

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO**  
**FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO**  
**DEPARTAMENTO DE NEUROCIÊNCIAS E CIÊNCIAS DO COMPORTAMENTO**

**MARCELA LOPES DE ALMEIDA**

**Niemann Pick tipo C: Caracterização fenotípica e genotípica de  
uma casuística brasileira**

**Ribeirão Preto - SP**  
**2016**

**MARCELA LOPES DE ALMEIDA**

**Niemann Pick tipo C: Caracterização fenotípica e genotípica de uma  
casuística brasileira**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação, Mestrado Profissional em Neurologia e Neurociências da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para obtenção de título de Mestre em Neurologia.

Área de Concentração: Neurologia do Desenvolvimento e Neurofisiologia

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Carolina Araújo Rodrigues Funayama

Ribeirão Preto - SP  
2016

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

#### **FICHA CATALOGRÁFICA**

Almeida, Marcela Lopes

Niemann Pick tipo C: alterações fenotípicas e genotípicas de uma casuística brasileira. Ribeirão Preto, 2016.

43 f.: il.; 30 cm

Dissertação (Mestrado Profissional) – Universidade de São Paulo, 2016.

Área de concentração: Neurologia do Desenvolvimento e Neurofisiologia

Orientadora: Funayama, Carolina Araújo Rodrigues

1. Niemann Pick tipo C. 2. Fenótipo. 3. Genótipo. 4. NPC1. 5. Miglustat.

Nome: ALMEIDA, Marcela Lopes de

Título: Niemann Pick tipo C: alterações fenotípicas e genótípicas de uma casuística brasileira.

Dissertação de Mestrado apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto/USP para obtenção do título de Mestre em Neurologia.

Área de concentração: Neurologia do Desenvolvimento

Orientadora: FUNAYAMA, Carolina Araújo Rodrigues

Aprovado em:

Banca Examinadora

Prof. Dr. \_\_\_\_\_

Instituição: \_\_\_\_\_

Julgamento: \_\_\_\_\_ Assinatura: \_\_\_\_\_

Prof. Dr. \_\_\_\_\_

Instituição: \_\_\_\_\_

Julgamento: \_\_\_\_\_ Assinatura: \_\_\_\_\_

Prof. Dr. \_\_\_\_\_

Instituição: \_\_\_\_\_

Julgamento: \_\_\_\_\_ Assinatura: \_\_\_\_\_

## **DEDICATÓRIA**

Ao meu amigo Charles Marques Lourenço,  
que doou seu precioso tempo e incomensurável  
conhecimento para me ensinar sobre as doenças e,  
no sentido mais amplo, sobre os doentes.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a Deus, pela oportunidade de estar na Terra, em constante aprendizado num ambiente de ciência, evolução e amor;

Ao meu marido Gilfred e nossos lindos filhos Pedro e Sarah, pelo apoio nesta jornada com amor e amizade, minha base familiar;

Aos meus pais, Edson e Marli, por me darem a vida e as ferramentas necessárias para minha educação;

Aos meus tios, Antônio Carlos e Elisabete, por me oferecerem amor de “pais”;

À minha orientadora Dra. Carolina A. Funayama, por despertar em mim o desejo e ânimo para aprender e trilhar o caminho da Neurologia Infantil, através do exemplo, dedicação, conhecimento e experiência;

À Dra. Ana Paula Hamad, pelo exemplo de alma caridosa e sábia, pelo amor fraterno, incentivo e confiança incessantes;

À Sirlene, por toda ajuda e dedicação, associado a paciência;

Aos meus colegas de residência, médicos, secretarias e amigos do grupo do Departamento de Neurologia, pelo companheirismo e amizade;

Aos pacientes portadores de NPC e seus pais, pelos ensinamentos que me proporcionaram nos âmbitos da ciência e vida;

“O amor deve ser sempre o ponto de partida de todas as aspirações e a etapa final de todos os anelos humanos.”

Joanna de Ângelis

## RESUMO

Almeida M.L.: **Niemann Pick tipo C: Caracterização fenotípica e genotípica de uma casuística brasileira.** 2016. 43f. Dissertação (Mestrado Profissional) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, 2016.

Niemann-Pick tipo C (NPC) é uma doença de depósito lisossomal, ocasionada por alterações no tráfico de colesterol não esterificado, decorrente de alterações bialélicas nos genes NPC1 ou NPC2, ambos definindo uma doença autossômica recessiva, progressiva e irreversível, caracterizada por manifestações viscerais, neurológicas e psiquiátricas, não necessariamente combinadas. Com o propósito de descrever as características fenotípicas e genotípicas de pacientes com NPC, objetivou-se relatar dados demográficos, formas clínicas classificadas por idade, sinais e sintomas neurológicos e psiquiátricos, achados de ressonância magnética (RM) de encéfalo e ultrassonografia de abdome, assim como teste de filipin, mutações observadas e o tratamento com N-butyldeoxynojirimycin (Miglustat). De uma casuística de 12 pacientes atendidos entre 2000-2014, por revisão de prontuários, no Ambulatório de Neurogenética do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, havia 7 mulheres e 5 homens, idade média de 20 anos (entre 2 e 42), sendo dez pacientes da etnia branca e dois mulatos, procedentes de 3 estados brasileiros: São Paulo, Mato Grosso do Sul e Minas Gerais. As formas clínicas identificadas foram infantil, juvenil e adulto. A idade do primeiro sintoma neurológico ocorreu entre 1 e 27 anos (média 9,5). Dentre os achados viscerais, dois pacientes encontravam-se assintomáticos, os demais apresentaram icterícia prolongada/colestase, hepatomegalia e esplenomegalia. Todos os pacientes apresentaram em diferentes momentos da evolução manifestações neuropsiquiátricas, tais como: paralisia do olhar vertical, ataxia/quedas, epilepsia, mioclonias, distonia, disartria, disfagia, fraqueza muscular, espasticidade, declínio cognitivo/demência, sintomas psicóticos, atraso escolar, distúrbio de comportamento, cataplexia gelástica e hipotonia neonatal. A idade de diagnóstico variou de 0 a 41 anos, com uma média de 14,5 anos. O tempo entre a idade do primeiro sintoma neurológico e o diagnóstico da doença variou de 0 a 14 anos, tempo médio de 5,3 anos. O teste de Filipin demonstrou seis resultados positivos e seis variantes. A RM de encéfalo apresentou três diferentes tipos de alteração: atrofia cerebral em 6 casos, atrofia cerebelar e desmielinização em 7. A ultrassonografia de Abdome resultou em três alterações: hepatomegalia em 8, esplenomegalia em 10 e hepatoesplenomegalia em 8. O resultado do teste genético molecular em 11 pacientes evidenciou alterações no gene NPC1 e uma paciente não possuía o resultado. A mutação c.3104C>T foi a mais frequente, em oito pacientes; c.3548G>A, de significado incerto, em um paciente, e, as demais mutações encontradas: c.3493G>A, c.3019C>G. O tratamento com N-butyl deoxynojirimycin (Miglustat) foi realizado por todos os pacientes, o tempo entre o diagnóstico e o início da medicação variou de 0 a 9 anos, média de 2,9 anos. Concluímos que o registro da doença NPC deve ser feito através de uma coleta de dados detalhada e contínua, pois sua heterogeneidade fenotípica e genotípica sugerem um número subestimado de casos, não só por sua raridade, mas também pelo desconhecimento da doença, já que há poucos grupos estudados e publicados. O seu reconhecimento precoce, associado ao adequado manejo clínico, podem retardar a progressão implacável da doença e aumentar a expectativa de vida dos pacientes.

Palavras chave: 1.Niemann Pick tipo C. 2. Fenótipo. 3. Genótipo. 4. NPC1. 5. Miglustat.



## ABSTRACT

Almeida M. L.: Niemann Pick type C: Phenotypic and genotypic characterization of a Brazilian series. 2016. 43 f. Dissertation (Professional Master) - Faculty of Medicine of Ribeirão Preto, University of São Paulo, in 2016.

Niemann-Pick type C (NPC) is a lysosomal storage disease caused by abnormal unesterified cholesterol trafficking, resulting from biallelic changes in NPC1 or NPC2 genes, both defining an autosomal recessive progressive and irreversible disease characterized by visceral, neurological and psychiatric manifestations, not necessarily combined. In order to describe the phenotypic and genotypic characteristics of patients with NPC, this work aimed to report demographic data, clinical forms classified by age, neurological and psychiatric signs and symptoms, brain magnetic resonance imaging (MRI) and abdominal ultrasound findings, Filipin test, the gene mutations, and the treatment with N-butyldeoxynojirimycin (Miglustat). A series of 12 patients were studied, treated between 2000-2014, by review of medical records of the Neurogenetics Clinic at the Hospital of Clinics, Ribeirão Preto Medical School, Brazil. There were 7 women and 5 men, mean age 20 years (from 2 to 42); 10 caucasian and 2 mulattos, coming from three Brazilian states: São Paulo, Mato Grosso do Sul and Minas Gerais. Infantile, Juvenile and adult clinical forms were identified. The age of the first neurological or psychiatric symptoms occurred between 1 and 27 years (mean 9.5). Among the visceral findings, two patients were asymptomatic, and the others had prolonged jaundice / cholestasis, hepatomegaly and splenomegaly. All patients had at different times of evolution symptoms, such as paralysis of vertical gaze, ataxia/falls, epilepsy, myoclonus, dystonia, dysarthria, dysphagia, muscle weakness, spasticity, cognitive decline/dementia, psychotic symptoms, school delay, disorders behavior, gelastic cataplexy and neonatal hypotonia. Age at diagnosis ranged from 0 to 41 years, with a mean of 14.5 years. The interval between the first signs of the disease and the onset of treatment ranged from zero to 14 years, with an average of 5.3 years. Filipin test resulted six positive and six variant form. The MRI scans showed three different types of changes: brain atrophy in 6 cases, cerebellar atrophy in 7 and demyelination in 7. Abdominal ultrasound revealed 8 patients with hepatomegaly, 10 with splenomegaly and 8 hepatosplenomegaly. The results of the molecular genetic testing on 11 patients showed changes in NPC1 gene and a patient did not have the result. Mutation c.3104C>T was more frequent in eight patients; c.3548G>A, of uncertain significance in a patient, and other mutations found: c.3493G>A and c.3019C>G. Treatment with N-butyl deoxynojirimycin (Miglustat) was carried by all patients; the time between diagnosis and beginning of the treatment ranged from 0 to 9, with an average of 2.9 years. We conclude that NPC disease registry should be done through a collection of detailed and continuous data because their phenotypic and genotypic heterogeneity suggest an underestimated number of cases, not only for its rarity but also by unawareness about the disease, and the fact that there are few published studies. The early recognition, coupled with appropriate clinical management, may slow the progression of the disease and increase life expectancy of patients.

Keywords: 1. Niemann Pick type C 2. Phenotype. 3. Genotype. 4. NPC1. 5. Miglustat.

## **LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS**

2HPBC - 2-hidroxipropil-beta-ciclodextrina

CID - Código internacional de doenças

DDL - Doenças de Depósito Lisossomal

DLS - Doenças Lisossomiais de Sobrecarga

EIM - Erros Inatos do Metabolismo

HDL – High Density Lipoproteins

LDL – Low Density Lipoproteins

MRI – Magnetic Resonance Imaging

NPC – Niemann Pick tipo C

QT – Quitotriosidase

SAME - Serviço de Arquivo Médico

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>11</b>
1.1 Erros Inatos do Metabolismo .....	11
1.2 Doença de Depósito Lisossomal .....	12
1.2.1 Esfingolipidose .....	13
1.2.2 Distúrbios no transporte de colesterol intracelular.....	13
1.3 Doença de Niemann Pick.....	14
1.4 Niemann Pick tipo C.....	15
<b>2 JUSTIFICATIVA .....</b>	<b>18</b>
<b>3 OBJETIVOS .....</b>	<b>19</b>
3.1. Objetivo geral .....	19
3.2. Objetivos específicos.....	19
<b>4 METODOLOGIA.....</b>	<b>20</b>
4.1 Desenho do Estudo.....	20
4.2 Critérios de Inclusão.....	21
4.2.1 Diagnóstico Molecular.....	22
4.2.2 O Teste de Filipin.....	22
4.3 Variáveis do Estudo.....	22
4.4 Análise estatística.....	23
4.5 Aspectos éticos.....	23
<b>5 RESULTADOS.....</b>	<b>24</b>
5.1 Características gerais.....	24
5.2 Características clínicas.....	25
5.3 Características da forma de apresentação clínica.....	28
5.3.1 Forma adulta.....	28
5.3.2 Forma juvenil.....	29
5.3.3 Forma infantil tardia e precoce.....	29
5.4 Características laboratoriais.....	30
<b>6 DISCUSSÃO.....</b>	<b>33</b>
<b>7 CONCLUSÕES .....</b>	<b>39</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>40</b>
<b>ANEXOS.....</b>	<b>45</b>

# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 Erros Inatos do Metabolismo

Os erros inatos do metabolismo (EIM) são distúrbios de natureza genética, que geralmente correspondem a um defeito enzimático capaz de acarretar a interrupção de uma via metabólica, ocasionando falha de síntese, degradação, armazenamento ou transporte de moléculas no organismo. São doenças individualmente raras, porém coletivamente numerosas (Fernandes et al, 2006). A incidência isolada de cada distúrbio é pequena, pois em geral possuem herança autossômica recessiva. Quando contabilizados os dados dos cerca de 500 distúrbios conhecidos, a frequência se torna mais expressiva, aproximadamente 1/5000 nascidos vivos (Martins, 1999; Sanderson et al, 2006). O diagnóstico clínico muitas vezes é difícil devido a sua não suspeição, pela sobreposição significativa de sinais e sintomas inespecíficos e pela alta morbimortalidade.

As doenças metabólicas podem ser classificadas de forma fisiopatológica em 3 grupos: grupo I – doenças por acúmulo de metabólitos causando intoxicação, grupo II – doenças envolvendo o metabolismo energético e grupo III – doenças de moléculas complexas e organelas celulares (Fernandes et al., 2006).

Neste último grupo, os sintomas são permanentes, progressivos, independentes de intercorrências e sem relação com a ingestão de alimentos. Compreende todas as doenças de depósito lisossômico, doenças peroxissomais e as desordens do tráfico e processamento intracelular (como alterações da síntese do colesterol, deficiência de alfa-1-antitripsina, distúrbios congênitos de glicosilação) (Wilcox, 2004; Wang et al, 2011).

## 1.2 Doença de depósito Lisossomal

Os lisossomos são organelas celulares, com função de degradação de moléculas e reciclagem de outras organelas e componentes celulares envelhecidos, através da digestão intracelular. Possui cerca de 50 enzimas hidrolíticas (Junqueira e Carneiro, 2012).

As doenças de depósito lisossomal (DDL), ou também chamadas de doenças lisossomais de sobrecarga (DLS), formam um grupo de aproximadamente 50 doenças, causadas por defeitos genéticos nos lisossomos (Wang et al, 2011).

As etiologias das DDL são diversas, baseadas em alterações genéticas que podem gerar defeitos nas hidrolases, nos receptores, proteínas ativadoras de membrana e transportadores, causando acúmulo progressivo de substratos nos lisossomos, deteriorando a função celular e tecidual. Este acúmulo pode ter início antes do nascimento, causando danos progressivos, ou mesmo a morte prematura (Wang et al, 2011).

O tipo de substrato armazenado caracteriza os grupos de doenças, ou seja, mucopolissacaridoses, glicogenoses, oligossacaridoses, gangliosidoses, mucolipidoses, enfingolipidoses. O diagnóstico é baseado em testes que caracterizam a deficiência enzimática e/ou mutações genéticas. As DDL são doenças multissistêmicas, apresentando sinais e sintomas de acordo com alterações específicas nos lisossomos componentes de cada órgão ou tecido. Com isso, requerem uma abordagem multidisciplinar, envolvendo uma equipe no seu acompanhamento e tratamento. As terapias específicas para cada doença (se disponível, como reposição enzimática) são combinadas com medidas específicas para cada sinal ou sintoma (Wilcox, 2004; Wang et al, 2011).

### **1.2.1 Esfingolipidoses**

O subgrupo das DDL que caracterizam as esfingolipidoses compreendem doenças genéticas raras e hereditárias. Resultam de uma atividade lisossomal deficiente, caracterizada por acúmulo patológico de uma classe específica de lipídios em vários órgãos e tecidos de indivíduos afetados (Fernandes et al., 2006). Algumas células acumulam esfingolípides no citoplasma, devido a alterações enzimáticas na via de degradação. Estas enzimas são chamadas genericamente de hidrolases lisossômicas, presentes em níveis de atividade suficientemente elevados, e o acúmulo do substrato ocorre apenas quando a atividade residual está abaixo do limiar crítico de 10% da atividade enzimática normal. O substrato da enzima ausente ou defeituosa acumula-se dentro dos lisossomos, e, eventualmente, resulta em morte das células afetadas (Abbas et al., 2010). Tradicionalmente, este grupo inclui também doenças caracterizadas por alterações no tráfico de lipídios intracelular ou, mais comumente chamado de distúrbios no transporte de colesterol intracelular (Fernandes et al., 2006).

### **1.2.2 Distúrbios no transporte de colesterol intracelular**

Os distúrbios no transporte do colesterol intracelular compreendem um conjunto de doenças, nas quais o defeito pode ocorrer desde a absorção dietética do colesterol no intestino delgado, percorrendo todas as vias de transporte e controle de homeostasia intracelulares, até suas vias de excreção (Fernandes et al., 2006; Liscum, 2000).

A molécula de colesterol é uma substância essencial para compor a estrutura da membrana plasmática e de membranas de vesículas intracelulares, como os endossomos, lisossomos e complexo de Golgi (Liscum, 2000; Liscum et al., 1999, 1998).

O colesterol celular está em constantes transições, constituídas por ciclos que percorrem todo interior celular até a superfície da célula, sendo a maior quantidade de colesterol encontrada na membrana plasmática. Mamíferos sintetizam o colesterol no retículo endoplasmático. O

transporte do colesterol intracelular pode ser realizado por vias dependentes de vesículas ou vias independentes. Em geral, as células captam ésteres de colesterol ricos em lipoproteínas de baixa densidade (LDL) por endocitose. Estas partículas são hidrolisadas em endossomos tardios ou em lisossomos, através da enzima lipase ácida lisossomal (não só presente em lisossomos, mas também em compartimentos endocíticos anteriores) para posteriormente serem liberadas em colesterol livre, de forma rápida, para a membrana plasmática ou mesmo para o retículo endoplasmático. O complexo de Golgi parece fazer parte desta via complexa, porém ainda não elucidada (Liscum, 2000; Ikonen, 2006).

Os mecanismos e vias de saída do colesterol a partir dos circuitos de endocitose permanecem mal definidos. Duas proteínas, NPC1 e NPC2, parecem estar implicadas neste processo, e são as mutações encontradas na doença de Niemann Pick tipo C (Liscum, 2000; Liscum et al., 1999, 1998).

O mecanismo e as vias de transporte do colesterol intracelular não são totalmente compreendidos e elucidados. Até o momento, o progresso na compreensão do movimento intracelular de colesterol contou com estudos em modelos animais e em doenças raras com defeitos monogênicos, como a hipercolesterolemia familiar, doença de Wolman e doença de depósito de ésteres de colesterol (deficiência de lipase ácida lisossomal), doença de Niemann Pick tipo C, doença de Tangier e deficiência de lipoproteína de alta densidade (HDL) familiar, Sitosterolemia, Síndrome de Smith-Lemli-Opitz, Xantomatose Cerebrotendínea e defeitos da síntese de ácidos biliares, Hiperplasia adrenal lipoide congênita, hipobetalipoproteinemias, entre outras (Sokol, 1988; Yu et al., 2014; Vanier, 2015).

### **1.3 Doença de Niemann Pick**

Historicamente, a partir de trabalhos pioneiros do pediatra Albert Niemann e do patologista Ludwig Pick, na década de 1920, as patologias com armazenamento de lipídios em lisossomos foram originalmente agrupadas sob o epônimo de doença de Niemann-Pick (Vanier, 2010).

Em 1961, Allen C. Crocker classificou a doença em quatro tipos: A, B, C e D (Vanier 2010; Crocker e Mays, 1961). Clinicamente, ao tipo A foi atribuída a denominação forma clássica infantil, tipo B forma visceral, tipo C forma subaguda ou juvenil e tipo D variante Nova Escócia (Nova Escócia - variante em pessoas descendentes da Nova Escócia). Em 1966, Brady e colaboradores conseguiram demonstrar que os tipos A e tipo B eram deficientes em esfingomielinases, formando o grupo I; e os tipos C e D foram considerados como entidades indistinguíveis, compondo o grupo II (Vanier, 2010; Brady et al., 1966).

Apenas na década de 1980, o grupo II foi caracterizado como doença de depósito de colesterol, e através de novas pesquisas, os tipos C e D foram reclassificados como doença de distúrbio do tráfico de colesterol intracelular, envolvendo em especial a via de endocitose do colesterol (Pentchev et al, 1984 e 1985; Sokol et al., 1988; Liscum et al, 1989, Vanier, 2010).

As Doenças de Niemann-Pick, portanto, se compõem claramente em 2 grupos distintos: grupo I composto pelos tipos A, B e uma forma intermediária entre estes, caracterizada pela deficiência da enzima esfingomielinase ácida (devido a mutações no gene SMPD1); e tipo C, com alterações no tráfico de colesterol endocitado (devido a mutações nos genes NPC1 e NPC2). O tipo D permanece como uma entidade indistinta do tipo C (Vanier, 2010).

#### **1.4 Niemann pick tipo C**

Niemann-Pick tipo C (NPC) é um erro inato do metabolismo, classificado como doença de depósito lisossomal, ocasionado por alterações no tráfico de colesterol não esterificado, gerando acúmulo secundário de lipídeos em lisossomos e endossomos terminais (Sokol et al., 1988; Liscum, 2000; Vanier, 2003).

Decorre de alterações bialélicas nos genes NPC1 e NPC2, definindo uma doença autossômica recessiva, caracterizada por manifestações viscerais, neurológicas e psiquiátricas progressivas e irreversíveis, não necessariamente combinadas (Steinberg et al., 1994; Carstea et al., 1993 e 1997; Millat et al., 2001; Vanier et al., 1996; Mengel et al., 2013; Patterson et al., 2012).



NPC é uma desordem pan étnica, embora algumas mutações possam ocorrer com maior incidência em grupos étnicos definidos (Mengel et al., 2013; Winsor e Welch, 1978). A incidência da doença é estimada em 1:120.000 nascidos vivos, o que provavelmente representa uma amostra subestimada, devido à sua apresentação altamente variável (Vanier, 2010). A prevalência desta doença é difícil de ser estimada devido ao pouco reconhecimento clínico, associado a dificuldades nos testes laboratorial e molecular.

Em geral, a doença pode ter início na infância até idade adulta. Os pacientes podem ser normais nos primeiros anos de vida ou apresentarem uma forma visceral ao nascer, com os sintomas neurológicos, psiquiátricos e viscerais surgindo logo em seguida, ou anos após, de forma gradual e progressiva. As manifestações clínicas dos tipos NPC1 e NPC2 são semelhantes, os respectivos genes participam do mesmo processo metabólico e suas proteínas têm funções coadjuvantes em um caminho comum para o transporte de lipídios ainda pouco esclarecidos (Steinberg et al., 1994; Carstea et al., 1993 e 1997; Vanier, 2001 e 2010). A expressão fenotípica variável da doença é secundária ao depósito de colesterol não esterificado e glicosfingolipídeos em tecidos e órgãos, em especial no cérebro (Storch e Xu, 2009; Sleat et al., 2004; Vanier, 1983 e 1999).

Entre as principais organomegalias e sinais sistêmicos podemos citar: hepatomegalia, esplenomegalia e icterícia prolongada. A neurodegeneração, associada a distúrbios de comportamento e regressão cognitiva, inicia-se comumente com ataxia cerebelar, paralisia supranuclear do olhar vertical, distonia, disartria, cataplexia e sinais extrapiramidais. Os sintomas e a progressão da doença são influenciados pela idade de início das manifestações neurológicas, descrevendo diferentes formas clínicas: forma perinatal (menor de 3 meses), infantil precoce (3 meses a 2 anos), infantil tardia (maior de 2 anos a 6 anos), juvenil (maior de 6 anos a 15 anos) e forma adulta (maiores de 15 anos) (Vanier, 2003; Patterson et al., 2012; Wraith et al., 2009; Iturriaga, 2006).

O diagnóstico de NPC baseia-se na combinação de sinais e sintomas clínicos, biópsia de pele contendo fibroblastos do paciente, que demonstram o retardo da esterificação de lipoproteínas de baixa densidade (LDL) com uma técnica citoquímica (coloração de Filipin) e por teste genético molecular demonstrando as mutações nos genes NPC1 e NPC2 (Lyon et al., 2006). Aproximadamente 95% dos casos, são causados por mutações no gene NPC1, referido como o tipo C1; e 5% são causadas por mutações no gene NPC2, referido como o

tipo C2. Os fenótipos bioquímicos semelhantes observados nestes dois grupos sugerem que os produtos podem funcionar em conjunto ou sequencialmente numa via metabólica comum que afeta o transporte de colesterol intracelular (Vanier, 2003).

Os exames laboratoriais são inespecíficos, havendo alterações secundárias ao depósito de colesterol nos tecidos, podendo ocorrer como exemplo plaquetopenia e alterações de enzimas hepáticas, secundárias respectivamente à esplenomegalia e hepatomegalia. A atrofia cerebral pode surgir em exames de ressonância magnética de encéfalo com o progredir da doença, assim como alterações eletroencefalográficas, caracterizadas como epilepsia focal e encefalopatia inespecífica (Vanier, 1983 e 1999; Tedeschi, 1998; Battisti, 2003; Huang, 2011).

A doença de NPC não tem cura, a sua detecção precoce é essencial para que o tratamento com miglustato (Zavesca®), única terapia disponível e aprovada até o momento, seja iniciado tão logo possível, na tentativa de diminuir a progressão do dano neurológico (Mengel et al., 2013).

Apesar da grande quantidade de informações nos últimos anos a respeito do NPC, de suas peculiaridades, com sua heterogeneidade dos padrões clínicos observados, sugerindo que o número de casos seja subestimado, podemos estar mais alertas para a possibilidade desta doença. O atraso do diagnóstico, e consequentemente do tratamento, faz com que o risco de deficiências geradas pela doença aumente e o seu diagnóstico continue sendo desafiador.

A detecção precoce da doença é essencial para que terapias paliativas sejam iniciadas tão logo seja possível. Estas promovem o retardo da progressão do dano neurológico e a evolução implacável da doença, aumentando a expectativa de vida (Mengel et al 2013; Patterson et al., 2004).

## 2. JUSTIFICATIVA

As primeiras diretrizes internacionais para o manejo clínico de NPC em crianças e adultos, foram publicadas em 2009. Desde então, uma quantidade significativa de dados sobre a epidemiologia, diagnóstico e tratamento desta doença tem sido publicada (Pineda et al., 2010; Xiong et al., 2012; Piña-Aguilar et al., 2014; Jahnova et al., 2014; Lorenzoni et al., 2014; Abela et al., 2014; Fecarotta et al., 2015). Até o momento, pouca informação está disponível sobre a história natural das manifestações clínicas, em especial neurológicas. Os sinais e sintomas neurológicos tendem a ocorrer ao longo de um espectro contínuo, com a acumulação gradual de déficits neurológicos ao longo do tempo. No entanto, os dados específicos sobre a progressão das manifestações neurológicas cardinais em pacientes com NPC, em particular através da idade de início, são limitados (Vanier, 2010).

Através desta série de casos podemos fornecer uma descrição detalhada dos fenótipos dos pacientes deste serviço com diagnóstico de Niemann-Pick tipo C, incluindo a sua descrição genética. A coleta de dados clínicos também nos permite estabelecer a evolução cronológica e a gravidade da doença em suas diferentes formas.

No Brasil, a prevalência e incidência são desconhecidas. Estima-se que o número de casos de NPC seja subdiagnosticado. Assim, a compreensão clínica e epidemiológica da doença poderá gerar dados consistentes para o desenvolvimento de diagnóstico precoce e melhor aconselhamento genético.

Devido a raridade dos casos de NPC, associado às dificuldades de diagnóstico e acompanhamento dos mesmos, estudos são necessários para avaliar o impacto desta doença nos pacientes e em seus familiares.

### 3 OBJETIVOS

#### **Objetivo principal:**

Este trabalho tem por objetivo descrever as características fenotípicas e genotípicas dos pacientes com NPC, atendidos no Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto – USP, entre 2000 e 2014.

#### **Objetivos específicos:**

- Apontar dados demográficos: idade, sexo, etnia, procedência.
- Relatar as formas clínicas classificadas por idade.
- Descrever os sinais e sintomas neurológicos e psiquiátricos.
- Caracterizar os achados de Ressonância Magnética de Encéfalo e Ultrassonografia de Abdome.
- Identificar as mutações no gene NPC1.
- Expor os resultados do teste de filipin destes pacientes.
- Verificar o uso da terapia com Miglustat.

## **4 METODOLOGIA**

### **4.1 Desenho do estudo**

Para o presente estudo foi realizado uma busca de prontuários de pacientes atendidos no Ambulatório de Neurogenética, no período de 2000 a 2014, através dos CID (código internacional de doenças) de números E75.2 (outras esfingolipidoses), E75.3 (esfingolipidoses não especificadas), E75.6 (Distúrbio não específico do depósito de lípidos). Nesta pesquisa foram encontrados um total de 114 pacientes. Destes, foram selecionados 12 pacientes com diagnóstico genético molecular e/ou teste de filipin positivo/variante, que foram os critérios para inclusão. Da amostra selecionada foi realizado pesquisa observacional descritiva e retrospectiva, no período de junho a agosto de 2014.

### **Local da pesquisa**

A coleta dos dados foi realizada no SAME (Serviço de Arquivo Médico), localizado no Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto/USP.

### **Coleta dos dados**

As informações foram coletadas mediante utilização de instrumento padronizado (Anexo 1), com base em *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease* 8th edition. (2001), em busca de informações referentes a dados clínicos e epidemiológicos, de sua admissão até a data da última consulta.

## **4.2 Critérios de inclusão**

### **4.2.1 Diagnóstico molecular**

O diagnóstico genético molecular foi realizado através de parceria com a Universidade Rostock – Instituto Albrecht-Kossel-Institute for Neuroregeneration (AKos), sem custos para o presente estudo. Os genes NPC1 e NPC2 foram analisados através do DNA genômico através da amplificação por PCR e posterior sequenciamento direto de todos os exons codificantes. Todos os 12 pacientes realizaram o teste genético molecular.

### **4.2.2 O teste de Filipin**

O teste de Filipin é um biomarcador primário de NPC, demonstrando o prejuízo no transporte e homeostase do colesterol intracelular, realizado através da cultura de fibroblastos por biópsia de pele. Os fibroblastos são cultivados em meio de cultivo com soro deficiente em lipoproteína. Após confluência dos mesmos (em torno de 80%), são tratados, por 24 horas, com lipoproteína de baixa densidade (LDL). Posteriormente as células são fixadas e coradas com o corante Filipin (um composto que forma complexos específicos com colesterol não esterificado). O exame microscópico revela intensa fluorescência perinuclear, produzindo um padrão "clássico" de armazenamento, denominado filipin positivo (figura 1 A). Um padrão com fluorescência menos intensa, caracteriza um fenótipo bioquímico intermediário entre o teste positivo e o negativo, o filipin variante (figura 1 B). Todos os pacientes realizaram a biópsia de pele para o teste de filipin no HCFMRP/USP, estas amostras foram enviadas a Rede NPC Brasil, filiada ao Serviço de Genética Médica do Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

**Figura 1 A e B– Teste de Filipin**

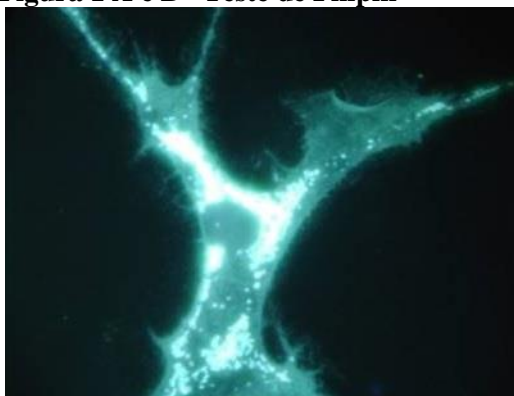


Figura 1A – Filipin Positivo

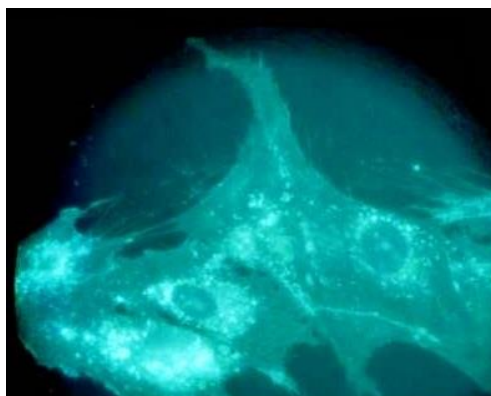


Figura 1B – Filipin Variante

(Gentileza da Dra Fernanda Timm Seabra Souza)

### 4.3 Variáveis do estudo

#### Variáveis sociodemográficas

- Sexo
- Município de procedência
- Idades (em anos) ao diagnóstico molecular
- Idades (em anos) no início dos sinais e sintomas clínicos, a partir das quais procedeu-se à descrição das formas clínicas identificadas, classificadas de acordo com Petterson e colaboradores, 2001
- Idade (em anos) no último retorno ambulatorial ou internação
- Idade (em anos) do óbito

#### Variáveis clínicas

- Primeiro sintoma da doença.
- Sinais e sintomas neurológicos e psiquiátricos: hipotonia neonatal, ataxia, distonia, disartria, disfagia, epilepsia, mioclonias, cataplexia, paralisia do olhar vertical, fraqueza

muscular, espasticidade, declínio cognitivo e demência, sintomas psicóticos, distúrbio de aprendizado, distúrbio de comportamento.

- Sinais e sintomas sistêmicos: hepatomegalia, esplenomegalia, icterícia prolongada e colestase.
- Marcos motores: sentou sem apoio; andou sem apoio; alcançou todos os marcos; não alcançou nenhum marco.
- Desenvolvimento da Linguagem: completo; com distúrbio de compreensão; somente distúrbio de fala.
- Exames de imagem: Ressonância de Encéfalo e Ressonância Abdominal.
- História familiar.
- História pregressa de doenças.

#### **4.4 Análise Estatística**

Realizado análise descritiva das características sociodemográficas e clínicas dos sujeitos selecionados através da plotagem de dados no programa Microsoft Excel 2010.

#### **4.5 Aspectos Éticos**

O projeto de pesquisa foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (HCFMRP-USP) através da Plataforma Brasil, com Certificado de Apresentação para Apreciação Ética (CAAE): 39788214.3.0000.5440. Não houve necessidade de Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). Os pesquisadores responsáveis comprometeram-se a garantir o anonimato dos sujeitos e o sigilo no manuseio das informações durante as fases de coleta e análise de dados, cumprindo os preceitos expressos na Resolução 466/12 do Código de Ética Médica.



## 5 RESULTADOS

### 5.1 Características gerais

Os resultados desta pesquisa são oriundos de um total de 114 prontuários médicos, selecionados pelo CID de números E75.2 (outras esfingolipidoses), E75.3 (esfingolipidoses não especificadas), E75.6 (Distúrbio não específico do depósito de lípidos). Feito revisão de 12 pacientes acompanhados no Ambulatório de Neurogenética – HCFMRP/USP, que se enquadraram nos critérios de inclusão propostos para a doença de Niemann Pick tipo C (Vanier, 2001), entre os anos de janeiro de 2000 a dezembro de 2014. Os indivíduos elegíveis eram compostos por 7 mulheres (83,3%) e 5 (16,7%) homens, estes apresentavam idade entre 1 e 42 anos em 2014. A composição por raças apresentou-se com 83,3% da amostra composta por brancos e 16,7% mulatos. A procedência dos pacientes se restringia a 3 estados brasileiros: São Paulo (83,4%), Mato Grosso do Sul (8,3%) e Minas Gerais (8,3%). As pacientes 6 e 7 são irmãs. Dois pacientes possuem comorbidades: a paciente 4 é portadora de artrite reumatóide e o paciente 12 nefrolitíase.

As formas clínicas de acordo com Patterson e colaboradores (2001) identificadas na presente amostra foram infantil em 6 casos (50%), juvenil em 2 (16,6%) e adulto em 4 (33,2%), nesta amostra não observamos a forma perinatal. Na Tabela 1, estão contidos dados referentes às características gerais das pacientes.

**Tabela 1 – Distribuição dos 12 indivíduos segundo sexo, idade, raça, naturalidade e classificação clínica.**

Variável		
Sexo		
<b>Masculino</b>	N(%)	5 (41,7)
<b>Feminino</b>	N(%)	7 (58,3)
<b>Idade em anos no primeiro atendimento Média (variação)</b>		20 ( 2 a 42)
Raça N(%)		
<b>Branco</b>		10 (8,3)
<b>Não branca (mulatos)</b>		2 (1,6)
Naturalidade N(%)		
<b>São Paulo</b>		10 (83)
<b>Mato grosso do Sul</b>		1(8,3)
<b>Minas Gerais</b>		1(8,3)
Classificação Clínica N(%)		
<b>Perinatal (&lt; 3meses)</b>		0
<b>Infantil precoce (3meses a 2anos)</b>		1 (8,3)
<b>Infantil tardio (&gt;2anos a 6anos)</b>		5 (41,6)
<b>Juvenil (&gt;6anos a 15anos)</b>		4 (33,2)
<b>Adulto (&gt; de 15anos)</b>		2 (16,6)

## 5.2 Características clínicas

Os achados clínicos podem ser divididos em viscerais e neurológicos. Dentre os achados viscerais, apenas dois pacientes encontravam-se assintomáticos, as pacientes 1 e 8. As demais pacientes apresentaram de um a três sinais patológicos. A icterícia prolongada/colestase esteve presente em 41,7% dos pacientes, com início do sintoma variando do nascimento até o segundo mês de vida. A hepatomegalia presente em 66,7% e a esplenomegalia em 83,3% da amostra, tiveram um início que variou do primeiro dia de

vida até a segunda década (média de 11 e 10 anos respectivamente). Não houve relato de apresentação de hidropsia fetal nesta amostra.

Os sinais e sintomas neurológicos estavam presentes em 100% da amostra. A idade de início dos primeiros sintomas neurológicos variou entre 1 a 27 anos, com uma média de 14 anos. Todos os pacientes tinham paralisia do olhar vertical. As outras características clínicas incluíram o seguinte: ataxia/quedas (91,7%), epilepsia (66,7%), mioclonias (25%), distonia (75%), disartria (91,7%), disfagia (91,7%), fraqueza muscular (50%), espasticidade (83,3%), declínio cognitivo/demência (83,3%), sintomas psicóticos (16,7%), atraso escolar (66,7%), distúrbio de comportamento (58,3%), cataplexia gelástica (8,3%) e hipotonia neonatal (16,7%). Com relação ao neurodesenvolvimento motor, apenas dois pacientes apresentaram atraso dos marcos, as pacientes 2 e 11 não apresentaram marcha independente. Ambas apresentaram distúrbio de linguagem, relatados como distúrbio de compreensão.

A Tabela 2 apresenta as alterações viscerais e neurológicas, conforme idade média de início do sinal ou sintoma, a idade mínima e máxima que estes achados surgiram e sua porcentagem de pacientes afetadas. Nenhum apresentou hidropsia fetal. A idade de diagnóstico variou de 0 a 41 anos, com uma média de 14,5 anos. Houve dois casos com hipotonia neonatal. Houve um óbito por insuficiência respiratória aguda.

**Tabela 2 – Idades por ocasião do diagnóstico de alterações viscerais e neurológicas.**

<b>Alterações Viscerais e Neurológicas</b>	<b>Idade média</b>	<b>Idade mínima</b>	<b>Idade máxima</b>	<b>N ( % afetados)</b>
<b>Viscerais</b>				
Icterícia prolongada / colestase	2 meses	1 mês	3 meses	5 (41,7)
Hepatomegalia	11 anos	2 meses	22 anos	8 (66,7)
Esplenomegalia	10 anos	Ao nascer	20 anos	10 (83,3)
<b>Neurológico (idades em anos)</b>				
Primeiro sintoma neurológico	14	1	27	12 (100)
Ataxia / quedas	14,5	2	27	11 (91,7)
Epilepsia	14	1	27	8 (66,7)
Mioclonias	14	6	22	3 (25)
Distonia	20,5	2	39	9 (75)
Disartria	14,5	2	27	11 (91,7)
Disfagia	15	3	27	11 (91,7)
Paralisia do olhar vertical	21	3	39	12 (100)
Fraqueza muscular	21,5	4	39	6 (50)
Espasticidade	21	3	39	10 (83,3)
Declínio cognitivo/ demência	21	3	39	10 (83,3)
Sintomas psicóticos	18,5	17	20	2 (16,7)
Atraso escolar	12,5	5	20	8 (66,7)
Distúrbio de comportamento	15	3	27	7 (58,3)
Cataplexia gelástica	4	4	4	1 (8,3)

O tempo entre a idade do primeiro sintoma neurológico e o diagnóstico da doença variou de 0 a 14 anos, com um tempo médio de 5,3 anos. O tratamento com N-butyldeoxynojirimycin (Miglustat) foi realizado por todos os pacientes, com início do tratamento variando entre 1 e 42 anos, o tempo entre o diagnóstico e o início da medicação variou de 0 a 9 anos, com uma média de 2,9 anos. Houve relato de quatro pacientes em uso irregular de 2 hidroxipropil-beta-ciclodextrina de forma intravenosa como forma de tratamento específica para a doença. Na Tabela 3 são apresentadas as idades ao diagnóstico e início de tratamento.

Tabela 3 – Idades ao diagnóstico e início do tratamento

Pacientes	Idade do diagnóstico	Primeiro sintoma neurológico	Tempo para diagnóstico	Início do tratamento	Idade no último retorno	Intervalo sem Tratamento
1	28 anos	16 anos	12 anos	31 anos	32 anos	3 anos
2	11 meses	4 meses	7 meses	2 anos	2 anos	13 meses
3	24 anos	15 anos	9 anos	24 anos	28 anos	0
4	21 anos	15 anos	6 anos	22 anos	26 anos	1 ano
5	6 meses	3 anos	*	8 anos	12 anos	7 anos e 6 meses
6	13 anos	6 anos	7 anos	16 anos	19 anos	3 anos
7	10 anos	6 anos	4 anos	13 anos	16 anos	3 anos
8	41 anos	27 anos	14 anos	42 anos	42 anos	1 ano
9	10 anos	7 anos	3 anos	19 anos	23 anos	9 anos
10	13 anos	11 anos	2 anos	18 anos	19 anos	5 anos
11	1 ano	1 ano	*	2 anos	7anos	1 ano
12	13 anos	6 anos	7 anos	13 anos	17 anos	0
<b>Média</b>	14,6 anos	9,5 anos	5,4 anos	17,4 anos	20 anos	2,9 anos

\* diagnóstico antes ou ao mesmo tempo do início do sintoma neurológico.

### 5.3 Características da forma de apresentação clínica

As formas clínicas são definidas segundo Patterson e colaboradores (2001) como: perinatal (até a idade de 2 meses), infantil subdividida em precoce (3 meses a 2 anos de idade) e tardia (>2-6 anos de idade), juvenil (>6-12 anos de idade) e adolescente/adulto (> 12 anos de idade).

#### 5.3.1 Forma Adulta

A forma adulta esta representada pelas pacientes 1 e 8, ambas do sexo feminino, com o primeiro sintoma neurológico iniciado aos 16 e 27 anos respectivamente. As apresentações viscerais não estavam presentes nesta forma clinica. Neste grupo não houve apresentação dos seguintes sinais/sintomas neurológicos: mioclonia, sintomas psicóticos, atraso escolar e cataplexia gelástica. Os sintomas neurológicos e sua respectiva idade de inicio estão apresentadas na tabela 4.

### **5.3.2 Forma Juvenil**

A forma juvenil era composta por 4 pacientes: os pacientes 3, 4, 9 e 10; com uma paciente (paciente 4) do sexo feminino e os outros 3 masculinos. Dentre os sinais e sintomas viscerais, a icterícia prolongada/colestase estava presente em 50% deste grupo, a hepatomegalia em 75% e a esplenomegalia em 100%. A idade de início dos sintomas neurológicos variou de 7 a 15 anos, com atraso escolar como manifestação inicial em todos, com uma média de idade de 12 anos. Nenhum paciente apresentou cataplexia gelástica. Os sintomas neurológicos e sua respectiva idade de início estão representadas na tabela 4.

### **5.3.3 Forma Infantil Precoce e Tardia**

A forma infantil era composta por seis pacientes: os pacientes 2, 5, 6, 7, 11 e 12; um forma precoce e cinco tardia, com dois pacientes do sexo masculino e quatro do sexo feminino, . Dentre os sinais e sintomas viscerais, a icterícia prolongada/colestase estava presente em 50% dos pacientes deste grupo, a hepatomegalia em 83,3% e a esplenomegalia em 100%. A idade de início dos sintomas neurológicos variou de 1 a 6 anos, com uma média de idade de 3,8 anos. Não houve apresentação de sintomas psicóticos nesta amostra. Os sintomas neurológicos e sua respectiva idade de início estão representadas na tabela 4.

**Tabela 4 – Idade de diagnóstico em anos do início dos sinais e sintomas neurológicos e psiquiátricos em cada forma clínica.**

Paciente nº	Forma Infantil											
	Forma Adulta		Forma Juvenil				precoce		tardia			
	1	8	3	4	9	10	2	11	5	6	7	12
Primeiro sintoma neurológico	16	27	15	15	7	11	1	1	3	6	6	6
Ataxia / quedas	16	27	17	18	9	12	2	-	4	6	12	6
Epilepsia	-	27	16	-	13	17	-	1	4	-	16	6
Mioclonias	-	-	-	-	22	-	-	-	6	-	-	8
Distonia	18	39	23	23	19	17	2	-	-	15	-	8
Disartria	24	27	22	20	10	13	2	-	3	6	13	8
Disfagia	24	27	21	20	14	13	3	-	4	9	14	15
Paralisia do olhar vertical	24	39	23	18	10	17	3	3	4	12	12	12
Fraqueza muscular	30	39	25	-	16	-	-	4	4	-	-	-
Espasticidade	30	39	23	24	16	13	3	4	4	-	-	13
Declínio cognitivo/ demência	-	39	16	20	12	17	3	-	5	-	6	14
Sintomas psicóticos	-	-	17	20	-	-	-	-	-	-	-	-
Atraso escolar	-	-	S	S	S	S	-	-	S	S	S	S
Distúrbio de comportamento	-	27	17	16	-	-	-	-	3	20	15	14
Cataplexia gelástica	-	-	-	-	-	-	-	4	-	-	-	-

#### 5.4 Características laboratoriais

O teste genético molecular foi realizado para todos os pacientes, entretanto a paciente 8 não possuía o resultado até a finalização deste trabalho. Em oito pacientes (66,7%) estava presente a mutação c. (3104C>T), destes, quatro pacientes apresentaram a mutação em homozigose c.(3104C>T) / c.(3104C>T) e quatro em heterozigose, com as seguintes mutações c.(3104C>T) / c.(1114C>T), c.(3104C>T) / c.2246\_2293del48, c.(3104C>T) / c.(3182T>C), c.(3104C>T) / c.1990G>A. Os outros três pacientes apresentaram mutações diferentes em homozigose, sendo elas c.3548G>A, c.(3493G>A) e c.3019C>G.

O teste de Filipin demonstrou em 6 pacientes (50%) o resultado positivo e em outros 6 pacientes (50%) o resultado variante. A tabela 5 descreve os pacientes com seus respectivos resultados do genótipo e teste de Filipin.

**Tabela 5 - Características laboratoriais - Genótipo e Teste de Filipin**

Pacientes	Genótipo		Teste de Filipin	
1	c.3548G>A	c.3548G>A	p.R1183H	variante
2	c.(3104C>T)	c.(3104C>T)	p.A1035V	positivo
3	c.(3493G>A)	c.(3493G>A)	p.V1165M	variante
4	c.(3104C>T)	c.(1114C>T)	p.R372W / p.A1035V	positivo
5	c.(3104C>T)	c.(3182T>C)	p.A1035V / p.I1061T	variante
6	c.(3104C>T)	c.(3104C>T)	p.A1035V	positivo
7	c.(3104C>T)	c.(3104C>T)	p.A1035V	positivo
8	*	*	*	variante
9	c.3019C>G	c.3019C>G	p.1007 <sup>a</sup>	variante
10	c.3104C>T	c.2246_2293del48	p.A1035V / p.Gly749_Ala764del	variante
11	c.(3104C>T)	c.(3104C>T)	p.A1035V	positivo
12	c.(3104C>T)	c.1990G>A	p.A1035V / p.Val1664Met	positivo

\*em processamento até a data da coleta de dados.

Com relação aos exames de imagem, apenas a paciente 8 não apresentou alteração na ressonância magnética de encéfalo e na ultrassonografia de abdome. A ressonância magnética de encéfalo demonstrou 3 padrões de alteração: atrofia cerebral, atrofia cerebelar e desmielinização. Quatro pacientes apresentaram apenas uma alteração neste exame, correspondendo a 33% da amostra, destes, dois apresentaram apenas desmielinização e outros dois pacientes atrofia cerebelar. A maioria (42%) apresentou duas alterações, sendo dois pacientes com atrofia cerebral e cerebelar, dois pacientes com desmielinização e atrofia cerebral, e um paciente com desmielinização e atrofia cerebelar. Dois pacientes demonstraram as três alterações neste exame, correspondendo a 17% da amostra. De acordo com o padrão de alteração, a desmielinização e a atrofia cerebelar estavam presentes em 7 pacientes (58,3%), e a atrofia cerebral em 6 pacientes 50%. A tabela 6 ilustra estes dados. A ultrassonografia de Abdome demonstrou três padrões de alterações: hepatomegalia (8% dos pacientes), esplenomegalia (17%) e Hepatoesplenomegalia (67%). A tabela 6 ilustra estes dados.



**Tabela 6 – Características da Ressonância de Encéfalo e Ultrassonografia de Abdome.**

<b>Exames / Pacientes</b>	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
<b>Ressonância Magnética encefálica</b>												
Desmielinização	+		+	+	+				+		+	+
Atrofia cerebral	+	+	+		+	+			+			+
Atrofia cerebelar		+		+	+	+	+			+		+
<b>Ultrassonografia Abdominal</b>												
Hepatomegalia	+	+	+	+	+		+		+		+	+
Esplenomegalia	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+	+

## 6 DISCUSSÃO

O estudo das características fenotípicas e genotípicas de portadores de NPC, através da revisão de prontuários, de uma amostra brasileira de pacientes acompanhados no ambulatório de Neurogenética do Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto / USP, constitui um passo importante para o reconhecimento precoce e possibilidades de diagnóstico e manejo terapêutico deste grupo subdiagnosticado de doença em todo o mundo (Vanier, 2010). Nesse contexto, todas as evidências encontradas no acompanhamento clínico destes pacientes podem gerar subsídios relevantes para o entendimento desta patologia.

A avaliação das características clínicas e laboratoriais dos 12 pacientes com NPC, no período de 2000 a 2014, não reflete a verdadeira demanda desta doença na população. A quantidade é ínfima quando comparado com a incidência mínima estimada de 1:120.000 (Vanier, 2010); porém, este trabalho é comparável com os que apresentam casuísticas, publicados na base de dados PUBMED, no período de 2000 a 2015; nos quais também ocorrem pequenas amostras, devido aos poucos casos diagnosticados (Pineda et al., 2010; Xiong et al, 2012; Piña-Aguilar et al., 2014; Jahnova et al., 2014; Lorenzoni et al., 2014; Abela et al., 2014; Fecarotta et al., 2015).

O início das manifestações neurológicas é utilizado para categorização dos pacientes em cinco formas clínicas, que variam do período perinatal até a idade adulta, conforme classificação estabelecida por Patterson e colaboradores em 2001.

A presente amostra pode ser incluída em 4 dessas formas clínicas, sendo ausente a forma perinatal provavelmente pela dificuldade diagnóstica nestes pacientes, pois não apresentam sintomas neurológicos nesta idade, o que é importante para o diagnóstico diferencial. Nestes casos, a maioria são identificados de acordo com a história familiar. O predomínio das formas infantil e juvenil contando com mais de 80% da nossa amostra (10 pacientes), é comparável com diversos estudos publicados. (Pineda et al., 2010; Xiong et al, 2012; Piña-Aguilar et al., 2014; Jahnova et al., 2014; Lorenzoni et al., 2014; Abela et al., 2014; Fecarotta et al., 2015)

A apresentação clínica clássica de NPC em geral é produto de uma gravidez normal, e cerca de metade destas crianças têm icterícia neonatal transitória, o que ocorreu com nossa amostra, onde 41,7% (5 pacientes) dos casos apresentaram este sinal. O desenvolvimento na primeira infância é geralmente normal, exceto nas formas perinatal e infantil precoce. A criança pode apresentar dificuldade escolar, com uma demência lentamente progressiva, associado a um quadro de quedas frequentes e falta de jeito, com evolução para disfagia e disartria contribuindo com aumento dos problemas educacionais. Em oito pacientes foi relatado um quadro de transtorno escolar, sendo que quatro destes manifestaram tais sintomas como quadro neurológico inicial, tornando este sintoma importante. A cataplexia gelástica, pode aparecer mesmo antes dos 2 anos, porém mais comum na idade escolar, sendo importante sinal da doença quando associada a outros sintomas neurológicos como a paralisia do olhar vertical. Relatamos um caso único de cataplexia gelástica; este sinal é raro, provavelmente por ser confundido com quedas e/ou secundário a ataxia cerebelar. (Mengel 2013, Kandt et al 1982, Oyama et al 2006)

A paralisia do olhar vertical, ao lado da cataplexia gelástica, é um forte preditor de NPC, tornando se evidente em nosso estudo, pois foi o único sinal neurológico presente em 100% da amostra. (Mengel 2013, Wijburg 2012)

A ataxia cerebelar, em conjunto com a disfagia e a disartria, formaram o segundo quadro mais comum da nossa amostra, presente em 91,7% dos pacientes. Segundo Mengel et al (2013), a ataxia cerebelar é um indicador moderado da doença, porém em associação com outros sintomas torna-se fortemente sugestiva de NPC, especialmente quando associada a disfagia, disartria e distonia. A ataxia geralmente aparece após a distonia, e em pacientes com apresentação clínica infantil e juvenil pode ocorrer o inverso; na nossa casuística todos os pacientes com estes sinais, desenvolveram a ataxia antes da distonia, nas três formas clínicas infantil, juvenil e adulta.

A epilepsia focal ou generalizada pode ter início desde a infância ou mais tardiamente, sendo um dos sintomas de gravidade da doença, e de acordo com Vanier (2010) é comum na forma infantil e juvenil, conforme nossos casos; e rara na forma adulta, sendo nosso grupo adulto composto por apenas 2 pacientes e destes, um apresenta epilepsia; sendo assim, não podemos gerar conclusões acerca deste sintoma e sua expressividade nesta forma.

A mioclonia relatada em três pacientes não está caracterizada clínica e neurofisiologicamente. As contrações mioclônicas não são típicas de NPC, havendo poucos relatos deste sintoma na literatura, provavelmente por estar descrita como epilepsia ou distúrbio de movimento. (Anheim 2014, Bour 2014, Canafoglia 2006)

A progressão da doença se caracteriza por uma crescente incapacidade física, evidenciada pela fraqueza muscular e/ou espasticidade, ocasionando o atraso ou perda dos marcos do desenvolvimento. Associado a este quadro, o declínio intelectual progride através do final da infância e início da adolescência, afastando a criança da escola. Os distúrbios psiquiátricos podem coincidir com o início da puberdade (Patterson 2001). O declínio cognitivo foi mais evidente do que os sintomas psiquiátricos em nossa casuística, ficando o último reservado apenas a dois pacientes da forma juvenil, provavelmente pela dificuldade de relato do quadro que caracterizam a ambos, sintomas psicóticos e distúrbio de comportamento.

Os sintomas viscerais característicos da doença podem ser resumidos em: esplenomegalia, hepatomegalia, icterícia/colestase prolongada, hidropsia fetal e patologia pulmonar.

O aumento do fígado ou do baço é frequentemente detectado pela primeira vez no início da infância e normalmente regride ao longo do tempo. Desta amostra, os dois pacientes que não apresentam esplenomegalia e hepatomegalia estão classificados como forma adulta, não sendo possível avaliar se nunca apresentaram ou regrediram com o tempo a visceromegalia, ou ainda se fazem parte dos 10% de pacientes, onde a hepatoesplenomegalia nunca é detectada (Patterson 2001, Mengel 2013, Patterson 2012). Em todos os nossos casos, a esplenomegalia surgiu antes ou de forma simultânea a hepatomegalia; sendo a esplenomegalia mais comum e iniciada no primeiro ano de vida; de forma semelhante a relatos de Mengel e colaboradores (2013).

Uma história de icterícia e/ou colestase prolongada é um forte preditor visceral de NPC, observada frequentemente na forma infantil (Wijburg 2012, Mengel 2013, Imrie et al 2001, Kelly DA et al 1993), sendo relatada em nosso estudo nas formas infantil e juvenil, em menos da metade da amostra (5 pacientes).

A hidropsia fetal é considerada informação auxiliar para o diagnóstico de NPC, já que os pacientes não apresentam esta patologia. Em nossa série não houve relato de casos de hidropsia fetal em familiares dos pacientes descritos.

Neste estudo não coletamos dados sobre a patologia pulmonar por estar ausente os exames que a comprovem ou mesmo relato médico em prontuário, gerando um déficit considerável no trabalho.

A morte nesta patologia geralmente ocorre por complicações pulmonares decorrentes de um conjunto de distúrbios tanto neurológicos como pulmonares, e ocorre comumente na adolescência ou início da idade adulta. Dos doze pacientes, apenas um foi a óbito, por insuficiência respiratória aguda.

O diagnóstico de NPC é considerado um desafio para os médicos, devido à falta de biomarcadores específicos e pela sua heterogeneidade clínica. Todos os nossos pacientes realizaram o teste de Filipin, considerado até o momento “padrão ouro” para o diagnóstico da doença (Pentchev et al. 1985; Vanier et al. 1991; Wraith et al. 2009; Vanier, 2010). Segundo ROFF et al (1992), o teste é bem específico, porém há uma porcentagem considerável de pacientes com quadro clínico compatível com NPC e resultado do teste de filipin variante, tornando problemático a confirmação da doença, sendo necessário o teste genético. Nossos pacientes apresentaram ambas as formas do teste de Filipin, clássica e variante, em números iguais (6 pacientes de cada), não havendo correlação com gravidade clínica, forma clínica classificada ou tipo de mutação no teste genético.

O diagnóstico laboratorial desta enfermidade tem sido alvo de recentes estudos publicados, pois o uso de testes como a coloração de Filipin apresenta limitações importantes, como a laboriosa biópsia de pele, a necessidade de pessoal especializado em sua técnica, um intensivo trabalho de cultivo de fibroblastos e a interpretação subjetiva do exame, além de consumir demasiado tempo de preparo (Jahnova et al 2014). Novos testes bioquímicos para triagem como dosagem da enzima de quitotriiosidase (QT), oxiesteróis plasmáticos, lisoesfingolipídios plasmáticos e ácidos biliares urinário vem apresentando resultados promissores, com testes menos invasivos e potencial custo benefício, quando comparados com os métodos tradicionais. Atualmente, no entanto, há poucos dados quanto à

sensibilidade e especificidade desses marcadores, sendo necessário maiores investigações (Apostolos et al 2016).

No Brasil, a disponibilidade de testes genéticos ainda é limitada, tanto pelo alto custo como pela dificuldade técnica. Este estudo contou com uma parceria realizada com a Universidade Rostock – Instituto Albrecht-Kossel-Institute for Neuroregeneration (AKos), sem custos. As mutações encontradas nos genes NPC1 e NPC2, que definem a doença, são herdadas de forma autossômica recessiva, encontradas em 95% no gene NPC1 e 4% no gene NPC2, sendo o restante bioquimicamente comprovado, porém com ausência de mutações identificadas (Millat et al 2001, Wraith et al 2009, Patterson et al 2012).

Neste estudo descrevemos uma paciente, classificada como forma adulta, com testes bioquímicos positivos para a doença, porém, até a finalização deste trabalho, não haviam encontrado mutações definidas como patogênicas. Os demais pacientes apresentam apenas mutações no gene NPC1, que apresenta mais de 300 mutações patogênicas relatadas até o momento. (McKay 2014) A mutação c.3182T>C (p.I1061T), presente em aproximadamente 20% dos europeus ocidentais e descendentes hispano americanos, caracterizando se como a mais comum, foi encontrada em um paciente da nossa amostra (paciente 5). (McKay et al 2014, Vanier 2010, Fernandez 2005, Millat 2005, Ribeiro 2001) A mutação mais frequente do nosso grupo foi a c.3104C>T (p.A1035V), encontrada em oito pacientes, presente em diferentes formas clínicas, não contribuindo assim para relacionar fenótipo com genótipo neste estudo. Os pacientes 1 e 3 apresentam as mutações c.3548G>A (p.R1183H) e c.3493G>A (p.Val1165Met), de significado incerto na literatura até a presente data. A mutação c.2974G>T (p.G992W) descrita na coorte Nova-Escócia, que antes da identificação genética caracterizava o distúrbio de Niemann Pick tipo D (Greer 1998), já foi encontrada em pacientes com outras origens étnicas; sendo ausente em nossa casuística. O teste genético é fundamental no processo de investigação de NPC, a identificação de dois alelos mutantes causadores da doença nos genes NPC1 ou NPC2, atualmente é considerado prova definitiva do diagnóstico de NPC. (Patterson et al 2012; Vanier e Latour de 2015)

Recentemente, o sequenciamento de ambos os genes, NPC1 e NPC2, estão mais disponíveis, sendo parte da rotina diagnóstica primária de muitos serviços [Apostolos 2016, Patterson et al 2012; Bauer et al 2013]. O uso e aperfeiçoamento das técnicas de sequenciamento gênico podem ajudar a reduzir os custos associados aos testes genéticos.

Os exames de imagem, como a ultrassonografia de abdome e o eletroencefalograma, são utilizados como auxiliares no diagnóstico ou como forma de acompanhamento clínico, porém não trazem dados específicos da doença. Com relação a ressonância magnética (RM) de encéfalo, foram encontrados três padrões de alteração: atrofia cerebral, atrofia cerebelar e desmielinização. Não há grandes relatos sobre as características da ressonância magnética de encéfalo de pacientes com NPC. Nossa amostra se comportou de forma semelhante aos achados de Tedeschi et al (1998), que por sua vez correlacionou de forma significativa a atrofia cerebral com um escore clínico. A RM de encéfalo pode ainda proporcionar um método não invasivo de informações sobre o metabolismo do cérebro, através da técnica de espectroscopia de emissão de prótons. Nossos pacientes não realizaram esta técnica, não havendo dados para avaliação e comparação. (Huang et al 2011, Battisti et al 2003, Tedeschi et al 1998)

Na ausência da cura, o manejo terapêutico baseia-se no tratamento multidisciplinar, focando os sinais e sintomas tanto viscerais como neurológicos, com o objetivo de deter a progressão da doença, através de estratégias similares a outras doenças neurodegenerativas. Apostolos e colaboradores (2016) descrevem de forma atualizada dois tratamentos específicos que estão sendo usados em pacientes com NPC: a terapia de redução de substrato com N-butyldeoxynojirimycin (Miglustat) e o aminoácido modificado Acetyl-DL-leucine. Ambos aprovados para uso na União Europeia e alguns outros países. Todos os nossos pacientes fazem uso da terapia de redução de substrato, não licenciada no Brasil pela Anvisa até o momento de conclusão deste estudo, desde 2010. Com isso, a avaliação de mortalidade e morbidade, assim como os efeitos do medicamento nestes pacientes, estão alteradas no seu curso natural, e não foram objetos de estudo deste trabalho.

Observamos também, o uso de 2-hidroxi-propil-beta-ciclodextrina (2HPBC), com aplicações intravenosas semanais, de forma irregular e sem relato da dose, em quatro pacientes, desde o ano de 2014. Estudos em cobaias tem apresentado efeitos benéficos com o uso da 2HPBC, e por não serem tóxicas, seu uso em seres humanos tem sido publicado como relatos de caso, com resultados de melhora da hepatopatia e retardando a neurodegeneração. (Liu, 2012; Matsuo, 2013; Garcia-Robles, 2016)

## 7 CONCLUSÕES

As manifestações clínicas, viscerais e neuropsiquiátricas, em pacientes com NPC são extremamente variáveis, mesmo em membros da mesma família. Há poucas séries publicadas, todas com amostra limitada. No Brasil, sua prevalência e incidência são desconhecidas, e esta é a maior série estudada no país numa mesma instituição. Este trabalho agrega dados à escassa literatura sobre a doença, e seus resultados mostram-se semelhantes a outras séries descritas.

Diante da sua raridade, associado às dificuldades de diagnóstico e acompanhamento dos mesmos, faz-se necessário para evolução do manejo clínico de crianças e adultos com NPC, uma coleta significativa e contínua de dados sobre a epidemiologia, fenótipo, genótipo e a evolução da doença.

A detecção precoce da doença é essencial para que terapias paliativas sejam iniciadas tão logo seja possível, promovendo o retardo da progressão do dano neurológico e a evolução implacável da doença, aumentando a expectativa de vida dos pacientes.



## REFERÊNCIAS

Abbas AK, Fausto N, Kumar V. Robbins & Cotran: Patologia - Bases Patológicas das Doenças, 8ª ed, Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 2010, 712 páginas.

Abela L, Plecko B, Palla A et al. Early co-occurrence of a neurologic-psychiatric disease pattern in Niemann-Pick type C disease: a retrospective Swiss cohort study. *Orphanet J Rare Dis.* 2014, Nov; 9(176): 1-9.

Battisti C, Tarugi P, Dotti MT et al. Adult onset Niemann-Pick type C disease: A clinical, neuroimaging and molecular genetic study. *Mov Disord.* 2003, Nov;18(11):1405-9.

Brady RO, Kanfer JN, Mock MB et al. The metabolism of sphingomyelin. II. Evidence of an enzymatic deficiency in Niemann-Pick disease. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1966, Feb; 55(2):366-369.

Carstea ED, Polymeropoulos MH, Parker CC, et al. Linkage of Niemann-Pick disease type C to human chromosome 18. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1993, Mar;90(5):2002-4.

Carstea, ED, Morris, JA, Coleman, KG et al. Niemann-Pick C1 disease gene: homology to mediators of cholesterol homeostasis. *Science.* 1997, Jul; 277(5323): 228-231.

Crocker AC, Mays VB: Sphingomyelin synthesis in Niemann-Pick disease. *Am J Clin Nutr.* 1961, Jan-Feb; 9:63-7.

Fecarotta S, Romano A, Della Casa R et al. Long term follow-up to evaluate the efficacy of miglustat treatment in Italian patients with Niemann-Pick disease type C. *Orphanet J Rare Dis.* 2015, Feb; 27:10-22.

Fernandes J, Saudubray JM, Berghe G, Walter JH. *Inborn Metabolic Diseases: Diagnosis and Treatment.* 4th ed. Germany: Springer; 2006. 561p.

Garcia-Robles AA, Company-Albir MJ, Megías-Vericat JE et al. Use of 2 hydroxypropyl-beta-cyclodextrin therapy in two adult Niemann Pick Type C patients. *J Neurol Sci.* 2016, Jul; 15(366):65-7.

Harzer K, Kustermann-Kuhn B. Quantified increases of cholesterol, total lipid and globotriaosylceramide in filipin-positive Niemann-Pick type C fibroblasts. *Clin Chim Acta*. 2001, Mar;305(1-2):65-73.

Huang JY, Peng SF, Yang CC et al. Neuroimaging findings in a brain with Niemann-Pick type C disease. *J Formos Med Assoc*. 2011, Aug;110(8):537-42.

Ikonen E. Mechanisms for Cellular Cholesterol Transport: Defects and Human Disease. *Physiol Ver*. 2006, Oct; 86(4):1237-1261.

Iturriaga C, Pineda M, Fernandez-Valero EM et al. Niemann–Pick C disease in Spain: clinical spectrum and development of a disability scale. *J Neurol Sci*. 2006, Nov; 249(1):1–6.

Jahnova H, Dvorakova L, Vlaskova H et al. Observational, retrospective study of a large cohort of patients with Niemann-Pick disease type C in the Czech Republic: a surprisingly stable diagnostic rate spanning almost 40 years. *Orphanet J Rare Dis*. 2014, Sep; 9(140):1-16.

Junqueira LC, Carneiro J. *Biologia Celular e Molecular*. 9ª Edição. Editora Guanabara Koogan, 2012, 338 páginas.

Liscum L, Munn NJ. Intracellular cholesterol transport. *Biochim Biophys Acta*. 1999, Apr;1438(1): 19–37.

Liscum L, Ruggiero RM, Faust JR: The intracellular transport of low density lipoprotein-derived cholesterol is defective in Niemann-Pick type C fibroblasts. *J Cell Biol*. 1989, May; 108(5):1625-1636

Liscum L. Niemann-Pick Type C Mutations cause lipid traffic jam. *Traffic*. 2000, Mar;1(3):218-25.

Liu B. Therapeutic potential of cyclodextrins in the treatment of Niemann–Pick type C disease. *Clin Lipidol*. 2012, June; 7(3):289-301.

Lorenzoni PJ, Cardoso E, Crippa AC et al. Niemann-Pick disease type C: a case series of Brazilian patients. *Arq Neuropsiquiatr*. 2014, Mar;72(3):214-8.

Lyon G, Kolodny EH, Pastores GM. *Neurology of Hereditary Metabolic Diseases of Children*. 3ed. New York: McGraw-Hill, 2006.

Martins AM. Inborn errors of metabolism: a clinical overview. *Sao Paulo Med J*. 1999, Nov; 117(6):251-65.

Matsuo M, Togawa M, Hirabaru K et al. Effects of cyclodextrin in two patients with Niemann–Pick Type C disease. *Mol Genet Metab*. 2013, Jan; 108(1):76-81.

Mengel E, Klünemann HH, Lourenço CM et al. Niemann-Pick disease type C symptomatology: an expert-based clinical description. *Orphanet J Rare Dis*. 2013, Oct; 8:166.

Millat G, Chikh K, Naureckiene S et al. Niemann-Pick Disease Type C: Spectrum of HE1 Mutations and Genotype/Phenotype Correlations in the NPC2 Group. *Am J Hum Genet*. 2001, Nov;69(5):1013-21.

Patterson MC, Hendriksz CJ, Walterfang M et al. Recommendations for the diagnosis and management of Niemann–Pick disease type C: an update. *Mol Genet Metab*. 2012, Jul; 106(3):330–344.

Patterson MC, Platt F. Therapy of Niemann–Pick disease, type C. *Biochim. Biophys Acta*. 2004, Oct; 1685(1-3):77–82.

Pentchev PG, Boothe AD, Kruth HS et al. A genetic storage disorder in BALB/C mice with a metabolic block in esterification of exogenous cholesterol. *J Biol Chem*. 1984, May; 259(9):5784-5791.

Pentchev PG, Comly ME, Kruth HS et al. A defect in cholesterol esterification in Niemann-Pick disease (type C) patients. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1985, Dec; 82(23):8247-8251.

Piña-Aguilar RE, Vera-Loaiza A, Chacón-Camacho OF et al. Clinical and genetic characteristics of Mexican patients with juvenile presentation of Niemann-Pick type C disease. *Case Rep Neurol Med*. 2014, Oct;2014(785890):1-7.

Pineda M, Perez-Poyato MS, O'Callaghan M et al. Clinical experience with miglustat therapy in pediatric patients with Niemann-Pick disease type C: a case series. *Mol Genet Metab*. 2010, Apr; 99(4):358-66.

Sanderson S, Green A, Preece MA et al. The incidence of inherited metabolic disorders in the West Midlands. *Arch Dis Child UK*. 2006, Apr; 91:896-899.

Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS et al. *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease*, 8th ed. New York, Mc Graw Hill, 2001, 3611-3634.

Sleat DE, Wiseman JA, El-Banna M et al. Genetic evidence for nonredundant functional cooperativity between NPC1 and NPC2 in lipid transport. *Proc.Natl Acad Sci USA*. 2004, Apr; 101(16):5886–5891.

Sokol J, Blanchette-Mackie J, Kruth HS, et al. Type C Niemann-Pick disease. Lysosomal accumulation and defective intracellular mobilization of low density lipoprotein cholesterol. *J Biol Chem*. 1988, Mar; 263(7):3411-7.

Steinberg SJ, Ward CP, Fensom AH. Complementation studies in Niemann-Pick disease type C indicate the existence of a second group. *J Med Genet*. 1994, Apr;31(4):317-20.

Storch J, Xu Z. Niemann–Pick C2 (NPC2) and intracellular cholesterol trafficking. *Biochim Biophys Acta*. 2009, Jul; 1791(7):671–678.

Takamura A, Sakai N, Shinpoo M et al. The useful preliminary diagnosis of Niemann-Pick disease type C by filipin test in blood smear. *Mol Genet Metab*. 2013 ,Nov;110(3):401-4.

Tedeschi G, Bonavita S, Barton NW et al. Proton magnetic resonance spectroscopic imaging in the clinical evaluation of patients with Niemann-Pick type C disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1998 Jul;65(1):72-9.

Vanier MT, Duthel S, Rodriguez-Lafrasse C et al. Genetic heterogeneity in Niemann-Pick C disease: a study using somatic cell hybridization and linkage analysis. *Am J Hum Genet*. 1996, Jan; 58(1):118-125.

Vanier MT, Millat G. Niemann-Pick disease type C. *Clin Genet*. 2003, Oct; 64(4):269-281.

Vanier MT. Biochemical studies in Niemann–Pick disease I. Major sphingolipids of liver and spleen, *Biochim. Biophys Acta*. 1983, Jan; 750(1):178–184.

Vanier MT. Complex lipid trafficking in Niemann-Pick disease type C. *J Inherit Metab Dis*. 2015, Jan; 38(1):187–199.

Vanier MT. Lipid changes in Niemann–Pick disease type C brain: personal experience and review of the literature. *Neurochem Res.* 1999, Apr; 24(4):481–489.

Vanier MT: Niemann-Pick disease type C. *Orphanet J Rare Dis.* 2010, Jun; 3(5):16

Wang RY, Bodamer OA, Watson MS, Wilcox WR. Lysosomal storage diseases: Diagnostic confirmation and management of presymptomatic individuals. *Genet Med.* 2011, Apr; 13(5):457-84.

Wilcox WR. Lysosomal storage disorders: the need for better pediatric recognition and comprehensive care. *J Pediatr.* 2004, May; 144(5suppl): S3-14.

Winsor EJ, Welch JP. Genetic and demographic aspects of Nova Scotia Niemann-Pick disease (type D). *Am J Hum Genet.* 1978, Sep; 30(5):530–538.

Wraith JE, Guffon N, Rohrbach M et al. Natural history of Niemann-Pick disease type C in a multicenter observational retrospective cohort study. *Mol Genet and Metab.* 2009, Nov; 98(3):250-254.

Xiong H, Higaki K, Wei CJ et al. Genotype/phenotype of 6 Chinese cases with Niemann-Pick disease type C. *Gene.* 2012, May; 498(2):332-5.

Xiong H, Bao XH, Zhang YH et al. Niemann-Pick disease type C: analysis of 7 patients. *World J Pediatr.* 2012, Feb;8(1):61-6.

Yu XH, Jiang N, Yao PB et al. NPC1, intracellular cholesterol trafficking and atherosclerosis. *Clin Chim Acta.* 2014, Feb; 15(429):69-75.

**ANEXO 1 – FICHA CLÍNICA**

Nome: \_\_\_\_\_ Prontuário: \_\_\_\_\_ DN: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_  
 sexo: ( ) M ( ) F Procedência: \_\_\_\_\_  
 Manifestação Clínica inicial / idade de início: \_\_\_\_\_/\_\_\_\_\_.  
 Idade diagnóstico: \_\_\_\_\_ anos. Início tratamento com Miglustat: \_\_\_\_\_.  
 Teste de Filipin: ( ) positivo ( ) variante. Data realização: \_\_\_\_\_.  
 Teste genético molecular : NPC 1 ( ) NPC 2 ( ) genótipo: \_\_\_\_\_

	Idade inicio	Observação
Primeiro sintoma neurológico		
Ataxia / quedas		
Epilepsia		
Mioclonias		
Distonia		
Disartria		
Disfagia		
Paralisia do olhar vertical		
Fraqueza muscular		
Espasticidade		
Declínio cognitivo/ demência		
Sintomas psicóticos		
Atraso escolar		
Distúrbio de comportamento		
Cataplexia gelástica		
Hepatomegalia		
Esplenomegalia		
Icterícia prolongada / colestase		
Hipotonia neonatal		
Hidropsia fetal		
Radiológico RNM encéfalo		
Ultrassonografia de Abdome		
Outras observações		
<b>Desenv. Neuromotor</b>		
Marcos motores <b>S</b> = sentou sem apoio; <b>A</b> =andou sem apoio; <b>T</b> = alcançou todos; <b>N</b> = não alcançou nenhum		
Desenv. Linguagem: <b>C</b> =completo; <b>D</b> = com distúrbio de compreensão; <b>DF</b> = somente distúrbio de fala		
Classificação clínica		

