

Níveis de CD77 ao longo do tratamento de reposição enzimática em família com Doença de Fabry (V269M)

CD77 levels over enzyme replacement treatment in Fabry Disease family (V269M)

Autores

Ester Miranda Pereira ¹
 Adalberto Socorro da Silva ¹
 Raimundo Nonato da Silva ¹
 José Tiburcio Monte Neto ¹
 Fernando F. do Nascimento ¹
 Jackeline L. M. Sousa ¹
 Henrique C. S. A. L. C. Filho ¹
 Herton Luiz Alves Sales Filho ¹
 Anatalia Labilloy ¹
 Semiramis Jamil Hadad do Monte ¹

¹ Universidade Federal do Piauí, Teresina, PI, Brasil.

Data de submissão: 13/09/2017.
 Data de aprovação: 12/01/2018.

Correspondência para:
 Ester Miranda Pereira.
 E-mail: estermirandapereira@ufpi.edu.br

DOI: 10.1590/2175-8239-JBN-3910

RESUMO

Introdução: A doença de Fabry (DF) é um distúrbio causado por mutações no gene que codifica a enzima lisossômica α -galactosidase A (α -GAL). A redução da atividade de α -GAL leva ao acúmulo progressivo de globotriaosilceramida (Gb3), também conhecida como CD77. O recente relato de aumento da expressão de CD77 em células sanguíneas de pacientes com DF indicou que essa molécula pode ser utilizada como um potencial marcador para o monitoramento da terapia de reposição enzimática (TRE). **Objetivo:** O objetivo deste estudo foi avaliar os níveis de CD77 ao longo da TRE em pacientes com DF (mutação V269M). **Métodos:** Foram avaliadas as flutuações na expressão de CD77 nas membranas das CMSP (células mononucleares do sangue periférico) em pacientes com DF submetidos à TRE e correlacionados com aqueles observados em diferentes tipos de células. **Resultados:** Uma maior expressão de CD77 foi encontrada em fagócitos de pacientes em comparação aos controles no início do estudo. Curiosamente, a variabilidade nos níveis de CD77 é maior em pacientes no início do estudo (340 - 1619 MIF) e após 12 meses de TRE (240 - 530 MIF) em comparação com o grupo controle (131 - 331 MFI). Além disso, analisando os níveis de CD77 em fagócitos de pacientes ao longo da TRE, encontramos uma diminuição constante nos níveis de CD77. **Conclusão:** O aumento nos níveis de CD77 nos fagócitos de portadores de Fabry, juntamente com a diminuição nos níveis de CD77 ao longo da TRE, sugerem que medir os níveis de CD77 nos fagócitos é uma ferramenta promissora para monitorar a resposta à TRE na DF.

Palavras-chave: Doença de Fabry; Terapia de Reposição de Enzimas; Fagócitos.

ABSTRACT

Introduction: Fabry disease (FD) is a disorder caused by mutations in the gene encoding for lysosomal enzyme α -galactosidase A (α -GAL). Reduced α -GAL activity leads to progressive accumulation of globotriaosylceramide (Gb3), also known as CD77. The recent report of increased expression of CD77 in blood cells of patients with FD indicated that this molecule can be used as a potential marker for monitoring enzyme replacement therapy (ERT). **Objective:** The purpose of this study was to evaluate the CD77 levels throughout ERT in FD patients (V269M mutation). **Methods:** We evaluated the fluctuations in PBMC (peripheral blood mononuclear cell) membrane CD77 expression in FD patients undergoing ERT and correlated these levels with those observed in different cell types. **Results:** A greater CD77 expression was found in phagocytes of patients compared to controls at baseline. Interestingly, the variability in CD77 levels is larger in patients at baseline (340 - 1619 MIF) and after 12 months of ERT (240 - 530 MIF) compared with the control group (131 - 331 MFI). Furthermore, by analyzing the levels of CD77 in phagocytes from patients throughout ERT, we found a constant decrease in CD77 levels. **Conclusion:** The increased CD77 levels in the phagocytes of Fabry carriers together with the decrease in CD77 levels throughout ERT suggest that measuring CD77 levels in phagocytes is a promising tool for monitoring the response to ERT in FD.

Keywords: Fabry Disease; Enzyme Replacement Therapy; Phagocytes.

INTRODUÇÃO

O gene GLA (300644) localizado na posição Xq22.1 no cromossomo X humano codifica constitutivamente a enzima lipase alfa galactosidase A (EC 3.2.1.22, a-GAL) sob condições normais.¹ Mutações diferentes nesse gene podem resultar em uma falta total ou diminuição na atividade da a-GAL, que resulta na Doença de Fabry (FD; OMIM # 301500).² Esta é uma síndrome rara em que o tempo médio entre o aparecimento dos seus primeiros sintomas (acroparestesia, hipo ou anidrose, angioceratoma, dor abdominal, e dor relacionada a Fabry)^{1,3-6} e o diagnóstico clínico é de aproximadamente 15 anos em homens e 40 anos em mulheres.⁷ As manifestações biológicas observadas na DF provêm da não degradação dos glicosíngolípides pela a-GAL no interior dos lisossomos, o que resulta no acúmulo progressivo de compostos, como a globotriaosilceramida (Gb3).⁸

A terapia de reposição enzimática (TRE) realizada de maneira endovenosa com protocolos específicos trouxe esperança para o tratamento da DF. Atualmente, é o único tratamento aceito mundialmente para a doença. No entanto, apesar de seu sucesso, o monitoramento efetivo da TRE ainda é um desafio, pois baseia-se nos níveis de Gb3 e liso-Gb3 no plasma e na urina, melhora clínica da função renal e redução da hipertrofia ventricular esquerda. No entanto, o uso desses parâmetros bioquímicos como ferramentas de confiança para monitorizar a eficácia da TRE na DF foi recentemente questionada por estudos que mostraram que (i) não há correlação entre a gravidade da DF e Gb3 e níveis liso-Gb3, e (ii) pacientes FD pode exibir níveis normais de Gb3 e liso-Gb3 nos fluidos corporais.⁹⁻¹³

A constatação de que as células de sangue de indivíduos com DF expressam CD77 ligado à membrana (Gb3 ligados à membrana) em níveis quatro vezes mais elevados do que nos controles saudáveis¹⁴ em conjunto com a conclusão de que as células HK2 (que sobre-expressam CD77 por silenciamento do gene a-GAL) reduzem a expressão de CD77 após três dias de tratamento com TRE¹⁴ estimulou estudos para investigar as variações nos níveis de CD77 ao longo da TRE em pacientes com DF. Portanto, nosso objetivo foi estudar os níveis de CD77 na membrana de CMSP (células mononucleares do sangue periférico) em pacientes com DF submetidos a TRE; os níveis foram correlacionados com aqueles observados em diferentes tipos de células em subgrupos de idade e gênero.

MÉTODOS

POPULAÇÃO

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Piauí (CEP-0160.0.045.000-10), e realizado com 25 pacientes com diagnóstico de DF (confirmado por exames clínicos e moleculares). Todos os pacientes são provenientes de uma grande família portadora da mutação V269M no gene que codifica a-GAL A, que foi recentemente descoberta pelo nosso grupo no sul do Piauí, Brasil. Os pacientes foram categorizados nos seguintes grupos: grupo 1 (GP1, n = 17), incluindo indivíduos com fenótipos clássicos da doença que estavam sob TRE (algasidase alfa, 0,2 mg/Kg, quinzenalmente) e grupo 2 (GP2, n = 8), incluindo indivíduos que não foram submetidos à TRE. Cento e um voluntários saudáveis foram estudados como grupo controle. Os sujeitos assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido e tiveram suas amostras biológicas (sangue periférico) processadas no Laboratório de Imunogenética e Biologia Molecular da Universidade Federal do Piauí.

VALORES BASAIS E ACOMPANHAMENTO DAS AVALIAÇÕES CLÍNICA E BIOQUÍMICA

Valores basais, achados e sintomas específicos relevantes para DF foram registrados sistematicamente em um banco de dados e utilizados para análises posteriores. As histórias médicas dos pacientes indicaram a presença de angioceratoma, acroparestesia, episódios de dor, hipohidrose, hipertensão, córnea verticilata e proteinúria. Hipertrofia ventricular esquerda (HVE) foi definida como uma espessura da parede interventricular e/ou posterior na diástole final ≥ 13 mm, detectada pela ecocardiografia, e a função renal quantificada pela taxa de filtração glomerular estimada (TFGe) usando a equação da Chronic Kidney Disease-Epidemiology Collaboration (CKD-EPI).¹⁵ O comprometimento renal foi definido como TFGe < 90 mL/min/1,73 m², de acordo com as diretrizes da “Kidney Disease: Improving Global Outcomes” (KDIGO)¹⁶ e as diretrizes da European DF.¹⁷ As concentrações de albumina e creatinina nas amostras de urina foram determinadas através do kit LabTestAlbumin e do Kit LabTestCreatinine (Minas Gerais, Brasil), respectivamente, segundo o protocolo do fabricante. A relação albumina/creatinina urinária (RAC) foi calculada a partir das concentrações de albumina e creatinina na urina, e os valores foram relatados em mg/g.

CITOMETRIA DE FLUXO

Células frescas do sangue periférico (2×10^5) foram incubadas em 2,5 mL de PBS durante 15 min a 4°C no escuro com os anticorpos relevantes. Utilizamos anticorpos monoclonais marcados com fluorescência (Becton-Dickinson, Mountain View, CA, EUA) direcionados para as seguintes moléculas: marcador de membrana CD45 pan-leucocítico (conjugada com alofocianina (APC)), CD77 citoplasmático (conjugado com isotiocianato de fluoresceína (FITC)), e CD11b de membrana (ficoeritrina conjugada-(PE)). A marcação intracelular de CD77 foi conseguida perfurando as células utilizando a solução BD FACS Lyse (BD Bioscience, EUA). As células do sangue periférico foram examinadas utilizando um citômetro de fluxo FACSCanto II, e foram selecionadas com base nas medidas de dispersão frontal (FSC) e dispersão lateral (SSC). Os resultados foram analisados usando o software FACS Diva (Becton-Dickinson) e reportados como a intensidade mediana da fluorescência (IMF).

ANÁLISE ESTATÍSTICA

O teste não-paramétrico de Mann-Whitney foi usado tanto para comparar as diferenças de expressão (IMF) em CD77 entre indivíduos do grupo controle e pacientes quanto para comparar as diferenças de expressão no CD77 nas células dos pacientes em função da idade (< 50 vs. ≥ 50 anos). O teste de Wilcoxon foi usado para comparar as mudanças nos parâmetros bioquímicos IMVE, RAC e TFG_e antes e depois da TRE.

RESULTADOS

De 2005 a 2010, nosso grupo diagnosticou 64 pessoas com DF (V269M) da mesma família no sul do Piauí, Brasil. Entre estes, apenas aqueles que estavam sob acompanhamento a cada 6 meses foram incluídos no estudo. Dados demográficos, clínicos e laboratoriais para os pacientes GP1 e GP2 estão exibidos na Tabela 1. Os pacientes do grupo GP1 variaram na faixa etária de 13 a 75 anos, e o tempo de seguimento variou de 06 a 21 meses. No grupo GP2, as idades variaram de 8 a 50 anos. Nenhum paciente apresentou história de acidente vascular cerebral isquêmico (AVC) e/ou síncope. Avaliações de acompanhamento nos pacientes GP1 mostraram uma diminuição significativa no RAC após 6 ($p = 0,0010$) e 12 ($p = 0,0016$) meses de tratamento (Figura 1-A), e aumento no parâmetro TFG_e após 6 ($p < 0,0001$) e 12 ($p < 0,0001$)

TABELA 1 DADOS DEMOGRÁFICOS, CLÍNICOS E LABORATORIAIS PARA PACIENTES GP1 E GP2 COM DOENÇA DE FABRY (V269M)

Dados demográficos	GP1	GP2
Idade (anos)	40,4 ± 4,5	24,5 ± 4,4
Homens (n)	6	2
Mulheres (n)	11	6
Dados Clínicos e Laboratoriais		
Angioceratoma (%)	0	0
Anormalidades no ECG (%)	33,3	0
HVE (%)	13,3	12,5
Cornea verticilata (%)	33,3	50
Acroparestesia (%)	100	37,5
Hipertensão (%)	52,9	12,5
Lesões radiográficas à RM (%)	41,2	37,5
TFG _e < 90 mL/min/1,73 m ² (%)	52,9	0

ECG: eletrocardiograma; HVE: hipertrofia ventricular esquerda; TFG_e: taxa estimada de filtração glomerular; RM: ressonância magnética.

meses (Figura 1-B). Encontramos decréscimos no Índice de Massa do Ventrículo Esquerdo IMVE nos tratamentos de seguimento após 6 e 12 meses ($p = 0,004$ e $p = 0,003$, respectivamente) (Figura 1-C).

Para determinar as localizações diferenciais do CD77 em diferentes populações de leucócitos, avaliamos a IMF dessas moléculas nas populações de linfócitos e monócitos/neutrófilos (fagócitos). Observamos altos valores nos fagócitos, mas não nos linfócitos, nos grupos de pacientes e controle (Figura 2). Observamos um aumento significativo na densidade de CD77 nos fagócitos do GP1, comparado aos controles (IMF = 702,4 ± 396,4 vs. IMF = 217 ± 37,6; $p < 0,0001$) (Figura 3-A). Em seguida, investigamos o impacto da TRE nos níveis de CD77 na população fagocitária durante um ano de tratamento com TRE. Nossa análise revelou uma redução de duas vezes nos níveis de CD77 durante os primeiros seis meses em comparação com o início (IMF = 702,4 ± 396,4 vs. IMF = 306,6 ± 89,43; $p < 0,0001$) (Figura 3-B), seguido por uma estabilização nos níveis de CD77 desses pacientes. Depois, comparamos os níveis de CD77 do GP1 em T0 e T12, e comparamos com o GP2 e controles saudáveis. Após um ano de TRE, os níveis de CD77 foram menores nos pacientes GP1 (IMF = 356,0 ± 20,21) do que nos pacientes GP2 (IMF = 462,3 ± 62; $p = 0,04$), mas ainda foram superiores aos dos controles saudáveis (IMF = 216,9 ± 3,235; $p < 0,001$) (Figura 4).

Figura 1. Acompanhamento dos parâmetros clínicos e laboratoriais em pacientes com DF (V269M) ao longo da TRE. A) RAC no início do estudo, 6 e 12 meses de TRE. B) TFGe no início, 06 e 12 meses após a TRE. O IMVE diminuiu significativamente desde o início até 06 e 12 meses de TRE. DF: doença de Fabry; RAC: relação albumina creatinina; IMVE: índice de massa ventricular esquerda; TFGe: taxa de filtração glomerular estimada. TRE: Terapia de Reposição de Enzimas.

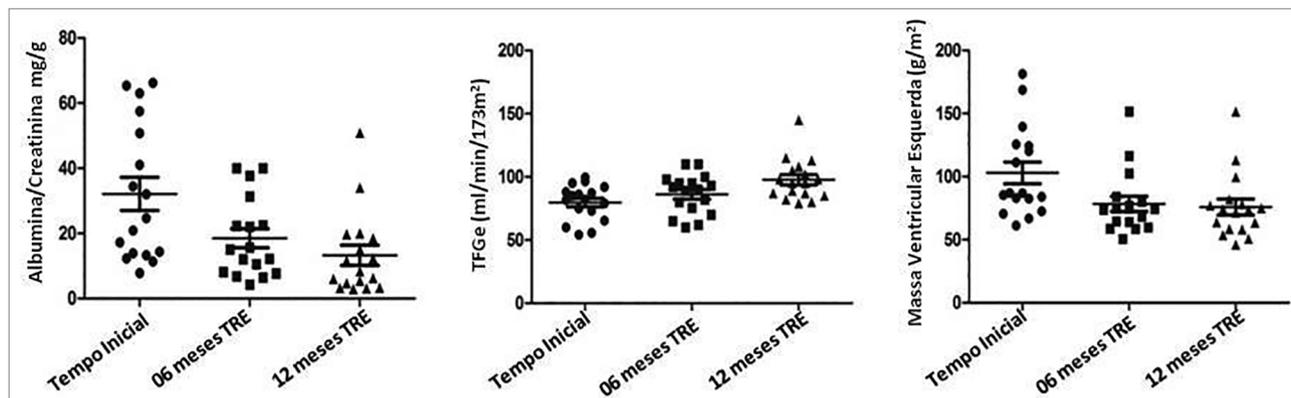


Figura 2. As células fagocitárias apresentam níveis mais elevados de CD77 que os linfócitos. A população vermelha representa células de monócitos/neutrófilos. População verde representa linfócitos.

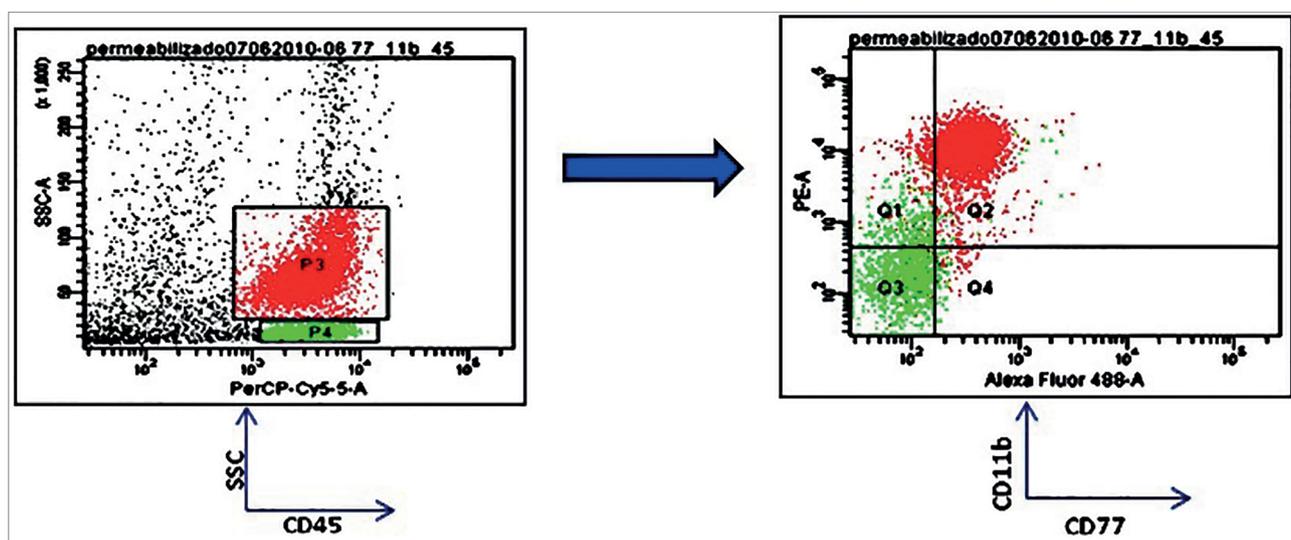


Figura 3. Níveis de CD77 nos fagócitos dos pacientes com DF ao longo da TRE. A) IMF de CD77 está aumentada nos fagócitos dos pacientes com DF em comparação com os controles. B) os níveis de CD77 diminuíram após os primeiros seis meses em comparação com o valor basal (IMF = 702,4 ± 396,4 vs. IMF = 306,6 ± 89,43; $p < 0,0001$), seguido por uma estabilização nos níveis de CD77. DF: doença de Fabry; IMF: intensidade mediana de fluorescência; TRE: Terapia de Reposição de Enzimas.

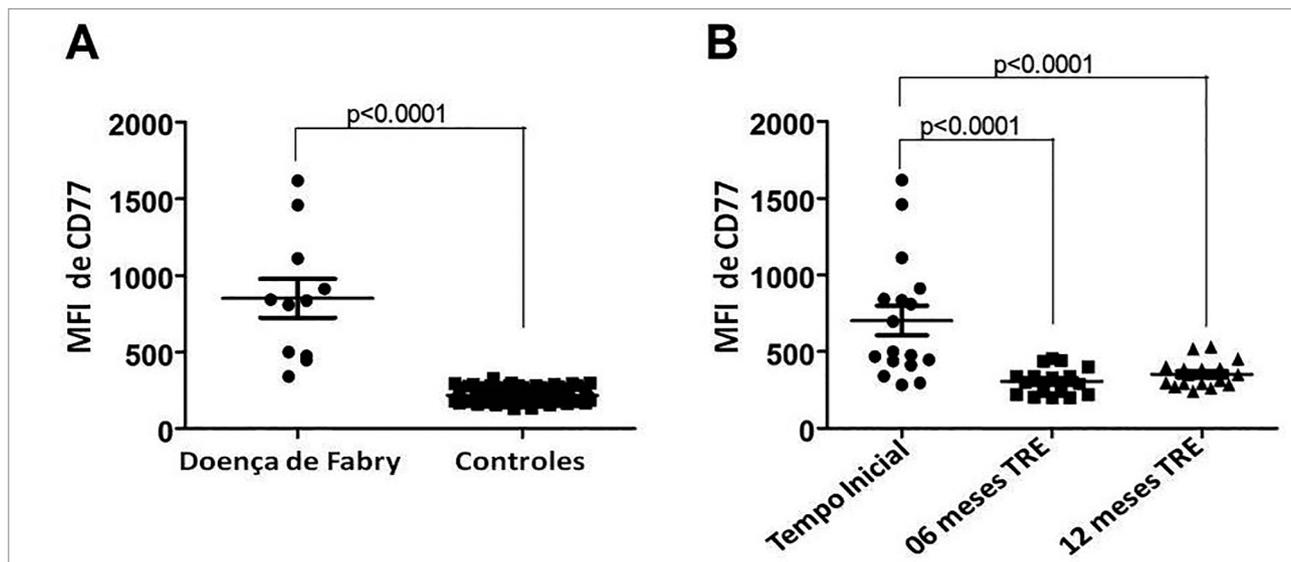


Figura 4. Níveis de CD77 nos pacientes com DF GP1 e GP2. Após um ano de TRE, os níveis de CD77 foram menores nos pacientes GP1 (IMF = $356,0 \pm 20,21$) do que nos pacientes GP2 (IMF = $462,3 \pm 62$; $p = 0,04$), mas ainda maiores que nos controles saudáveis (IMF = $216,9 \pm 3,235$; $p < 0,001$). DF: doença de Fabry; IMF: intensidade mediana de fluorescência; TRE: Terapia de Reposição de Enzimas.

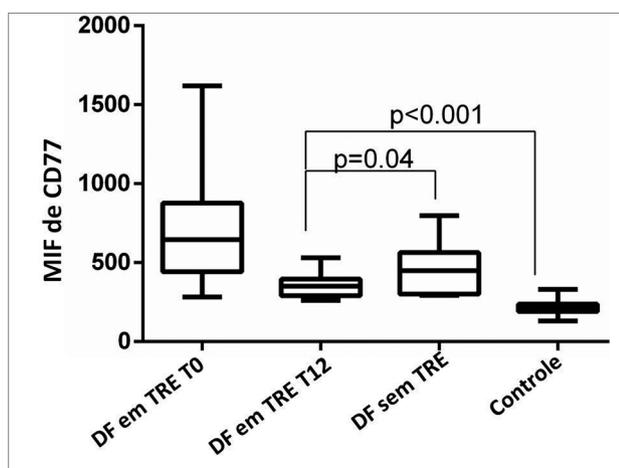
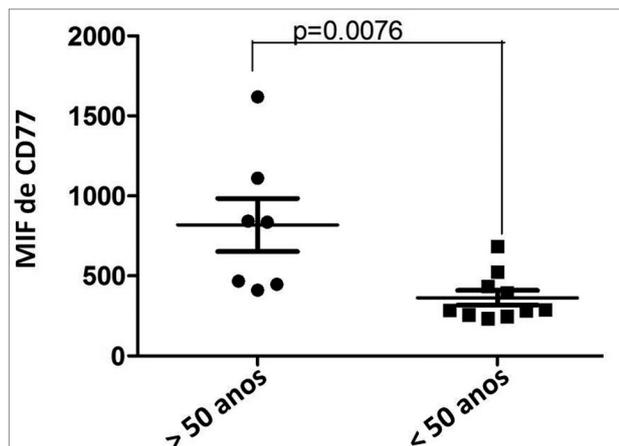


Figura 5. Níveis de CD77 em células fagocitárias de pacientes com DF com idade superior a 50 anos ou menos. Pacientes GP1 com idade ≥ 50 apresentaram níveis mais elevados de CD77 em comparação com pacientes < 50 anos (IMF = $819 \pm 165,8$ vs. IMF = $363 \pm 46,3$; $p = 0,0076$). DF: doença de Fabry; IMF: intensidade mediana de fluorescência.



Para determinar o efeito da idade, os pacientes GP1 foram estratificados nos subgrupos < 50 e ≥ 50 anos. A análise revelou níveis mais elevados de CD77 nos fagócitos de pacientes com idade ≥ 50 (IMF = $819 \pm 165,8$ vs. IMF = $363 \pm 46,3$; $p = 0,0076$) (Figura 5).

Para avaliar a relação entre os níveis de CD77 nas células fagocitárias e a gravidade clínica, correlacionamos os níveis de CD77 com as variáveis RAC, TFGe e IMVE; nenhuma correlação significativa foi encontrada.

DISCUSSÃO

Estudamos os níveis de CD77 em leucócitos de pacientes com DF submetidos ou não à TRE e em controles

saudáveis. Encontramos um padrão de expressão diferente para esta molécula em diferentes populações de leucócitos em pacientes e controles. O CD77 é preferencialmente expresso em células fagocitárias consideradas como linfócitos. Relatos na literatura mostram que altos níveis de CD77 no centro germinativo induzem rapidamente a apoptose de células B¹⁸ e que há uma alta expressão de CD77 em pacientes com linfomas de Burkitt.¹⁹ Esses achados sugerem que o CD77 participa da regulação da diferenciação da linhagem B no centro germinativo. O papel do CD77 em outras células hematopoiéticas ainda não foi elucidado. No entanto, o CD77 é conhecido por ser um receptor da verotoxina da *Escherichia coli* em células epiteliais, intestinais e renais,²⁰ e está significativamente aumentado em carcinomas colorretais e suas metástases.^{21,22}

A deficiência em a-GAL em DF leva ao acúmulo progressivo de Gb3 dentro das células. Gb3 é idêntico ao antígeno CD77 de membrana. Portanto, um aumento nos níveis de CD77 é esperado na DF. Na verdade, observamos uma maior expressão de CD77 em fagócitos de pacientes em comparação com indivíduos do grupo controle no início do estudo.

Curiosamente, a variabilidade nos níveis de CD77 foi maior em pacientes no tempo 0 (340 - 1619 MFI) e após 12 meses de TRE (240 - 530 MFI) em comparação com o grupo controle (131 - 331 MFI). Além disso, encontramos uma diminuição constante nos níveis de CD77 nos fagócitos de pacientes com GP1 ao longo da TRE, atingindo níveis tão baixos quanto os do GP2, mas ainda mais altos do que nos controles. Resultados semelhantes foram obtidos em um estudo de Thomaidis e colaboradores (2009). Os autores desenvolveram o primeiro modelo celular para estudar a DF usando técnicas de silenciamento de genes. Eles mediram os níveis de CD77 por citometria de fluxo e os níveis de Gb3 por espectrometria de massa em células com deficiência de GAL-a, e encontraram acúmulo de Gb3, bem como superexpressão de CD77, em comparação com células não silenciadas. Para confirmar esses achados, eles mediram os níveis de CD77 em polimorfonucleares de portadores de DF e compararam com os níveis em indivíduos saudáveis, encontrando níveis mais altos em células de pacientes (quatro vezes). Para determinar se a expressão de CD77 estava relacionada com a redução na atividade da a-GAL, eles compararam os níveis de CD77 em células silenciadas tratadas com e sem TER, e mostraram que as células tratadas apresentavam níveis mais baixos em comparação com as células não tratadas.²³

Atualmente existem dois marcadores para diagnosticar e monitorar TRE, Gb3 e Lyso-Gb3. Na DF clássica, o Gb3 pode ser mensurado com confiabilidade no plasma e na urina usando espectrometria de massa.²⁴ No entanto, existem grandes variações nas concentrações detectadas. Parece que alguns pacientes com mutações leves no gene que codifica α -GAL, que não estão associadas a uma deficiência enzimática absoluta, podem exibir níveis normais de Gb3 nos fluidos corporais. Aerts *et al.* (2008) sugeriram recentemente que a forma desacetilada de Gb3 (liso-Gb3) também é um marcador para o manejo clínico da DF. Embora a circulação de liso-Gb3 esteja significativamente aumentada em pacientes do sexo masculino com DF, foi apenas parcialmente responsiva ao TRE com α -GAL A recombinante, e não houve relação entre os níveis plasmáticos de liso-Gb3, idade ou evolução clínica.²⁵

Os níveis aumentados de CD77 nos fagócitos dos portadores de Fabry, juntamente com a sua diminuição ao longo da TRE, sugerem que a medição dos níveis de CD77 nos fagócitos é uma ferramenta promissora para monitorizar a resposta à TRE na DF. Os níveis são maiores nos pacientes que nos controles saudáveis, mesmo após a TRE, distinguindo entre portadores e não portadores da doença. Além disso, como essa medida é realizada por citometria de fluxo, que é uma técnica simples, rápida e universal, essa ferramenta pode ser incorporada em rotinas laboratoriais para DF. Embora os níveis de CD77 nos fagócitos dos portadores de DF não estejam correlacionados com as variáveis clínicas, foi possível observar melhora clínica nesses pacientes à medida que os níveis de CD77 diminuíram. A ausência dessa correlação pode ser devido a um turnover celular diferente no sangue em comparação com as células cardíacas e renais.

Embora nosso estudo tenha sido realizado em uma única família de portadores de DF e os níveis de CD77 não se correlacionassem com variáveis clínicas, nosso estudo demonstrou a localização diferencial de CD77 nas células sanguíneas e monitorou os níveis de CD77 em fagócitos durante a TRE em pacientes com DF. Nossos resultados também fornecem novas perspectivas para a compreensão da importância do CD77 na fisiopatologia e no tratamento da DF.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem aos pacientes com DF que participaram do estudo.

REFERÊNCIAS

- Opitz JM, Stiles FC, Wise D, Race RR, Sanger R, Von Gemmingen GR, et al. The Genetics of Angiokeratoma Corporis Diffusum (Fabry's Disease) and Its Linkage Relations with the Xg Locus. *Am J Hum Genet* 1965;17:325-42.
- Kint JA. Fabry's disease: alpha-galactosidase deficiency. *Science* 1970;167:1268-9.
- Becherucci F, Romagnani P. When foos come first: early signs of podocyte injury in Fabry nephropathy without proteinuria. *Nephron* 2015;129:3-5.
- Germain DP. Fabry disease. *Orphanet J Rare Dis* 2010;5:30.
- Linhardt A, Elliott PM. The heart in Anderson-Fabry disease and other lysosomal storage disorders. *Heart* 2007;93:528-35.
- Neufeld EF. Lysosomal storage diseases. *Annu Rev Biochem* 1991;60:257-80.
- MacDermot KD, Holmes A, Miners AH. Anderson-Fabry disease: clinical manifestations and impact of disease in a cohort of 60 obligate carrier females. *J Med Genet* 2001;38:769-75.
- Futerman AH, van Meer G. The cell biology of lysosomal storage disorders. *Nature Rev Mol Cell Biol* 2004;5:554-65.
- 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.
- Gupta S, Ries M, Kotsopoulos S, Schiffmann R. The relationship of vascular glycolipid storage to clinical manifestations of Fabry disease: a cross-sectional study of a large cohort of clinically affected heterozygous women. *Medicine (Baltimore)* 2005;84:261-8.
- MacDermot KD, Holmes A, Miners AH. Natural history of Fabry disease in affected males and obligate carrier females. *J Inher Metab Dis* 2001;24:13-4.
- Rombach SM, Dekker N, Bouwman MG, Linthorst GE, Zwinderman AH, Wijburg FA, et al. Plasma globotriaosylsphingosine: diagnostic value and relation to clinical manifestations of Fabry disease. *Biochim Biophys Acta* 2010;1802:741-8.
- Young E, Mills K, Morris P, Vellodi A, Lee P, Waldek S, et al. Is globotriaosylceramide a useful biomarker in Fabry disease? *Acta Paediatr Suppl* 2005;94:51-4.
- Thomaidis T, Relle M, Golbas M, Brochhausen C, Galle PR, Beck M, et al. Downregulation of alpha-galactosidase A upregulates CD77: functional impact for Fabry nephropathy. *Kidney Int* 2009;75:399-407.
- Levey AS, Stevens LA, Schmid CH, Zhang YL, Castro AF 3rd, Feldman HI, et al.; CKD-EPI (Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration). A new equation to estimate glomerular filtration rate. *Ann Intern Med* 2009;150:604-12.
- Kidney Disease Improving Global Outcomes (KDIGO) CKD Work Group. KDIGO 2012 clinical practice guideline for the evaluation and management of chronic kidney disease. *Kidney Int Suppl* 2013;3:1-150.
- Biegstraaten M, Arngriímsson R, Barbey F, Boks L, Cecchi F, Deegan PB, et al. Recommendations for initiation and cessation of enzyme replacement therapy in patients with Fabry disease: the European Fabry Working Group consensus document. *Orphanet J Rare Dis* 2015;10:36.
- Mangeney M, Richard Y, Coulaud D, Tursz T, Wiels J. CD77: an antigen of germinal center B cells entering apoptosis. *Eur J Immunol* 1991;21:1131-40.
- Gregory CD, Dive C, Henderson S, Smith CA, Williams GT, Gordon J, et al. Activation of Epstein-Barr virus latent genes protects human B cells from death by apoptosis. *Nature* 1991;349:612-4.
- O'Brien AD, Lively TA, Chang TW, Gorbach SL. Purification of Shigella dysenteriae 1 (Shiga)-like toxin from Escherichia coli O157:H7 strain associated with haemorrhagic colitis. *Lancet* 1983;2:573.
- Falguières T, Maak M, von Weyhern C, Sarr M, Sastre X, Poupon MF, et al. Human colorectal tumors and metastases express Gb3 and can be targeted by an intestinal pathogen-based delivery tool. *Mol Cancer Ther* 2008;7:2498-508.
- Kovbasnjuk O, Mourtazina R, Baibakov B, Wang T, Elowsky C, Choti MA, et al. The glycosphingolipid globotriaosylceramide in the metastatic transformation of colon cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005;102:19087-92.
- Boscaro F, Pieraccini G, la Marca G, Bartolucci G, Luceri C, Luceri F, et al. Rapid quantitation of globotriaosylceramide in human plasma and urine: a potential application for monitoring enzyme replacement therapy in Anderson-Fabry disease. *Rapid Commun Mass Spectrom* 2002;16:1507-14.