

Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Faculdade de Medicina
Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas:
Nefrologia

**AVALIAÇÃO DA FUNÇÃO RENAL E DA PROTEINÚRIA DE 24 HORAS EM
PACIENTES PORTADORES DA DOENÇA DE FABRY, POR 36 MESES, COM
TERAPIA DE REPOSIÇÃO DA ENZIMA AGALSIDASE ALFA: UMA
EXPERIÊNCIA BRASILEIRA**

Autora: Scheila Pretto Almeida Thofehr

Dissertação de mestrado apresentada como
requisito parcial para obtenção do título de Mestre
em Ciências Médicas: Nefrologia.

Professor Orientador: Prof. Doutor Elvino José
Guardão Barros

Porto Alegre, 2006

*“Não é preciso consenso,
nem arte,
nem beleza ou idade:
a vida é sempre dentro
e agora.
(A vida é minha
para ser ousada.)
A vida pode florescer numa existência inteira.
Mas tem de ser buscada, tem de ser conquistada.”*

Lya Luft

*Dedico este trabalho às pessoas mais
importantes de minha vida,
minha força e a minha direção:
Elton e Inês, meus pais
Ricardo, meu marido
Günther, Bruno e Stefano, meus filhos
Renata, minha irmã*

BANCA EXAMINADORA

Professor Revisor Dr. José Vanildo Morales

Professora Dra. Carolina Souza

Professor Dr. Ivan Antonello

Suplentes

Professor Dr. Francisco Veronese

Professor Dr. Alberto Augusto Rosa

AGRADECIMENTOS

Ao Professor Dr. Elvino José Guardão Barros, meu Mestre e Professor Orientador, pelo apoio, compreensão, paciência e contribuições essenciais para o desenvolvimento e gerenciamento dos meus pensamentos, e principalmente pelas orientações que me proporcionaram transformar a informação em conhecimento e o conhecimento em experiência.

Ao Professor Dr. Mário Bernardes Wagner, pelo incentivo, contribuições que permitiram o desenvolvimento da perseverança e a busca constante pelo conhecimento da Bioestatística e principalmente pela inesquecível ajuda na confecção, estruturação, análise estatística e pelos maravilhosos gráficos deste trabalho.

Ao Professor Dr. Alessandro Bersh Osvaldt pelo grande incentivo encorajador na realização deste trabalho e suas excelentes contribuições que me ajudaram a desenvolver a capacidade de trabalhar com as perdas e frustrações, de filtrar os estímulos estressantes, aprender a dialogar e principalmente aprender a ouvir.

Ao Professor Dr. Luis Felipe dos Santos Gonçalves, coordenador do Programa de Pós-graduação em Clínica Médica; Nefrologia, pelo apoio na realização e conclusão do mestrado.

À Professora Ane Nunes, bióloga, pela sua disponibilidade, incentivo, motivação e principalmente pelas orientações na área de Genética.

À Professora Dra. Cristina Brinckmann O. Netto, pela sua atenção, serenidade, disponibilidade e inestimável colaboração.

Ao Professor Dr. Roberto Pecoits, pelo incentivo e a inesquecível ajuda na apresentação do pôster sobre este trabalho no V Congresso Ibero Americano de Nefrologia e XXXVI Congresso Nacional da Sociedade Espanhola de Nefrologia.

Ao Professor Dr. Roberto Giugliani, pelo incentivo na realização desta pesquisa e principalmente por suas contribuições e revisões do artigo em inglês.

Às Professoras Dra. Laura B. Jardim, Dra. Ursula S. Matte e Maira G. Burin pelas revisões do artigo em inglês e orientações.

Aos Professores da Pós-Graduação que me motivaram e são exemplos de Bons Professores, em especial ao Professor Dr. Roberto Cerati Manfro; ao Professor Dr.

Fernando Saldanha Tomé, ao Professor Dr. David Saitovicht e ao Professor Dr. Francisco José Veronese.

À Professora Maria Beatriz Luce, pelas suas inesquecíveis contribuições na formação de um Bom Professor.

À Secretária do Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas; Nefrologia, Sra. Rute H. Santos, pelas orientações para conclusão do Mestrado.

À Dra. Cinthia Sobral Vieira, médica nefrologista, pelas contribuições na revisão deste trabalho em português.

À Professora Dra. Thaís Russomano, pela orientação na tradução do texto em inglês.

À minha amiga e incentivadora, Dra. Leda Maria Ferreira Borges, médica nefrologista, pela presença e entusiasmo.

Ao amigo, Dr. Sergio Campos pela ajuda constante.

À minha Equipe de trabalho da Nefroclínica, Camaquã, pela compreensão, carinho, ajuda e incentivo.

ÍNDICE

PÁGINA

AGRADECIMENTOS.....	IV
LISTA DE ABREVIATURAS	VIII
LISTA DE FIGURAS	IX
LISTA DE TABELA	X
1. INTRODUÇÃO: Doença de Fabry	1
1.1. Aspectos Genéticos e Base Molecular	2
1.2. Manifestações Clínicas.....	4
1.2.1. Doença de Fabry Clássica	5
1.2.2. Variante atípica	10
1.3. Manifestações Renais.....	11
1.3.1. Manifestação renal na Doença de Fabry clássica.....	11
1.3.2. Patologia renal.....	13
1.3.3. Mecanismo de dano renal.....	15
1.3.4. Variante renal	15
1.4. Diagnóstico.....	16
1.4.1. Diagnóstico clínico.....	16
1.4.2. Diagnóstico laboratorial	16
1.4.3. Diagnóstico anátomo-patológico e citologia urinária	17
1.4.4. Diagnóstico pré-natal	17
1.5. Tratamento	17
1.5.1. Tratamento sintomático.....	17
1.5.2. Terapia de reposição enzimática	18
1.5.3. Transplante renal	21
1.6. Referências Bibliográficas	22
2. OBJETIVOS.....	30
3. ARTIGO EM PORTUGUÊS	31
Resumo.....	32
Palavras chave	34
Introdução.....	35
Pacientes e métodos	36
Resultados	38

Discussão.....	40
Agradecimentos.....	42
Referências Bibliográficas	43
Tabela 1	46
Figura 1	47
Figura 2.	48
4. ARTIGO EM INGLÊS.....	49
Abstract	50
Keywords	51
Introduction	52
Patients and Methods	53
Results	55
Discussion	56
Acknowledgements	59
References	60
Table 1.....	63
Figure 1	64
Figure 2	65

LISTA DE ABREVIATURAS

CTH: tri-hexócito de ceramida

DF: Doença de Fabry

DRC: doença renal crônica

Gal: galactose

GalNac: N-acetilgalactosamina

Gb3: globoside

GEL: glicosfingolipídeos

GL-3: globotriaosilceramida

Glc: glicose

HAS: hipertensão arterial sistêmica

RADAR: Fabry Registry Aggregate Data Annual Report

TRS: terapia renal substitutiva

α -GAL A : α -galactosidase A

LISTA DE FIGURAS

INTRODUÇÃO

Figura 1. Estrutura e degradação do globoside4

ARTIGO EM PORTUGUÊS

Figura 1 - Efeito do tratamento com agalsidase alfa na TFG (A) e na proteinúria de 24 horas (B) durante 36 meses de terapia de reposição enzimática dos oito pacientes com Doença de Fabry..... 47

Figura 2 - Avaliação da TFG (A) e da Proteinúria de 24 horas (B) com uso da agalsidase alfa durante 36 meses de terapia de reposição enzimática dos oito pacientes com Doença de Fabry48

ARTIGO EM INGLÊS

Figure 1 - Effect of treatment with agalsidase alfa on GFR (A) and 24h urinary protein excretion rate (B) for eight patients with Fabry disease during 36 months follow up64

Figure 2 - Glomerular filtration rate (A) and 24h urinary protein excretion rate evaluations for eight patients with agalsidase alfa therapy during 36 month follow up65

LISTA DE TABELAS

INTRODUÇÃO

Tabela 1: Níveis de α -galactosidase em diversas populações..... 5

Tabela 2: Progressão da Doença de Fabry 6

ARTIGO EM PORTUGUÊS

Tabela 1: Características clínicas e laboratoriais dos 9 pacientes em uso de agalsidase alfa, no início do estudo..... 46

ARTIGO EM INGLÊS

Table 1: Baseline clinical and laboratory characteristics at study entry for 9 Fabry's disease patients under agalsidase alfa 63

Doença de Fabry

1. Introdução

A Doença de Fabry (DF) é uma doença de depósito lisossômico, de herança genética ligada ao cromossomo X com efeitos multissistêmicos. O defeito no gene está relacionado com a produção da enzima lisossômica α -galactosidase A (α -GAL A), cuja deficiência parcial ou completa, leva ao acúmulo progressivo de glicosfingolipídeos (GEL) nos lisossomos de vários tipos de células, resultando em disfunções renal, cardíaca, neurológica e cerebrovascular. A Doença de Fabry também é conhecida como Doença de Anderson-Fabry, Morbus Fabry ou angiokeratoma corporis diffusum universale (1).

A DF é considerada rara, com prevalência estimada entre 1/40.000 a 1/117.000 em homens da população caucasiana e desconhecida em outras etnias e grupos raciais (1, 2).

Os sintomas característicos aparecem na infância. Contudo, o diagnóstico geralmente é tardio, quando o paciente já apresenta complicações da doença, devido à raridade e à variabilidade da apresentação clínica (3,4,5). Na maioria dos casos, as alterações patológicas progressivas no rim resultam em doença renal crônica (DRC), que sem terapia renal substitutiva (TRS) levava ao óbito, na faixa etária dos 40 a 50 anos (6).

A Doença de Fabry constitui uma rara causa de doença renal crônica terminal (DRCT) (7). Em análise realizada nos Estados Unidos, por Thadani e colaboradores (8), no período compreendido entre abril 1995 e julho de 1998, foram identificados, entre 250.352 indivíduos que iniciaram TRS, 42 pessoas com o diagnóstico de DF. Esse dado corresponde a 0,0167% de todas as causas que levam a DRCT naquele país.

Em outra análise, realizada por Tsakiris e colaboradores (9), com participação de 440.665 pacientes, no período de 1987 a 1993, foram identificados 83 pacientes com Doença de Fabry. Dado correspondente a 0,0188% de todas as causas de DRCT na Europa. Segundo Obrador e colaboradores (10), essas prevalências refletem a proporção dos pacientes com DF em relação aos pacientes com doença renal crônica terminal. Em homens jovens, com idade inferior a 40 anos, a prevalência é subestimada, uma vez que nem todos os pacientes realizam biópsia renal antes de iniciar a diálise.

1.1. Aspectos Genéticos e Base Molecular

Pouco mais de 400 mutações associadas à DF têm sido identificadas no gene da α -galactosidase A (11) e a variabilidade de mutações pode explicar as diferentes formas de manifestação clínica, porém, nem sempre há correlação exata entre o fenótipo e o genótipo (12, 13).

Pelo fato de ser ligada ao cromossomo X, a DF afeta predominantemente os homens (hemizigotos), e estes somente transmitem o gene defeituoso para os descendentes do sexo feminino. As filhas heterozigotas (portadoras) têm 50% de probabilidade de transmitir essa alteração genética para os filhos de ambos os sexos. Todos os indivíduos do sexo masculino, que possuem o gene defeituoso, desenvolvem a doença, ao passo que as mulheres podem ser assintomáticas ou ter a doença com sinais e sintomas atenuados devido à produção parcial de enzima. Contudo, em situações raras, as mulheres também apresentam a forma clássica da doença (14). A expressão fenotípica da Doença de Fabry em mulheres heterozigotas pode ser explicada pela hipótese de Lyon, ou seja, inativação do cromossomo X (15). Este fenômeno normal e fisiológico ocorre precocemente no desenvolvimento embrionário, quando existe uma reação que regula o efeito da dosagem do gene no cromossomo sexual. No início da inativação do cromossomo X, um ou outro cromossomo é inativo em cada célula embrionária e permanece inativo através de todas as divisões das células somáticas. Mulheres heterozigotas, para doenças ligadas ao cromossomo X são, portanto, verdadeiros mosaicos, com diferentes células no corpo, expressando tanto o gene normal como o gene defeituoso (16). Isso pode explicar a diversidade da apresentação clínica e dos níveis de variabilidade da α -galactosidase A em mulheres heterozigotas. A influência do cromossomo X inativo pode ser demonstrada no relato do caso de gêmeas monozigóticas com mutação no gene da α -galactosidase A, feita por Redonnet-Vernhet (17). Neste estudo, a análise dos fibroblastos das gêmeas revelou que uma delas possuía o cromossomo X ativo derivado da mãe e estava assintomática. A outra gêmea tinha o fenótipo da Doença de Fabry e o cromossomo X ativo derivado do pai, indicando que havia mutação no cromossomo X paterno sendo a expressão da doença explicada pela hipótese de Lyon.

A proteína α -GAL A é codificada por um gene de 12 Kb, mapeado no braço longo do cromossomo X (região Xq22.1)(1). Essa enzima na forma nativa é uma

glicoproteína de aproximadamente 101 kD e o seu gene é formado por sete exons (18). A análise molecular tem demonstrado que uma extensa variedade de danos moleculares pode causar a DF; aproximadamente 68% são mutações “missense” e “nonsense”, 15% são deleções parciais do gene, 6% são inserções e 5% correspondem a defeitos no processamento do RNA por erros de “splicing” (1,11). As mutações podem ser encontradas em todos sete exons, e a sua exata identificação permite o diagnóstico preciso nos membros de uma mesma família com DF. Esse tipo de investigação pode determinar a condição de “portador” ou “afetado” pela doença entre os indivíduos de uma mesma genealogia (19).

A Doença de Fabry é um distúrbio do metabolismo de glicoesfingolípídeos (GEL) resultando em acúmulo de globotriaosilceramida (GL-3), também chamado de globoside (Gb3) e originalmente chamado de tri-hexócito de ceramida (CTH) (20). Em 1967, Brandy e colaboradores (21) identificaram o defeito metabólico como sendo a deficiência da enzima lisossomal, chamada de hidrolase α -galactosidase A (α -GAL A), a qual catalisa a clivagem hidrolítica da galactose terminal do Gb3. O Globoside é o maior glicoesfingolípídeo da membrana da célula vermelha e do rim, sendo metabolizado particularmente nos lisossomos do baço, fígado e medula óssea. É composto de ceramida (que consiste na união de uma esfingosina a uma cadeia longa de ácido graxo composto por 14-26 carbonos) anexada a três resíduos de açúcar e a um resíduo de N-acetilgalactosamina (ceramida-Glc-Gal-Gal-GalNac). O primeiro passo na degradação do globoside é a remoção do terminal N-acetilgalactosamina produtor do Gb3 que tem três açúcares: uma glicose e duas galactoses (ceramida-glc-gal-gal). O resíduo terminal α -galactose é removido pela α -GAL A (22). O resíduo de β ligado à galactose é removido pela β -galactosidase, a enzima que está deficiente na Doença de Gaucher (23). Este processo é apresentado na figura 1 (22).

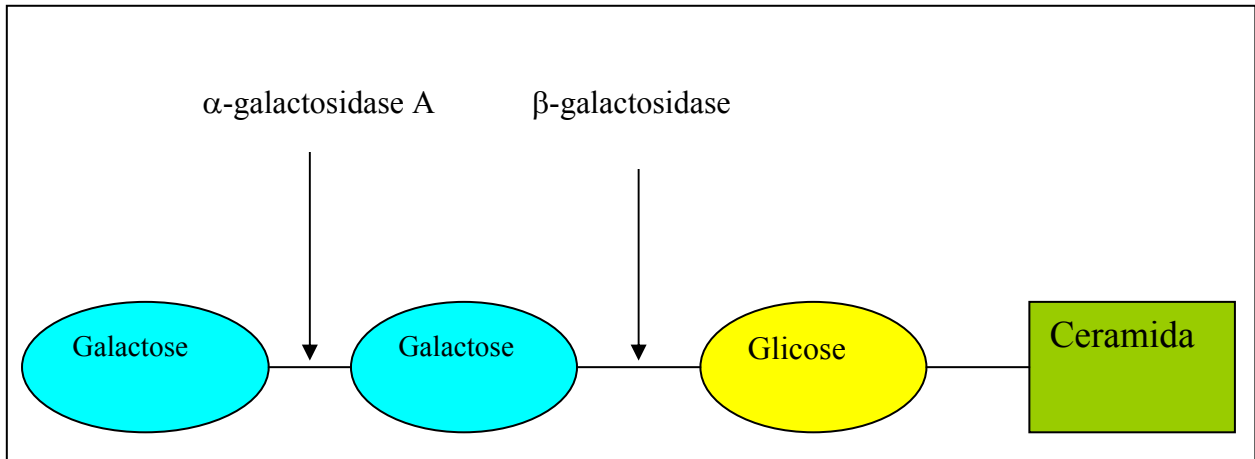


Figura 1. Estrutura e degradação do globoside. O Gb3 é clivado pela α -galactosidase A, a qual remove o resíduo de galactose terminal. A α -galactosidase A está deficiente na Doença de Fabry e a β -galactosidase está deficiente na Doença de Gaucher.

Na ausência significativa da α -GAL A, o Gb3 acumula-se nos lisossomos de vários tecidos, particularmente no endotélio vascular, em um nível de 460 vezes maior do que o normal, ocasionando doenças vasculares com conseqüente isquemia e infarto em diversos órgãos e tecidos (1, 5, 24). O acúmulo de GEL é mais proeminente nos glomérulos e túbulos renais, nas células musculares cardíacas, nos fibrócitos valvulares, nas fibras de condução miocárdica, nas córneas, nos gânglios autônomos e gânglios de raízes nervosas dorsais e em outras estruturas do cérebro (1). O exato envolvimento clínico varia significativamente nos diferentes órgãos pela variabilidade do metabolismo do GEL nos diversos tecidos (24, 25). Os glicosfingolípídeos são sintetizados primariamente no fígado e incorporados dentro de partículas de lipoproteína (ex. LDL e HDL) na circulação sistêmica. O tempo de circulação dos GEL plasma está estimado em 4 a 8 dias, tendo a concentração oscilando de 1 a 6 $\mu\text{mol}/\text{dia}$. Embora o armazenamento ocorra no hepatócito, a sua disfunção ou aumento do fígado não é visto na DF (24).

1.2. Manifestações Clínicas

A idade de apresentação da doença, bem como os sinais e sintomas, e a sua evolução clínica são extremamente variáveis (26).

Conforme o nível de atividade da enzima α -GAL A, os pacientes com DF podem ser classificados em dois grupos: homens hemizigotos e mulheres heterozigotas com Doença de Fabry clássica e mulheres heterozigotas com manifestações clínicas atenuadas; e pacientes com variantes atípicas (1, 27). O nível de enzima α -GAL A varia de 0 a 100% do valor de referência e, geralmente, a sua gravidade é inversamente proporcional à atividade enzimática. Esses dados são apresentados na tabela 1(1, 40).

Tabela 1: Níveis de α -galactosidase em diversas populações.

Tipo	% de α-galactosidase no plasma normal*
Doença de Fabry clássica	Geralmente inferior a 1%
Heterozigotos	0-100 %
Variante cardíaco	1-35%

*Os níveis de α -galactosidase podem variar consideravelmente, dependendo do tecido ou do tipo de célula testado.

1.2.1. Doença de Fabry Clássica

A Doença de Fabry clássica aparece de uma forma previsível, lenta e progressiva com sinais e sintomas que mudam conforme a idade do paciente. Os homens hemizigotos são gravemente atingidos pela doença, apresentando níveis indetermináveis ou muito reduzido de α -GAL A (27). Raramente, as mulheres heterozigotas apresentam a forma clássica da Doença de Fabry. Em estudo realizado por MacDermot e colaboradores (28), com a participação de 60 mulheres portadoras, 30% apresentaram múltiplas e graves manifestações clínicas da DF. Uma lista destas características clínicas é apresentada na tabela 2 (26).

Tabela 2: Progressão da Doença de Fabry.

Infância (<10 anos)

Dor neuropática

Angioqueratomas

Vasoespasmos periféricos

Anormalidades oftalmológicas; córnea *verticillata*

Fase adulta inicial (10-30 anos)

Angioqueratomas mais extensos

Proteinúria, lipidúria, hematúria.

Edema

Febre

Hipohidrose ou anidrose

Linfadenopatia e linfedema

Sensibilidade ao calor e intolerância ao exercício

Diarréia, dor abdominal.

Fase adulta tardia (idade >30 anos)

Doença cardíaca

Perda de função renal

Infarto, acidente vascular cerebral isquêmico transitório ou epilepsia.

São descritas três fases clínicas: a primeira ocorre na infância e adolescência, sendo caracterizada por mialgias, acroparestesia, artralguas, angioqueratomas, opacidade da córnea e febre; a segunda é caracterizada pelo envolvimento renal, e a terceira pelos envoltimentos vascular, cardíaco, cerebral e doença renal crônica terminal (22).

As principais causas de óbito são doença renal crônica, doença cardíaca, e acidente vascular cerebral que ocorrem em homens hemizigotos por volta dos 50 anos e nas mulheres portadoras em torno dos 70 anos de idade (29, 28).

Manifestações extra-renais da Doença de Fabry clássica

Os principais sinais e sintomas na DF são os seguintes:

Fácies

Homens hemizigotos apresentam uma aparência característica – proeminência supra-orbital e espessamento dos lábios que, quando presentes, são reconhecidos por volta dos 12-14 anos de idade (29). Apresentam distribuição rala dos pêlos da face e do corpo, podendo apresentar retardo do crescimento e puberdade tardia (26).

Dor

A dor neuropática é um sintoma característico da DF, surge na infância e tem incidência similar em ambos os sexos (4). Ries e colaboradores (30) realizaram estudo sobre o fenótipo da Doença de Fabry em 35 crianças e adolescentes, observando que a dor foi o primeiro sintoma relatado por 23 delas, tendo iniciado por volta dos três anos em meninos e em torno dos seis anos em meninas. Outros dois estudos realizados em maiores de 18 anos, com a participação de 98 homens e 60 mulheres, verificaram que o percentual de pacientes com dor foi de 77% e 70%, respectivamente (29, 28). A acroparestesia é descrita como uma sensação de queimação na palma das mãos e sola dos pés, irradiando-se para extremidade proximal e ocasionalmente para o abdome. A dor pode surgir espontaneamente ou se exacerbar pela ocorrência de febre, mudanças de temperatura, estresse e exercício físico. Embora a dor seja considerada uma característica da Doença de Fabry, 10-20 % dos pacientes não a apresentam. A sua patogênese é causada por depósitos de glicosíngolípídeos nas raízes do gânglio dorsal (31).

Angioqueratomas

Os angioqueratomas são pequenas elevações tipo telangiectasias, cuja coloração, varia do vermelho escuro ao azul-preto. As lesões podem se desenvolver na infância, porém o mais comum é o seu surgimento na faixa etária dos 14 aos 16 anos (30). De uma forma lenta, progressiva e simétrica, costumam estar localizados nas regiões: torácica, glútea, abdominal e inguinal. As dimensões variam, podendo ser discretamente

visível ou atingir vários milímetros. As lesões são causadas pela vasodilatação, que é uma consequência do dano endotelial induzido pelo acúmulo de Gb3(32).

Hipohidrose

A hipohidrose (ocasionalmente a anidrose) é um achado clínico comum que causa desconforto ao calor. Os pacientes não toleram o exercício físico podendo apresentar náuseas, dispnéia, cefaléia ou colapso com perda da consciência, ocorrendo também a xerostomia e a redução lacrimal (33).

Sintomas gastrointestinais

Os sintomas gastrointestinais não são específicos e surgem na infância e na adolescência, sendo caracterizados por: dor abdominal, tipo cólica, localizada na região mesogástrica e hipogástrica; náuseas; vômitos e diarreia (34), que podem ser causados pela neuropatia autonômica do trato gastrointestinal, induzida pelos depósitos de Gb3 (35).

Alguns casos são acompanhados de anorexia, perda de peso, acalasia, diverticulose jejunal, levando a perfuração, malabsorção e incontinência fecal (4). A biópsia de jejuno e reto mostrou depósitos de Gb3 nas células ganglionares autônomas e em pequenas arteríolas (35).

Alterações Oftalmológicas

Quaisquer partes do globo ocular podem estar comprometidas, porém a córnea é a mais atingida. A córnea verticillata, achado característico da doença, é uma opacidade com uma ou duas linhas que se irradia do centro da córnea, podendo ser discreta ou cobrir inteiramente como um fino véu. Alterações como a catarata subcapsular e a tortuosidade de vasos da conjuntiva e da retina, na ausência de hipertensão arterial sistêmica (HAS), podem causar grave comprometimento da acuidade visual (26). Em 1996, Sher e colaboradores (36), realizaram um estudo de coorte com 12 pacientes (24 olhos), e observaram a presença de córnea verticillata em 23/24 olhos, lesões vasculares tortuosas em 11/24 e catarata 2/24.

Alterações cardiológicas

O envolvimento cardíaco é extenso e progressivo com a idade. Os sintomas cardiovasculares são observados em homens hemizigotos entre os vinte e trinta anos de idade, enquanto nas mulheres são identificados mais tardiamente (29,28). As alterações cardíacas mais comuns são a hipertrofia ventricular direita e esquerda, o aumento do átrio esquerdo, anormalidade valvular e distúrbio de condução. Em estudo realizado, por Linhart e colaboradores (37), no período de 1996 a 1998, com a participação de 30 pacientes com DF foram observadas anormalidades na válvula mitral e na válvula aórtica na proporção 57% e 47%, respectivamente.

A deposição de lipídeos nas fibras de condução miocárdica resulta em arritmias, com o encurtamento do intervalo PR, onda QRS, anormalidade de repolarização ventricular, bradicardia e taquicardia sinusal. A doença infiltrativa do endotélio vascular leva a doença da artéria coronariana, culminando com o infarto agudo do miocárdio e insuficiência cardíaca congestiva. O acúmulo de Gb3 nos miócitos causa hipertrofia, enquanto o processo nos fibrócitos produz doença valvular (1).

Alterações neurológicas

As manifestações neurológicas incluem acidente vascular isquêmico transitório ou acidente vascular cerebral, bem como diplopia, disartria, tinnitus, perda da acuidade auditiva, nistagmo e hemiataxia. As alterações como defeitos cognitivos, tonturas, demência, cefaléia, dificuldade de aprendizagem e concentração, assim como distúrbios de personalidade ocorrem em diferentes graus de comprometimento (38). O dano vascular é causado pelos depósitos de Gb3 no endotélio que facilita a formação de êmbolos e trombos ocasionando isquemia e infarto tecidual (39). O sistema nervoso periférico também pode ser afetado, com distúrbio da sensibilidade do tato, da dor e da sensibilidade à temperatura.

Manifestação clínica da Doença de Fabry em mulheres heterozigotas

A evolução clínica e o prognóstico da DF em mulheres heterozigotas diferem significativamente dos homens hemizigotos. Devido à inativação aleatória do

cromossomo X, que consegue bloquear a expressão do gene da α -galactosidase A em todas ou em algumas partes do corpo, existe extensa variabilidade na apresentação clínica da doença em mulheres heterozigotas. Sendo assim, mesmo com a comprovação bioquímica de redução da α -GAL A, as mulheres na fase adulta podem ser assintomáticas ou apresentar manifestações clínicas atenuadas. Aproximadamente 30% das mulheres portadoras apresentam lesões cutâneas, menos de 10% tem acroparestesia e 70% experimentam alterações oftalmológicas (1). A prevalência estimada de mulheres portadoras no Reino Unido é 1: 339.000, num estudo realizado por MacDermot e colaboradores (28), em que foram analisadas 60 mulheres portadoras sendo observado lesões cutâneas e dor neuropática na proporção de 35% e 70%, respectivamente.

1.2.2. Variante atípica

A variante atípica da DF corresponde aos hemizigotos que são assintomáticos ou apresentam poucos sintomas. Nesses casos há uma mutação específica associada à atividade residual da α -GAL A (entre 1 e 35%) e por isso apresentam sintomas de início tardio e restrito a algum tecido particular. Como foi reconhecida há pouco tempo, os dados disponíveis sobre a incidência e a fisiopatologia dessa forma de manifestação clínica são escassos (1). Há estudos de um tipo particular, a chamada variante cardíaca, nos quais a Doença de Fabry atípica pode ser mais comum do que se suspeitava. Nakao e colaboradores (40), em uma análise de 230 homens com hipertrofia ventricular esquerda, verificaram que 3% tinham redução da atividade da α -galactosidase A (entre 4-14% do normal), sendo identificados 7 pacientes com variante cardíaca da Doença de Fabry.

Em outro estudo, Von Scheidt e colaboradores observaram inclusões lisossômicas limitadas ao miocárdio e endotélio capilar e nenhuma evidência de depósitos de Gb3 foi encontrada no músculo esquelético, fígado, reto, pele, vasos sanguíneos ou nervos (41).

1.3. Manifestações Renais

O comprometimento renal é conhecido desde 1898, quando William Anderson, professor de Dermatologia do Hospital St. Thomas em Londres relatou o caso de um homem de 39 anos que apresentava múltiplas lesões cutâneas, linfedema e proteinúria. Com base nestes achados, Anderson sugeriu que a fisiopatologia das lesões cutâneas e da proteinúria decorria de uma doença sistêmica que envolvia os vasos da pele e dos rins. Quase simultaneamente e de forma independente, Johannes Fabry, um dermatologista alemão, descreveu o angiokeratoma corporis diffusum universale em um menino de 13 anos de idade com lesões cutâneas que posteriormente desenvolveu proteinúria (1, 22).

1.3.1. Manifestação renal na Doença de Fabry clássica

Se na primeira fase da DF a dor neuropática é a manifestação clínica mais comum, a segunda é marcada pelo envolvimento renal, que surge de forma mais evidente em homens hemizigotos do que em mulheres heterozigotas. Na terceira fase, existe uma perda progressiva da função renal, evoluindo para doença renal crônica terminal. Sem o advento da terapia renal substitutiva (TRS), o óbito por uremia, acontecia por volta da quarta década de vida (42). Com a diálise e o transplante renal houve um aumento na expectativa de vida e o óbito passou a ocorrer por complicações cardíacas ou cerebrovasculares em torno dos 50 anos em homens e dos 70 anos em mulheres (43, 29,28).

Na doença renal crônica associada à DF, a dificuldade de concentração urinária pode ser a alteração funcional mais precoce, manifestando-se com poliúria e polidipsia. Isso acontece porque existe uma maior suscetibilidade de comprometimento do túbulo renal distal em relação ao proximal. Nos raros casos em que o túbulo renal proximal está envolvido, ocorre a diminuição da reabsorção da glicose e de aminoácidos e acidose tubular renal incompleta (44).

A proteinúria é a manifestação clínica mais freqüente da nefropatia da DF (4). Usualmente, inicia na fase adulta entre os 20 e 30 anos de idade (44). Branton e

colaboradores (5) do “National Institute of Health”, no período de 1970 a 2000, realizaram estudo sobre a história natural e o envolvimento renal em 105 homens com DF. Observaram que 78 pacientes tinham doença renal (creatinina $\geq 1,5$ mg/dL) e ou proteinúria (≥ 200 mg/24h). Dos pacientes analisados, a proteinúria estava presente em 50% dos indivíduos com mais de 35 anos e na totalidade dos participantes com mais de 52 anos de idade. A elevação da excreção protéica urinária foi progressiva com a idade dos pacientes e a maioria dos indivíduos tinha proteinúria glomerular. 18% dos pacientes apresentaram proteinúria de nível nefrótico, desses, somente 26% tinham a forma clássica da síndrome nefrótica. Aqueles que desenvolveram DRC, 18% apresentaram proteinúria nefrótica antes do início da perda de função renal e 18% após, sendo que 23 % não tiveram proteinúria. Contudo, não foi possível avaliar a proteinúria na fase tardia da DRC em 40% dos indivíduos analisados.

Outro estudo realizado pelo Fabry Registry Aggregate Data Annual Report (RADAR), 2004 (45), envolvendo o registro de 1156 portadores de DF, no período de 2001 a 2004, verificou que 15% dos homens e 3% das mulheres apresentavam doença renal. Nesta análise houve correlação significativa entre função renal e proteinúria (-0.48 ($p < 0.001$) e -0.16 ($p = 0.033$) para homens e mulheres, respectivamente). Sugerindo que a proteinúria teria valor prognóstico como fator de risco no desenvolvimento da DRC, em ambos os sexos.

A progressão da doença renal crônica ocorre com freqüência tanto em homens quanto em mulheres com forma clássica da DF. Branton e colaboradores (5) propuseram uma correlação entre o início da doença renal crônica e atividade residual da α -GAL A nos leucócitos periféricos. Nesse estudo, os pacientes que apresentavam níveis não detectáveis de atividade de α -GAL A ($< 1\%$), iniciavam perda de função renal, por volta dos 22 anos; enquanto aqueles pacientes com níveis de atividade enzimática mais elevada ($> 1\%$) iniciavam a perda da função renal em torno dos 42 anos de idade. Se a atividade da α -GAL A renal se correlaciona com atividade α -GAL A dos leucócitos, é possível que a atividade enzimática residual das células do parênquima renal retarde a progressão da doença. Também, foi descrito por Branton (5), que o tipo e a localização da mutação podem influenciar o início da doença renal, sendo que as mutações conservativas “missenses” (definida como aquela em que há substituição de amino ácido residual por outro amino ácido de mesma classe estrutural) associam-se ao retardo do aparecimento da

doença renal em relação às apresentadas pelas mutações não conservativas “missense” ou em outras mutações (deleção, inserção, parada prematura de códon). Este mesmo estudo mostrou que 50% dos pacientes apresentaram DRC (creatinina $\geq 1,5$ mg/dL), em média aos 42 anos. Destes, 23% desenvolveram doença renal crônica terminal por volta dos 47 anos, sendo que todos os pacientes sobreviventes até a idade de 55 anos apresentaram DRCT. Esses dados corroboram com o primeiro relato feito por Colombi e colaboradores (42), sobre a expectativa de vida dos pacientes com DF e uremia antes da TRS. O tempo de progressão da doença renal para o seu estágio terminal foi de 4 ± 3 anos, não havendo correlação entre a idade do início da DRC e o grau de proteinúria. Em média, a taxa de declínio da filtração glomerular foi de 12,2mL/min/24horas por ano, sendo o mesmo observado na nefropatia diabética sem o uso inibidor da enzima conversora da angiotensina (46,47).

Estudos sugerem que a hipertensão arterial sistêmica não faz parte da Doença de Fabry a não ser na presença de doença renal. Análise de Branton e colaboradores (5) mostrou que apenas 30% dos 105 pacientes apresentavam HAS. A hipertensão arterial sistêmica somente ocorreu após o início do envolvimento renal em 53% dos pacientes hipertensos. Contudo, a HAS é menos prevalente em pacientes com DRC por Doença de Fabry do que observado na doença renal causada por outras patologias. Outro estudo realizado por Kleinert e colaboradores (48), com a participação de 391 pacientes com DF, mostrou elevada prevalência de hipertensão arterial sistêmica não controlada (pressão arterial sistólica ≥ 130 mmHg e pressão arterial diastólica ≥ 80 mmHg) em 57% dos homens e 47% das mulheres.

1.3.2. Patologia renal

Os rins podem estar aumentados de tamanho devido ao acúmulo de Gb3 em todos os tipos de células renais (49). A variabilidade e a extensão das lesões patológicas levam à progressiva deterioração da função renal. Inicialmente, existe o comprometimento das células do endotélio vascular e células epiteliais (50). No glomérulo, o depósito é mais proeminente nos podócitos, resultando em proteinúria. Nos túbulos, o distal é mais

freqüentemente comprometido, levando a uma diminuição na habilidade de concentração urinária. Ainda não está esclarecido porque o acúmulo de Gb3 ocorre com mais freqüência nos túbulos distais do que em túbulos proximais (25).

Estas alterações são encontradas em todos os homens hemizigotos e em algumas mulheres heterozigotas (25, 28).

À microscopia ótica, o glomérulo apresenta hipertrofia glomerular visceral, células epiteliais distendidas, vacuolizadas e com aparência esfumada. No procedimento de preparação da lâmina para microscopia ótica, são utilizados solventes orgânicos, como o tolueno, que provocam a remoção dos glicoesfingolípídeos das células, observando-se vacúolos intracelulares sem ser tingidos pelo corante (25). As vacuolizações estão presentes no endotélio capilar e nas células epiteliais do túbulo distal, incluindo a alça de Henle e ducto coletor e menos freqüentemente nas células epiteliais do túbulo proximal. Ao longo do tempo, o glomérulo apresenta um grande acúmulo de material lipídeo em podócitos, células epiteliais parietal, mesangiais e células endoteliais glomerular. Com a progressão da doença aparece espessamento mesangial com maior ou menor percentual de glomeruloesclerose segmentar ou global.

À microscopia eletrônica os podócitos são precocemente envolvidos, apresentando estruturas peculiares de corpos de inclusão citoplasmática nos lisossomos. Essas inclusões podem variar em sua aparência, de granular a lamelar, conferindo um aspecto de “corpo de zebra” ou “casca de cebola” com laminações que apresentam alternância de claro e escuro e diâmetro de 1-3 μ m, sendo limitadas por uma membrana (25). Na técnica de preparação do material para a microscopia eletrônica não ocorre dissolução dos glicoesfingolípídeos, que permanecem dentro das células, sendo intensamente tingidos e conferindo o aspecto anteriormente descrito. Com a progressão da doença, existe a fusão podocitária com aparecimento de proteinúria, posteriormente, o comprometimento de células epiteliais da cápsula de Bowman, células mesangiais, células endoteliais do capilar glomerular e células endoteliais da arteríola aferente glomerular com a progressão para esclerose glomerular. Ocasionalmente, é possível verificar necrose glomerular focal e espessamento da membrana basal tubular e glomerular (25).

1.3.3. Mecanismo de dano renal

Joseph Alroy (25) propõe a existência de três mecanismos que explicam a glomeruloesclerose segmentar e global da Doença de Fabry: doença microvascular, lesão nos podócitos e dano no túbulo intersticial.

A fisiopatologia do envolvimento microvascular é semelhante ao observado nos vasos cerebrais e coronarianos no qual o depósito de Gb3 está associado à formação de êmbolos e trombos e conseqüente isquemia e infarto tecidual (39).

O acúmulo tóxico de Gb3 nos podócitos constitui o segundo mecanismo da alteração glomerular. Acredita-se que a lesão dos podócitos proporcione uma sinéquia, ou seja, um contato basal glomerular com células epiteliais parietal. O outro mecanismo proposto diz respeito ao depósito de Gb3 em células epiteliais tubulares que podem levar a atrofia tubular, fibrose intersticial e piora da função tubular. Outros glomérulos se hipertrofiam para compensar e a sua hiperfiltração desencadeia glomeruloesclerose segmentar.

1.3.4. Variante renal

Em 2003, Nakao e colaboradores (51) descreveram a “variante renal” quando identificaram a Doença de Fabry em 1,2% dos homens japoneses com DRC terminal, previamente diagnosticados com glomerulonefrite crônica. Nesses, 83% não apresentavam a manifestação clássica da doença, sugerindo que os sinais e sintomas precoces podem não estar presentes na variante renal, dificultando o diagnóstico. Neste grupo, o início da doença ocorreu após os 25 anos de idade, um aspecto interessante relacionado à apresentação clínica da DF. Na variante cardíaca existe o comprometimento do rim, sendo descrito a presença de proteinúria leve a moderada sem alteração da função renal (50).

1.4. Diagnóstico

O diagnóstico da DF pode ser realizado através da história individual e do exame físico, histórico familiar, exames laboratoriais ou através de exame anátomo-patológico (1).

1.4.1. Diagnóstico clínico:

O diagnóstico geralmente pode ser suspeito em homens e mulheres com diminuição da capacidade de concentração urinária, proteinúria ou doença renal de etiologia desconhecida, especialmente quando estiverem associadas à história de dor neuropática, angioqueratoma, dor abdominal e diminuição da sudorese.

Por isso, deve ser obtida uma história familiar detalhada, especialmente voltada para doenças neurológicas não explicadas, insuficiência renal crônica e miocardiopatia. Branton e colaboradores em seu estudo, com 115 pacientes com DF, relataram que 46% dos indivíduos apresentavam história familiar positiva (5).

O exame oftalmológico e dermatológico feito por especialistas, podem sugerir o diagnóstico.

1.4.2. Diagnóstico laboratorial:

O diagnóstico laboratorial da Doença de Fabry em homens pode ser feito através da detecção do nível de atividade da α -GAL A. Resultados abaixo do normal ou muito reduzidos podem ser verificados pela medida da atividade da α -GAL A em leucócitos, plasma e cultura de fibroblastos. Nas mulheres, os níveis de atividade da α -GAL A podem variar de normal, abaixo do normal e valor indeterminável (5). Mehta e colaboradores (4) verificaram a atividade enzimática da α -GAL A no plasma de 152 homens e 119 mulheres, identificando atividade enzimática reduzida em 113, normal em um e indeterminável em 38 homens. Nas mulheres, a atividade enzimática estava reduzida em 62, normal em 56 e indeterminável em uma. Assim sendo, as mulheres portadoras

podem necessitar de genotipagem para identificação específica da mutação no gene da α -GAL A.

Com muitas mutações descritas e identificadas, a verificação de uma mutação numa nova família requer o seqüenciamento completo do gene (1).

1.4.3. Diagnóstico anátomo-patológico e citologia urinária:

A biópsia de pele identifica os depósitos de glicosfingolipídeos sendo um meio de diagnóstico seguro (52). A biópsia renal mostrará alterações características da Doença de Fabry, porém não é um método de diagnóstico frequentemente utilizado (46, 53). A citologia urinária é um exame diagnóstico não invasivo, pouco utilizado, ao mesmo tempo em que se mostra importante para a demonstração do envolvimento renal na DF. Contudo, a sensibilidade desse método, ainda é desconhecida (46).

1.4.4. Diagnóstico pré-natal:

Nas famílias com DF, o diagnóstico pré-natal em homens pode ser realizado através do teste de determinação de cariótipo XY e redução da atividade da α -GAL A, nas vilosidades coriônicas (realizado entre nona e décima semana de gravidez), ou em células amnióticas cultivadas, extraídas por amniocentese (realizado na décima-quinta semana de gravidez). Se a mutação familiar é conhecida, mulheres heterozigotas podem ser identificadas antes de nascer (25).

1.5. Tratamento

1.5.1. Tratamento sintomático

A Doença de Fabry tem sido tratada com medidas paliativas e de suporte para alívio dos sintomas. A dor neuropática é tratada com fenitoína, gabapentina e carbamazepina (54, 55, 56). Os antiinflamatórios não esteróides, geralmente são

ineficazes, e os narcóticos de ação central produzem resultados parciais (27). A metoclopramida pode ser usada para os sintomas gastrointestinais relacionados com a neuropatia autonômica (57). A profilaxia com anticoagulantes e agentes anti-agregantes plaquetários são importantes em pacientes com história de acidente vascular cerebral isquêmico transitório ou infarto (27).

Como em pacientes com doenças cardíacas ou renais por outras causas, a hipertensão, a dislipidemia e outros fatores de risco devem ser tratados agressivamente (55). Embora, o efeito de medicamentos como os inibidores da enzima conversora da angiotensina e bloqueadores do receptor da angiotensina não tenham sido testado na Doença de Fabry, é aconselhado o seu uso em pacientes com proteinúria ou declínio da função renal (55).

1.5.2. Terapia de reposição enzimática

Os primeiros estudos de reposição enzimática ocorreram nas décadas de 1970 e 1980, utilizando enzima α -GAL A purificada de tecidos humanos. Porém, esta técnica era limitada pela baixa capacidade de produção (58,59). O advento da biologia molecular e clonagem do cDNA da α -GAL A serviu para obtenção de suprimento contínuo e amplo de α -GAL humana, com base na tecnologia de DNA recombinante. Ionaou e colaboradores (60) demonstraram que repetidas doses de enzima resultavam em diminuição do acúmulo de Gb3 em vários órgãos de camundongos.

Os estudos pré-clínicos, realizados em animais, avaliaram a farmacodinâmica e farmacocinética da α -GAL A humana recombinante, permitindo a introdução de pesquisas clínicas em humanos (61,62). Esses experimentos foram desenvolvidos, usando preparações distintas da enzima α -GAL A recombinante, que diferem no tipo de célula utilizada para a sua produção: agalsidase alfa utiliza células fibroblastos humanas (Replagal®, Shire Human Genetic Therapies) enquanto a agalsidase beta (Fabrazyme®, Genzyme) é produzida de células de ovário de hamster chineses (63, 64). A segurança e a eficácia das duas preparações enzimáticas foram avaliadas em estudos separados, conduzidos em duas fases:

A Fase I/II tinha como objetivo avaliar a dose apropriada a ser administrada, bem como a farmacocinética e os efeitos adversos.

Schiffman e colaboradores (65) administraram uma dose de agalsidase alfa (0,3-4,7 mg/Kg) em 5 grupos de 2 pacientes. A utilização de dose única da enzima resultou num decréscimo de 38% da excreção urinária diária de Gb3, a meia-vida da enzima foi menor no plasma do que no tecido e não houve efeito adverso.

Eng e colaboradores (66) realizaram estudo em 15 homens com Doença de Fabry que foram divididos em cinco grupos de três pacientes recebendo 5 doses de agalsidase beta (0,3-3mg/Kg) em diferentes intervalos (a cada 48h ou 14 dias). Nesse estudo, houve redução da dor neuropática e aumento da sudorese. A concentração plasmática de Gb3 foi dose dependente, e a redução do acúmulo tecidual de Gb3 foi proporcional à dose e ao tipo de tecido. Observaram, também, que a biópsia renal pós-tratamento mostrou uma redução em média de 82% dos depósitos de Gb3, enquanto o acúmulo nos podócitos permaneceu inalterado. Em geral, a terapia enzimática foi bem tolerada e um dos efeitos adversos mais comuns foi o aumento da pressão arterial, de leve à moderada durante a infusão, com retorno a níveis normais após a infusão. A soroconversão dos anticorpos IgG específicos para agalsidase beta desenvolveu-se em 8 dos 15 pacientes. Desses 8 pacientes, 4 desenvolveram hipersensibilidade média-moderada com reações do tipo, febre, calafrios e taquicardia. Embora tenha ocorrido soroconversão, não foram observadas mudanças no perfil da farmacocinética entre a primeira e a última infusão, sugerindo que o aparecimento de anticorpos não reduz a sua eficácia.

A Fase II/III das pesquisas com o uso de agalsidase alfa e agalsidase beta foram randomizadas, duplo-cego e placebo controladas. Estes estudos eram diferentes com relação aos critérios de inclusão dos pacientes, à dose administrada e aos desfechos primário e secundário.

Schiffmann e colaboradores (64) conduziram um ensaio clínico duplo-cego randomizado, controlado com placebo, envolvendo 26 homens hemizigotos, tratados com agalsidase alfa (Replagal®, 0,2mg/Kg). No total foram administradas 12 doses, a cada 2 semanas. O primeiro efeito verificado, no grupo tratado, foi a melhora significativa da dor neuropática. Os pacientes foram submetidos à biópsia renal antes e após o tratamento. Cada glomérulo foi classificado em: 1) normal (com ou sem depósito de

glicosfingolípídeos, mas sem expansão mesangial ou esclerose); 2) espessamento mesangial; 3) glomeruloesclerose segmentar; 4) glomeruloesclerose global. O uso da enzima de reposição foi associado ao aumento de 21% na fração de glomérulos normais, enquanto que o grupo placebo teve a diminuição de 27% (P=0,01). No entanto, a relevância clínica, na reversão da expansão mesangial, foi considerada incerta. O grupo tratado mostrou redução das inclusões citoplasmáticas no endotélio vascular, sem outras mudanças nas células renais. O grupo, com uso de agalsidase alfa, também mostrou uma melhora significativa da função renal, sendo observado uma rápida deterioração da função renal no grupo placebo.

Eng e colaboradores (67) realizaram ensaio clínico multicêntrico duplo-cego randomizado, controlado com placebo, do qual participaram 58 pacientes (incluindo 2 mulheres). A dose administrada foi de 1,0 mg/Kg de agalsidase beta (Fabrazyme®) ou placebo, a cada 2 semanas, por 20 semanas. Houve uma redução nos depósitos de Gb3 no rim em 20 dos 29 pacientes, comparado com 0 dos 29 do grupo placebo (P<0,001). 59 % dos pacientes tratados tiveram efeitos colaterais durante a infusão da agalsidase beta sendo controlados com medicação específica. A soroconversão ocorreu em 88% dos pacientes, mas nenhuma influência na eficácia do tratamento foi observada.

Como resultado dessas pesquisas, tanto a agalsidase alfa (Replagal®), quanto a agalsidase beta (Fabrazyme®) foram aprovadas para comercialização na Europa em 2001. Nos Estados Unidos, em 2003, foi aprovada somente a agalsidase beta (68). Devido à raridade e à variabilidade da Doença de Fabry os estudos clínicos randomizados e placebo controlados são de difícil elaboração. Portanto, a maioria dos estudos publicados apresenta um número pequeno de participantes, utilizando tanto agalsidase alfa quanto a agalsidase beta. Linthorst e colaboradores (69), em um estudo clínico aberto comparativo não observaram diferença imunológica e ocorrência de efeitos colaterais entre as duas preparações enzimáticas. Outros estudos mostram que ambas preparações enzimáticas apresentam atividade similar e comparável atividade de glicosilação (70,71). Futuras pesquisas clínicas comparando a eficácia de ambas agalsidase poderão esclarecer a possível diferença in vivo entre as duas terapias de reposição enzimática em pacientes com DF.

1.5.3. Transplante renal

Em 1970, o transplante renal foi proposto como tratamento da doença renal crônica causada pela Doença de Fabry e também como uma tentativa de corrigir o defeito metabólico pela suplementação de enzima α -GAL A através do rim transplantado (1). Embora Clarke e colaboradores (72) tenham demonstrado que o transplante renal somente diminui transitoriamente os níveis de glicosfingolipídeos, esse procedimento não apresenta efeito na progressão do envolvimento de tecidos não renais (73). Não está claro quando a DF poderá recidivar no rim transplantado. Na análise da biópsia de rim transplantado, realizada seis meses e oito anos após transplante renal, foram observados inclusões citoplasmáticas no endotélio vascular, somente na microscopia eletrônica (57, 74). Gantenbein e colaboradores (75) relataram a recorrência de DF 14 anos após o transplante renal, com depósitos de glicosfingolipídeos, em células epiteliais tubulares e nas células endoteliais do enxerto. Parece que estes depósitos são suficientes para comprometer o funcionamento do rim transplantado. O mecanismo pelo qual ocorre o depósito ainda é desconhecido, uma vez que as células do rim transplantado expressam uma quantidade normal de α -GAL A e se acredita que algumas células epiteliais tubulares se encontrem sobrecarregadas no processamento de glicosfingolipídeos sistêmico. A sobrevida do enxerto, em estudos de longo e curto prazo, demonstra ser a mesma, independente da causa da DRC. O transplante renal continua sendo o tratamento de escolha para DRCT causada pela Doença de Fabry (76, 77,78).

1.6. Referências Bibliográficas

1. Desnick RJ, Ioannou YA, Eng CM. α -Galactosidase A deficiency: Fabry disease, in *The metabolic and Molecular Basis of Inherited Diseases* (8 th ed, vol 3), edited by Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, New York, Mcgraw-Hill, 2001, pp 3733-3774.
2. Meikle PJ, Hopwood JJ, Clague AE, Carey WF. Prevalence of lysosomal storage disorders. *JAMA* 281: 249-254, 1999
3. Ries M, Gupta S, Moore DF, Sachedev V, Quirk JM, Murray GJ, Rosing DR, Robinson C, Schaefer E, Gal A, Dambrosia JM, Garman SC, Brady RO, Schiffmann R. Pediatric Fabry disease. *Pediatric* 115: 344-355, 2005
4. Mehta A, Ricci R, Widmer U, Dehout F, Garcia de Lorenzo A, Kampmann C, Linhart A, Sunder-Plassmann G, Ries M, Beck M. Fabry disease defined: baseline clinical manifestations of 366 patients in Fabry Outcome Survey. *Eur J Clin Invest* 34: 236-242, 2004
5. Branton MH, Schiffmann R, Sabnis SG, Murray GJ, Quirk JM, Altarescu G, Golfarb L, Brady RO, Balow JE, Austin III HÁ, Kopp JB. Natural history of Fabry renal disease: influence of alpha-galactosidase A activity and genetic mutations of clinical course. *Medicine (Baltimore)* 81: 122-138,2002
6. Grünfeld JP, Lidove O, Joly D, Barbey F. Renal disease in Fabry patients. *J Inherit Metab Dis* 24: 71-74,2001
7. Grünfeld JP, Chauveau D, Levy M. Anderson-Fabry Disease: Its place among other genetic causes of renal disease. *J Am Soc Nephrol* 3: 126-129, 2002
8. Thadhani R, Wolf M, West ML, Tonelli M, Ruthazer R, Pastores GM, Obrador GT. Patients with Fabry disease on dialysis in the United States. *Kidney Int* 61: 249-255, 2002
9. Tsakiris D, Simpson HK, Jones EH, Briggs JD, Elinder CG, Mendel S, Piccoli G, dos Santos JP, Tognoni G, Vanrenterghen Y, Valderrabano F: Report on management of

renal failure in Europe, XXVI, 1995. Rare diseases in renal replacement therapy in the ERA-EDTA Registry. *Nephrol Dial Transplant* 11: 4-20, 1996

10. Obrador GT, Ojo A, Thadhani R. End-stage renal disease in patients with Fabry disease. *J Am Soc Nephrol* 13: 144-146, 2002
11. Human Gene Mutation database at the Institute of Medical genetics in Cardiff <http://archive.uwcm.ac.uk/uwcm/mg/hgmd0.html> consulta em 13.12.2006
12. Ashton-Prolla P, Tong B, Shabbeer J, Astrin KH, Eng CM, Denick RJ. Fabry disease: twenty-two novel mutations in the alpha-galactosidase A gene and genotype/phenotype correlations in severely and mildly affected hemizygotas and heterozygotas. *J Investig Med* 48: 227-235, 2000
13. Ashton-Prolla P, Asheley GA, Giugliani R, Pires RF, Desnick RJ, Eng CM. Fabry disease: comparison of enzymatic, linkage, and mutation analysis for carrier detection in a family with novel mutation (30delG). *Am J Med Genet* 84: 420-424, 1999
14. Whybra C, Kampmann C, Willers I, Davies J, Winchester B, Kriegsmann, Brühl K, Gal A, Bunge S, Beck M. Anderson-Fabry disease: Clinical manifestations of disease in female heterozygotas. *J Inherit Metab Dis* 24: 715-724, 2001
15. Lyon M.F. Gene Action in X-chromosome of the mouse (*Mus musculus* L.) *Nature* 190: 372-373, 1961
16. Lyon MF. X chromosome inactivation and human genetic disease. *Acta Paediatr* 91: 107-112, 2002
17. Redonnet-Vernhet I, Ploos van Amstel JK, Jansen RP, Wevers RA, Salvayre R, Levade T. Uneven X inactivation in female monozygotas twin pair with Fabry disease and discordant expression of a novel mutation in alpha-galactosidase A gene. *J Med Genet* 33: 682-688, 1996
18. Calhoun DH, Bishop DF, Bernstein HS, Quinn M, Hantzopoulos P, Desnick RJ. Fabry disease: isolation of a cDNA clone encoding human alpha-galactosidase A. *Proc Natl Acad Sci USA* 82: 7364-7368, 1985

19. Caggana M, Ashley GA, Desnick RJ, Eng CM. Fabry disease: molecular carrier detection and prenatal diagnosis by analysis of closely linked polymorphisms at Xq22.1. *Am J Med Genet* 71: 329-335, 1997
20. Sweeley CC, Kliensky BL. Fabry's disease: classification as Sphingolipidosis and partial characterization of novel glycolipid. *J Biol Chem* 238: 3148-3150, 1963
21. Brady RO, Bradley RM, Martenson E, Warshaw AL, Laster L. Enzymatic defect in Fabry's disease. Ceramidetrihexosidase deficiency. *N Engl J Med* 276: 1163-1167, 1967
22. Cho M, Kopp JB. Fabry disease in the era of enzyme replacement therapy: a renal perspective. *Pediatr Nephrol* 19: 583-593, 2004
23. Beutler E. Enzyme replacement in Gaucher disease. *PloS Med* 1: 118-121, 2004
24. Pastores GM, Lien YH. Biochemical and molecular genetic basis of Fabry disease. *J Am Soc Nephrol* 13: 130-133, 2002
25. Alroy J, Sabnis S, Kopp JB. Renal pathology in Fabry disease. *J Am Soc Nephrol* 13: 134-138, 2002
26. Mehta A. New developments in management of Anderson-Fabry disease. *Q J Med* 95: 647-653, 2002
27. Desnick R, Brady R, Barranger J, Collins AJ, Germain DP, Goldman M, Grabowski G, Packman S, Wilcox WR. Fabry disease, an under-recognized multisystemic disorder: Expert recommendations for diagnosis, management, and enzyme replacement therapy. *Ann Intern Med* 138: 338-346, 2003
28. MacDermot KD, Holmes A, Miners AH. Anderson-Fabry disease: clinical manifestations and impact of disease in cohort of 60 obligate carrier females. *J Med Genet* 38: 769-775, 2001
29. MacDermot KD, Holmes A, Miners AH. Anderson-Fabry disease: clinical manifestation and impact of disease in cohort of 98 hemizygous males. *J Med Genet* 38: 750-760, 2001

30. Ries M, Ramaswami U, Parini R, Lindblad B, Whybra C, Willers I, Gal A, Beck M. The early clinical phenotype of Fabry disease: a study on 35 European children and adolescents. *Eur J Pediatr* 162: 767-772, 2003
31. Peters FP, Vermeulen FP, Kho TL. Anderson-Fabry's disease: alpha- galactosidase deficiency. *Lancet* 357: 138-140, 2001
32. Möhrenschrager M, Braun-Falco M, Ring J, Abeck D. Fabry disease recognition and management of cutaneous manifestations. *Am Clin Dermatol* 14: 189-196, 2003
33. Cable WJ, Kolodny EH, Adams RD. Fabry disease: impaired autonomic function. *Neurology* 32: 498-502, 1982
34. Ramaswami U, Whybra C, Parini R, Pintos-Morell G, Metha A, Sunder-Plassmann G, Widmer U, Beck M. Clinical manifestation of Fabry disease in children: data from the Fabry Outcome Survey. *Acta Paediatrica* 95: 86-92, 2006
35. O'Brien BD, Shnitka TK, McDouglas R, Walker K, Costopoulos L, Lenthe B, Anholt L, Freeman H, Thomson AB. Pathophysiologic and ultrastructural basis for intestinal symptoms in Fabry's disease. *Gastroenterology* 82: 957-962, 1982
36. Sher NA, Letson RD, Desnick RJ. The ocular manifestations of Fabry's Disease. *Arch Ophthalmol* 97: 671-676, 1979
37. Linhart A, Palecek T, Bultas J, Ferguson JJ, Hrudova J, Karetova D, Zeman J, Ledvinova J, Poupetova H, Ellder M, Aschermann M. New insights in cardiac structural changes in patients with Fabry's disease. *Am Heart J* 139: 1101-1108, 2000
38. Kolodny EH, Pastores GM. Anderson Fabry Disease: Extrarenal, Neurologic Manifestations. *J Am Soc Nephrol* 13: 150-153, 2002
39. Altarescu G, Moore DF, Pursley R, Campia U, Goldstein S, Bryant M, Panza JA, Schiffmann R. Enhanced endothelium-dependent vasodilation in Fabry disease. *Stroke* 32: 1559-1562, 2001
40. Nakao S, Toshihiro T, Maeda M, Kodama C, Tanaka A, Tahara M, Yoshida A, Kuriyama M, Hayashibe H, Sakuraba H, Tanaka H. An atypical variant of Fabry's disease in men with left ventricular hypertrophy. *N Engl J Med* 333: 288-293, 1995

- 41 Von Scheidt W, Eng CM, Fitzmaurice TF, Erdmann E, Hubner G, Olsen EG, Christomanou H, Kandolf R, Bishop DF, Desnick RJ. An atypical variant of Fabry's disease with manifestation confined to the myocardium. *N Engl J Med* 324: 395-399,1991
- 42 Colombi A, Kostyal A, Bracher R, Gloor F, Mazzi R, Tholen H. Angiokeratoma corporis diffusum- Fabry's disease. *Helv Med Acta* 34: 67-83,1967
- 43 Sessa A, Meroni M, Battini G, Righetti M, Maglio A, Tosoni A, Nebuloni M, Vago G, Giordano F. Renal Involvement in Anderson-Fabry disease. *J Nephrol* 16: 310-313, 2003
- 44 Branton M, Schiffmann R, Kopp J. Natural history and treatment of renal involvement in Fabry disease. *J Am Soc Nephrol* 13: 139-143, 2002
- 45 Fabry RADAR, 2004. First edition of Fabry Registry Aggregate data Annual Report. European and North American boards of advisors.
- 46 Ruggenenti P, Perna A, Gherardi G, Benni R, Remuzzi G. Chronic proteinuric nephropathies: Outcomes and response to treatment in prospective cohort of 352 patients with different patterns of renal injury. *Am J Kidney Dis* 35: 1155-1165, 2000
- 47 Chiurciu C, Remuzzi G, Ruggenenti P. Angiotensin-converting enzyme inhibition and renal protection in non diabetic patients: the data of the meta-analyses. *J Am Soc Nephrol* 16: 58-63, 2005
- 48 Kleinert J, Dehout F, Schwarting A, Lorenzo Ag, Ricci R, Kampmann C, Beck M, Ramaswami U, Linhart A, Gal A, Houges G, Widmer U, Metha A. Prevalence of uncontrolled hypertension in patients with Fabry disease. *Am J Hypertens* 19: 782-787, 2006
- 49 Hughes DA, Mehta AB. Vascular complications of Fabry disease: enzyme replacement and other therapies. *Acta Pediatr* 94: 28-33, 2005
- 50 Desnick RJ, Banikazemi and M. Wassertein. Enzyme replacement therapy for Fabry disease, an inherited nephropathy. *Clin Nephrol* 57: 1-8, 2002
- 51 Nakao S, Kodama C, Takenaka T, Tanaka A, Yasumoto Y, Yoshida A, Kanzaki T, Enriquez A, Eng CM, Tanaka H, Tei C, Desnick RJ. Fabry disease: detection of

undiagnosed hemodialysis patients and identification of a “renal variant” phenotype. *Kidney Int* 64: 801-807,2003

- 52 Möherenschlager M, Braun-Falco M, Ring J, Abeck D. Fabry disease: recognition and management of cutaneous manifestations. *Am J Clin Dermatol* 4: 189-196, 2003
- 53 Warnock DG. Fabry disease: diagnosis and management, with emphasis on the renal manifestation. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 14: 87-95, 2005
54. Germain DP. Fabry's disease (alpha-galactosidase-A deficiency): recent therapeutic innovations. *J Soc Biol* 196: 183-190, 2002
- 55 Breunig F, Wanner C. Enzyme replacement therapy for Fabry disease: proving the clinical benefit. *Nephrol Dial Transplant* 18: 7-9, 2003
56. Lenoir G, Rivron M, Gubler MC, Dufier JL, Tome FS, Guivarch M. Fabry's disease. Carbamazepine therapy in acrodyniform syndrome. *Arch Fr Pediatr* 34: 704-716, 1977
- 57 Argoff Ce, Barton Nw, Brady RO, Ziessman HA. Gastrointestinal symptoms and delayed gastric emptying in Fabry's disease: response to metoclopramida. *Nucl Med Commun* 19: 887-891,1998
- 58 Brady RO, Tallman JF, Johson WG, Gal AE, Leahy WR, Quirk JM, Dekaban AS. Replacement therapy for inherited enzyme deficiency. Use of purified ceramidetrihexosidase in Fabry’s disease. *N Engl J Med* 289: 9-14, 1973
- 59 Desnick RJ, Dean KJ, Grabowski G, Bishop DF, Sweeley CC. Enzyme Therapy in Fabry’s disease: differential in vivo plasma clearance and metabolic effectiveness of plasma and splenic alpha-galactosidase A isozymes. *Proc Natl Acad Sci USA* 76: 5326-5330, 1979
- 60 Ioannou YA, Zeidner KM, Gordon RE, Desnick RJ. Fabry disease: preclinical studies demonstrate the effectiveness of alpha-galactosidase A replcement in enzyme deficient mice. *Am J Hum Genet* 68: 14-25, 2001
- 61 Wang AM, Ioannou YA, Zeidner KM, Gotleb RW, Dikman S, Stewart CL, Desnick RJ. Generation of a mouse model with a-galactosidase A deficiency. *Am J Hum Genet* 59: A208, 1996

- 62 Ohshima T, Murray GJ, Swaim WD, Longenecker G, Quirk JM, Cardarelli CO, Sugimoto Y, Pastan I, Gottesman MM, Brady RO, Kulkarni AB. Alpha-galactosidase A deficient mice: a model of Fabry's disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 94: 2540-2544, 1997
- 63 Brady RO, Murray GJ, Moore DF, Schiffmann R. Enzyme replacement therapy in Fabry's disease. *J Inherit Metab Dis* 24: 18-24, 2001
- 64 Schiffmann R, Kopp JB, Austin HA 3rd, Sabnis S, Moore DF, Weibel T, Balow JE, Brady RO. Enzyme replacement Fabry disease: a randomized controlled trial. *JAMA* 285: 2743-2749, 2001
- 65 Schiffmann R, Murray GJ, Treco D, Daniel DP, Sellos-Moura M, Myers M, Quirk JM, Zirzow GC, Borowski M, Loveday K, Anderson T, Gillespie F, Oliver KL, Jeffries NO, Doo E, Liang TJ, Kreps C, Gunter K, Frei K, Crutchfield K, Selden RF, Brady RO. Infusion of alpha-galactosidase A reduces tissue globotriaosylceramide storage in patients with Fabry's disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 97: 365-370, 2000
- 66 Eng CM, Banikazemi M, Gordon RE, Goldman M, Phelps R, Kim L, Gass A, Winston J, Dikman S, Fallon JT, Brodie S, Stacy CB, Mehta D, Parsons R, Norton K, O'Callaghan M, Desnick RJ. A phase I/II clinical trial of enzyme replacement in Fabry's disease: pharmacokinetics, substrate clearance and safety studies. *Am J Hum Genet* 68: 711-722, 2001
- 67 Eng CM, Guffon N, Wilcox WR, Germain DP, Lee P, Waldek S, Caplan L, Linthorst GE, Desnick RJ. Safety and efficacy of recombinant human alpha-galactosidase A – replacement therapy in Fabry's disease. *New Engl J Med* 345: 9-16, 2001
- 68 Desnick RJ. Enzyme replacement therapy for Fabry disease: lessons from alpha-galactosidase A orphan products and one FDA approval. *Expert Opinion Biol Ther* 4: 1167-1176, 2004
- 69 Linthorst GE, Holak C, Ormel E, Vedder A, Aerts JM. A comparative trial of enzyme preparations for Fabry's disease. *Proc 4th European round table on Fabry's disease, Munich, 17-18 October 2003.*

- 70 Lee K, Jim X, Zhang K, Copertino L, Baker- Malcolm J, Geagan L, Qiu H, Seiger K, Barngrover D, McPherson JM, Edmunds T. A biochemical and pharmacological comparison of enzyme replacement therapies for the glycolipid storage disorder Fabry disease. *Glycobiology* 13: 305-313,2003
- 71 Hopkin RJ, Bissler J, Grabowski GA. Comparative evaluation of alpha-galactosidase A infusions for treatment of Fabry's disease. *Genet Med* 5: 144-153, 2003
- 72 Clarke JT, Guttman RD, Wolfe LS, Beaudoin JG, Morehouse DD. Enzyme replacement therapy by renal allotransplantation in Fabry's disease. *N Engl J Med* 287: 1215-1218, 1972
- 73 Friedlaender MM, Kopolovic J, Rubinger D, Silver J, Drukker A, Ben-Gershon Z, Durst AL, Popovter MM. Renal biopsy in Fabry's disease after eight years after successful renal transplantation. *Clin Nephrol* 27: 206-211,1987
- 74 Faraggiana T, Churg J, Grishman E, Strauss L, Prado A, Bishop DF, Schuchman E, Desnick RJ. Light and electron-microscopic histochemistry of Fabry's disease. *Am J Pathol* 103: 247-262,1981
- 75 Gantenbein H, Bruder E, Burger HR, Briner J, Binswanger U. Recurrence of Fabry's disease in renal allograft 14 years after transplantation. *Nephrol Dial Transplant* 10: 287-289, 1995
- 76 Mignani R, Gerra D, Maldini L, Bignardi L, Casanova S, Cambi V, Cagnoli L, Long-term survival of patients with renal transplantation in Fabry's disease.. *Contrib Nephrol* 136: 229-233, 2001
- 77 Peces R, Aguado S, Fernandez F, Gago E, Gómez E, Marin R, Alvarez J. Renal transplantation in Fabry's disease. *Nephron* 51: 294-295,1989
- 78 Erten Y, Ozdemir FN, Demirhan B, Karakayali H, Demirag A, Akkoc H, A case of Fabry's disease with normal kidney function at 10 years after successful renal transplantation. *Tranplant Proc* 30: 842-843, 1998

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo principal

Avaliar a função renal e a proteinúria de 24 h em pacientes com Doença de Fabry tratados com terapia de reposição enzimática, agalsidase alfa, por um período de três anos.

2.2. Objetivo secundário:

Avaliar os efeitos colaterais do uso da terapia de reposição enzimática, agalsidase alfa.

3. ARTIGO EM PORTUGUÊS

Avaliação da função renal e da proteinúria de 24 horas em pacientes portadores da Doença de Fabry, por 36 meses, com terapia de reposição da enzima agalsidase alfa: uma experiência brasileira.

Scheila Thofehrn 1, Cristina Netto 6, Cláudia Cecchin 6, Maira Burin 6, Ursula Matte 7, Sílvia Brustolin 2, Ane Nunes¹, Janice Coelho 4, 6, Marylin Tsao⁶, Laura Jardim 2, 6, Roberto Giugliani 3, 6, Elvino Barros 1, 2,5.

Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas: Nefrologia, Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (1); Departamento de Medicina Interna (2), Genética (3) e Bioquímica (4), Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Serviço de Nefrologia (5) e Serviço de Genética Médica (6), Centro de Terapia Genética (7), Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Porto Alegre, Brasil.

Endereço para correspondência:

Dra. Scheila P. A. Thofehrn

Avenida Presidente Vargas, 853

96180-000

Camaquã – RS

Brasil

E-mail: sthofehrn@terra.com.br

Resumo

Introdução: O manejo da Doença de Fabry (DF), antes da terapia de reposição enzimática (TRE), consistia de tratamento sintomático e medidas paliativas. O uso de agalsidase alfa, um análogo da α -galactosidase A (α -GAL A), é utilizado como tratamento específico dessa doença. Entretanto, não está claro em que estágio da doença renal crônica (DRC) a TRE é capaz de melhorar a função renal.

Os objetivos deste estudo foram avaliar o efeito terapêutico da reposição da enzima agalsidase alfa sobre a função renal; a redução da proteinúria de 24 horas e a segurança do seu uso.

Pacientes e métodos: No período de 1º de janeiro de 2002 a 1º de agosto de 2005, nove pacientes portadores de Doença de Fabry (7 homens, 2 mulheres), foram tratados conforme protocolo que utilizou a enzima agalsidase alfa por via endovenosa na dose de 0,2 mg/Kg, a cada 15 dias. A avaliação da função renal foi medida através dos seguintes métodos: taxa de filtração glomerular (TFG) pela depuração do cromo etileno diamino tetra-acetato ($^{51}\text{Cr-EDTA mL/min/1,73 m}^2$) nos períodos 0, 12, 24 e 36 meses e a proteinúria de 24h nos períodos 0, 3, 6, 12, 18, 24 e 36 meses. A DRC foi classificada pelos critérios da *National Kidney Foundation Disease Outcome Quality Initiative Advisory Board (NKF/DOQI)*, nos quais o estágio I foi definido por $\text{TFG} \geq 90 \text{ mL/min/1,73 m}^2$; estágio II: 60-89 mL/min/1,73m²; estágio III: 30-59 mL/min/1,73 m²; estágio IV: 15-29 mL/min/1,73m² e estágio V: < 15 mL/min/1,73m².

Resultados: Seis pacientes completaram 36 meses de terapia, dois pacientes completaram 18 meses, e um paciente completou 12 meses. A média de idade dos pacientes foi de 34,6 \pm 11,3 anos. Durante o período em estudo, a função renal permaneceu estável no grupo de pacientes com estágio I, II, e III. Um paciente, inicialmente com estágio IV, progrediu para doença renal crônica terminal (DRCT) e iniciou a hemodiálise no 7º mês, sendo transplantado aos 12 meses de TRE. A proteinúria também permaneceu estável no grupo de pacientes que apresentava proteinúria patológica. O uso da agalsidase alfa foi bem tolerado em 99,5% das 593 infusões administradas.

Conclusão: Ao longo dos 36 meses de TRE, não houve modificação da função renal e da proteinúria de 24 horas. Assim, a terapia de reposição enzimática com agalsidase alfa pode prevenir a progressão da nefropatia, quando usada precocemente. Nenhum efeito colateral apreciável foi observado com uso de TRE, durante o estudo.

Palavras chave: Doença renal crônica; Terapia de reposição enzimática; alfa-galactosidase A; Doença lisossomal.

Introdução

A Doença de Fabry (DF) é uma doença hereditária rara, ligada ao cromossomo X, cuja alteração genética leva à deficiência parcial ou completa da atividade da enzima α -galactosidase A (α -GAL A), que resulta em acúmulo progressivo de glicosfingolipídeos (GEL), principalmente o globotriaosilceramida (GL-3), nos lisossomos de vários tipos de células de diversos tecidos [1-2]. Este processo causa uma importante disfunção especialmente nas células endoteliais, epiteliais e da camada muscular lisa dos vasos, bem como o comprometimento das células renais glomerulares e tubulares. Alterações semelhantes são observadas nas células do miocárdio, nos fibrócitos valvulares, nas células epiteliais da córnea e nas células do sistema nervoso central e autônomo [3,4].

A doença atinge todas as etnias com uma prevalência estimada no sexo masculino que varia de 1 em 40.000 a 1 em 117.000 [2, 5]. Na forma clássica da doença, homens hemizigotos com ausência da atividade da enzima α -GAL A, apresentam como sintomas mais comuns a acroparestesia, angioqueratomas, hipohidrose, opacidade da córnea (verticillata) e proteinúria [6].

O envolvimento renal é geralmente detectado no início da fase adulta, com manifestação clínica mais evidente em homens hemizigotos, embora as mulheres heterozigotas, portadoras, também apresentem vários graus de comprometimento devido à inativação do cromossomo X [7,8]. A dificuldade de concentração urinária pode ser a alteração funcional mais precoce da Doença de Fabry, no entanto, a manifestação clínica mais comum é a proteinúria que usualmente inicia na adolescência tornando-se mais freqüente na terceira e quarta década de vida. A eletroforese de proteínas urinárias revela proteinúria de origem glomerular. O nível de proteinúria pode variar de leve a moderado, podendo, no entanto alcançar níveis nefróticos ($>3,5\text{g}/24\text{h}$) [9]. No paciente sem tratamento específico ocorre uma gradual deterioração da função renal ao longo dos anos, até o estágio final por volta dos 30 e 50 anos de idade, havendo a necessidade da introdução da terapia renal substitutiva (TRS) como a hemodiálise e/ou transplante renal [10].

No passado, o tratamento da Doença de Fabry era apenas sintomático e paliativo, com o uso de medicações como a gabapentina, carbamazepina e fenitoína para

controle da dor neuropática e da ticlodipina como terapia profilática nos estados pós-trombótico da doença. Os inibidores da enzima conversora da angiotensina (ECA) e bloqueadores dos receptores da angiotensina II (BRA) têm sido úteis para diminuir a proteinúria e prevenir a progressão da doença renal [11,12].

O tratamento específico da DF utiliza a α -GAL A humana recombinante, que tem duas diferentes apresentações; agalsidase alfa (obtida de células fibroblastos humanas) e agalsidase beta (obtida de células ovarianas de hamster chineses). Estudos realizados têm demonstrado segurança e eficácia, particularmente na redução dos depósitos de GL-3, em diversos tecidos e órgãos, podendo inclusive melhorar os parâmetros clínicos da doença como a dor neuropática, sudorese e, principalmente, a qualidade de vida [13, 14, 15, 16, 17]. Estudos clínicos têm investigado a eficácia da TRE em pacientes com Doença de Fabry com diferentes estágios de DRC [18]. Contudo, ainda não está estabelecido se TRE é capaz de retardar ou inibir a progressão da doença renal crônica, particularmente em pacientes com perda de função renal nos estágios III e IV.

Os objetivos deste estudo são avaliar o efeito terapêutico da enzima agalsidase alfa sobre a função renal e proteinúria de 24h e a segurança do seu uso, durante três anos de tratamento contínuo.

Pacientes e métodos

Foram incluídos no estudo nove pacientes, durante o período de 1o de janeiro de 2002 a 1o de agosto de 2005. O diagnóstico clínico da DF foi estabelecido através da história individual, história familiar e do exame físico dos pacientes, com a observação da presença de angioqueratomas e córnea verticillata. O critério diagnóstico para inclusão no estudo foi a redução plasmática da atividade enzimática α -galactosidase A (Morgan e Young, [19]) e a análise da mutação no gene da α -galactosidase A [2]. Não foi observado nenhum caso de hipertensão arterial sistêmica (HAS), tabagismo, dislipidemia ou outra doença crônica. Os dados referentes às características neurológicas e moleculares desta análise foram publicados em estudos anteriores (Jardim e col. 2004[20], 2006a[21] e 2006b[22]; Pereira e col.,2006[23]), e estão sumarizados na tabela 1. O protocolo deste estudo foi aprovado pela Comissão de Ética do Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

Todos os pacientes submetidos à pesquisa e, de acordo com a declaração de Helsinki, tiveram seus consentimentos devidamente formalizados.

Terapia de reposição enzimática e controle clínico

Agalsidase alfa (Replagal®, Shire Human Genetic Therapies) é uma análoga da α -galactosidase A, manufaturada através de engenharia genética, obtida da linhagem de células humanas por métodos previamente descritos e possui a mesma seqüência de aminoácidos e via de glicosilação que a enzima humana nativa [15]. A cada duas semanas, os pacientes receberam agalsidase alfa em nível ambulatorial, na dose 0,2 mg/kg, diluída em 100 mL de soro fisiológico, sendo administrada de forma contínua por via endovenosa, durante um período de 40 minutos. A dose calculada teve como base o peso do paciente, do início até 13ª semana do ciclo.

A história clínica, o exame físico e os exames de rotina foram realizados a cada visita. A verificação da pressão arterial, frequência cardíaca e temperatura foram obtidas antes e após cada infusão. Todos os pacientes foram reavaliados a cada 12 meses.

Função renal e proteinúria de 24 horas

Os pacientes foram orientados para a coleta de urina de 24h, desprezando o volume urinário da primeira micção matinal e continuando a coleta dos volumes até a primeira micção do dia seguinte completando o período de 24 horas.

A função renal foi avaliada pela taxa de filtração glomerular através do método depuração do cromo etileno diamino tetra-acetato (^{51}Cr -EDTA mL/min/1,73 m²) nos períodos 0, 12, 24 e 36 meses. A doença renal foi classificada de acordo com os critérios do National Kidney Foundation Kidney Disease Outcome Quality Initiative Advisory Board [24], em: estágio I, TFG \geq 90mL/min/1,73 m²; estágio II, 60-89 mL/min/1,73m²; estágio III, 30-59 mL/min/1,73 m²; estágio IV, 15-29 mL/min/1,73m² e estágio V, < 15 mL/min/1,73m².

A proteinúria de 24 horas foi medida, pelo método colorimétrico com vermelho pirogallol, através do analisador químico ADVIA 1650/Cobas Mira Plus®, nos períodos 0, 3, 6, 12, 18, 24 e 36 meses, sendo considerado patológico os valores superiores a 150mg/24h.

Análise Estatística

Os dados categóricos foram descritos por frequência e percentual, e os contínuos por média e desvio padrão. Na situação de assimetria utilizamos transformação logarítmica nos cálculos e na apresentação dos dados. A avaliação da evolução da função renal e da proteinúria de 24 horas foi inicialmente realizada com análise de variância de medidas repetidas, seguida de procedimento de post hoc com ajuste de valores P pelo método de Finner. O nível de significância escolhido foi $P \leq 0,05$. Os cálculos foram realizados com auxílio do programa SPSS (statistical package for social sciences) versão 12.0, e os gráficos elaborados pelo programa SigmaPlot versão 8.0.

Resultados

Nove pacientes (sete homens), pertencentes a cinco diferentes famílias, com idade entre $34,6 \pm 11,3$ anos. Todos pacientes apresentaram atividade plasmática da α -GAL A reduzida e a análise do gene da α -galactosidase A mostrou mutação consistente com Doença de Fabry. A TFG mostrou: sete pacientes (78%) estavam no estágio I de DRC e tinham proteinúria $\geq 150\text{mg}/24\text{h}$. As principais características clínicas e laboratoriais dos nove pacientes, antes de receber a TRE são apresentadas na tabela 1.

[TABELA 1]

Seis pacientes completaram 36 meses de terapia, dois 18 meses e um completou 12 meses. O paciente #4, 28 anos, progrediu para estágio final da DRC e iniciou hemodiálise no 7º mês, sendo transplantado aos 12 meses, quando foi excluído da análise da função renal e da proteinúria de 24 horas. Permanecendo incluído na análise quanto à segurança no uso da medicação.

Segurança

A adesão ao tratamento foi boa, com apenas 7 faltas. A administração da agalsidase alfa foi bem tolerada. Em apenas 3 sessões, de um total 593, observamos efeitos colaterais. Dois pacientes apresentaram calafrios generalizados, cefaléia, artralgia, sem alteração dos sinais vitais, sendo controlados com o uso de difenidramina e hidrocortisona. Um paciente apresentou febre e cefaléia logo após o término da infusão, o que não foi observado nas infusões subseqüentes.

Avaliação da função renal e proteinúria durante o seguimento do estudo

Na figura 1A podemos observar o comportamento da função renal, mostrando sete pacientes (87.5%) no estágio I da DRC, e um paciente (12.5%) no estágio III da DRC. A figura 1B mostra a proteinúria de 24h dos oito pacientes durante o período de 36 meses de terapia com agalsidase alfa.

A figura 2A mostra que a função renal (média \pm DP) 0, 12, 24 e 36 meses foi respectivamente, $110,30 \pm 28,68$ mL/min/1,73m², n=8; $114,78 \pm 33,92$, n=8; $104,38 \pm 35,66$, n=5; e $122,61 \pm 46,85$, n=5. Não foram encontradas diferenças significativas ($P>0,05$).

A figura 2B mostra que a proteinúria de 24h (média \pm DP) 0, 3, 6, 12, 24 e 36 meses foi respectivamente, $194,28 \pm 85,19$ mg/24h, n=7; $400,75 \pm 639,67$, n=8; $396,28 \pm 656,90$, n=7; $317,87 \pm 493,10$, n=8; $366,14 \pm 564,49$, n=7; $203,40 \pm 123,60$, n=5; $555,60 \pm 572,57$, n=5, não sendo observada diferença significativa entre os valores ($P>0,05$). Nenhum paciente apresentou progressão para o estágio terminal da DRC.

Desfechos

O Paciente #1 apresentou acidente vascular cerebral isquêmico transitório aos 8 meses de TRE e foi tratado com aspirina e ticlodipina. Após 34 meses de terapia, este mesmo paciente desenvolveu hipertensão arterial sistêmica, sendo medicado com

inibidores da enzima conversora da angiotensina (IECA). O paciente #4 submetido à hemodiálise no 7º mês, transplantado aos 12 meses de TRE, desenvolveu HAS dois meses após o transplante e foi igualmente medicado com IECA. Os efeitos da agalsidase alfa sobre a função renal e proteinúria desse paciente, inicialmente no estágio IV de DRC e proteinúria > 6,7g/24h, foram avaliados individualmente. O uso da TRE não reverteu à deterioração da função renal. A proteinúria deste paciente permaneceu inalterada durante os doze meses de TRE e somente diminuiu para valores < 500 mg/24h após a realização do transplante renal.

Discussão

Durante o período em estudo, foi observado que o uso de 0,2 mg/Kg de agalsidase alfa, administrada por infusão contínua endovenosa, a cada 2 semanas, é seguro e bem tolerado no tratamento de pacientes com a Doença de Fabry. Nas 593 infusões ocorreram raros efeitos colaterais, apenas em 3 ocasiões (0,5%). A ocorrência de acidente vascular cerebral e HAS foi compatível com a história natural da doença, não sendo relacionada com o tratamento. Nosso estudo apresenta resultados comparáveis ao realizado por Schiffmann e col. que observaram 1.528 infusões com agalsidase alfa (0,2 mg/Kg durante 40 min) em 22 pacientes, tratados em nível domiciliar, com boa tolerância ao uso dessa medicação [25]. O conhecimento dos efeitos colaterais, o uso de uma medicação segura e com boa tolerabilidade exercem um papel importante para o tratamento da Doença de Fabry que apresenta uma evolução crônica e necessita de terapia contínua.

No momento, vários estudos utilizando tanto a agalsidase alfa quanto a agalsidase beta investigam a eficácia da TRE em pacientes portadores da DF com DRC em vários estágios de evolução [13, 14, 15, 17, 26, 27]. Os depósitos progressivos de GL-3 são clinicamente relevantes, sendo determinantes para a evolução da doença renal para o estágio final. O estudo de Branton e col., com a participação de 14 pacientes com DF e doença renal sem uso de TRE, mostrou um rápido declínio da TFG em média de 12,2 mL/min/ano [28]. Em nosso estudo, pacientes com estágio I, II e III de DRC apresentaram a taxa de filtração glomerular estável durante o período observado. O paciente #4 com DRC em estágio IV progrediu para o estágio terminal apesar do uso contínuo de

medicação. Nesse paciente também não houve mudanças nos níveis de proteinúria com o uso TRE a não ser após o transplante renal.

Nos estágios mais avançados de comprometimento renal, predominam a glomeruloesclerose, atrofia tubular e fibrose intersticial, talvez como resultado dos danos isquêmicos causados pela necrose das células da camada muscular lisa dos vasos sobrecarregados de depósitos de GL-3 [3, 29]. Portanto, é provável que a administração precoce da TRE previna o aparecimento de lesões extensas e irreversíveis.

A DRC se apresenta habitualmente com microalbuminúria e proteinúria, provavelmente causada pela deposição de GL-3 nos podócitos [10]. No entanto, apenas esta alteração não justifica a progressão para a doença renal crônica [30]. O estudo realizado por Branton e col., em pacientes sem uso da TRE, mostrou proteinúria em 66 dos 78 pacientes, em alguma etapa evolutiva da doença. Nessa mesma análise, o diagnóstico de proteinúria foi feito entre a segunda e quarta década de vida, estando presente na totalidade dos pacientes com idade superior a 50 anos [28]. Em nosso estudo, 75% dos pacientes apresentavam proteinúria patológica, que permaneceram com níveis estáveis por 36 meses, corroborando com estudos de outros autores que demonstraram eficácia do uso da TRE na estabilização e melhora da proteinúria [15, 17, 27].

As limitações do nosso estudo se devem, em parte, à raridade da Doença de Fabry, ao pequeno número de pacientes e aos diferentes estágios de doença renal crônica. Foi observada função renal estável nos pacientes com estágio I, II, e III da DRC. No paciente com estágio IV a terapia de reposição enzimática foi incapaz de impedir a progressão da doença. Estes dados são semelhantes ao observado em outros estudos que não mostraram benefícios no uso da TRE para o tratamento da nefropatia da DF em estágios mais avançados de DRC [25, 27]. Podemos concluir que a terapia de reposição da enzima agalsidase alfa é segura e retarda a progressiva perda de função renal assim como estabiliza a proteinúria quando usada precocemente.

Agradecimentos

Agradecemos o apoio da Shire Human Genetic Therapies, indústria farmacêutica que forneceu a medicação agalsidase alfa, assim como financiou os custos deste estudo.

Referências Bibliográficas

1. Brady RO, Gal AE, Bradley RM, Martensson E, Warshaw AL, Laster L. Enzymatic defect in Fabry's disease. Ceramide-trihexosidase deficiency. *N Engl J Med* 1967; 276: 1163-1167
2. Desnick RJ, Ioannou YA, Eng CM. α -Galactosidase A deficiency: Fabry disease. In: *The Metabolic and Molecular Basis of Inherited Diseases* (8th ed, Vol. 3), edited by Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, New York, McGraw-Hill, 2001; 3733-3774
3. Alroy J, Sabnis S, Kopp JB. Renal pathology in Fabry disease. *J Am Soc Nephrol* 2002; 2:134-138
4. Kolodny E, Pastores G. Anderson-Fabry disease: Extrarenal, neurologic manifestations. *J Am Soc Nephrol* 2002; 13:150-153
5. Meikle PJ, Hopwood JJ, Clague AE, Carey WF. Prevalence of lysosomal storage disorders. *JAMA* 1999; 281:249-254
6. MacDermot KD, Holmes A, Miners AH. Anderson-Fabry disease: clinical manifestations and impact of disease in a cohort of 98 hemizygous males. *J Med Genet* 2001; 38:750-760
7. MacDermot KD, Holmes A, Miners AH. Anderson-Fabry disease: clinical manifestations and impact of disease in cohort of 60 obligate carrier females. *J Med Genet* 2001; 38:769-775
8. Lyon MF. X-chromosome inactivation and human genetic disease. *Acta Paediatr* 2002;439:107-112
9. Branton M, Schiffmann R, Kopp JB. Natural history and treatment of renal involvement in Fabry disease. *J Am Soc Nephrol* 2002; 13:139-143
10. Sessa A, Meroni M, Battini G, Righetti M, Maglio A, Tosoni A, Nebuloni M, Vago G, Giordano F. Renal involvement in Anderson- Fabry disease. *J Nephrol* 2003; 16:310-313
11. Breurnig F, Wanner C. Enzyme replacement therapy for Fabry disease: proving the clinical benefit. *Nephrol Dial Transplant* 2003; 18:7-9

12. Jafar TH, Stark PC, Schmid CH, Landa M, Maschio G, de Jong PE, et al. Progression of chronic kidney disease: the role of blood pressure control, proteinuria, and angiotensin-converting enzyme inhibition: a patient-level meta-analysis. *Ann Intern Med* 2003; 139:244-252
13. Desnick RJ, Brady R, Barranger J, Collins AJ, Germain DP, Goldman M, Grabowski G, Packman S, Wilcox WR. Fabry disease, an under-recognized multisystemic disorder: Expert recommendation for diagnosis, management and enzyme replacement therapy. *Ann Intern Med* 2003; 138:338-346
14. Eng CM, Guffon N, Wilcox WR, et al. Safety and efficacy of recombinant human alpha-galactosidase A replacement therapy in Fabry's disease. *N Engl J Med* 2001; 345: 9-16
15. Schiffmann R, Kopp JB, Austin HA 3rd, Sabnis S, Moore DF, Weibel T, Balow JE, Brady RO. Enzyme replacement therapy in Fabry disease: a randomized controlled trial. *JAMA* 2001; 285: 2743-2749
16. Thurberg BL, Byers HR, Granter SR, Phelps RG, Gordon RE, O'Callaghan M. Monitoring the 3 year efficacy of enzyme replacement therapy in Fabry disease by repeated skin biopsies. *J Invest Dermatol* 2004; 122: 900-908
17. Wilcox WR, Banikazemi M, Guffon N, Waldek S, Lee P, Linthorst G, Desnick RJ, Germain DP. Long-term safety and efficacy of Enzyme replacement therapy for Fabry disease. *Am J Hum Genet* 2004; 75:65-74
18. Mignani R., Cagnoli L. Enzyme replacement therapy in Fabry's disease: Recent advances and clinical applications. *J Nephrol* 2004; 17:354-363
19. Morgan SH, Rudge P, Smith SJ, Bronstein AM, Kendall BE, Holly E, Young EP, Crawford MD, Bannister R. The neurological complications of Anderson-Fabry Disease (α -galactosidase A deficiency) – investigation of symptomatic and presymptomatic patients. *Q. J Med* 1990; 75: 491-507
20. Jardim LB, Vedolin L, Schwartz IVD, et al. CNS involvement in Fabry's disease: clinical and image studies before and after 12 months of enzyme replacement therapy. *J Inherit Metab Dis* 2004; 27: 229 – 240
21. Jardim LB, Gomes I, Netto CB, Nora DB, Matte US, Pereira F, Burim MG, Kalakun L, Giugliani R, Becker J. Improvement of sympathetic skin responses under enzyme replacement therapy in Fabry disease. *J Inherit Metab Dis* 2006; 29:653 - 659

22. Jardim LB, Aesse F, Vedolin LM, Pitta-Pinheiro C, Marconato J, Burin M, Cecchin C, Netto.CB, Matte US, Pereira F, Kalakun L, Giugliani R. White matter lesions in Fabry disease before and after enzyme replacement therapy: a 2- year follow-up. *Arq Neuropsiquiat* 2006; 64:711-717
23. Pereira FS, Jardim LB, Netto C, Burin M, Cecchin C, Giugliani R, Matte U. Molecular Analysis of Brazilian Patients with Fabry Disease. *Braz J Med Biol Res* 2006, in press.
24. K/DOQI NFK. Kidney Disease Outcome Quality Initiative. Clinical practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification, and stratification. *Am J Kidney Dis* 2002; 39: 1- 246
25. Schiffmann R, Ries M, Timmons M, Flaherty J, Brady RO. Long-term therapy with agalsidase alfa for Fabry disease: safety and effects on renal function in a home infusion setting. *Nephrol Dial Transplant* 2006; 21:345-354
26. Desnick RJ, Banikazemi M, Wasserstein M. Enzyme replacement therapy in Fabry's disease, an inherited nephropathy. *Clin Nephrol* 2002; 57:1-8
27. Beck M, Ricci R, Widmer U, Dehout F, Garcia de Lorenzo A, Kampmann C, Linhart A, Sunder-Plassmann G, Houge G, Ramaswami U, Gal A and Mehta A. Fabry disease: overall effects of agalsidase alfa treatment. *Eur J Clin Invest* 2004; 34:838-844
28. Branton MH, Schiffmann R, Sabnis SG, Murray GJ, Quirk JM, Altarescu G, Golfarb L, Brady RO, Balow JE, Austin III HÁ, Kopp JB. Natural history of Fabry renal disease: influence of alpha-galactosidase A activity and genetic mutations on clinical course. *Medicine (Baltimore)* 2002; 81:122-138
29. Gubler MC, Lenoir G, Grunfeld JP, Ulmann A, Droz D, Habib R. Early renal changes in hemizygous and heterozygous patients with Fabry's disease. *Kidney Int* 1978; 13:223-235
30. Thurberg BL, Rennke H, Colvin RB, Dikman S, Gordon RE, Collins AB, Desnick RJ, O'Callaghan M. Globotriaosylceramide accumulation in the Fabry kidney is cleared from multiple cell types after enzyme replacement therapy. *Kidney Int* 2002; 62:1933-1946

Tabela 1 – Características clínicas e laboratoriais dos 9 pacientes em uso de agalsidase alfa, no início do estudo

Características	Pacientes								
	1	2	3	4	5	6	7	8	10
Gênero (masculino/feminino)	M	M	M	M	M	M	M	F	F
Família	A	A	B	C	D	D	D	D	F
Idade (anos)	46	36	31	26	26	24	23	45	54
α -Gal plasma (nmol/mL/h)	0.62*	0.50*	0.21*	0.33*	0.82*	0.31*	0.31*	3.80*	1.60**
Genótipo	30delG	30delG	L36F	W349X	30delG	30delG	30delG	30delG	Y86H
TFG ⁵¹ Cr-EDTA (mL/min/1.73 m ²)	58.4	115.8	127.9	23.3	94.5	105.1	145.3	141.3	94.1
Proteinúria de 24 horas (mg/24h)	1320	179	167	6700	213	211	128	99	363

TFG: Taxa de Filtração Glomerular; ** valores de referência da α -galplasma: 4 a 22 nmol/mL/h; * valores de referência da α -galplasma: 8.9 a 39.0 nmol/mL/h Paciente#9 em uso de agalsidase-beta

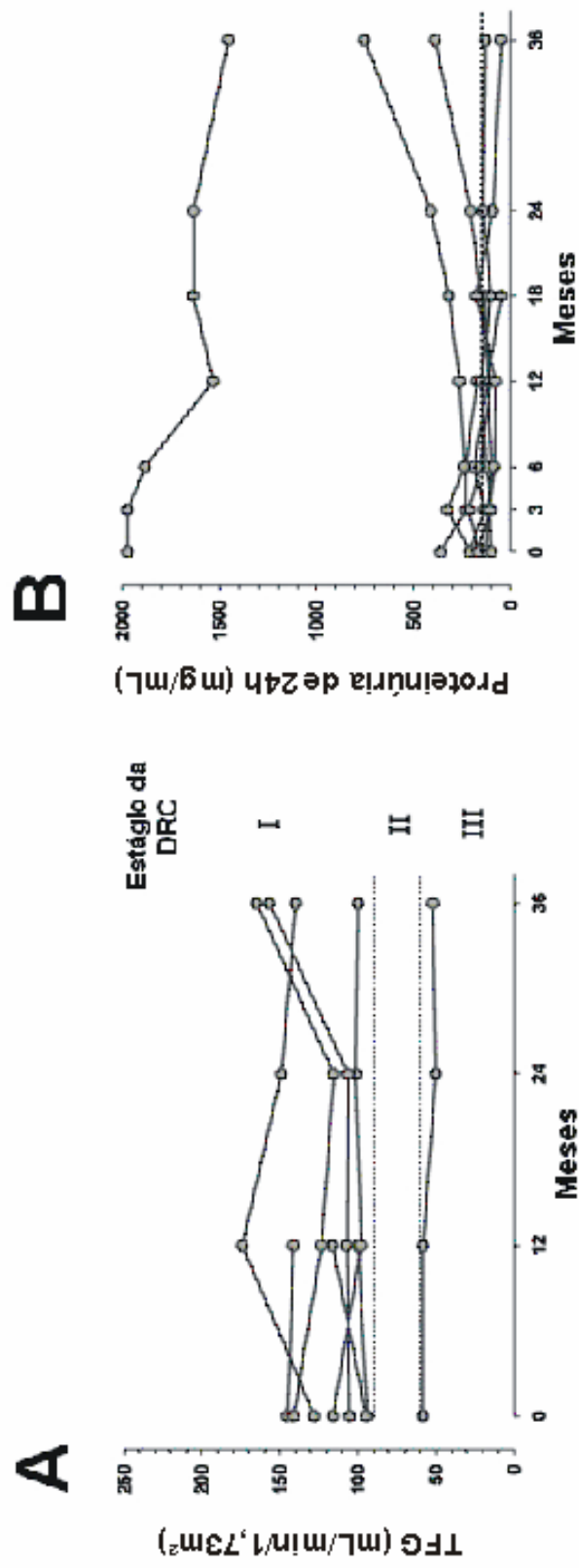


Figura 1: Efeito do tratamento com agal sidade alfa na TFG (A) e na proteinúria de 24 horas (B) durante 36 meses de terapia de reposição enzimática dos oito pacientes com Doença de Fabry.

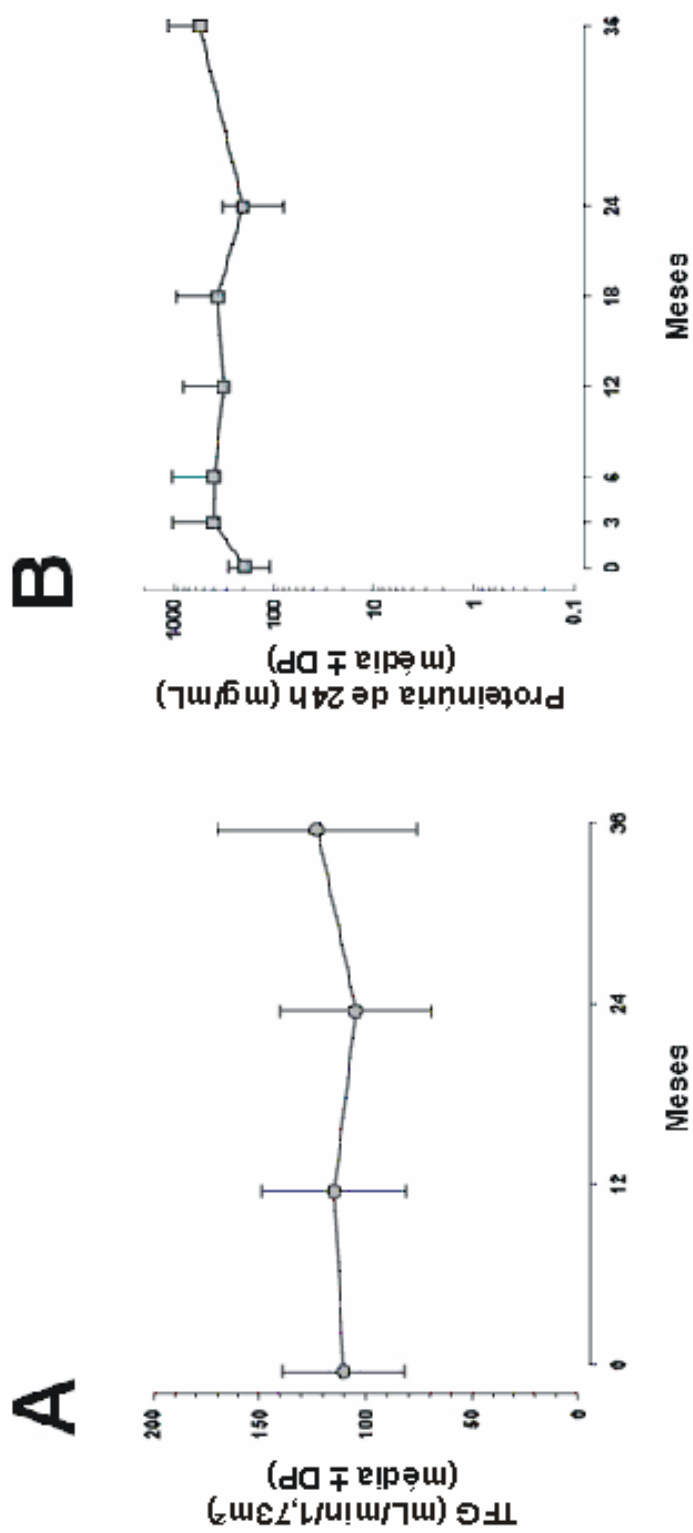


Figura 2: Avaliação da TFG (A) e da Proteínúria de 24 horas (B) com uso da agalisdase alfa durante 36 meses de terapia de reposição enzimática dos oito pacientes com Doença de Fabry.

4. ARTIGO EM INGLÊS

Kidney function and 24-hour proteinuria in patients with Fabry disease during 36 months of agalsidase alfa enzyme replacement therapy: A Brazilian experience

Scheila Thofehrn 1, Cristina Netto 6, Cláudia Cecchin 6, Maira Burin 6, Ursula Matte 7, Sílvia Brustolin 2, Ane Nunes1, Janice Coelho 4, 6, Marylin Tsao6, Laura Jardim 2, 6, Roberto Giugliani 3, 6 , Elvino Barros 1,2,5.

(1) Post-Graduate Program in Medical Science: Nephrology, Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brazil; Departments of (2) Internal Medicine, (3) Genetics, and (4) Biochemistry – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, (5) Nephrology and (6) Medical Genetics Services, and (7) Gene Therapy Center – Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Porto Alegre, Brazil

Mailing Address:

Scheila P. A. Thofehrn, MD

Avenida Presidente Vargas, 853

96180-000

Camaquã – RS

Brazil

E-mail: sthofehrn@terra.com.br

Abstract

Background. Prior to the introduction of enzyme replacement therapy (ERT), management of Fabry disease (FD) consisted of symptomatic and palliative measures. ERT has been available for several years using recombinant human agalsidase alfa, an analogue of α -galactosidase A (α -GAL A). However the limitations of ERT in improving kidney function have not been established. This study evaluates safety and therapeutic effect of agalsidase alfa replacement in terms of kidney function and reduction in 24-hour proteinuria.

Methods. During the period between January 1, 2002 and August 1, 2005, nine Fabry patients (7 male, 2 female) were treated according to protocol, receiving 0.2 mg/kg of agalsidase alfa administered intravenously every two weeks. Kidney function was evaluated by measuring the glomerular filtration rate (GFR) using chromium ethylene diamine tetra-acetate clearance (^{51}Cr -EDTA mL/min/1.73 m²) at baseline, 12, 24 and 36 months. 24-hour proteinuria was measured at baseline, 3, 6, 12, 18, 24 and 36 months of ERT. Kidney disease was classified according to National Kidney Foundation Disease Outcome Quality Initiative (NKF/DOQI) Advisory Board criteria, which define stage I chronic kidney disease (CKD) as $\text{GFR} \geq 90\text{mL}/\text{min}/1.73\text{ m}^2$, stage II as 60-89 mL/min/1.73m², stage III as 30-59 mL/min/1.73 m², stage IV as 15-29 mL/min/1.73m² and stage V as $< 15\text{ mL}/\text{min}/1.73\text{m}^2$.

Results. Six patients completed 36 months of therapy, 2 patients completed 18 months, and 1 patient completed 12 months. Mean patient age at baseline was 34.6 ± 11.3 years. During the study period, kidney function remained stable in patients with stage I, II, and III CKD. One patient, who entered the study with stage IV CKD, progressed to end-stage chronic kidney disease, beginning hemodialysis after 7 months and receiving a kidney transplant after 12 months of ERT. Proteinuria also remained stable in the group of patients with pathologic proteinuria. The use of agalsidase alfa was well tolerated in 99.5% of the 593 infusions administered.

Conclusion. Over the course of 36 months of ERT, there was no change in kidney function and 24-hour proteinuria. This suggests that agalsidase alfa may slow or halt the progression of kidney disease when used before extensive kidney damage occurs. No significant side effects were observed with ERT during the course of the study.

Keywords: chronic kidney disease; enzyme replacement therapy; alpha-galactosidase A; lysosomal diseases.

Introduction

Fabry disease is a rare X-linked inherited disorder resulting from partial or total deficiency in α -galactosidase A (α -GAL A) activity, leading to a progressive lysosomal accumulation of glycosphingolipids, particularly globotriaosylceramide (GL-3) [1,2]. This process causes vascular endothelial, perithelial and smooth-muscle cell dysfunction, as well as damaging renal glomerular and tubular cells. Similar changes have been observed in myocardial cells, valvular fibrocytes, corneal epithelial cells and central and autonomic nervous system cells [3,4].

The disease affects all ethnicities, with an estimated prevalence between 1:40.000 and 1:117.000 males [2,5]. In the classic form of the disease, hemizygous males lacking α -GAL A enzyme activity present symptoms such as acroparesthesia, angiokeratomas, hypohidrosis, corneal opacities (cornea verticillata), and proteinuria [6].

Renal involvement is generally detected in early adulthood. Clinical manifestations are more evident in hemizygous males, although heterozygous female carriers can also be affected to varying degrees due to skewed X-chromosomal inactivation [7,8]. Defects in urinary concentration may be the earliest functional manifestation of renal Fabry disease; however proteinuria is the most common sign, usually beginning in the teenage years and becoming more frequent by the 3rd and 4th decades of life [9]. Urinary protein electrophoresis reveals glomerular proteinuria, typically mild to moderate, but which may reach nephrotic levels ($>3.5\text{g}/24\text{h}$) [9]. In patients not receiving ERT, there is a gradual deterioration of renal function to end-stage renal disease (ESRD) between the third and fifth decades, requiring renal replacement therapy with hemodialysis and/or kidney transplantation [10].

In the past, treatment of Fabry disease was non-specific, symptomatic and palliative, based on the use of gabapentine, carbamazepine and phenytoin for the treatment of chronic pain, and prophylactic ticlodipine during the post-thrombotic state of the illness. Angiotensin converting enzyme (ACE) inhibitors and angiotensin II receptor blockers (ARB) have been useful for reducing proteinuria and slowing the progression of kidney disease [11,12].

Specific treatment for Fabry disease uses recombinant human α -GAL A, which is available in two different formulations: agalsidase alfa (obtained from human

fibroblasts) and agalsidase beta (obtained from Chinese hamster ovary cells). Both preparations have undergone clinical trials and demonstrated safety and efficacy, particularly in reducing GL-3 accumulation in several tissues and organs, as well as relieving signs and symptoms of the disease, such as neuropathic pain and sweating, and improving quality of life [13, 14, 15, 16, 17]. Clinical trials have investigated ERT efficacy in Fabry patients suffering from varying degrees of renal pathology [18]. However, it is not yet clear if ERT is able to delay or inhibit the progression of CKD, particularly in patients with stage III or IV kidney disease.

In this paper, we evaluate the therapeutic effect of ERT with agalsidase alfa in terms of kidney function, 24-hour proteinuria and safety after 3 years of continuous treatment.

Patients and Methods

Nine patients were included in this study between January 1st, 2002 and August 1st, 2005. Clinical diagnosis of Fabry disease was made through patient history, family screening, and observation of angiokeratomas and cornea verticillata on physical examination. Prior to inclusion in the study, diagnosis was confirmed by demonstration of reduced α -GAL A plasma activity (Morgan and Young, 1990 [19]) and mutation analysis of the α -galactosidase A gene [2]. There were no cases of hypertensive disorder, smoking, hyperlipidemia or other chronic diseases. Neurologic and molecular characteristics of this population have already been published (Jardim et al. 2004 [20], 2006a [21] and 2006b [22]; Pereira et al., 2006 [23]) and are summarized in table 1.

The study protocol was approved by the Ethics Committee of the Hospital de Clínicas de Porto Alegre, where the study was conducted, and written informed consent was obtained from all patients according to the Helsinki declaration.

Enzyme replacement therapy and clinical control

Agalsidase alfa (Replagal®, Shire Human Genetic Therapies), is a human form of the enzyme α -galactosidase A produced by gene activation in a continuous human cell line, resulting in the same amino acid sequence and glycosylation patterns as the native

human enzyme [15]. Every two weeks, patients received, on an out-patient basis, 0.2 mg/kg of agalsidase alfa, diluted in 100 mL of saline solution and administered intravenously by continuous 40-minute infusion. The dose was calculated based on the patient's weight at the beginning of each 13-week treatment cycle.

Medical history, physical examination, and routine blood tests were performed at each visit. Blood pressure, heart rate, and body temperature were measured before and after every infusion. All patients were reevaluated every 12 months.

Kidney function and 24-hour proteinuria measurements

Patients were instructed to begin urine collection immediately after the first voiding in the morning and continuing for 24 hrs, including a final voiding at the end of the 24-hours period.

Kidney function, as measured by glomerular filtration rate, was assessed in all patients by chromium ethylene diamine tetra-acetate clearance (51Cr-EDTA mL/min/1.73 m²) at baseline, 12, 24 and 36 months. Kidney disease was classified according to criteria developed by the National Kidney Foundation Kidney Disease Outcome Quality Initiative Advisory Board, in which stage I chronic kidney disease (CKD) is defined as a GFR of ≥ 90 mL/min/1.73 m², stage II, 60-89 mL/min/1.73m², stage III 30-59 mL/min/1.73 m², stage IV, 15-29 mL/min/1.73m² and stage V < 15 mL/min/1.73m² [24].

Total protein excretion was measured by colorimetry with pyrogallol red molybdate in an ADVIA 1650/Cobas Mira Plus®, chemistry analyzer. 24-hour urine was collected at baseline, 3, 6, 12, 18, 24 and 36 months, and was considered pathologic at levels >150 mg/24h.

Statistical Analysis

Categorical data were described by frequency and percentages. Continuous variables were described by means \pm SD. For skewed data we have used log transformation in the analysis and presentation. To evaluate the evolution of GFR measures and 24-hour proteinuria, ANOVA was followed by post hoc comparisons with adjusted P values using Finner's method. Significance was considered for $P < 0.05$. Data analysis was performed using SPSS version 12.0 and figures were drawn with Sigma Plot version 8.0.

Results

Nine patients (seven males), from five different families, aged 34.55 ± 11.31 yrs participated in the study. All patients presented decreased plasma α -GAL A activity, as well as mutation on the α -galactosidase A gene consistent with Fabry disease. Seven patients (78%) had stage I CKD and proteinuria $>150\text{mg}/24\text{h}$. Baseline clinical and laboratory characteristics are given in table 1.

[Table 1]

Six patients completed 36 months of therapy, 2 patients participated for 18 months, and 1 patient, who was included later in the trial, completed only 12 months of ERT. Patient #4, 28 yrs, progressed to ESRD and started hemodialysis after 7 months of ERT and underwent kidney transplantation after 12 months of treatment. Data post-transplant from this patient was excluded from analysis of renal function and 24-hour proteinuria, but was included in the safety analysis.

Safety

Treatment compliance was good, with only 7 missed infusions during the study period. Agalsidase alfa was well tolerated; side effects were observed in only 3 of the 593 infusions administered. Two patients described chills, headaches, and arthralgia, without changes in vital signs. These reactions were controlled with diphenhydramine and hydrocortisone. One patient presented an isolated case of fever and headache shortly after infusion.

Renal function and 24-hour proteinuria

Figure 1A tracks kidney function for the 7 patients (87.5%) in stage I CKD and one patient (12.5%) presenting in stage III CKD. Figure 1B shows 24-hour proteinuria for these 8 patients over the 36 month period with agalsidase alfa therapy.

Figure 2A shows that average kidney function (\pm SD) at baseline, 12, 24 and 36 months of follow-up was 110.30 ± 28.68 mL/min/1.73m², n=8; 114.78 ± 33.92 , n=8; 104.38 ± 35.66 , n=5; and 122.61 ± 46.85 , n=5. No significant ($P > 0.05$) differences were found.

Figure 2B shows average 24-hour proteinuria (\pm SD) at baseline, 3, 6, 12, 24 and 36 months of follow-up: 194.28 ± 85.19 mg/24h, n=7; 400.75 ± 639.67 , n=8; 396.28 ± 656.90 , n=7; 317.87 ± 493.10 , n=8; 366.14 ± 564.49 , n=7; 203.40 ± 123.60 , n=5; 555.60 ± 572.57 , n=5. Once again, no significant ($P > 0.05$) differences were found. None of the patients progressed to ESRD.

Outcome

Patient #1 had a transient cerebro-vascular ischemic episode at eight months of ERT and received aspirin and ticlodipine. After 34 months of therapy he developed hypertension and began treatment with an angiotensin-converting enzyme (ACE) inhibitor. The effects of ERT on renal function and proteinuria were evaluated separately for patient #4, who had stage IV CKD and proteinuria > 6.7 g/24h at the beginning of the study. The use of ERT did not reverse the decline of his renal function. This patient started hemodialysis after 7 months of treatment and underwent kidney transplantation at 12 months of ERT. He developed hypertension two months after the transplant, and was also treated with an ACE inhibitor. His proteinuria was constant during the 12 months of ERT and declined to < 500 mg/24h only after transplantation.

Discussion

During the 3-year study period, we demonstrated that 0.2 mg/Kg of agalsidase alfa, administered every two weeks by continuous intravenous infusion, was a safe and well-tolerated treatment for Fabry disease. A total of 593 infusions were administered with only 3 (0.5%) instances of infusion reactions. The incidence of serious

adverse events (hypertension, cerebral ischemic events) was consistent with the natural course of Fabry disease and was not attributable to treatment. These results are comparable to those of Schiffmann et al., in which 22 patients were treated with a total of 1528 agalsidase alfa infusions in a home setting (0.2 mg/Kg over 40 min), demonstrating a similarly low incidence of infusion reactions [25]. These demonstrations of safety and tolerability are important due to the chronic nature of Fabry disease that requires lifelong treatment.

To date, several studies using both agalsidase alfa and beta have investigated the efficacy of ERT in Fabry patients suffering from varying degrees of renal pathology [13, 14, 15, 17, 26, 27]. The progressive accumulation of GL-3 in the kidney is clinically important, as it is responsible for the decline in renal function resulting in end-stage renal failure. For example, Branton et al. observed rapid decline in GFR in 14 untreated Fabry patients with chronic kidney disease, documenting an average decrease in GFR of 12.2 ml/min per year [28]. In our study, patients with mild (CKD stage I) or moderate (CKD stage III) renal impairment maintained stable GFRs over the 3 years of treatment with agalsidase alfa. Only patient #4, with stage IV CDK, progressed to ESRD despite continuing agalsidase alfa infusions. This patient also showed no improvement in proteinuria with ERT until after kidney transplantation.

In advanced stages of Fabry kidney disease, histologic findings correspond to glomerulosclerosis with tubular atrophy and interstitial fibrosis, perhaps as a result of ischemic damage due to necrosis of smooth muscle cells in vessels overloaded with GL-3 deposits [3,29]. It is therefore reasonable to expect that early ERT will prevent the development of extensive, irreversible damage.

The clinical presentation of Fabry disease is often heralded by microalbuminuria and proteinuria, probably due to GL-3 deposition in podocytes [10]. However, this damage alone does not justify the progression to chronic kidney failure [30]. Branton et al. reported finding proteinuria at some point in the clinical course of 66 out of 78 patients not undergoing ERT. In the same study, proteinuria was diagnosed between the second and fourth decades of life, occurring universally in patients over 50 yrs. [28]. In the current study, 75% of the patients had pathologic levels of proteinuria at baseline, remaining stable over 36 months of ERT. This lends support to other clinical trials that demonstrate the efficacy of ERT in stabilizing or improving proteinuria [15, 17, 27].

This study is limited, in part, by the rarity of Fabry disease, which implies a small patient population and considerable disease heterogeneity, with patients suffering from varying degrees of renal pathology. Nevertheless, we observed stabilization of kidney function in patients with stage I, II, and III CKD over 3 years of ERT. In the patient with stage IV CKD, enzyme replacement therapy was unable to stop disease progression. These results confirm those of others studies that fail to show benefits with ERT for advanced stages of kidney disease due to Fabry [25, 27]. We conclude that enzyme replacement therapy with agalsidase alfa is safe, slowing the progressive decline in renal function and stabilizing proteinuria when used before extensive kidney damage occurs.

Acknowledgements

We are grateful for the support of Shire Human Genetic Therapies for providing the agalsidase alfa used during the infusions, as well as for covering other costs associated with the study.

References

1. Brady RO, Gal AE, Bradley RM, Martensson E, Warshaw AL, Laster L. Enzymatic defect in Fabry's disease. Ceramide-trihexosidase deficiency. *N Engl J Med* 1967; 276:1163-1167
2. Desnick RJ, Ioannou YA, Eng CM. α -Galactosidase A deficiency: Fabry disease. In: *The Metabolic and Molecular Basis of Inherited Diseases* (8th ed, Vol. 3), edited by Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, New York, McGraw-Hill, 2001; 3733-3774
3. Alroy J, Sabnis S, Kopp JB. Renal pathology in Fabry disease. *J Am Soc Nephrol* 2002; 2:134-138
4. Kolodny E, Pastores G. Anderson-Fabry disease: Extrarenal, neurologic manifestations. *J Am Soc Nephrol* 2002; 13:150-153
5. Meikle PJ, Hopwood JJ, Clague AE, Carey WF. Prevalence of lysosomal storage disorders. *JAMA* 1999;281:249-254
6. MacDermot KD, Holmes A, Miners AH. Anderson-Fabry disease: clinical manifestations and impact of disease in a cohort of 98 hemizygous males. *J Med Genet* 2001;38:750-760
7. MacDermot KD, Holmes A, Miners AH. Anderson-Fabry disease: clinical manifestations and impact of disease in cohort of 60 obligate carrier females. *J Med Genet* 2001; 38:769-775
8. Lyon MF. X-chromosome inactivation and human genetic disease. *Acta Paediatr* 2002;439:107-112
9. Branton M, Schiffmann R, Kopp JB. Natural history and treatment of renal involvement in Fabry disease. *J Am Soc Nephrol* 2002;13:139-143
10. Sessa A, Meroni M, Battini G, Righetti M, Maglio A, Tosoni A, Nebuloni M, Vago G, Giordano F. Renal involvement in Anderson-Fabry disease. *J Nephrol* 2003;16:310-313
11. Breurnig F, Wanner C. Enzyme replacement therapy for Fabry disease: proving the clinical benefit. *Nephrol Dial Transplant* 2003;18:7-9
12. Jafar TH, Stark PC, Schmid CH, Landa M, Maschio G, de Jong PE, et al. Progression of chronic kidney disease: the role of blood pressure control, proteinuria,

- and angiotensin-converting enzyme inhibition: a patient-level meta-analysis. *Ann Intern Med* 2003;139:244-252
13. Desnick RJ, Brady R, Barranger J, Collins AJ, Germain DP, Goldman M, Grabowski G, Packman S, Wilcox WR. Fabry disease, an under-recognized multisystemic disorder: Expert recommendation for diagnosis, management and enzyme replacement therapy. *Ann Intern Med* 2003; 138:338-346
 14. Eng CM, Guffon N, Wilcox WR, et al. Safety and efficacy of recombinant human alpha-galactosidase A replacement therapy in Fabry's disease. *N Engl J Med* 2001; 345: 9-16
 15. Schiffmann R, Kopp JB, Austin HA 3rd, Sabnis S, Moore DF, Weibel T, Balow JE, Brady RO. Enzyme replacement therapy in Fabry disease: a randomized controlled trial. *JAMA* 2001; 285: 2743-2749
 16. Thurberg BL, Byers HR, Granter SR, Phelps RG, Gordon RE, O'Callaghan M. Monitoring the 3 year efficacy of enzyme replacement therapy in Fabry disease by repeated skin biopsies. *J Invest Dermatol* 2004; 122: 900-90
 17. Wilcox WR, Banikazemi M, Guffon N, Waldek S, Lee P, Linthorst G, Desnick RJ, Germain DP. Long-term safety and efficacy of Enzyme replacement therapy for Fabry disease. *Am J Hum Genet* 2004;75:65-74
 18. Mignani R, Cagnoli L. Enzyme replacement therapy in Fabry's disease: Recent advances and clinical applications. *J Nephrol* 2004; 17: 354-363
 19. Morgan SH, Rudge P, Smith SJ, Bronstein AM, Kendall BE, Holly E, Young EP, Crawford MD, Bannister R. The neurological complications of Anderson-Fabry Disease (α -galactosidase A deficiency) – investigation of symptomatic and presymptomatic patients. *Q. J Med* 1990; 75: 491-507
 20. Jardim LB, Vedolin L, Schwartz IVD et al. CNS involvement in Fabry's disease: clinical and image studies before and after 12 months of enzyme replacement therapy. *J Inherit Metab Dis* 2004; 27: 229 – 240
 21. Jardim LB, Gomes I, Netto CB, Nora DB, Matte US, Pereira F, Burim MG, Kalakun L, Giugliani R, Becker J. Improvement of sympathetic skin responses under enzyme replacement therapy in Fabry disease. *J Inherit Metab Dis* 2006;29:653 - 659
 22. Jardim LB, Aesse F, Vedolin LM, Pitta-Pinheiro C, Marconato J, Burin M, Cecchin C, Netto CB, Matte US, Pereira F, Kalakun L, Giugliani R.

- White matter lesions in Fabry disease before and after enzyme replacement therapy:a 2- yearr follow-up. *Arq Neuropsiquiat* 2006; 64:711-717
23. Pereira FS, Jardim LB, Netto C, Burin M, Cecchin C, Giugliani R, Matte U. Molecular Analysis of Brazilian Patients with Fabry Disease. *Braz J Med Biol Res* 2006, in press.
 24. K/DOQI NFK. Kidney Disease Outcome Quality Initiative. Clinical practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification, and stratification. *Am J Kidney Dis* 2002; 39 :1-246
 25. Desnick RJ, Banikazemi M, Wasserstein M. Enzyme replacement therapy in Fabry's disease, an inherited nephropathy. *Clin Nephrol* 2002; 57:1-8
 26. Beck M, Ricci R, Widmer U, Dehout F, Garcia de Lourenzo A, Kampmann C, Linhart A, Sunder-Plassmann G, Houge G, Ramaswami U, Gal A and Mehta A. Fabry disease: overall effects of agalsidase alfa treatment. *Eur J Clin Invest* 2004; 34:838-844
 27. Schiffmann R, Ries M, Timmons M, Flaherty J, Brady RO. Long-term therapy with agalsidase alfa for Fabry disease: safety and effects on renal function in a home infusion setting. *Nephrol Dial Transplant* 2006; 21:345-354
 28. Branton MH, Schiffmann R, Sabnis SG, Murray GJ, Quirk JM, Altarescu G, Golfarb L, Brady RO, Balow JE, Austin III HÁ, Kopp JB. Natural history of Fabry renal disease: influence of alpha-galactosidase A activity and genetic mutations on clinical course. *Medicine (Baltimore)* 2002; 81:122-138
 29. Gubler MC, Lenoir G, Grunfeld JP, Ulmann A, Droz D, Habib R. Early renal changes in hemizygous and heterozygous patients with Fabry's disease. *Kidney Int* 1978;13:223-235
 30. Thurberg BL, Rennke H, Colvin RB, Dikman S, Gordon RE, Collins AB, Desnick RJ, O'Callaghan M. Globotriaosylceramide accumulation in the Fabry kidney is cleared from multiple cell types after enzyme replacement therapy. *Kidney Int* 2002;62:1933-1946

Table 1 – Baseline clinical and laboratory characteristics at study entry for 9 Fabry's disease patients under agalsidase alfa

Characteristic	Patient									
	1	2	3	4	5	6	7	8	10	
Gender (male/female)	M	M	M	M	M	M	M	M	F	F
Family	A	A	B	C	D	D	D	D	D	F
Age (years)	46	36	31	26	26	24	23	45	54	54
α -galplasma (nmol/mL/h)	0.62*	0.50*	0.21*	0.33*	0.82*	0.31*	0.31*	3.80*	1.60**	1.60**
Genotype	30delG	30delG	L36F	W349X	30delG	30delG	30delG	30delG	Y86H	Y86H
GFR ⁵¹ Cr-EDTA (mL/min/1.73 m ²)	58.4	115.8	127.9	23.3	94.5	105.1	145.3	141.3	94.1	94.1
Urinary protein excretion (mg/24h)	1320	179	167	6700	213	211	128	99	363	363

GFR: Glomerular filtration rate; ** α -galplasma reference values: 4 to 22 nmol/mL/h; * α -galplasma reference values: 8.9 to 39.0 nmol/mL/h Patient#9 under agalsidase-beta reposition

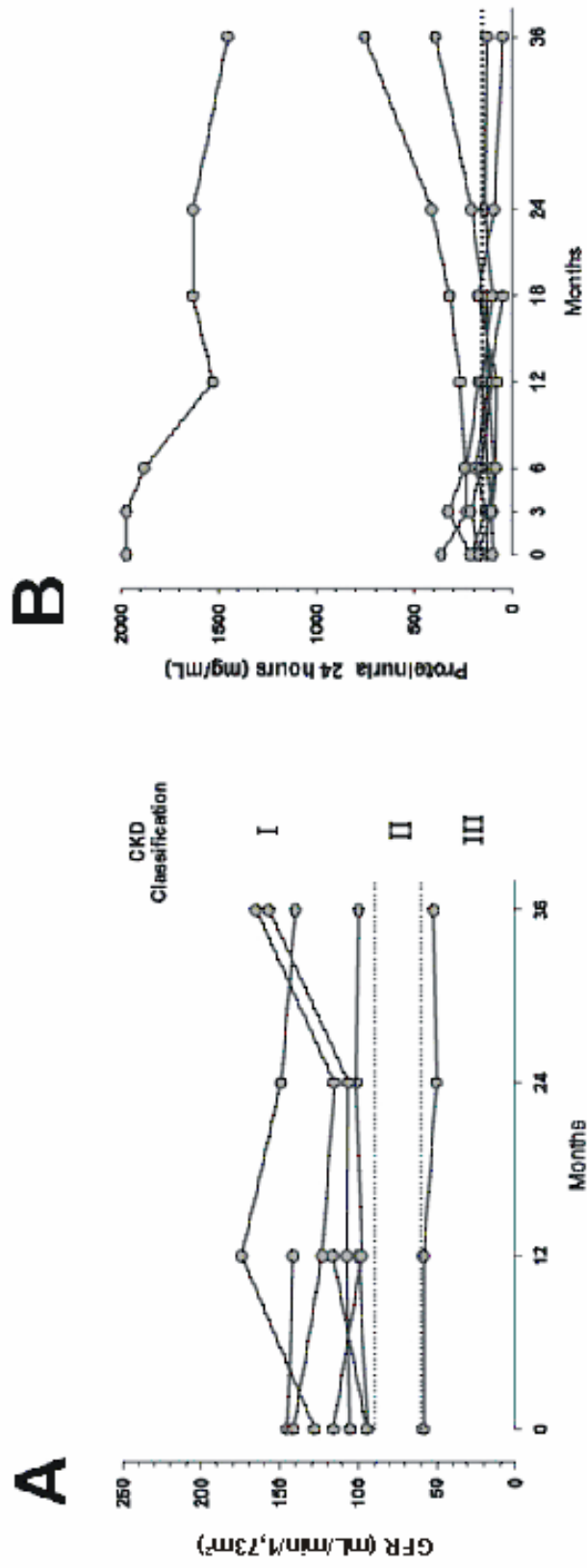


Figure 1-Effect of treatment with agalsidase alfa on GFR (A) and 24h urinary protein excretion rate (B) for eight patients with Fabry disease during 36 months follow up.

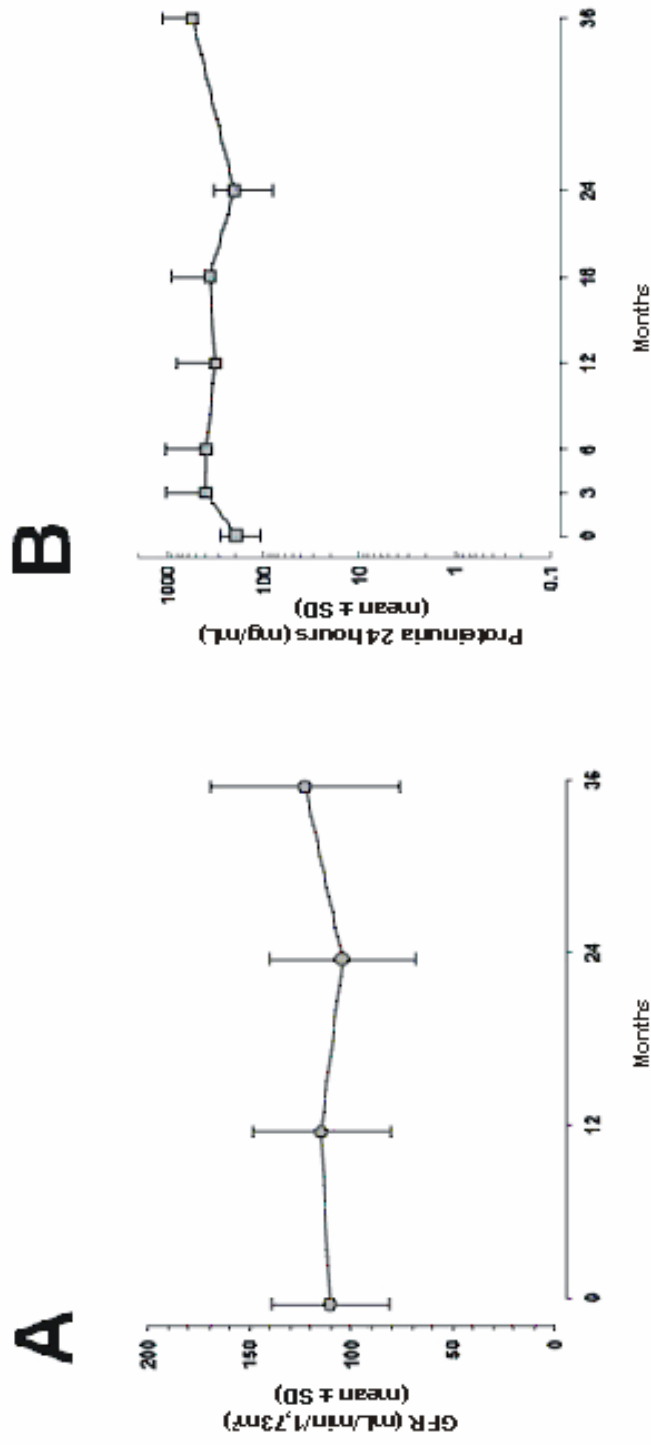


Figure 2- Glomerular filtration rate (A) and 24h urinary protein excretion rate evaluations for eight patients with algal sialose alfa therapy during 36 month follow up.