

## Acometimento renal na doença de Fabry

### Renal involvement in Fabry disease

#### Autores

Hugo Abensur<sup>1</sup>

Marlene Antônia dos Reis<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Universidade de São Paulo.

<sup>2</sup> Universidade Federal do Triângulo Mineiro.

#### RESUMO

Todas as células do corpo humano apresentam acúmulo de globotriaosilceramida (Gb3) na doença de Fabry devido à mutação que ocorre no gene da enzima  $\alpha$ -galactosidase A. Trata-se de uma doença ligada ao sexo. Os achados clínicos são: angioqueratomas cutâneos; acroparestesias e acidentes vasculares encefálicos precoces; sudorese diminuída e intolerância ao calor; alterações oculares; hipertrofia miocárdica, arritmias; alterações gastrointestinais e renais. O envolvimento renal ocorre devido ao acúmulo do Gb3 em todos os tipos de células renais. Portanto, os pacientes podem apresentar distúrbios das funções glomerulares e tubulares. Os podócitos são particularmente acometidos, com apagamento dos pedicélio e desenvolvimento de proteinúria. O diagnóstico é feito por meio da detecção de reduzida atividade plasmática ou leucocitária da  $\alpha$ -galactosidase e pela detecção da mutação do gene da  $\alpha$ -galactosidase. O tratamento com reposição enzimática contribui para o retardo da progressão da doença renal, principalmente se instituído precocemente.

**Palavras-chave:** doença de fabry; podócitos; terapia de reposição de enzimas.

#### ABSTRACT

Every cell in the human body has globotriaosylceramide accumulation (Gb3) in Fabry disease due to the mutation in gene of the enzyme  $\alpha$ -galactosidase A. It is a disease linked to sex. The main clinical features are: cutaneous angiokeratomas; acroparestesias and early strokes; decreased sweating and heat intolerance; ocular changes; myocardial hypertrophy, arrhythmias; gastrointestinal disorders and renal involvement. Renal involvement occurs due to Gb3 accumulation in all types of renal cells. Therefore, patients may present glomerular and tubular function disorders. Podocytes are particularly affected, with pedicels effacement and development of proteinuria. The diagnosis is made by detection of reduced plasma or leukocyte  $\alpha$ -galactosidase activity and genetic study for detecting the  $\alpha$ -galactosidase gene mutation. Treatment with enzyme replacement contributes to delay the progression of kidney disease, especially if initiated early.

**Keywords:** enzyme replacement therapy, Fabry disease, podocytes.

#### INTRODUÇÃO

A doença de Fabry (DF) é causada por deficiência ou ausência da atividade da  $\alpha$ -galactosidase A, que é uma enzima lisossomal cujo substrato é a globotriaosilceramida (Gb3 ou Gl-3), um glicoesfingolípido. Portanto, nesta doença ocorre acúmulo do GB3 nos lisossomas de todas as células do corpo humano, comprometendo as funções de diversos órgãos. A DF tem herança ligada ao cromossomo X, acomete todas as etnias e tem uma

incidência não bem determinada entre 1/100000 a 1/500000 habitantes e já foram descritas mais de 600 mutações no gene da  $\alpha$ -galactosidase A.<sup>1</sup>

#### MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS

Os homens apresentam a forma clássica da doença, com acometimento cutâneo, caracterizado pelos clássicos angioqueratomas, conglomerados de pequenas lesões violáceas e queratinizadas com localização preferencial nas nádegas

Data de submissão: 11/12/2015.

Data de aprovação: 25/02/2016.

#### Correspondência para:

Hugo Abensur.

Universidade de São Paulo.

AV. Macuco 50 Cj11, Moema,

São Paulo, SP, Brasil.

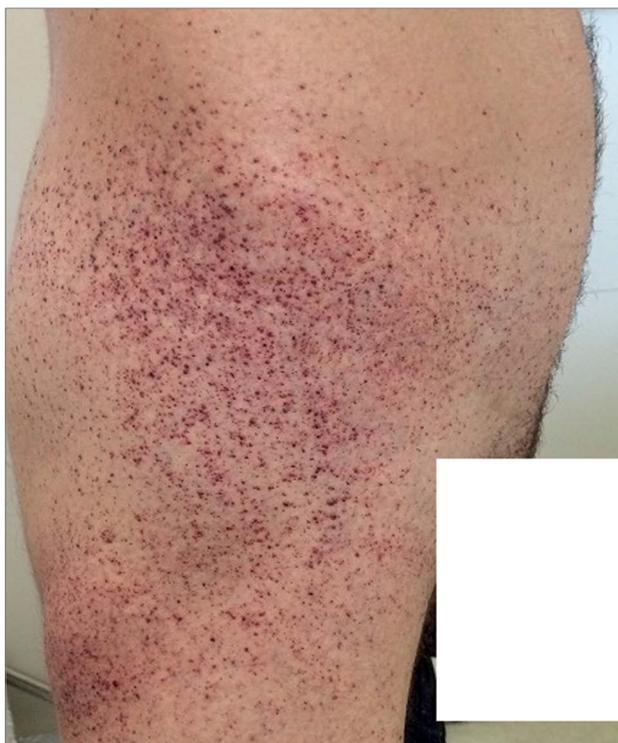
CEP: 04523-000

E-mail: sabensur@usp.br

DOI: 10.5935/0101-2800.20160034

e região das coxas (zona do calção) (Figura 1); acometimento do sistema nervoso periférico e central, com acroparestesias e acidentes vasculares encefálicos precoces; sudorese diminuída e intolerância ao calor; alterações oculares, como depósitos nas córneas (“corneaverticillata”), verificados por meio do exame com lâmpada de fenda; hipertrofia miocárdica, arritmias; alterações gastrointestinais, como náuseas, vômitos e diarreia; e acometimento renal, que será o alvo da atenção deste artigo.<sup>2</sup>

**Figura 1.** Angioqueratomas (foto cedida pelo Dr. Cassiano Braga Silva).



As mulheres, apesar de heterozigotas, também podem ser acometidas, inclusive com manifestações cardíacas, renais e cerebrais graves. Este fato ainda não está totalmente esclarecido. Mas acredita-se que em cada célula da mulher apenas um cromossomo X esteja ativado, existindo uma inativação aleatória do outro cromossomo X. Portanto, as manifestações clínicas dependeriam do número de células com cromossomo X alterado presentes numa determinada paciente.<sup>3,4</sup>

O quadro clínico da DF é muito variável mesmo nos homens, dependendo do tipo de mutação sofrida pelo gene da  $\alpha$ -galactosidase A e da atividade residual da enzima. Sendo que alguns homens podem apenas manifestar alterações cardíacas ou renais mais tardiamente. Estes quadros são chamados de variantes de início tardio.<sup>5,6</sup>

O quadro clínico da DF tende a se intensificar com a idade e este agravamento se correlaciona com a intensidade dos depósitos de Gb3 nas células. As manifestações mais precoces são a acroparestesia, a intolerância ao calor e as manifestações gastrointestinais que ocorrem já na infância (entre 3 a 10 anos de idade).<sup>7</sup>

## DIAGNÓSTICO

O diagnóstico é feito com base no quadro clínico, na história familiar e na procura ativa da doença em grupos de risco (“screenings”), como pacientes em diálise, pacientes com hipertrofia miocárdica sem causas aparentes e pacientes com acidentes vasculares encefálicos precoces.<sup>8</sup> A detecção de reduzida atividade plasmática ou leucocitária da  $\alpha$ -galactosidase confirma o diagnóstico.<sup>9</sup> Porém, nas meninas e mulheres afetadas a atividade da enzima pode estar dentro da faixa de normalidade e para confirmação diagnóstica será necessário um estudo genético para detecção da mutação do gene da  $\alpha$ -galactosidase A.<sup>10</sup> A dosagem dos substratos no plasma, urina e tecidos, como Gb3<sup>11</sup> e a globotriaosilesfingosina (Lyso-Gb3),<sup>12</sup> também podem ajudar no diagnóstico, porém, são mais úteis na avaliação da resposta dos pacientes frente ao tratamento. Atualmente, a dosagem do Lyso-Gb3 tem sido mais utilizada.

## ACOMETIMENTO RENAL

O envolvimento renal ocorre devido ao acúmulo do Gb3 em praticamente todos os tipos de células renais, como nas células endoteliais, mesangiais, podocitárias e tubulares. Portanto, os pacientes podem apresentar distúrbios das funções glomerulares e tubulares. As manifestações glomerulares seguem caminho parecido com o da nefropatia diabética, com hiperfiltração inicial, albuminúria, proteinúria maciça e, finalmente, piora progressiva da função renal. As manifestações tubulares são menos observadas, mas já foram descritas síndrome de Fanconi, acidose tubular distal e quadros de isostenúria por diminuição da capacidade de concentração renal devido ao acometimento do túbulo coletor. O acometimento renal na DF é uma das principais causas de morte e incapacidade nesta afecção.<sup>2</sup>

A albuminúria aparece entre a segunda e a terceira década de vida, contribuindo para a progressão da doença renal como em outras doenças renais.<sup>13</sup> A doença renal crônica avançada com necessidade de diálise ocorre entre a quarta e quinta década de vida, quando os pacientes não são tratados.<sup>14</sup>

Um achado característico da DF é o encontro na urina de alguns pacientes de corpúsculos gordurosos ovalados, exibindo na microscopia de luz polarizada o padrão da cruz de Malta, típico de síndrome nefrótica e um padrão lamelar, correspondendo aos depósitos de GB3.<sup>15</sup> No exame de urina por microscopia eletrônica observa-se a típica inclusão lamelar osmiofílica nas células urinárias (depósitos de Gb3).

O estudo de Branton *et al.*<sup>16</sup> permitiu o entendimento da história natural da DF. Os autores reviram os dados dos prontuários de 105 pacientes com DF avaliados no *Waren Grant Magnuson Clinical Center* do *National Institute of Health*, Bethesda, Maryland, EUA, de 1970 a 2000. Os diagnósticos foram feitos com base nos achados típicos da DF (presença de angioqueratomas, dores neuropáticas, alterações oculares, acidentes vasculares cerebrais precoces, proteinúria e insuficiência renal) e confirmado pela demonstração de redução de atividade leucocitária da  $\alpha$ -galactosidase A (inferior a 15% dos valores obtidos em voluntários sadios).

Neste estudo nenhum paciente com DF sobreviveu além de 60 anos de idade. Portanto, até 60 anos de idade, 82,5% dos pacientes desenvolveram proteinúria (proteína na urina de 24 h > 200 mg e < 3 g), 32,4% dos pacientes desenvolveram hipertensão arterial, 41,5% dos pacientes desenvolveram doença renal crônica (creatinina sérica  $\geq$  1,5 mg/dL), 22% dos pacientes desenvolveram insuficiência renal terminal (ritmo de filtração glomerular  $\leq$  12 mL/min ou necessidade clínica de diálise ou transplante) e 17% dos pacientes morreram, com idade média de  $50 \pm 8$  anos.

A proteinúria apareceu em média aos  $34 \pm 10$  anos de idade (14-55 anos), sendo que 50% dos pacientes apresentaram proteinúria aos 35 anos e 100% dos pacientes que sobreviveram apresentaram proteinúria aos 52 anos. Proteinúria nefrótica ocorreu em 18% dos pacientes com envolvimento renal, iniciando aos  $40 \pm 7$  anos de idade (26-55 anos), porém, a apresentação completa da síndrome nefrótica com hipoalbuminemia, hipercolesterolemia não foi comum. Na quase totalidade dos pacientes nos quais a eletroforese de proteínas urinárias foi realizada, evidenciou-se que a proteinúria é de origem glomerular (albuminúria  $\geq$  50%), independentemente do grau de proteinúria.

A insuficiência renal (creatinina sérica  $\geq$  1,5 mg/dL) iniciou com a mediana de idade de 42 anos (19-54 anos) e a insuficiência renal terminal iniciou com mediana de idade de 47 anos (25-56 anos). O tempo

de evolução da insuficiência renal para insuficiência renal terminal foi de  $4 \pm 3$  anos (1 a 13 anos). A nefropatia da DF tem rápida progressão, com declínio anual do ritmo de filtração glomerular de 12,2 mL/min após o diagnóstico de insuficiência renal, sendo que em outras doenças o ritmo anual de queda da função renal é de 4 mL/min.<sup>17</sup> Todos os pacientes que atingiram a idade de 55 anos desenvolveram insuficiência renal terminal. Quatorze pacientes iniciaram hemodiálise e seis, diálise peritoneal, sendo verificada sobrevida de até 17 anos em hemodiálise nos pacientes que não transplantaram e sobrevida de mais de 4 anos em diálise peritoneal.

Quatorze pacientes foram submetidos a 15 transplantes renais, 14 com doadores cadáveres e um com doador vivo relacionado com bons resultados, sendo que biópsias tardias (13 e 7 anos pós-transplante) não evidenciaram depósitos de Fabry. Alguns estudos de biópsia do enxerto renal de pacientes transplantados com DF mostraram por meio de microscopia eletrônica a presença de inclusões de Fabry no endotélio vascular, podendo representar colonização da vasculatura do enxerto por células endoteliais do receptor.<sup>18</sup> Estudos recentes demonstraram que o transplante renal normaliza apenas os níveis urinários de  $\alpha$ -galactosidase A e não os níveis plasmáticos. De modo que o transplante renal não tem efeito na progressão das manifestações não renais da DF. A sobrevida renal e do paciente com DF após transplante renal é semelhante às outras doenças renais.<sup>19</sup>

A gravidade do quadro renal da DF correlacionou-se com a atividade leucocitária da  $\alpha$ -galactosidase A. Com atividade menor que 1%, a insuficiência renal começou com 22 anos e com atividade entre 1 e 12% a insuficiência renal iniciou com 47 anos. O quadro histológico também foi mais grave nos pacientes com atividade enzimática menor que 1%. Este aspecto sugere que a reposição enzimática pode ser benéfica, por repor a enzima faltante ou alterada.

O tipo de mutação também se correlacionou com a gravidade do acometimento renal. Mutações conservativas, com a substituição de um único aminoácido por outro da mesma classe e em determinados exons associou-se à menor ocorrência de insuficiência renal. Já mutações não conservativas, substituição por aminoácidos de outras classes, ocorrência de deleção e inserção associaram-se aos quadros renais de maior gravidade.

Outra série importante é a de MacDermot *et al.*,<sup>20</sup> que reuniu 98 homens com DF do registro genético

do Reino Unido de 1985 a 2000, com o diagnóstico confirmado por redução da atividade leucocitária da  $\alpha$ -galactosidase A em quase a totalidade do grupo. Neste estudo os pacientes iniciaram diálise com idade média de 36,7 anos e foram transplantados com idade média de 40 anos.

### ACHADOS NA BIÓPSIA RENAL

As alterações morfológicas na DF, caracterizadas pelos depósitos de Gb3 nas células, podem ser encontradas na biópsia renal, inclusive de maneira precoce em crianças,<sup>21,22</sup> sendo útil não só no diagnóstico da DF,<sup>23</sup> como também em casos já diagnosticados. Nestes casos, tem importância prognóstica, bem como no acompanhamento da evolução da doença e na avaliação da eficácia do tratamento.<sup>21,24,25</sup> Os depósitos de Gb3 no rim correlacionam-se com a gravidade das alterações morfológicas e funcionais renais.<sup>16</sup>

Os depósitos de Gb3 são encontrados no parênquima renal, nos quatro compartimentos: vascular, glomerular, tubular e intersticial. Inicialmente, são encontrados nos podócitos no glomérulo, célula com diferenciação terminal e que faz parte da alça capilar, com papel importante na permeabilidade da barreira de filtração. O acometimento do podócito causa proteinúria/síndrome nefrótica. Com a progressão da doença, os depósitos ficam mais proeminentes, não somente em podócitos, mas também no epitélio da cápsula de Bowman, células mesangiais e endoteliais nos glomérulos, células endoteliais de capilares peritubulares e de artérias, células musculares lisas de artérias e arteríolas, como também em túbulo distal e, menos frequentemente, em túbulo proximal e células do compartimento intersticial.

Em casos mais avançados pode haver aumento de matriz mesangial com esclerose segmentar ou global dos glomérulos, além de fibrose intersticial, atrofia tubular e esclerose em arteríolas e artérias.<sup>23</sup> Os depósitos de Gb3 e as demais lesões nos diferentes compartimentos podem ser quantificados, gerando escores, o que foi padronizado pelo Grupo Internacional de Estudo da Nefropatia de Fabry.<sup>24</sup> Esta análise é utilizada para diagnóstico, prognóstico e acompanhamento terapêutico.<sup>21,26</sup> Pode-se utilizar inclusive morfometria automatizada para quantificar os depósitos de Gb3 nas biópsias renais.<sup>27</sup>

Em crianças com DF, o acúmulo de Gb3 nos podócitos associa-se com o apagamento dos pedicelos e o grau de proteinúria, demonstrando lesão podocitária precoce e esta pode desempenhar papel fundamental

no desenvolvimento e progressão da nefropatia de Fabry.<sup>22</sup> Já foi demonstrado inclusive alteração podocitária na DF em paciente normoalbuminúrico.<sup>28</sup>

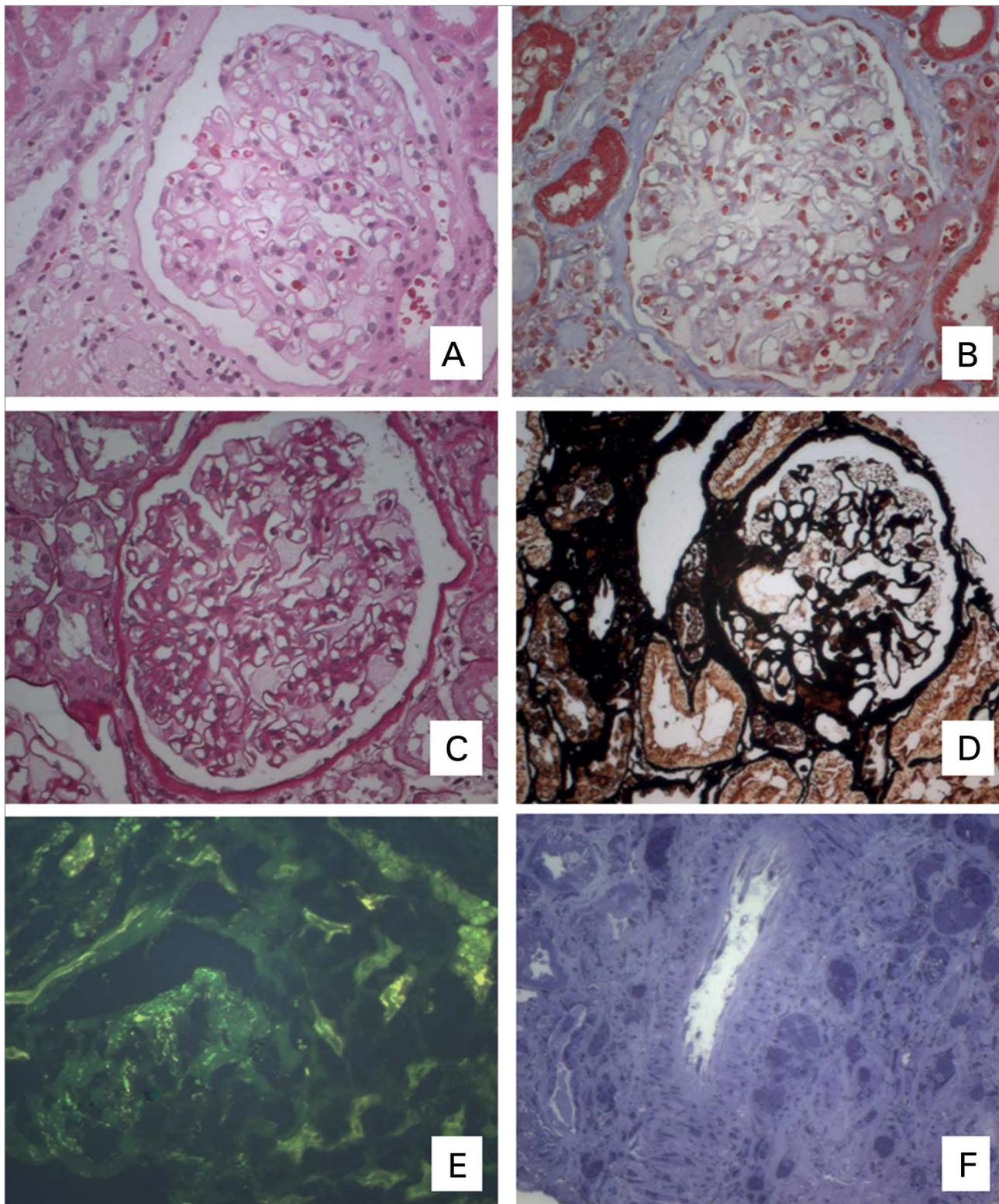
Na biópsia renal, os compartimentos vascular, glomerular, tubular e intersticial são analisados de rotina, sob três técnicas: (a) a microscopia de luz em amostra emblocada em parafina, (b) a pesquisa de imunocomplexos, geralmente em fragmento “a fresco” congelado, pela imunofluorescência e (c) microscopia eletrônica. Na DF se observam alterações renais em todos os compartimentos, sob as três técnicas. Na amostra da microscopia de luz, o fragmento pode ser fixado em diferentes soluções, como: formaldeído, paraformaldeído, bouin, metacarn ou outros. O material é processado para inclusão em parafina para ser cortado com espessura de 2  $\mu$ m. Para isso, é desidratado e diafanizado em soluções de álcool e xilol, os quais também dissolvem depósitos de natureza lipídica, inclusive os depósitos de Gb3.

Devido a este fato, se observam pequenas vacuolizações, áreas opticamente vazias, no citoplasma das células, locais previamente ocupados por Gb3, em todas as colorações utilizadas: hematoxilina-eosina, tricrômico de Masson, PAS - ácido periódico de Schiff, PAMS - prata metenamina e picro-sírius (Figura 2A a D). A célula mais acometida é o podócito, sendo importante a quantificação desta vacuolização podocitária.<sup>24</sup> Apesar da maior parte de Gb3 ter sido removida/dissolvida, restando os vacúolos opticamente vazios, é possível identificar resíduos de Gb3 por imunohistoquímica, utilizando anticorpo monoclonal anticeramida trihexoside em material incluído em parafina.<sup>29</sup>

Na amostra congelada “a fresco”, se pesquisam depósitos de imunocomplexos, porém, na DF não há depósitos de imunocomplexos, sendo todos negativos ou inespecíficos, como o encontro de IgM e C3 em áreas de esclerose. Nesta amostra os depósitos de Gb3 podem ser observados sob luz polarizada, com birrefringência prateada em formato de cruz de Malta e também apresentam fluorescência natural em um tom verde amarelado, sob luz ultravioleta, portanto, na lâmina “controle negativo” se observam os depósitos de Gb3 nas células (Figura 2E). Nesta amostra congelada pode ser feita coloração para lipídeo, como o Sudam, sendo os depósitos de Gb3 positivos.<sup>23</sup>

Na amostra da microscopia eletrônica, o fragmento é fixado em glutaraldeído ou Karnovsky, pós-fixado em ósmio e processado para inclusão em resina, como Epon, Epox ou outras. Neste processamento os depósitos de natureza lipídica são osmifílicos,

**Figura 2.** Amostra emblocada em parafina em cortes de 2  $\mu$ m de espessura, observados sob luz comum (A a D) com vacuolização no citoplasma dos podócitos, pois as soluções de álcool e xilol utilizadas no processamento, dissolvem o Gb3 intracelular, resultando em vacúolos opticamente vazios; na coloração pela hematoxilina-eosina (A), tricrômico de Masson (B), picro-sirius (C) e PAMS - prata metenamina (D). Amostra congelada em nitrogênio líquido, em corte controle negativo, sem antissoras, observado em microscópio com luz ultravioleta para imunofluorescência, os depósitos de Gb3 apresentam fluorescência natural com brilho verde amarelado em todos os compartimentos, glomerular, tubular, vascular e intersticial (E). Amostra emblocada em resina, corte semifino, 0,5  $\mu$ m de espessura, corado pelo azul de toluidina, os depósitos de Gb3, em azul mais forte em células tubulares e na parede de artéria interlobular, nos leiomíocitos e endotélio (F). (A a F: aumentos originais: objetiva 20X optovar 2,0X).



facilitando assim a futura visualização do Gb3, tanto no corte semifino corado com azul de toluidina, visualizado sob o microscópio de luz, quanto no corte ultrafino visualizado sob o microscópio eletrônico. Portanto, já no primeiro corte, semifino de 0,5µm, corado com azul de toluidina, se observam os depósitos de Gb3 fortemente corados em azul dentro das células, sob o microscópio de luz comum, especialmente em podócitos, seguido de túbulo distal e demais células (Figura 2F, Figura 3A).

Devido a esta facilidade de visualização, os depósitos de Gb3 são quantificados no corte semifino<sup>24</sup> e há trabalhos utilizando inclusive morfometria automatizada.<sup>27</sup> No segundo corte, ultrafino, 60 nm de espessura, se faz a análise sob o microscópio eletrônico (Figura 3B a F). Os depósitos de Gb3 são observados dentro dos lisossomas nas diferentes células, tanto nos glomérulos, nos túbulos e nos vasos como no compartimento intersticial, incluindo os capilares peritubulares, na célula endotelial.

Os depósitos dentro dos lisossomas são estruturas lamelares eletrondensas intercaladas com lamelas eletrólucidas. Dependendo da orientação do corte no lisossoma com os depósitos, observa-se o formato concêntrico como “figuras de mielina”, também denominado “em casca de cebola” ou o formato de “corpo de zebra”. Em grandes aumentos (250.000X), na lamela eletrondensa se observam finas camadas eletrondensas (Figura 3F). A célula com mais depósitos é o podócito, justamente por ser célula terminalmente diferenciada.

O podócito apresenta características tanto de célula epitelial como de célula mesenquimal, tem um citoesqueleto rico e harmonicamente organizado para manter seus prolongamentos, primários, secundários e terciários, formando os pedicelos como última ramificação, com aderência à membrana basal e com formação do diafragma *slit* entre um pedicelo e outro. Esta célula é alvo de muitos estudos.<sup>30-32</sup> Os depósitos de Gb3 desestruturam o citoesqueleto, promovendo alargamento/apagamento dos pedicelos, alterando a permeabilidade, causando proteinúria. Há estudos com análise morfométrica dos pedicelos e volume podocitário, um deles inclusive demonstrando aspecto de mosaico em mulher com DF.<sup>33</sup>

Apesar de a biópsia renal poder ser diagnóstica e a microscopia eletrônica ser confiável na identificação dos depósitos, eles não são patognomônicos/específicos, pois depósitos similares são encontrados na nefropatia por silicose<sup>34</sup> e pseudolipidoses induzidas por alguns fármacos, como amiodarona, cloroquina e hidroxicloroquina.<sup>23,35</sup>

Tøndel *et al.*<sup>21</sup> realizaram biópsia renal em oito crianças com DF, com idade entre 4 e 16 anos, sem albuminúria e com função renal normal, que apresentavam apenas acroparestesia e verificaram que elas já apresentavam depósitos podocitários de Gb3 e que algumas delas já esboçavam apagamento dos pedicelos podocitários. Portanto, demonstrando que o acometimento renal é precoce e que o tratamento deve ser instituído com brevidade.

## TRATAMENTO

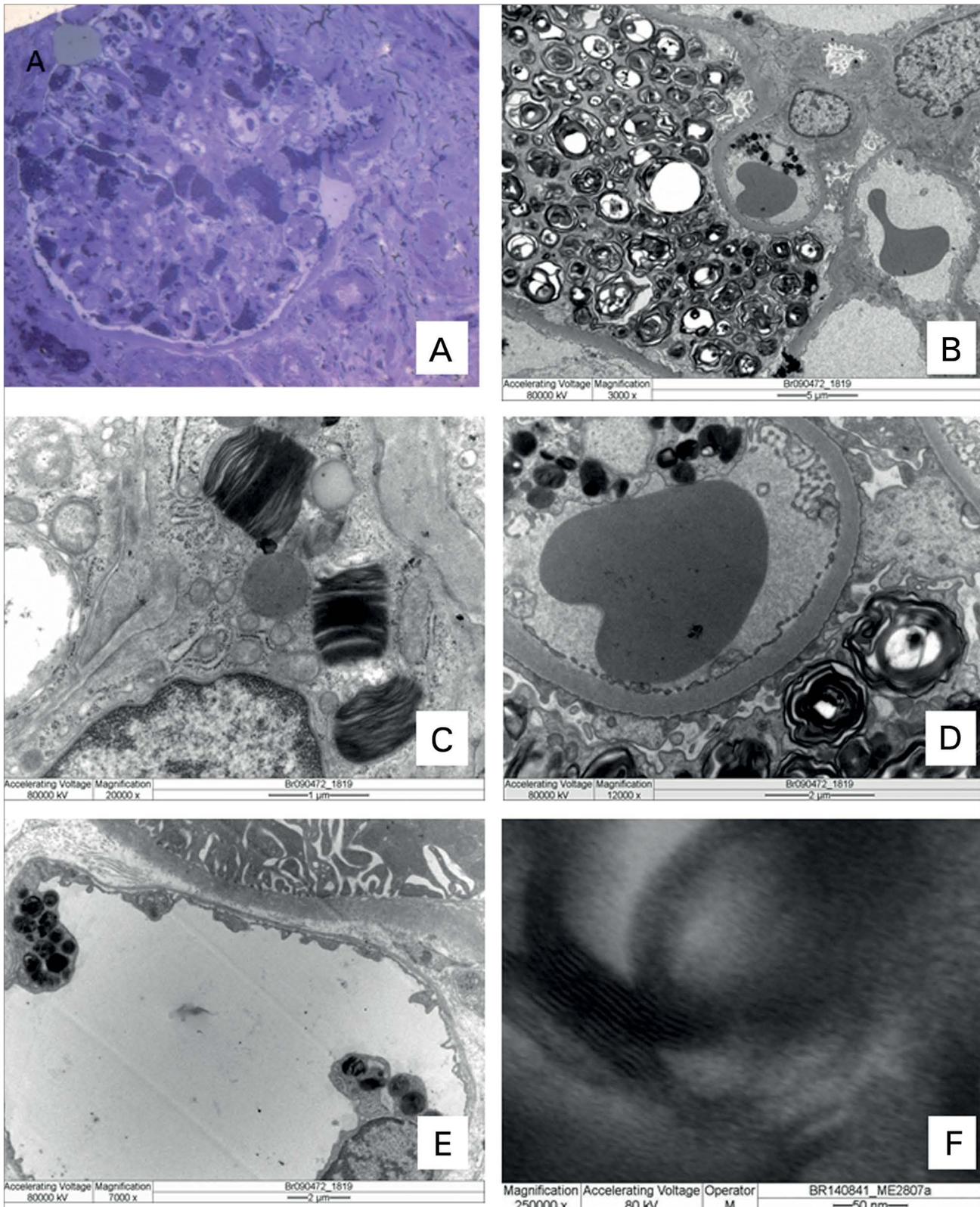
O tratamento da DF consiste na terapia de reposição enzimática com enzimas recombinantes da  $\alpha$ -galactosidase A no intuito de evitar ou retirar os depósitos intracelulares de Gb3. Além disto, os pacientes devem receber tratamentos específicos para os acometimentos dos diversos órgãos, como drogas antiproteinúricas, inibidores da enzima de conversão da angiotensina ou bloqueadores dos receptores de angiotensina II, no caso do acometimento renal.

Estão disponíveis no mercado brasileiro duas enzimas recombinantes da  $\alpha$ -galactosidase A, a algasidase alfa (Replagal®, Shire) e a algasidase beta (Fabrazyme®, Genzyme/Sanofi). As duas preparações são administradas por via intravenosa a cada duas semanas e a principal diferença entre elas está na dose preconizada para o tratamento da DF, sendo que a dose recomendada para algasidase alfa é de 0,2 mg/kg de peso e para algasidase beta a dose recomendada é de 1 mg/kg. Como a dose recomendada para algasidase alfa é menor, o tempo de infusão também é menor em relação ao da algasidase beta, 40 minutos e 120 minutos, respectivamente.

A dose de algasidase beta foi determinada no estudo fase 1 e 2 de Eng *et al.*<sup>36</sup> Neste estudo 15 pacientes com DF receberam cinco doses de algasidase beta de 0,3, 1,0 ou 3 mg a cada dois ou 14 dias. A dose de 1 mg/kg de peso de algasidase beta a cada 14 dias mostrou a melhor relação eficácia/segurança. Foi verificada depuração de Gb3 do rim, coração, pele e plasma. As células endoteliais foram as mais beneficiadas em termo de redução dos depósitos.

Neste curto tratamento os pacientes relataram melhora de dor, da capacidade de suar e da qualidade de vida. O tratamento foi bem tolerado, quatro pacientes apresentaram reações leves a moderadas sugestivas de hipersensibilidade que foram manejadas conservadoramente. Neste estudo oito pacientes desenvolveram anticorpos IgG contra a algasidase beta, porém estes anticorpos não eram neutralizantes.

**Figura 3.** Amostra emblocada em resina, corte semifino, 0,5 µm de espessura, corado pelo Azul de toluidina, sob microscopia de luz comum, os depósitos de Gb3, em azul mais forte, especialmente nos podócitos no glomérulo (A). Microscopia eletrônica de transmissão (B a F): depósitos intralisossomais de Gb3, em diferentes células no glomérulo: podócito e célula endotelial (B e D), célula mesangial (C) e em célula endotelial de capilar peritubular (E). Os depósitos de Gb3 consistem em camadas eletrondensas intercaladas com camadas eletronúcidas, ora com aspecto concêntrico (B e D), ora com aspecto de corpo de zebra (B e C), que em grande aumento (F - 250.000X), uma lamela é constituída por várias camadas finas.



O estudo fase 3<sup>37</sup> com algasidase beta envolveu 58 pacientes com DF confirmada, maiores de 16 anos e com creatinina média de 0,8 mg/dl. Este estudo foi multicêntrico, placebo controlado por 20 semanas, sendo que 29 pacientes receberam 1 mg/kg de algasidase beta a cada 15 dias e 29 pacientes receberam placebo (manitol) a cada 15 dias. Depois, todos os pacientes receberam algasidase beta por seis meses.

O desfecho primário, que era a porcentagem de pacientes com clareamento total de Gb3 no endotélio da microvasculatura renal, foi atingido em 20 dos 29 pacientes que receberam algasidase beta e em nenhum paciente que recebeu placebo. No período de extensão de 6 meses, o desfecho primário foi atingido em 98% dos pacientes. Estes pacientes foram seguidos em protocolo por 54 meses<sup>38</sup> e ainda foram seguidos dentro do Registro de Fabry por um período médio de 10 anos,<sup>39</sup> recebendo 1 mg/kg de algasidase beta a cada 15 dias.

Com 10 anos de seguimento, seis pacientes foram excluídos da análise por não terem seus dados no Registro de Fabry. Dos 52 pacientes analisados, 81% não apresentaram eventos clínicos graves e 94% estavam vivos no final do seguimento. Destes 52 pacientes, 32 foram classificados com base em dados do período basal como tendo menor envolvimento renal (proteinúria  $\leq 0,5$  mg/g de creatinina e porcentagem  $< 50\%$  dos glomérulos esclerosados) e 20 como tendo maior envolvimento renal (proteinúria  $> 0,5$  mg/g de creatinina e porcentagem  $\geq 50\%$  dos glomérulos esclerosados).

Os pacientes que iniciaram a terapia com idade menor e com menor envolvimento renal foram os mais beneficiados com a reposição enzimática, apresentando queda anual da função renal de apenas 1,89 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>, comparada à queda de anual de 6,82 ml/min/1,73 m<sup>2</sup> do grupo com maior envolvimento renal. De um modo geral, os tamanhos do septo e da parede posterior do ventrículo esquerdo permaneceram estáveis e dentro da normalidade. O nível plasmático de GB3 normalizou dentro dos 6 meses iniciais de tratamento e permaneceu estável desde então. A idade média no final do seguimento foi de 41,6 anos, sendo que a maioria dos pacientes permaneceu sem eventos clínicos.

O estudo de fase 4<sup>40</sup> envolveu 82 pacientes com DF mais avançada com creatinina sérica entre 1,2 e 3,0 mg/dL (depuração de creatinina estimada  $< 80$  ml/min). Tempo de acompanhamento 18,5 meses, 2/3 dos pacientes recebeu algasidase beta na dose de 1 mg/kg de peso corpóreo intravenoso a cada 2 semanas e 1/3

dos pacientes recebeu placebo. Apesar da redução de 43% no risco combinado de aparecimento de eventos renais, cardíacos, cerebrais e óbito, não houve significância estatística.

A diferença apareceu e foi de 61% de redução de risco quando foi feito ajuste pela proteinúria. Os pacientes do grupo algasidase beta tinham maior proteinúria no início do estudo. De novo, foi observado que pacientes que iniciaram o estudo com menor creatinina ( $\leq 1,5$  mg/dL) e maior ritmo de filtração glomerular ( $\geq 55$  ml/min) foram os mais beneficiados com a reposição enzimática.

Com relação ao emprego da algasidase alfa no tratamento da DF, foi conduzido um estudo aleatorizado,<sup>41</sup> envolvendo 26 pacientes com DF, para verificar como desfecho primário o efeito da algasidase alfa na dose de 0,2 mg/kg de peso corpóreo administrado intravenoso a cada 2 semanas na dor neuropática. O estudo foi duplo cego, placebo controlado com duração de 6 meses. Os pacientes que receberam a enzima apresentaram redução significativa do escore de dor neuropática, a redução da depuração de creatinina foi menor no grupo que recebeu algasidase alfa, mas não houve diferença entre o placebo e a algasidase alfa na depuração de inulina. Houve redução significativa do Gb3 no plasma e na urina, mas não no rim.

A questão da diferença de dose empregada entre as duas preparações recombinantes de  $\alpha$ -galactosidase A tem sido motivo de diversas publicações. Tøndel *et al.*<sup>42</sup> verificaram por meio de biópsias renais seriadas ao longo de 5 anos em 12 crianças que receberam reposição com algasidase alfa ou beta que, quanto maior a dose cumulativa da enzima recombinante ofertada, maior o clareamento de Gb3 dos podócitos e menor a perda proteica na urina. Isto se explica, pois os podócitos são células que não se dividem e, portanto, necessitam de maior quantidade de enzima para depurar seus depósitos de Gb3.

Foi verificado em 12 pacientes com rápido declínio da função renal ( $-8.0 \pm 0.8$  ml/min por 1,73 m<sup>2</sup>/ano) em uso de algasidase alfa na dose de 0,2 mg/kg de peso corpóreo a cada duas semanas que o emprego da mesma dose, mas semanalmente, ou seja, o dobro da dose recomendada, reduziu o ritmo de perda da função ( $-3.3 \pm 1.4$  ml/min/1,73 m<sup>2</sup>/ano), evidenciando a necessidade de uma dose maior de algasidase alfa.<sup>43</sup>

No ano 2009 houve uma contaminação viral na fábrica da algasidase beta e, em decorrência deste fato, a algasidase beta faltou no mundo inteiro nos 2 anos seguintes e alguns pacientes conseguiram

permanecer com a dose preconizada de 1 mg/kg de peso de algasidase beta a cada duas semanas, outros tiveram que reduzir a dose de algasidase beta para 0,25 a 0,5mg/kg de peso a cada duas semanas e outros trocaram para algasidase alfa na dose recomendada de 0,2 mg/kg de peso a cada duas semanas.

Vários estudos avaliaram o efeito desta redução na dose da enzima de reposição. Um estudo holandês, envolvendo 35 pacientes, verificou aumento nos níveis de Lyso-Gb3.<sup>44</sup> Outro estudo, com 105 pacientes, verificou aumento da proteinúria com redução na dose ou troca para algasidase alfa.<sup>45</sup> Inclusive algumas evidências histológicas de piora da fusão podocitária e do acúmulo de Gb3 com doses mais baixas de reposição enzimática foram relatadas.<sup>21</sup> Porém, alguns autores com estudos menos robustos (no máximo 11 pacientes por estudo) e em pacientes com função renal normal não encontraram alterações com a redução da dose da enzima recombinante.<sup>46-48</sup>

Infelizmente, um estudo canadense<sup>49</sup> que a princípio iria envolver 362 pacientes para comparar a incidência de eventos renais, cardíacos, neurológicos e óbitos com o emprego de algasidase alfa e beta, perdeu poder estatístico devido à falta de algasidase beta que ocorreu devido à contaminação da fábrica, restando para análise apenas 26 pacientes em uso de algasidase beta.

## CONCLUSÃO

Concluindo, o acometimento renal na DF é precoce, envolve todos os tipos celulares, com manifestações glomerulares e tubulares e evolui invariavelmente para doença renal terminal. Os podócitos são particularmente atingidos nesta doença. A terapia de reposição enzimática instituída precocemente e em dose adequada em combinação com agentes bloqueadores do sistema renina angiotensina tem se mostrado eficaz no tratamento das complicações renais da DF.

## REFERÊNCIAS

- Desnick RJ, Ioannou YA, Eng CM. a-galactosidase A deficiency: Fabry disease. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, Childs B, Kinzler KW, et al., eds. *The metabolic and molecular bases of inherited disease*. 7th ed. New York: McGraw-Hill; 1995. p.2741-84.
- Germain DP. Fabry disease. *Orphanet J Rare Dis*. 2010;5:30. DOI: <http://dx.doi.org/10.1186/1750-1172-5-30>
- Wilcox WR, Oliveira JP, Hopkin RJ, Ortiz A, Banikazemi M, Feldt-Rasmussen U, et al.; Fabry Registry. Females with Fabry disease frequently have major organ involvement: lessons from the Fabry Registry. *Mol Genet Metab* 2008;93:112-28. PMID: 18037317 DOI:<http://dx.doi.org/10.1016/j.ymgme.2007.09.013>
- Germain DP, Echevarria L Tissue-specific X chromosome inactivation studies as a decision-making criteria for enzyme replacement therapy in female heterozygotes for Fabry disease. *Mol Genet Metab* 2014;111:S45 DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ymgme.2013.12.092>
- Nakao S, Takenaka T, Maeda M, Kodama C, Tanaka A, Tahara M, et al. An atypical variant of Fabry's disease in men with left ventricular hypertrophy. *N Engl J Med* 1995;333:288-93. PMID: 7596372 DOI: <http://dx.doi.org/10.1056/NEJM199508033330504>
- Nakao S, Kodama C, Takenaka T, Tanaka A, Yasumoto Y, Yoshida A, et al. Fabry disease: detection of undiagnosed hemodialysis patients and identification of a "renal variant" phenotype. *Kidney Int* 2003;64:801-7. DOI: <http://dx.doi.org/10.1046/j.1523-1755.2003.00160.x>
- Hopkin RJ, Bissler J, Banikazemi M, Clarke L, Eng CM, Germain DP, et al. Characterization of Fabry disease in 352 pediatric patients in the Fabry Registry. *Pediatr Res* 2008;64:550-5. PMID: 18596579 DOI: <http://dx.doi.org/10.1203/PDR.0b013e318183f132>
- Caudron E, Moliere D, Zhou JY, Prognon P, Germain DP. Recent advances of Fabry disease screening for at risk population. *Med Sci (Paris)* 2005;21:48-50. DOI: <http://dx.doi.org/10.1051/medsci/20052111s48>
- Mayes JS, Scheerer JB, Sifers RN, Donaldson ML. Differential assay for lysosomal alpha-galactosidases in human tissues and its application to Fabry's disease. *Clin Chim Acta* 1981;112:247-51. PMID: 6263521 DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/0009-8981\(81\)90384-3](http://dx.doi.org/10.1016/0009-8981(81)90384-3)
- Linthorst GE, Vedder AC, Aerts JM, Hollak CE. Screening for Fabry disease using whole blood spots fails to identify one-third of female carriers. *Clin Chim Acta* 2005;353:201-3. PMID: 15698608 DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cccn.2004.10.019>
- Vedder AC, Linthorst GE, van Breemen MJ, Groener JE, Bemelman FJ, Strijland A, et al. The Dutch Fabry cohort: diversity of clinical manifestations and Gb3 levels. *J Inher Metab Dis* 2007;30:68-78. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s10545-006-0484-8>
- Aerts JM, Groener JE, Kuiper S, Donker-Koopman WE, Strijland A, Ottenhoff R, et al. Elevated globotriaosylsphingosine is a hallmark of Fabry disease. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008;105:2812-7. DOI: <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.0712309105>
- Fervenza FC, Torra R, Lager DJ. Fabry disease: an underrecognized cause of proteinuria. *Kidney Int* 2008;73:1193-9. DOI:<http://dx.doi.org/10.1038/sj.ki.5002677>
- Ortiz A, Oliveira JP, Waldek S, Warnock DG, Cianciaruso B, Wanner C; Fabry Registry. Nephropathy in males and females with Fabry disease: cross-sectional description of patients before treatment with enzyme replacement therapy. *Nephrol Dial Transplant* 2008;23:1600-7. DOI: <http://dx.doi.org/10.1093/ndt/gfm848>
- Utsumi K, Mitsuhashi F, Katsura K, Iino Y, Katayama Y. "Maltese crosses" in fabry disease. *J Nippon Med Sch* 2010;77:284. PMID:21206139 DOI: <http://dx.doi.org/10.1272/jnms.77.284>
- Branton MH, Schiffmann R, Sabnis SG, Murray GJ, Quirk JM, Altarescu G, et al. Natural history of Fabry renal disease: influence of alpha-galactosidase A activity and genetic mutations on clinical course. *Medicine (Baltimore)* 2002;81:122-38. DOI:<http://dx.doi.org/10.1097/00005792-200203000-00003>
- Klahr S, Levey AS, Beck GJ, Caggiula AW, Hunsicker L, Kusek JW, et al. The effects of dietary protein restriction and blood-pressure control on the progression of chronic renal disease. Modification of Diet in Renal Disease Study Group. *N Engl J Med* 1994;330:877-84. DOI:<http://dx.doi.org/10.1056/NEJM199403313301301>
- McMahon J, Tubbs R, Gephardt G, Steinmuller D. Pseudo-recurrence of Fabry's disease in renal allograft. *Lab Invest* 1986;54:42A.

19. Inderbitzin D, Avital I, Largiadèr F, Vogt B, Candinas D. Kidney transplantation improves survival and is indicated in Fabry's disease. *Transplant Proc* 2005;37:4211-4. PMID: 16387080 DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.transproceed.2005.11.021>
20. 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;38:750-60. DOI: <http://dx.doi.org/10.1136/jmg.38.11.750>
21. Tøndel C, Kanai T, Larsen KK, Ito S, Politei JM, Warnock DG, et al. Foot process effacement is an early marker of nephropathy in young classic Fabry patients without albuminuria. *Nephron* 2015;129:16-21. DOI: <http://dx.doi.org/10.1159/000369309>
22. Najafian B, Svarstad E, Bostad L, Gubler MC, Tøndel C, Whitley C, et al. Progressive podocyte injury and globotriaosylceramide (GL-3) accumulation in young patients with Fabry disease. *Kidney Int* 2011;79:663-70. PMID: 21160462 DOI: <http://dx.doi.org/10.1038/ki.2010.484>
23. Finn LS. Renal disease caused by inborn errors of metabolism, storage diseases, and hemoglobinopathies. In: Jennette JC, Olson JL, Silva FG, D'Agati VD, eds. *Heptinstall's Pathology of the Kidney*. 7th ed. New York: Wolters Kluwer; 2015. p. 1223-79.
24. Fogo AB, Bostad L, Svarstad E, Cook WJ, Moll S, Barbey F, et al.; all members of the International Study Group of Fabry Nephropathy (ISGFN). Scoring system for renal pathology in Fabry disease: report of the International Study Group of Fabry Nephropathy (ISGFN). *Nephrol Dial Transplant* 2010;25:2168-77. DOI: <http://dx.doi.org/10.1093/ndt/gfp528>
25. Ito S, Ogura M, Kamei K, Sato M, Matsuoka K. Complete Elimination of Renal Glycosphingolipid Deposition by 3 Years of Treatment with Agalsidase Beta in a Boy with Fabry Disease. *Nephron* 2015;130:81.
26. Skrunes R, Tøndel C, Larsen KK, Leh S, Svarstad E. Long-Term Enzyme Replacement Therapy (ERT) Benefits the Glomeruli More Than the Vasculature in younger Fabry Nephropathy. *Nephron* 2015;130:87.
27. Barisoni L, Colvin R, Jennette JC, Gonzalez D, Shankar S, Schiffmann R, et al. WSI Quantitative (BLISS) and Semiquantitative (FSS) Assessment for Cortical PTC Gb3 Inclusions in Fabry Disease Patients Following IV Administration of Plant Derive Alpha-Gal-A Enzyme (PRX-102). *Nephron* 2015;130:84.
28. Nakamichi T, Miyazaki M, Yamamoto T, Sato H, Ito S. Morphological details of renal lesions in late-onset normoalbuminuric Fabry Disease. *Nephron* 2015;130:86.
29. Valbuena C, Leitão D, Carneiro F, Oliveira JP. Immunohistochemical diagnosis of Fabry nephropathy and localisation of globotriaosylceramide deposits in paraffin-embedded kidney tissue sections. *Virchows Arch* 2012;460:211-21. PMID: 22205110 DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s00428-011-1182-y>
30. Grahmmer F, Benzing T, Huber TB. New insights into mechanisms of glomerular injury and repair from the 10th International Podocyte Conference 2014. *Kidney Int* 2015;87:885-93. DOI: <http://dx.doi.org/10.1038/ki.2015.5>
31. Saleem MA. One hundred ways to kill a podocyte. *Nephrol Dial Transplant* 2015;30:1266-71. DOI: <http://dx.doi.org/10.1093/ndt/gfu363>
32. Schlöndorff D. Putting the glomerulus back together: per aspera ad astra ("a rough road leads to the stars"). *Kidney Int* 2014;85:991-8. PMID: 24786868 DOI: <http://dx.doi.org/10.1038/ki.2014.51>
33. Mauer M, Glynn E, Svarstad E, Tøndel C, Gubler MC, West M, et al. Mosaicism of podocyte involvement is related to podocyte injury in females with Fabry disease. *PLoS One* 2014;9:e112188. DOI: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0112188>
34. Banks DE, Milutinovic J, Desnick RJ, Grabowski GA, Lapp NL, Boehlecke BA. Silicon nephropathy mimicking Fabry's disease. *Am J Nephrol* 1983;3:279-84. DOI: <http://dx.doi.org/10.1159/000166730>
35. Bracamonte ER, Kowalewska J, Starr J, Gitomer J, Alpers CE. Iatrogenic phospholipidosis mimicking Fabry disease. *Am J Kidney Dis* 2006;48:844-50. PMID: 17060007 DOI: <http://dx.doi.org/10.1053/j.ajkd.2006.05.034>
36. Eng CM, Banikazemi M, Gordon RE, Goldman M, Phelps R, Kim L, et al. A phase 1/2 clinical trial of enzyme replacement in fabry disease: pharmacokinetic, substrate clearance, and safety studies. *Am J Hum Genet* 2001;68:711-22. PMID: 11179018 DOI: <http://dx.doi.org/10.1086/318809>
37. Eng CM, Guffon N, Wilcox WR, Germain DP, Lee P, Waldek S, et al.; International Collaborative Fabry Disease Study Group. Safety and efficacy of recombinant human alpha-galactosidase A-replacement therapy in Fabry's disease. *N Engl J Med* 2001;345:9-16. DOI: <http://dx.doi.org/10.1056/NEJM200107053450102>
38. Germain DP, Waldek S, Banikazemi M, Bushinsky DA, Charrow J, Desnick RJ, et al. Sustained, long-term renal stabilization after 54 months of agalsidase beta therapy in patients with Fabry disease. *J Am Soc Nephrol* 2007;18:1547-57. DOI: <http://dx.doi.org/10.1681/ASN.2006080816>
39. Germain DP, Charrow J, Desnick RJ, Guffon N, Kempf J, Lachmann RH, et al. Ten-year outcome of enzyme replacement therapy with agalsidase beta in patients with Fabry disease. *J Med Genet* 2015;52:353-8. DOI: <http://dx.doi.org/10.1136/jmedgenet-2014-102797>
40. Banikazemi M, Bultas J, Waldek S, Wilcox WR, Whitley CB, McDonald M, et al.; Fabry Disease Clinical Trial Study Group. Agalsidase-beta therapy for advanced Fabry disease: a randomized trial. *Ann Intern Med* 2007;146:77-86. DOI: <http://dx.doi.org/10.7326/0003-4819-146-2-200701160-00148>
41. Schiffmann R, Kopp JB, Austin HA 3rd, Sabnis S, Moore DF, Weibel T, et al. Enzyme replacement therapy in Fabry disease: a randomized controlled trial. *JAMA* 2001;285:2743-9. PMID: 11386930 DOI: <http://dx.doi.org/10.1001/jama.285.21.2743>
42. Tøndel C, Bostad L, Larsen KK, Hirth A, Vikse BE, Houge G, et al. Agalsidase benefits renal histology in young patients with Fabry disease. *J Am Soc Nephrol* 2013;24:137-48. DOI: <http://dx.doi.org/10.1681/ASN.2012030316>
43. Schiffmann R, Askari H, Timmons M, Robinson C, Benko W, Brady RO, et al. Weekly enzyme replacement therapy may slow decline of renal function in patients with Fabry disease who are on long-term biweekly dosing. *J Am Soc Nephrol* 2007;18:1576-83. DOI: <http://dx.doi.org/10.1681/ASN.2006111263>
44. Smid BE, Rombach SM, Aerts JM, Kuiper S, Mirzaian M, Overkleeft HS, et al. Consequences of a global enzyme shortage of agalsidase beta in adult Dutch Fabry patients. *Orphanet J Rare Dis* 2011;6:69. DOI: <http://dx.doi.org/10.1186/1750-1172-6-69>
45. Weidemann F, Krämer J, Duning T, Lenders M, Canaan-Kühl S, Krebs A, et al. Patients with Fabry disease after enzyme replacement therapy dose reduction versus treatment switch. *J Am Soc Nephrol* 2014;25:837-49. DOI: <http://dx.doi.org/10.1681/ASN.2013060585>
46. Lin HY, Huang YH, Liao HC, Liu HC, Hsu TR, Shen CI, et al. Clinical observations on enzyme replacement therapy in patients with Fabry disease and the switch from agalsidase beta to agalsidase alfa. *J Chin Med Assoc* 2014;77:190-7. PMID: 24388678 DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jcma.2013.11.006>
47. Tsuboi K, Yamamoto H. Clinical course of patients with Fabry disease who were switched from agalsidase-β to agalsidase-α. *Genet Med* 2014;16:766-72. DOI: <http://dx.doi.org/10.1038/gim.2014.28>
48. Pisani A, Spinelli L, Visciano B, Capuano I, Sabbatini M, Riccio E, et al. Effects of switching from agalsidase Beta to agalsidase alfa in 10 patients with anderson-fabry disease. *JIMD Rep* 2013;9:41-8.
49. Sirrs SM, Bichet DG, Casey R, Clarke JT, Lemoine K, Doucette S, et al. Outcomes of patients treated through the Canadian Fabry disease initiative. *Mol Genet Metab* 2014;111:499-506. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ymgme.2014.01.014>