁽²⁾. As valvas cardíacas têm tecido conectivo esparso; observam-se foam-cells no tecido intersticial, valvas, tecidos subendocárdicos, adventícia das artérias coronárias e grandes artérias, incluindo a aorta, e vacuolização do músculo cardíaco ^(1, 2). Três doentes apresentaram cardiomiopatia: dilatada em 2 (com insuficiência cardíaca num caso), e hipertrófica assimétrica noutro.

No tipo infantil é comum ocorrerem *infecções respiratórias de repetição*, principal causa de morte por volta dos dois anos de idade ⁽¹⁻³⁾; o lúmen alveolar pode estar completamente preenchido por células fagocitárias ⁽²⁾.

Todos os nossos doentes sofreram infecções respiratórias recorrentes, com início antes do ano de vida, que foram a causa dos falecimentos conhecidos.

A pesquisa de *linfócitos vacuolizados* (circulantes ou na medula óssea) é, se positiva, sugestiva de doença lisossomal ⁽¹⁾. Alguns autores utilizam a pesquisa no sangue periférico como rastreio do tipo infantil ⁽⁴¹⁾. A vacuolização, que pode chegar aos 80%, é observada em muitos destes doentes; os linfócitos e neutrófilos podem conter granulações citoplásmicas basófilas ⁽²⁾. Na medula óssea encontram-se foam-cells ou células balonadas e linfócitos vacuolizados ⁽²⁾. Nos doentes apresentados, a pesquisa foi efectuada em 6 crianças, tendo sido positiva em 4, três no sangue periférico e uma na medula (neste caso a vacuolização fora negativa nos linfócitos circulantes).

A *mucopolissacaridúria* não é habitualmente detectada no fenotipo infantil ^(1, 3), como sucedeu nos nossos doentes. Pode haver, contudo, ligeiro aumento de sulfato de queratano na urina: a isozima A1 da β -galactosidase é heterocatalítica e hidroliza a galactose terminal não só dos gangliósidos GM1, como dos mucopolissacarídeos (sulfato de queratano) e grande variedade de oligossacáridos ⁽¹⁻³⁾. A deficiência enzimática leva a acumulação de gangliósidos no cérebro e de sulfato de queratano nos ossos e tecidos, como o fígado, baço e córnea ^(1, 2).

O estudo do padrão da *oligossacaridúria* é um passo importante do diagnóstico. Os oligossacáridos contendo galactose acumulam-se nas vísceras dos doentes e são excretados pela urina ⁽¹⁻³⁾. A quantidade, qualidade e perfil cromatográfico dos metabolitos excretados é distinto consoante os tipos clínicos ^(1, 2, 24, 30, 42). Em todos os pacientes o perfil cromatográfico urinário foi típico de Gangliosidose GM1.

O estudo *histológico e/ou ultraestrutural* da pele (glândulas sudoríferas), conjuntiva (células endoteliais), recto,

fibroblastos, órgãos viscerais pode ser útil para fins diagnósticos ^(1, 2). As alterações descritas na ultraestrutura da pele (Figs. 1 e 2) são muito sugestivas de Gangliosidose ⁽³⁸⁾.

Para o diagnóstico definitivo é fundamental a determinação da actividade da β -galactosidase lisossomal ⁽¹⁻³⁾. A enzima hidroliza a galactose terminal dos gangliósidos GM1, asialo GM1 (GA1), lactosilceramido, sulfato de queratano, lactose e grande variedade de oligossacáridos ⁽¹⁻³⁾. A enzima está presente em diferentes tecidos e fluidos orgânicos: fígado, cérebro, fibroblastos da pele, rim, urina, placenta, leucócitos; a actividade enzimática é habitualmente medida nos leucócitos, fibroblastos ou tecidos sólidos; nas lágrimas, suor, plasma e urina é menos fiável ^(1-3, 22, 23, 32, 35). No tipo infantil a actividade enzimática está marcadamente deficiente no fígado e cérebro (< 5%), e praticamente inexistente nos leucócitos, fibroblastos e fluidos orgânicos ⁽²⁾.

Nos doentes apresentados a actividade da enzima nos leucócitos foi muito baixa (média: 1,6% do normal) e, num caso, também nos fibroblastos (0,7% do normal), confirmando o diagnóstico.

A marca típica da doença é a acumulação anormal de gangliósidos GM1 nos tecidos, incluindo o cérebro ⁽¹⁻³⁾. No cérebro a concentração total de gangliósidos é 3-5 vezes o normal na substância cinzenta, e 10 vezes na substância branca; a percentagem de gangliósido GM1 é muito maior nos cérebros doentes (90-95%), que nos normais (22-25%) ⁽²⁾.

A *consanguinidade parenteral* costuma ser elevada ⁽¹⁻³⁾, e não existe predominância étnica ^(3, 28). Nas regiões com maior incidência deste fenotipo, Ilha de Malta ⁽⁴¹⁾ e sul do Brasil ⁽²⁸⁾, a consanguinidade não é significativa, sugerindo uma alta frequência do gene ⁽²⁸⁾. Nos nossos doentes a consanguinidade foi frequente (6/8); todos os pacientes ciganos (5/8) nasceram de casamentos consanguíneos. Pensamos que esta predominância reflecte a existência de um importante aglomerado populacional desta etnia na região de Beja, e o cruzamento entre famílias, facto comprovado apesar de deliberadamente omitido.

Não existe actualmente tratamento específico para esta patologia.

Tivemos conhecimento directo do falecimento de 4 crianças, por infecção respiratória, suspeitando-se da morte das restantes.

Em conclusão: A Gangliosidose GM1 Tipo Infantil (Tipo I) é uma doença degenerativa cerebral de início precoce, de evolução dramática e sem tratamento eficaz. Importa fazer rapidamente o diagnóstico correcto e o aconselhamento genético, tendo especial atenção aos grupos populacionais com elevada consanguinidade, como é o caso da etnia cigana.

NOTA: Um mono caso foi diagnosticado recentemente: sexo feminino, natural dos Açores, diagnóstico aos 4 meses de vida.

Bibliografia

- Suzuki Y, Sakuraba H, Oshima A. 90. β -Galactosidase Deficiency (β -Galactosidosis): GM1 Gangliosidosis and Morquio B Disease. In: Scriver, Beaudet, Sly, Valle, eds. *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Diseases*. Mc Graw-Hill 1985: 2785-2824.
- Suzuki Y, Oshima A, Nanba E. 151. β -Galactosidase Deficiency (β -Galactosidosis): GM1 Gangliosidosis and Morquio B Disease. In: Scriver, Beaudet, Valle, Sly, eds. *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Diseases*. Mc Graw-Hill 2001: 3775-3809.
- Nyhan WL, Ozand PT. 85. GM1 Gangliosidosis/ β -Galactosidase deficiency. In: *Atlas of Metabolic Diseases*. Chapman & Hall Medical 1998: 529-38.
- Sandhorff K, Conzelmann E. The Biochemical basis of gangliosidosis. *Neuropediatrics* 1984; 15: 85-92.
- Schwab ME, Vassella F. Synopsis: Gangliosidoses. *Neuropediatrics* 1984, 15: 107-9.
- O'Brien JS. The gangliosidosis. In: Stanbury JB, Wijngaarder JB, Fredrickson DS, Goldstein JL, Brown MS, eds. *The Metabolic Basis of Inherited Diseases*. Mc Graw-Hill 1985: 945-69.
- Farrell DF, Ochs U. GM1 gangliosidosis: phenotypic variation in a single family. *Ann Neurol* 1981; 9: 3: 225-31.
- Farrell DF, Mac Martin MP. GM1 gangliosidosis: enzymatic variation in a single family. *Ann Neurol* 1981; 9: 3: 232-6.
- DiRocco M, Antuzzi D, Condoluci C, Donati MA, Margherini A, Romanengo M, et al. Cardiomyopathy in GM1 Gangliosidosis (A173). *J Inher Metab Dis* 1996; 19: 1: 87.
- Abu-Dalu KI, Tamary H, Livori N, Rivkind AI, Yatziv S. GM1 gangliosidosis presenting as neonatal ascites. *J Pediatr* 1982; 100: 6: 940-3.
- Adams RD, Lyon G. Early infantile GM1 gangliosidosis. In: *Neurology of Hereditary Metabolic Diseases of children*. Mc Graw-Hill 1980: 49-53.
- Giugliani R, Dutra JC, Pereira ML, Rotta N, Drachler ML, Ohlweiller L, et al. GM1 gangliosidosis: clinical and laboratory findings in eight families. *Hum Genet* 1985; 70: 4: 347-54.
- Kohlschutter A. Clinical course of GM1-gangliosidosis. *Neuropediatrics* 1984; 15: 71-3.
- O'Brien JS, Stern MB, Landing GH, O'Brien JK, Donnell GN. Generalized gangliosidosis. *Amer J Dis Child* 1965; 109: 338-46.
- O'Brien JS. Generalized gangliosidosis. *J Pediatr* 1969; 75: 2: 167-86.
- O'Brien JS, Okada S, Ho MW, Fillerup DL, Veath ML, Adams K. Gangliosidose storage diseases. *Fed Proc* 1971; 30: 2: 956-69.
- Percy AK. The gangliosidoses and related lipid storage diseases. In: Emery AEH, Rimoin DL, eds. *Principles and Practice of Medical Genetics*. Churchill Livingstone 1983; 2: 1366-88.
- Swaiman KF, Pinsky AL. IV-Lipid diseases of the central nervous system. In: Swaiman KF, Wright FS, eds. *The Practice of Pediatric Neurology*. The CV Mosby Co 1982; 1: 515-24.
- Bieber FR, Mortimer G, Kolodny EH, Driscoll SG. Pathologic findings in fetal GM1 gangliosidosis. *Arch Neurol* 1986; 43: 736-8.
- DiGregorio F, Ferrari G, Marini P, Siliprandi R, Gorio A. The influence of gangliosides on neurite growth and regeneration. *Neuropediatrics* 1984; 15 (suppl): 93-6.
- Goebel HH. Morphology of the gangliosidoses. *Neuropediatrics* 1984; 15 (suppl): 97-106.
- Raghaven S, Gajewski A, Kolodny EH. GM1-gangliosidose β -galactosidase in leukocytes and cultured fibroblasts. *Clin Chim Acta* 1977; 81: 47-56.
- Tsuboyama A, Miki F, Yoshida M, Ogura Y, Miyatake T. The use of tears for diagnosis of GM1 gangliosidosis. *Clin Chim Acta* 1977; 80: 237-42.
- Warner TG, Robertson AD, O'Brien JS. Diagnosis of GM1 gangliosidosis based on detection of urinary oligosaccharides with high performance liquid chromatography. *Clin Chim Acta* 1983; 127: 313-26.
- Zhangs S, Bagshaw R, Hwang R, Callahan JW. Glu 268, Asp 332, Trp 273 are active site residues in β -galactosidase. P225. *J Inher Metab Dis* 1998; 21: 2: 113.
- Kaback MM, Sloan MR, Sonneborn M, Herndon RM, Percy AK. GM1-gangliosidosis type 1: in utero detection and fetal manifestations. *J Pediatr* 1973; 82: 6: 1037-41.
- Lowden JA, Cutz E, Conen PE, Rudd N, Doran TA. Prenatal diagnosis of GM1-gangliosidosis. *New Engl J Med* 1973; 288: 5: 225-8.
- Giugliani R, Severini MHA, Silva CD, Sopelsa A, Coelho J. Apparently high frequency of GM1 Gangliosidosis type I in south Brazil (A228). *J Inher Metab Dis* 1998; 21: 2: 114.
- Muller G, Baumgartner W, Moritz A, Sewell A, Kustermann-Kuhn B. Biochemical findings in a breeding colony of Alaskan Huskies. *J Inher Metab Dis* 1998; 21: 430-1.
- Humbel R, Collart M. Olygosaccharides in urine of patients with glycoprotein storage diseases. *Clin Chim Acta* 1975; 60: 143-5.
- Norberto MF, Marques dos Santos MH. Uma nova reacção colorimétrica para quantificação do ácido N-acetilneuramínico. *Rev Port Farm* 1975; 36: 3: 4: 46-8.
- Inui K, Wenger DA. Biochemical, immunological and structural studies on a shyngolipid activator protein (SAP-1). *Arch Biochem Biophys* 1984; 233: 556-64.
- Pottier M, Mameli L, Bélisle M, Dallaire L, Melançon SB. Fluorimetric assay of neuraminidase with a sodium (4-methylumbelliferyl- α -D-N-acetylneuraminate) substrate. *Annal Biochem* 1979; 94: 287-96.
- Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with folinphenol reagent. *J Bio Chem* 1951; 193: 265-75.
- Ribeiro MG, Pinto RA, Dos Santos MR, Maia M, Sá Miranda MC. Biochemical characterization of β -hexosaminidase in different biological specimens from eleven patients with GM2-gangliosidosis B1 variant. *J Inher Metab Dis* 1991; 14: 715-20.
- Tasso T, Cabral A, Portela R, Levy ML, Silveira C, Santos MHM. Aspectos Clínicos e Laboratoriais das Mucopolissacaridoses. *Rev Ortop y Traumatol* 1979; 5P: IB: 2: 233-42.
- Marques dos Santos MH, Silveira C, Carvalho MI. Mucopolissacáridos ácidos na urina: valores normais nas crianças portuguesas dos 7 aos 10 anos. *Rev Port Pediatr* 1979; 10: 86-92.
- Cabral A, Portela R, Tasso T, Eusébio F, Moreira A, Marques dos Santos MH, Soares J, Moura-Nunes JF. A case of GM1 gangliosidosis type I. *Oph Paed and Genet* 1989; 10: 1: 63-7.
- Kivlin JD, Sanborn GE, Myers GG. The cherry-red-spot in Tay-Sachs and other storage diseases. *Ann Neurol* 1985; 17: 4: 356-60.
- Pampiglione G, Harden A. Neurophysiological investigations in GM1 and GM2 Gangliosidoses. *Neuropediatrics* 1984; 15: 74-84.
- Lenicker HM, Vassallo Agius P, Young EP, Attard Montalvo SP. Infantile Generalized GM1 Gangliosidosis: high incidence in the Maltese Islands. *J Inher Metab Dis* 1997; 20: 723-4.

Agradecimento: à Doutora Maria Clara Sá Miranda, do Instituto de Genética Médica do Porto (Enzimologia), pela colaboração no estudo bioquímico e enzimático de um dos doentes apresentados.