




## Perfil genético e fenotípico da doença de Fabry na população do Vale do Paraíba e Zona Leste de São Paulo

Genetic and phenotypic profile of Fabry disease in the population of Vale do Paraíba and Eastern São Paulo

### Autores

Oswaldo Theodoro da Paz<sup>1</sup> 

Rosiane Cássia Teixeira Lacerda<sup>1</sup> 

Luis Gustavo Modelli de Andrade<sup>1</sup> 

<sup>1</sup>Universidade Estadual Paulista, Botucatu, SP, Brasil.

### RESUMO

**Introdução:** A doença de Fabry (DF) é um erro inato do metabolismo caracterizado pela deficiência da enzima  $\alpha$ -galactosidase A. O objetivo primário foi avaliar o perfil genético e fenotípico da doença de Fabry em hemodiálise. **Métodos:** Estudo de coorte observacional para determinar a incidência de variações genéticas e alterações fenotípicas para DF em pacientes em hemodiálise no Vale do Paraíba e Zona Leste de São Paulo. O teste genético para o gene GLA foi realizado para homens e mulheres em todos os pacientes das clínicas de hemodiálise maiores de 12 anos entre janeiro de 2016 a dezembro de 2019 como protocolo de rastreio. **Resultados:** Os casos foram provenientes de exames de triagem do caso índice entre pacientes portadores de doença renal crônica, resultando em 17 famílias e totalizando 82 pacientes em estudo. A classificação da variante mais prevalente foi a de significado incerto (54%), seguida da variante patogênica (46%). Foram descritos 5 pacientes em duas famílias com dois tipos de variantes ainda não previamente descritos na literatura com comportamento patogênico. Na comparação entre os tipos de variantes, a presença de variante patogênica foi associada a maiores níveis de lysoGB3, menores valores da atividade da alfa-GAL e maior frequência de sintomas relativos à DF. **Conclusão:** Caracterizamos uma extensa população de pacientes com variantes para DF com riqueza de detalhes de genética, clínica e de biomarcadores. Acreditamos que este estudo possa auxiliar na melhor caracterização da população brasileira com DF e nos tipos mais frequentes de variantes.

**Descritores:** Doença de Fabry; Insuficiência Renal Crônica; lysoGB3; Biomarcadores.

### ABSTRACT

**Introduction:** Fabry disease (FD) is an inborn error of metabolism characterized by  $\alpha$ -galactosidase A deficiency. The primary objective was to evaluate the genetic and phenotypic profile of Fabry disease in hemodialysis. **Methods:** Observational cohort study to determine the incidence of genetic variations and phenotypic changes for FD in hemodialysis patients in the Paraíba Valley and Eastern São Paulo. Genetic testing for the GLA gene was performed for men and women over 12 years of age at the hemodialysis clinics between January 2016 and December 2019 as a screening protocol. **Results:** The cases came from screening exams of the index case among patients with chronic kidney disease, resulting in 17 families and totaling 82 patients under study. The classification of the most prevalent variant was that of uncertain significance (54%), followed by the pathogenic variant (46%). Five patients in two families were described with two types of variants not previously described in the literature, with pathogenic behavior. Comparing the types of variants, the presence of a pathogenic variant was associated with higher levels of lysoGB3, lower values for alpha-GAL activity and higher frequency of symptoms related to FD. **Conclusion:** We characterized an extensive population of patients with FD variants with rich genetic, clinical and biomarker details. We believe that this study can help to better characterize the Brazilian population with FD and the most frequent types of variants.

**Keywords:** Fabry Disease; Chronic Renal Failure; lysoGB3; Biomarkers.

Data de submissão: 26/06/2022.

Data de aprovação: 19/12/2022.

Data de publicação: 06/02/2023.

### Correspondência para:

Luis Gustavo Modelli de Andrade.  
E-mail: Gustavo.modelli@unesp.br

DOI: <https://doi.org/10.1590/2175-8239-JBN-2022-0107pt>



## INTRODUÇÃO

A doença de Fabry é um erro inato do metabolismo caracterizado pela deficiência da enzima  $\alpha$ -galactosidase A ( $\alpha$ -D-galactósido galactohidrolase);  $\alpha$ -gal A<sup>1</sup> levando ao acúmulo e à deposição de glicoesfingolípido (Gb3) nos lisossomos<sup>2</sup>. A atividade deficiente de  $\alpha$ -galactosidase A lisossômica ( $\alpha$ -gal A) resulta no acúmulo progressivo de globotriaosilceramida (Gb3 ou GL-3) e glicoesfingolípidos relacionados nos lisossomos de vários tipos celulares, incluindo células endoteliais capilares, renais, cardíacas e células nervosas<sup>3</sup>. O acúmulo nos lisossomos começa na infância, ou mesmo já no estágio fetal do desenvolvimento<sup>4</sup>. No entanto, diferentemente de outras doenças de depósito lisossômico<sup>5</sup>, a maioria dos pacientes permanece clinicamente assintomática durante os primeiros anos de vida. Na doença de Fabry, acredita-se que o armazenamento lisossômico e a disfunção celular desencadeiem uma cascata de eventos, tais como: comprometimento do metabolismo energético, lesão de pequenos vasos, estresse oxidativo e isquemia tecidual, culminando em morte celular e no desenvolvimento de fibrose cardíaca e renal irreversíveis<sup>3</sup>. Os primeiros sintomas clínicos interferem no bem-estar e no desempenho e surgem na infância, tipicamente entre 3 e 10 anos de idade, e geralmente são mais tardios em mulheres do que em homens<sup>6</sup>.

Os exames de rastreamento contribuem para o diagnóstico de casos não suspeitos quando realizados em populações de alta prevalência, como doença renal crônica, pacientes com hipertrofia do ventrículo esquerdo sem etiologia definida e no acidente vascular cerebral de etiologia incerta<sup>7</sup>. Entretanto, podem ser identificadas variantes de significado incerto e mesmo variantes benignas que não correspondem à patologia e são encontradas na população normal<sup>8,9</sup>. A publicação dos resultados das variantes genéticas com o seu correspondente fenótipo é uma das formas de averiguar a patogenicidade, contribuindo para a formação dos bancos de dados de mutações<sup>10</sup>. No Brasil, foram realizados inúmeros testes de rastreamento em pacientes em hemodiálise, porém com poucas publicações desses resultados<sup>11,12</sup>. É de fundamental importância conhecer o perfil genético, a incidência e o resultado do tratamento específico.

O objetivo primário foi avaliar o perfil genético e fenotípico para a doença de Fabry na população em

hemodiálise do Vale do Paraíba e Zona Leste de São Paulo, estendendo a análise aos familiares dos casos afetados.

## MATERIAIS E MÉTODOS

### DESENHO DO ESTUDO

Trata-se de um estudo de coorte observacional para determinar a incidência de variações genéticas e alterações fenotípicas para doença de Fabry em pacientes em hemodiálise no Vale do Paraíba e Zona Leste de São Paulo. O trabalho foi aprovado pelo comitê de ética em pesquisa da Faculdade de Medicina de Botucatu (CAE: 45885721.0.0000.5411) e os pacientes assinaram termo de consentimento livre e esclarecido.

### POPULAÇÃO DE ESTUDO

Os pacientes que realizam hemodiálise no Vale do Paraíba e Zona Leste de São Paulo foram submetidos a teste de rastreamento para doença de Fabry entre janeiro de 2016 a dezembro de 2019 por indicação clínica segundo protocolo dos centros. Por se tratar de uma doença genética, nos casos positivos a análise foi estendida para os familiares, observando o padrão de herança ligada ao cromossomo X.

### CRITÉRIOS DE INCLUSÃO/EXCLUSÃO

Todos os pacientes em terapia renal substitutiva tipo hemodiálise concordantes. Nos familiares dos pacientes com teste genético positivo foi observado o padrão de herança ligada ao cromossomo X até a terceira geração. Foram excluídos os pacientes com idade inferior a 12 anos.

### PROTOCOLO DE RASTREIO E AVALIAÇÃO DOS CASOS POSITIVOS

Em homens, foi realizada a dosagem da atividade enzimática da alfa-GAL; e em mulheres, foi realizado o teste de sequenciamento do gene GLA. Adicionalmente, em homens com atividade da alfa-GAL menor que o valor de referência (15.3  $\mu$ mol/L/h), foi realizado o teste genético para o gene GLA. Os casos de análise genética positiva foram acompanhados por médico especialista em doença de Fabry para determinar a patogenicidade da variante através de análise clínica, familiar e dos exames complementares. Foram realizadas análises clínicas incluindo a pesquisa de sinais e sintomas para Fabry, tais como história de dor neuropática e pesquisa de angioqueratomas.

Os pacientes foram submetidos a exame de lâmpada de fenda para pesquisa de córnea verticilata, análise da função renal através da estimativa de filtração glomerular e proteinúria, avaliação da função cardíaca e massa ventricular por ecocardiograma. As análises clínicas, bioquímicas e genéticas foram estendidas aos familiares do caso índice.

#### DEFINIÇÕES

Todas as análises de atividade enzimática da alfa-GAL e os testes genéticos foram realizados por análise de papel de filtro no laboratório CENTOGENE (AG; Schillingallee 68; 18057 Rostock, Germany). A análise do lysoGB3 foi realizada por espectrometria de massa por cromatografia líquida. O valor de referência para o lyso-GB3 foi de 1,8 ng/mL. A análise da alfa-GAL foi realizada pelo método da fluorimetria. O valor de normalidade para atividade da alfa-GAL foi de 15,3  $\mu\text{mol/L/h}$ . O gene GLA foi analisado por uma abordagem de sequenciamento de próxima geração baseada em amplicóns. Os amplicóns cobrem toda a região codificante e as junções de splice éxon-intron altamente conservadas. Uma cobertura mínima de 20 vezes para cada amplicón foi alcançada. Regiões ausentes ou regiões com baixa qualidade são completadas com o sequenciamento clássico de Sanger para atingir 100% de cobertura. A sequência de referência foi: GLA: *NM\_000169.2*.

A classificação da variante foi realizada por consulta no banco de dados de Fabry (<http://fabry-database.org/>). Dessa análise resultou a classificação em: variante benigna, possivelmente benigna, variante de significado incerto, possivelmente patogênica e patogênica segundo recomendações da ACMG<sup>13</sup>. Nos casos não reportados, foram feitas consultas adicionais na literatura (PubMed) e na base de dados do ClinVar (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar>). Na ausência de variantes do gene GLA previamente relatadas, esses pacientes foram reportados segundo as características que melhor definiam aquela variante. Os casos foram reportados como patogênicos devido à predição em sílico da variante, sua frequência populacional e presença de características clínicas de Fabry.

A função renal basal foi estimada pela fórmula de CKD-EPI para os pacientes maiores de 18 anos<sup>14</sup>. Para os pacientes com idade entre 12 e 18 anos, foi estimada a filtração glomerular usando a fórmula de Schwartz<sup>15</sup>. A proteinúria foi realizada em coleta de urina de 24 horas.

O diagnóstico de certeza para doença de Fabry foi definido segundo as recomendações europeias<sup>16</sup> e o Consenso brasileiro de doença de Fabry<sup>17</sup>. Definimos sintomas específicos da DF a presença de angioqueratomas, córnea verticilata ou dor neuropática. Dor neuropática foi definida como dor nas mãos e/ou nos pés com início de dor na infância ou adolescência e/ou curso caracterizado por exacerbações provocadas por febre, exercício ou calor. O angioqueratoma preencheu os critérios clínicos caso estivesse agrupado e presente em áreas características: área do tronco de banho, lábios e umbigo. A córnea verticilata foi determinada por lâmpada de fenda na ausência de uso de drogas anfifílicas (ou seja, amiodarona, cloroquina).

As localizações geográficas das cidades de moradias dos casos índices e familiares foram obtidas pelas coordenadas do Google maps (<https://www.google.com.br/maps/preview>). A população de cada município foi obtida no IBGE, nos dados do ano de 2021. Para o município de São Paulo, foi considerada a sub-região de moradia de cada família (Penha e Grajaú), sendo somadas as populações dessas duas sub-regiões. Os cálculos de incidência de DF foram feitos por 100 mil habitantes.

#### GRUPOS

Para as descrições das características genótípicas e fenotípicas, os pacientes foram divididos em sexo masculino e feminino.

Foram realizadas análises dos pacientes agrupados por tipo de variante em dois grupos: variante de significado incerto (VUS) e patogênica.

#### CÁLCULO DA AMOSTRA

Estima-se que foram realizados exames de rastreio em aproximadamente 1.980 pacientes em hemodiálise no período do estudo. A incidência estimada de doença de Fabry nessa população é estimada entre 0,25 e 0,5%<sup>11,12</sup>. Segundo Laney et al., para cada caso índice estima-se haver 5 familiares com DF<sup>18</sup>. Assim estima-se de 5 a 10 casos índices com diagnóstico de Fabry e, estendendo a análise para os familiares, estima-se um total de 25 a 50 pacientes.

#### ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Os dados numéricos foram descritos em mediana e percentis 25 e 75%. A normalidade foi aferida pelo teste de Shapiro. Os dados contínuos foram apresentados em número e percentagem. Os dados

faltosos foram descritos em todas as tabelas. Foram realizadas análises de sensibilidade, excluindo os pacientes portadores de VUS.

Para as comparações entre sexos, foi utilizado o teste de Mann-Whitney para as variáveis contínuas, e o teste exato de Fisher para as categóricas.

Para a comparação entre os diferentes grupos, foi utilizado o teste de Mann-Whitney para as variáveis contínuas, e o teste exato de Fisher para as categóricas.

Para a análise de correlação, foi utilizado teste de correlação de Spearman. Os coeficientes de correlação foram o rho de Spearman. Para os sintomas clínicos, foram feitos gráficos de correlação usando o network plot, criado a partir de um painel de correlação no qual as variáveis mais altamente correlacionadas aparecem mais próximas e são unidas por setas. As setas são coloridas por seu sinal (verde para positivo e vermelho para negativo). A proximidade dos pontos é determinada usando agrupamento multidimensional.

Os gráficos foram construídos com o pacote ggplot2 e as análises estatísticas, realizadas com o software R versão 4.0.1.

## RESULTADOS

Obtivemos um total de 94 casos em estudo provenientes de 17 diferentes famílias. Excluindo os menores de 12 anos, restaram 82 casos em análise. A família menos numerosa teve 1 caso e a mais numerosa, 29 casos. Houve 9 famílias com variantes classificadas

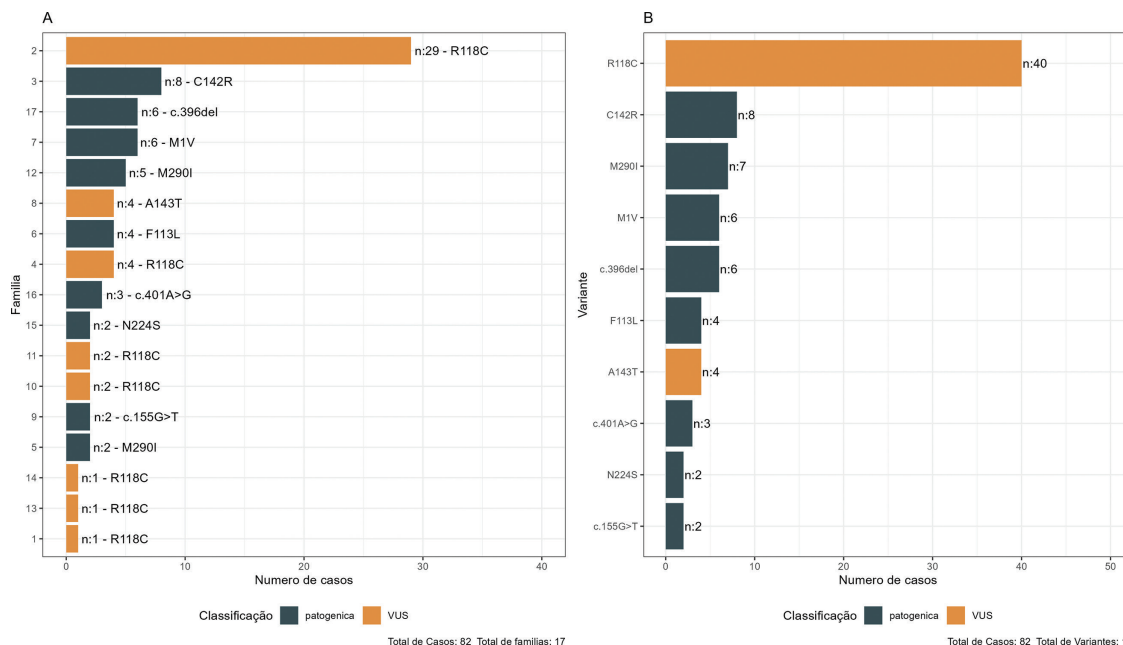
como patogênicas e 8 famílias com variantes de significado incerto (VUS) (Figura 1A). Todos os 82 casos foram provenientes de rastreamento de pacientes em hemodiálise. Foram 13 casos índices (6 do sexo feminino) provenientes de pacientes de hemodiálise e 69 provenientes de rastreamento familiar do caso índice.

No total, foram descritas 10 variantes relacionadas ao gene GLA. Obtivemos 8 casos de variantes patogênicas (C142R, M290I, c.396del, F113L, N224S, c.401A>G, M1V e c.155G>T) e duas variantes classificadas como VUS (R118C, e A143T), (Figura 1B). Do grupo das patogênicas, duas variantes, não previamente descritas, puderam ser classificadas como patogênicas (c.401A>G e c.155G>T). A variante M1V reportada como VUS pode ser caracterizada como patogênica devido à confirmação por histologia do caso índice.

A localização geográfica mostra a presença de 12 diferentes cidades localizadas na região do Vale do Paraíba e Zona Leste de São Paulo. A cidade com maior número de casos foi São José dos Campos (n = 22) e Guarulhos (n = 22). O município com menor número de casos foi Taubaté (n = 1) (Figura 2, Tabela suplementar 1).

## ANÁLISE DE INCIDÊNCIAS

Para essas análises de incidência, foram consideradas apenas as variantes patogênicas. A incidência global da doença de Fabry apresentou uma



**Figura 1.** A. Número total de casos e famílias em estudo por tipo de variante no estudo de Fabry do Vale do Paraíba e Zona Leste de São Paulo. B. Número total de casos por tipo de variante.

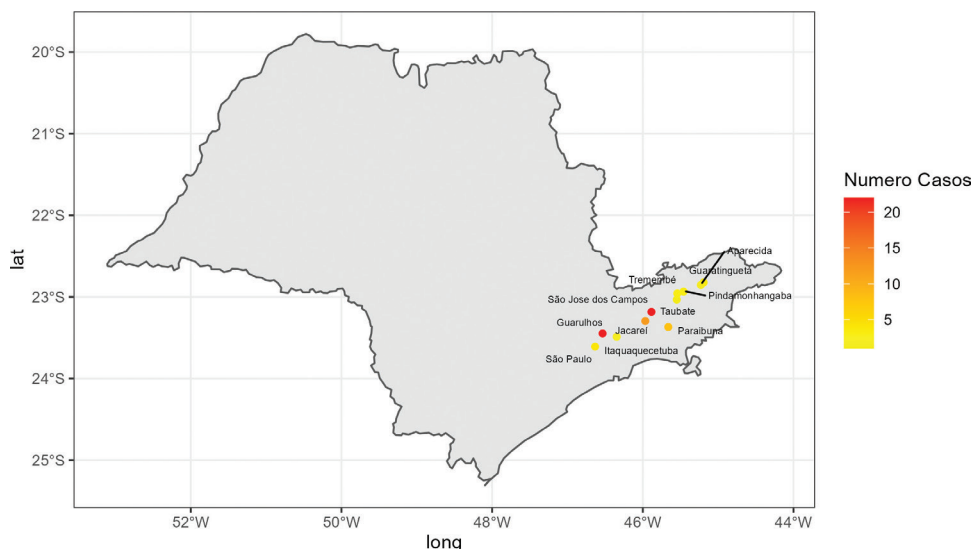


Figura 2. Localização geográfica dos casos e por tipo de variante no estudo de Fabry do Vale do Paraíba e Zona Leste de São Paulo.

<b>TABELA 1</b> CARACTERÍSTICAS GERAIS, GENÓTIPO E FENÓTIPO DOS PACIENTES COM VARIANTES PARA FABRY DO VALE DO PARAÍBA E ZONA LESTE DE SÃO PAULO DIVIDIDOS POR SEXO				
Característica	Total N = 82	Feminino N = 52	Masculino N = 30	p-value
<b>Idade (anos)</b>	40 (25, 52)	34 (22, 54)	45 (39, 50)	0,15
<b>Raça</b>				>0,9
branca	79 (96%)	50 (96%)	29 (97%)	
negra	3 (3,7%)	2 (3,8%)	1 (3,3%)	
<b>Tabagismo</b>				0,4
sim	7 (8,9%)	3 (6,0%)	4 (14%)	
não	72 (91%)	47 (94%)	25 (86%)	
missing	3	2	1	
<b>Hipertensão</b>				0,086
sim	26 (33%)	13 (26%)	13 (45%)	
não	53 (67%)	37 (74%)	16 (55%)	
missing	3	2	1	
<b>Diabetes</b>				>0,9
sim	7 (8,9%)	5 (10%)	2 (6,9%)	
não	72 (91%)	45 (90%)	27 (93%)	
missing	3	2	1	
<b>PAS (mmHg)</b>	120 (110, 132)	120 (110, 133)	120 (110, 130)	0,7
missing	10	5	5	
<b>PAD (mmHg)</b>	80 (70, 80)	70 (70, 80)	80 (80, 80)	0,056
missing	10	5	5	
<b>eGFR (ml/min)</b>	92 (69, 103)	93 (74, 109)	78 (64, 102)	0,2
missing	22	16	6	
<b>Proteinúria (mg/24hs)</b>	22 (0, 85)	45 (0, 78)	1 (0, 100)	0,7
missing	24	17	7	
<b>Genética</b>				
<b>Variante completa</b>				0,3
c.401A>G p.(Tyr134Cys)	3 (3,7%)	2 (3,8%)	1 (3,3%)	

(Continua)

<b>TABELA 1</b>		<b>CONTINUA</b>		
Característica	Total N = 82	Feminino N = 52	Masculino N = 30	p-value
c.155G>Tp.(Cys52Phe)	2 (2,4%)	1 (1,9%)	1 (3,3%)	
c.1A>Gp.(Mer1?)	6 (7,3%)	2 (3,8%)	4 (13%)	
c.352C>T (p.Arg118Cys)	40 (49%)	26 (50%)	14 (47%)	
c.396del p.(Ile133Phefs*32)	6 (7,3%)	5 (9,6%)	1 (3,3%)	
c.424T>C p.(Cys142Arg)	8 (9,8%)	4 (7,7%)	4 (13%)	
c.427G>Ap.Ala143Thr	4 (4,9%)	3 (5,8%)	1 (3,3%)	
c.671A>G (p. Asn224Ser)	2 (2,4%)	1 (1,9%)	1 (3,3%)	
c.870>A p.M290I	2 (2,4%)	0 (0%)	2 (6,7%)	
c.870G>A p.(Met290Ile)	5 (6,1%)	5 (9,6%)	0 (0%)	
c337T>C p.F113L	4 (4,9%)	3 (5,8%)	1 (3,3%)	
<b>Variante abreviada</b>				0,8
A143T	4 (4,9%)	3 (5,8%)	1 (3,3%)	
c.155G>T	2 (2,4%)	1 (1,9%)	1 (3,3%)	
c.396del	6 (7,3%)	5 (9,6%)	1 (3,3%)	
c.401A>G	3 (3,7%)	2 (3,8%)	1 (3,3%)	
C142R	8 (9,8%)	4 (7,7%)	4 (13%)	
F113L	4 (4,9%)	3 (5,8%)	1 (3,3%)	
M1V	6 (7,3%)	2 (3,8%)	4 (13%)	
M290I	7 (8,5%)	5 (9,6%)	2 (6,7%)	
N224S	2 (2,4%)	1 (1,9%)	1 (3,3%)	
R118C	40 (49%)	26 (50%)	14 (47%)	
<b>Variante classe</b>				0,7
VUS	44 (54%)	29 (56%)	15 (50%)	
patogênica	38 (46%)	23 (44%)	15 (50%)	
<b>Variante tipo</b>				0,4
deleção	6 (7,3%)	5 (9,6%)	1 (3,3%)	
missense	76 (93%)	47 (90%)	29 (97%)	
<b>Diagnóstico</b>				
triagem	82 (100%)	52 (100%)	30 (100%)	
<b>Sintomas</b>				
<b>Córnea verticilata</b>				0,2
não	70 (91%)	46 (94%)	24 (86%)	
sim	7 (9,1%)	3 (6,1%)	4 (14%)	
missing	5	3	2	
<b>Angioqueratoma</b>				0,008
não	70 (91%)	48 (98%)	22 (79%)	
sim	7 (9,1%)	1 (2,0%)	6 (21%)	
missing	5	3	2	
<b>Diarreia</b>				>0,9
não	71 (92%)	45 (92%)	26 (93%)	
sim	6 (7,8%)	4 (8,2%)	2 (7,1%)	
missing	5	3	2	
<b>Ortopneia</b>				>0,9
não	68 (88%)	43 (88%)	25 (89%)	
sim	9 (12%)	6 (12%)	3 (11%)	

(Continua)

<b>TABELA 1</b>		<b>CONTINUA</b>		
Característica	Total N = 82	Feminino N = 52	Masculino N = 30	p-value
<b>missing</b>	5	3	2	
<b>Palpitações</b>				0,6
<b>não</b>	47 (61%)	31 (63%)	16 (57%)	
<b>sim</b>	30 (39%)	18 (37%)	12 (43%)	
<b>missing</b>	5	3	2	
<b>Hipoacusia</b>				0,3
<b>não</b>	74 (96%)	46 (94%)	28 (100%)	
<b>sim</b>	3 (3,9%)	3 (6,1%)	0 (0%)	
<b>missing</b>	5	3	2	
<b>Acroparestesia</b>				0,6
<b>não</b>	25 (32%)	15 (31%)	10 (36%)	
<b>sim</b>	52 (68%)	34 (69%)	18 (64%)	
<b>missing</b>	5	3	2	
<b>Hipoidrose</b>				0,5
<b>não</b>	32 (42%)	19 (39%)	13 (46%)	
<b>sim</b>	45 (58%)	30 (61%)	15 (54%)	
<b>missing</b>	5	3	2	
<b>Cefaleia</b>				0,2
<b>não</b>	40 (52%)	23 (47%)	17 (61%)	
<b>sim</b>	37 (48%)	26 (53%)	11 (39%)	
<b>missing</b>	5	3	2	
<b>Alteração do humor</b>				0,7
<b>não</b>	66 (86%)	41 (84%)	25 (89%)	
<b>sim</b>	11 (14%)	8 (16%)	3 (11%)	
<b>missing</b>	5	3	2	
<b>Dor abdominal</b>				0,7
<b>não</b>	53 (69%)	33 (67%)	20 (71%)	
<b>sim</b>	24 (31%)	16 (33%)	8 (29%)	
<b>missing</b>	5	3	2	
<b>Perda auditiva</b>				<0,001
<b>não</b>	70 (91%)	49 (100%)	21 (75%)	
<b>sim</b>	7 (9,1%)	0 (0%)	7 (25%)	
<b>missing</b>	5	3	2	
<b>Biomarcadores e tratamento</b>				
<b>LysoGB3 (ng/mL)</b>	2 (1, 4)	2 (1, 3)	2 (2, 44)	0,014
<b>missing</b>	2	1	1	
<b>Alfa-GAL (mmol/h/L)</b>	4,05 (2,00, 8,28)	NA (NA, NA)	4,05 (2,00, 8,28)	
<b>missing</b>	54	52	2	
<b>Tratamento TRE</b>				0,038
<b>sim</b>	44 (54%)	24 (46%)	20 (69%)	
<b>não</b>	25 (31%)	21 (40%)	4 (14%)	
<b>solicitado</b>	12 (15%)	7 (13%)	5 (17%)	
<b>missing</b>	1	0	1	

<sup>1</sup>Median (IQR); n (%); teste Mann-Whitney contínuas; teste exato de Fisher para categóricas.

PAS: pressão arterial sistólica; PAD: pressão arterial diastólica; eGFR: função renal estimada; VUS (variante de significado incerto); TRE (terapia de reposição enzimática); missing: dado faltoso.

frequência de 0.16 casos por 100.000 habitantes, sendo menor em Taubaté (0.31 casos/100.000) e maior em Paraibuna (5.46 casos/100.000).

#### ANÁLISE DESCRITIVA DA POPULAÇÃO

A população em análise foi de 82 casos, sendo 100% dos diagnósticos feitos por exames de triagem. A idade mediana ao diagnóstico foi de 40 (25-52) anos, com predomínio do sexo feminino (63%). A mediana da idade nas mulheres foi de 34 (22-54) anos e nos homens, de 45 (39-50) anos. No geral, a presença de hipertensão foi de 33%; diabetes, 9%; e a função renal mediana foi de 92 (69-103) mL/min. Do total, 54% dos casos foram variantes de significado incerto. Os sintomas de angioqueratoma e córnea verticilata estiveram presentes em 9% dos casos. As acroparestesias estavam presentes em 68% dos casos. Houve maior incidência de angioqueratomas nos homens (21%) comparada a 2% nas mulheres,  $p = 0,008$ . Houve maior incidência de perda auditiva nos homens (25%) comparada a zero nas mulheres,  $p < 0,001$ . Do total, 54% estavam em tratamento com terapia de reposição enzimática. Dos homens, 69% estavam em TRE, comparados a 46% das mulheres,  $p = 0,038$  (Tabela 1).

#### ANÁLISE DESCRITIVA SENSIBILIZADA

Realizamos as análises da população em estudo excluindo os casos de variantes de significado incerto. Após exclusão dos casos de VUS, restaram 38 casos em análise (variantes patogênicas). A idade mediana foi de 41 (27-50) anos, com predomínio do sexo feminino (60%). Nas mulheres, a idade mediana foi de 35 (24-53) anos e nos homens, de 42 (40-50) anos. No geral, a presença de hipertensão foi de 31%; diabetes, 8,3%; e a função renal mediana foi de 97 (77-106) mL/min. Os sintomas de angioqueratoma e córnea verticilata estiveram presentes em 20% dos casos. Os angioqueratomas foram mais frequentes nos homens (40%), comparados aos das mulheres (5%),  $p = 0,027$ . A perda auditiva foi maior nos homens (27%), comparada à das mulheres,  $p = 0,027$ . As acroparestesias estavam presentes em 77% dos casos. Do total, 74% estavam em tratamento com terapia de reposição enzimática, sendo 93% em homens e 61% nas mulheres,  $p = 0,13$  (Tabela 2).

#### DESCRIÇÃO DETALHADA DOS CASOS DE VUS

A maioria dos casos relatados foram variantes de significado incerto (VUS). Foram 44 casos, correspondendo a 52% do total.

Os casos de R118C foram mais frequentes ( $n = 40$ ). Nesse grupo, a mediana de idade ao diagnóstico foi de 37 (21-53) anos, com 65% de mulheres. Não houve casos de sintomas de angioqueratomas ou presença de córnea verticilata. Houve 55% de acroparestesias e 7,9% de casos de perda auditiva. A função renal mediana foi de 78 (60-103) mL/min e a proteinúria, de 59 (1-87) mg/24hs. A concentração mediana de lysoGb3 foi de 1,4 (1,2-1,6) ng/mL. A atividade da alfa-GAL foi de 8,2 (6,7 a 8,8) mmol/h/L, o que corresponde a 54% de atividade do valor de referência. O caso índice foi uma paciente do sexo feminino em hemodiálise. Do total, 12 pacientes (31% dos casos) estavam em tratamento com terapia de reposição enzimática.

O outro grupo de VUS foi a variante A143T, com 4 casos. A idade mediana desse grupo foi de 40 (36-47) anos, com 75% de mulheres. A função renal estimada foi de 91 (73-93) mL/min e a proteinúria, de 60 (30-234) mg/24hs. Não houve casos de pacientes com sintomas de córnea verticilata ou presença de angioqueratomas. Sintomas de acroparestesias ocorreram em 100% dos casos. A mediana de lysoGB3 foi de 1,65 (1,58-1,72) ng/mL, e a atividade da alfa-GAL foi de 3 (3,1-3,1) mmol/h/L. Todos os casos estavam em terapia de reposição enzimática. O caso índice foi uma paciente do sexo feminino com eGFR = 54 mL/min, proteinúria de 407 mg/24hs e lysoGB3 de 1,8 ng/mL.

#### ANÁLISE ENTRE GRUPOS DE VARIANTES

Realizamos uma comparação entre os dois tipos de variantes (VUS e patogênica). As características de idade, sexo, presença de comorbidades e função renal foram semelhantes entre os grupos. A presença de deleção foi mais frequente nas variantes patogênicas, comparadas à VUS: 16% *versus* 0%,  $p = 0,008$ . Os sintomas específicos da doença de Fabry, como angioqueratomas de córnea verticilata, foram mais frequentes nas variantes patogênicas, comparadas à VUS: 20% *versus* 0%,  $p = 0,003$ . Não houve diferença na presença de acroparestesias entre os grupos. A concentração de lysoGB3 foi maior nas variantes patogênicas 4 (2-24) ng/mL, comparada às variantes VUS 1 (1-2) ng/mL,  $p < 0,001$ . A atividade enzimática de alfa-GAL foi menor nas variantes patogênicas, comparada à VUS,  $p < 0,001$ . O tratamento com terapia de reposição enzimática foi mais frequente nas variantes patogênicas, comparado à VUS: 74% *versus* 37%,  $p < 0,001$  (Tabela suplementar 2).



**TABELA 2** CARACTERÍSTICAS GERAIS, GENÓTIPO E FENÓTIPO DOS PACIENTES COM VARIANTES PARA FABRY DO VALE DO PARAÍBA E ZONA LESTE DE SÃO PAULO EXCLUINDO OS CASOS DE VARIANTE DE SIGNIFICADO INCERTO

Característica	Overall N = 38	Feminino N = 23	Masculino N = 15	p-value
<b>Idade (anos)</b>	41 (27, 50)	35 (24, 53)	42 (40, 50)	0,6
<b>Raça</b>				>0,9
<b>branca</b>	36 (95%)	22 (96%)	14 (93%)	
<b>negra</b>	2 (5,3%)	1 (4,3%)	1 (6,7%)	
<b>Tabagismo</b>				0,3
<b>sim</b>	4 (11%)	1 (4,8%)	3 (20%)	
<b>não</b>	32 (89%)	20 (95%)	12 (80%)	
<b>missing</b>	2	2	0	
<b>Hipertensão</b>				0,5
<b>sim</b>	11 (31%)	5 (24%)	6 (40%)	
<b>não</b>	25 (69%)	16 (76%)	9 (60%)	
<b>missing</b>	11 (31%)	5 (24%)	6 (40%)	
<b>Diabetes</b>				0,5
<b>sim</b>	3 (8,3%)	2 (9,5%)	1 (6,7%)	
<b>não</b>	33 (92%)	19 (90%)	14 (93%)	
<b>missing</b>	2	2	0	
<b>PAS (mmHg)</b>	120 (110, 140)	120 (110, 140)	120 (110, 140)	0,7
<b>missing</b>	7	5	2	
<b>PAD (mmHg)</b>	80 (70, 80)	75 (70, 80)	80 (70, 80)	0,3
<b>missing</b>	7	5	2	
<b>eGFR (mL/min)</b>	97 (77, 106)	96 (84, 109)	98 (66, 103)	0,5
<b>missing</b>	10	6	4	
<b>Proteinúria (mg/24hs)</b>	1 (0, 37)	1 (0, 77)	0 (0, 1)	0,8
<b>missing</b>	11	7	4	
<b>Genética</b>				
<b>Variante completa</b>				0,2
c.401A>G p.(Tyr134Cys)	3 (7,9%)	2 (8,7%)	1 (6,7%)	
c.155G>Tp.(Cys52Phe)	2 (5,3%)	1 (4,3%)	1 (6,7%)	
c.1A>Gp.(Mer1?)	6 (16%)	2 (8,7%)	4 (27%)	
c.396del p.(Ile133Phefs*32)	6 (16%)	5 (22%)	1 (6,7%)	
c.424T>C p.(Cys142Arg)	8 (21%)	4 (17%)	4 (27%)	
c.671A>G (p. Asn224Ser)	2 (5,3%)	1 (4,3%)	1 (6,7%)	
c.870>A p.M290I	2 (5,3%)	0 (0%)	2 (13%)	
c.870G>A p.(Met290Ile)	5 (13%)	5 (22%)	0 (0%)	
c337T>C p.F113L	4 (11%)	3 (13%)	1 (6,7%)	
<b>Variante abreviada</b>				>0,9
c.155G>T	2 (5,3%)	1 (4,3%)	1 (6,7%)	
c.396del	6 (16%)	5 (22%)	1 (6,7%)	
c.401A>G	3 (7,9%)	2 (8,7%)	1 (6,7%)	
C142R	8 (21%)	4 (17%)	4 (27%)	
F113L	4 (11%)	3 (13%)	1 (6,7%)	
M1V	6 (16%)	2 (8,7%)	4 (27%)	

(Continua)

<b>TABELA 2</b>		<b>CONTINUA</b>		
Característica	Overall N = 38	Feminino N = 23	Masculino N = 15	p-value
M290I	7 (18%)	5 (22%)	2 (13%)	
N224S	2 (5,3%)	1 (4,3%)	1 (6,7%)	
<b>Classe da variante</b>				>0,9
<b>Patogênica</b>	38 (100%)	23 (100%)	15 (100%)	
<b>Tipo de variante</b>				0,4
<b>deleção</b>	6 (16%)	5 (22%)	1 (6,7%)	
<b>missense</b>	32 (84%)	18 (78%)	14 (93%)	
<b>Diagnóstico</b>				
<b>rastreio</b>	38 (100%)	23 (100%)	15 (100%)	
<b>Sintomas</b>				
<b>Córnea verticilata</b>				0,4
<b>não</b>	28 (80%)	17 (85%)	11 (73%)	
<b>sim</b>	7 (20%)	3 (15%)	4 (27%)	
<b>missing</b>	3	3	0	
<b>Angioqueratoma</b>				0,027
<b>não</b>	28 (80%)	19 (95%)	9 (60%)	
<b>sim</b>	7 (20%)	1 (5,0%)	6 (40%)	
<b>missing</b>	3	3	0	
<b>Diarreia</b>				>0,9
<b>não</b>	32 (91%)	18 (90%)	14 (93%)	
<b>sim</b>	3 (8,6%)	2 (10%)	1 (6,7%)	
<b>missing</b>	3	3	0	
<b>Ortopneia</b>				>0,9
<b>não</b>	28 (80%)	16 (80%)	12 (80%)	
<b>sim</b>	7 (20%)	4 (20%)	3 (20%)	
<b>missing</b>	3	3	0	
<b>Palpitações</b>				>0,9
<b>não</b>	19 (54%)	11 (55%)	8 (53%)	
<b>sim</b>	16 (46%)	9 (45%)	7 (47%)	
<b>missing</b>	3	3	0	
<b>Hipoacusia</b>				>0,9
<b>não</b>	34 (97%)	19 (95%)	15 (100%)	
<b>sim</b>	1 (2,9%)	1 (5,0%)	0 (0%)	
<b>missing</b>	3	3	0	
<b>Acroparestesia</b>				>0,9
<b>não</b>	8 (23%)	5 (25%)	3 (20%)	
<b>sim</b>	27 (77%)	15 (75%)	12 (80%)	
<b>missing</b>	3	3	0	
<b>Hipoidrose</b>				>0,9
<b>não</b>	9 (26%)	5 (25%)	4 (27%)	
<b>sim</b>	26 (74%)	15 (75%)	11 (73%)	
<b>missing</b>	3	3	0	
<b>Cefaleia</b>				0,6
<b>não</b>	16 (46%)	10 (50%)	6 (40%)	

(Continua)

<b>TABELA 2</b>		<b>CONTINUA</b>		
Característica	Overall N = 38	Feminino N = 23	Masculino N = 15	p-value
<b>sim</b>	19 (54%)	10 (50%)	9 (60%)	
<b>missing</b>	3	3	0	
<b>Alteração humor</b>				>0,9
<b>não</b>	29 (83%)	17 (85%)	12 (80%)	
<b>sim</b>	6 (17%)	3 (15%)	3 (20%)	
<b>missing</b>	3	3	0	
<b>Dor abdominal</b>				>0,9
<b>não</b>	19 (54%)	11 (55%)	8 (53%)	
<b>sim</b>	16 (46%)	9 (45%)	7 (47%)	
<b>missing</b>	3	3	0	
<b>Perda auditiva</b>				0,026
<b>não</b>	31 (89%)	20 (100%)	11 (73%)	
<b>sim</b>	4 (11%)	0 (0%)	4 (27%)	
<b>missing</b>	3	3	0	
<b>Biomarcadores e tratamento</b>				
<b>lysoGB3 (ng/mL)</b>	4 (2, 24)	3 (1, 5)	44 (5, 58)	<0,001
<b>Alfa-GAL (mmol/h/L)</b>	2,00 (0,83, 2,00)	NA (NA, NA)	2,00 (0,83, 2,00)	
<b>missing</b>	24	23	1	
<b>Tratamento TRE</b>				0,13
<b>sim</b>	28 (74%)	14 (61%)	14 (93%)	
<b>não</b>	3 (7,9%)	3 (13%)	0 (0%)	
<b>solicitado</b>	7 (18%)	6 (26%)	1 (6,7%)	

<sup>1</sup>Median (IQR); n (%); teste Mann-Whitney contínuas; teste exato de Fisher para categóricas.

PAS: pressão arterial sistólica; PAD: pressão arterial diastólica; eGFR: função renal estimada; VUS (variante de significado incerto); ter (terapia de reposição enzimática); missing: dado faltoso.

### ANÁLISE DE CORRELAÇÃO DOS SINTOMAS CLÍNICOS

Realizamos uma correlação entre os sintomas clínicos dos pacientes com variantes de Fabry (n = 82). O diagrama representa graficamente as correlações entre os sintomas (Figura 3A, Figura suplementar 1). Vemos uma correlação entre perda auditiva e angioqueratomas. Os sintomas de dor abdominal, acroparestesias e hipoidrose também apresentaram correlação (Figura 3A, Figura suplementar 1).

Realizamos a mesma análise de correlação entre os sintomas clínicos dos pacientes com variantes de Fabry excluindo os casos de VUS (n = 38). O diagrama representa graficamente as correlações entre os sintomas (Figura 3B, Figura suplementar 2). Vemos uma correlação entre perda auditiva, hipoacusia e angioqueratomas. Os sintomas de dor abdominal, acroparestesias e hipoidrose também apresentaram correlação (Figura 3B, Figura suplementar 2).

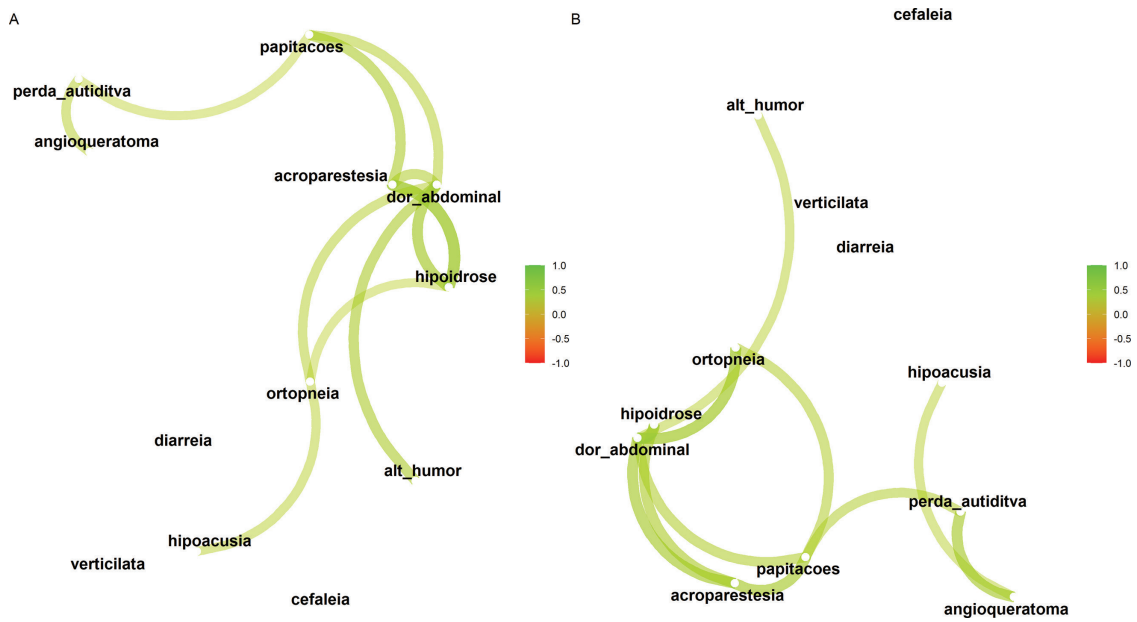
### ANÁLISE DOS BIOMARCADORES E ATIVIDADE DA ALFA-GAL

#### ANÁLISE DE *LYSOGB3* NO *BASELINE*

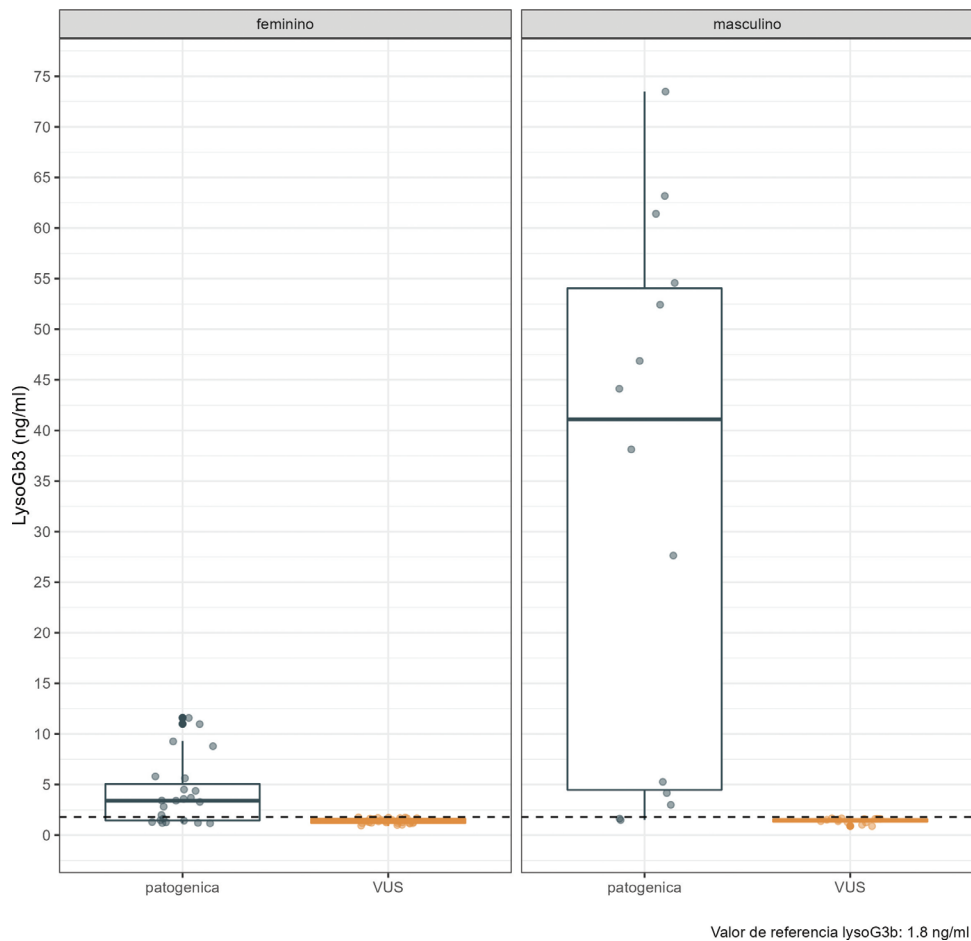
As concentrações medianas no sexo feminino foram respectivamente para o grupo patogênico e VUS: 3,40 (1,45-5,05) ng/mL *versus* 1,40 (1,20-1,63) ng/mL, p < 0,001. As concentrações medianas no sexo masculino foram respectivamente para o grupo patogênico e VUS: 44 (5-58) ng/mL *versus* 2 (1-2) ng/mL – valor de referência (menor que 1,8 ng/mL), p < 0,001 (Figura 4).

#### ANÁLISE DA ATIVIDADE DA ALFA-GAL NO *BASELINE*

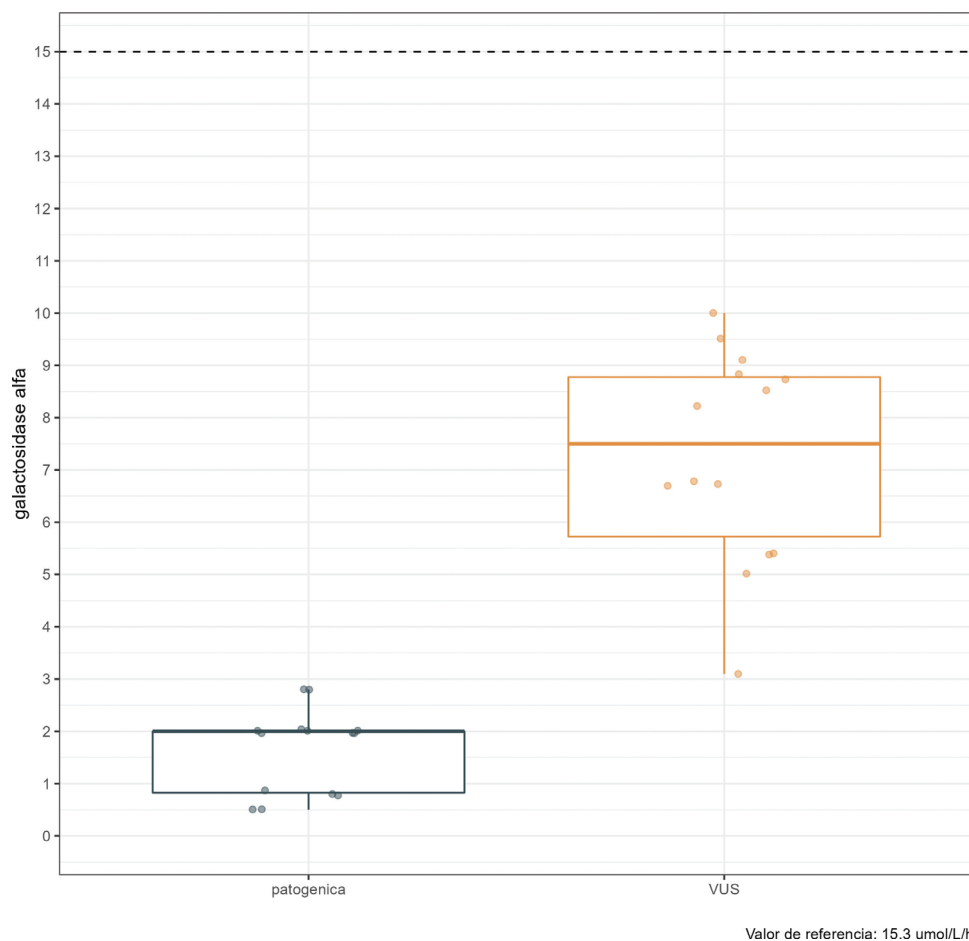
A análise da atividade da alfa-GAL entre os grupos (somente nos pacientes do sexo masculino) teve concentrações medianas nos grupos de variantes patogênica e VUS, respectivamente: 2,00 (0,83-2,00) *versus* 7,50 (5,73-8,78) mmol/h/L – valor de referência (maior que 15,3 mmol/L/h), p < 0,001 (Figura 5).



**Figura 3.** A. Correlação entre sintomas clínicos nos pacientes com variantes de Fabry do Vale do Paraíba e Zona Leste de São Paulo (network plot). B. Correlação entre sintomas clínicos nos pacientes com variantes de Fabry do Vale do Paraíba e Zona Leste de São Paulo excluindo os casos de VUS (network plot). As correlações são sinalizadas pelas curvas e a intensidade numa escala visual de cores. As setas são coloridas por seu sinal (verde para positivo e vermelho para negativo).



**Figura 4.** Concentração de lysoGB3 entre os grupos de variantes VUS e patogênicas nos pacientes com variantes para Fabry do Vale do Paraíba e Zona Leste de São Paulo. Estratificados por sexo.



**Figura 5.** Concentração de alfa-GAL entre os grupos de variantes VUS e patogênicas nos pacientes com variantes para Fabry do Vale do Paraíba e Zona Leste de São Paulo.

## DISCUSSÃO

Neste estudo, descrevemos as características genéticas e fenotípicas de 82 pacientes maiores de 12 anos com variantes para doença de Fabry no Vale do Paraíba e Zona Leste de São Paulo. Todos os casos foram provenientes de exames de triagem do caso índice entre pacientes de hemodiálise, resultando na identificação de 17 famílias, totalizando 82 pacientes. A classificação da variante mais prevalente foi a variante de significado incerto (n = 44, 54%), seguido da variante patogênica (n = 38, 46%). Foram descritos 5 pacientes em duas famílias com variantes ainda não previamente descritas na literatura apresentando comportamento patogênico e incluídos nesta categoria. Adicionalmente, uma variante VUS pode ser classificada como patogênica com confirmação por biópsia do caso índice (variante M1V). Na comparação entre os tipos de variantes, a presença de variante patogênica foi associada a maiores níveis de lysoGB3, menores valores da atividade da alfa-GAL

e maior frequência de sintomas relativos à doença de Fabry (córnea verticilata e angiqueratomas).

## ANÁLISE DA POPULAÇÃO

Dados deste estudo mostraram uma idade mediana ao diagnóstico de 34 anos nas mulheres e 45 anos nos homens, com predomínio do sexo feminino (63%). Excluindo os pacientes com VUS, a idade ao diagnóstico foi de 35 anos para as mulheres e 42 anos para os homens. Uma análise do registro do FOS mostrou idade média das mulheres ao diagnóstico de 37 anos e dos homens de 34, com um total de 52% de mulheres<sup>19</sup>. Em análise da coorte do REGISTRY na América Latina, a idade média dos homens foi de 35 anos e das mulheres, 37,8 anos, com percentagem semelhante entre os sexos<sup>20</sup>. Notamos, na presente análise, maior idade ao diagnóstico dos homens e maior percentagem de diagnóstico em mulheres. A idade ao diagnóstico mais elevada pode ser explicada pela dificuldade diagnóstica da DF e pelas condições do sistema de saúde. Um estudo com mulheres com

DF na América Latina mostrou idade elevada ao diagnóstico com 10 anos do início dos sintomas ao diagnóstico<sup>20</sup>.

O número de mulheres afetadas pela doença de Fabry após o diagnóstico de um caso índice foi de aproximadamente o dobro do número de homens afetados. Esse número reflete o padrão de herança ligado ao X da doença de Fabry e sugere que a incidência da doença de Fabry em mulheres pode ser estimada em 1/20.000, comparada à incidência tradicional de 1/40.000 em homens<sup>18</sup>. De maneira semelhante, um estudo de rastreio em pacientes com doença renal crônica em terapia de hemodiálise no Brasil demonstrou incidência de 66,1% em mulheres, muito semelhante aos dados do presente estudo<sup>21</sup>.

#### VARIANTES PATOGÊNICAS

Neste estudo, 38 variantes foram classificadas como patogênicas (c.155G>T, c.396del, c.401A>G, C142R, F113L, M1V, M290I, N224S). Dois desses casos (c.401A>G, c.155G>T) não previamente descritos puderam ser classificados como patogênicos. A variante M1V descrita na literatura como VUS pode ser classificada como patogênica devido à importante redução da atividade enzimática e aos elevados níveis de lyso-GB3. O paciente caso índice realizou biópsia renal que foi compatível com DF.

A presença de sintomas clássicos da doença de Fabry foram mais elevados nos pacientes com variantes patogênicas. A presença de angioqueratomas e córnea verticilata ocorreu em 20% e a perda auditiva, em 11%. Esses pacientes apresentaram menores valores de alfa-GAL e valores mais elevados de lyso-GB3 em comparação aos pacientes com VUS. Uma percentagem mais elevada de sintomas clássicos de angioqueratomas e córnea verticilata foi descrita em homens com fenótipo clássico em comparação ao presente estudo<sup>3</sup>. Na presente análise, no entanto, encontramos uma elevada percentagem de mulheres, o que pode explicar uma menor frequência de sintomas clássicos de DF. Possivelmente trata-se de pacientes do sexo feminino sem o fenótipo clássico da DF. Na visão de alguns autores, o fenótipo clássico nas mulheres é definido como a presença da variante patogênica associada a uma característica clássica de DF, como dor neuropática, angioqueratoma ou córnea verticilata<sup>22</sup>. Ressalta-se ainda que nesse grupo há uma elevada frequência de dor neuropática (77%), o que poderia caracterizar esses pacientes como fenótipo clássico. Em contraponto, a dor neuropática

traz maior subjetividade na avaliação em comparação aos outros dois sinais clássicos da DF.

#### VARIANTES NÃO DESCRITAS

Foram relatadas duas famílias com variantes não descritas na literatura, que nesta análise puderam ser classificadas como patogênicas. O primeiro caso é de uma família com 3 casos da variante missense c.401A>G. O segundo caso é de uma família com 2 casos da variante missense c.155G>T. A presença de angioqueratomas foi de 33%; 100% de acroparestesias; 33% de perdas auditivas; e não houve casos de córnea verticilata. Notamos numa das famílias que as medidas de lysoGB3 atingiram valores muito elevados (superiores a 70 ng/mL). Da mesma forma, a atividade da alfa-GAL em homens foi reduzida. Encontramos previamente reportadas como patogênico associado ao fenótipo clássico variantes similares às acima descritas. Numa variante similar à c.401A>G, foi relatada redução da atividade enzimática (variante c.401A>C)<sup>23</sup>. Numa variante similar à c.155G>T, foi relatada a presença de fenótipo clássico da DF com redução da atividade enzimática na variante c.155G>A<sup>24</sup>. Portanto, pelas seguintes características, essas variantes foram classificadas como patogênicas: predição *in silico* da variante como patogênica, frequência populacional baixa, caso índice com atividade enzimática reduzida e aumento da concentração do lysoGb3. Não houve comprovação histológica, porém o acometimento renal foi atribuído à doença de Fabry. Os pacientes apresentaram também outra sintomatologia atribuída a Fabry (angioqueratomas, acroparestesias e perda auditiva).

#### DESCRIÇÃO DAS VUS

A maioria dos casos relatados se encaixa em casos de variantes de significado incerto (VUS). Foram 44 casos, o que corresponde a 53% do total. Como o desenho deste estudo foi através de exame de rastreio em pacientes de hemodiálise e seus familiares, é esperado um encontro maior desse tipo de variante. As variantes tipo VUS são mais frequentes em comparação às variantes patogênicas<sup>7</sup>. Dessa forma, estudos que avaliam pacientes de rastreio apresentam elevada percentagem de variantes do tipo VUS. A definição da doença de Fabry nos casos de VUS requer avaliações clínicas, laboratoriais e histológicas mais detalhadas para caracterizar a patogenicidade da variante<sup>9,15,16</sup>.

No presente estudo, a variante do tipo VUS mais frequente encontrada foi a R118C, que ocorreu em 40 pacientes, ou 49% do total de casos reportados. A variante R118C pode estar associada a uma redução da atividade enzimática da alfa-GAL, e alguns autores relatam associação com um fenótipo tardio de doença de Fabry, cursando com níveis elevados de lysoGB3<sup>25</sup>. Outros autores advogam que essa variante não causa fenótipo clínico de doença de Fabry<sup>26</sup>. No presente estudo, interpretamos a R118C como caso de fenótipo tardio pela presença de sintomas (perda auditiva, hipoacusia e acroparestesias), entretanto, não foi possível uma confirmação histológica e/ou bioquímica.

O outro grupo de VUS foi a variante A143T (n = 4). Esses pacientes apresentaram aumento discreto da lysoGB3 e sintomas de acroparestesias. O caso índice apresentou indícios de acometimento renal. Adicionalmente, um caso do sexo masculino apresentou 30% de redução da atividade da alfa-GAL. Existem relatos de cardiopatia na presença da variante A143T associada a fenótipo tardio e confirmada por biópsia do miocárdio apresentando depósitos de GB3<sup>27</sup>. Outros autores, entretanto, advogam que a A143T não é patogênica<sup>28</sup>.

Ressaltamos que é imprescindível a confirmação do diagnóstico definitivo da DF antes de instituir terapia específica. O diagnóstico definitivo da DF nos casos de VUS frequentemente requer a realização de biópsia renal<sup>7,15,16</sup>. A realização de terapia específica, como a terapia de reposição enzimática, sem confirmação do diagnóstico definitivo não é apropriada e pode gerar custos e ônus desnecessários para o governo e para o paciente.

#### COMPARAÇÃO ENTRE VARIANTES

Nas variantes patogênicas encontramos maior percentagem de sintomas da DF, como angioqueratomas, córnea verticilata e dor neuropática, em comparação às variantes VUS. Esses pacientes apresentam menores valores de atividade da alfa-GAL e valores mais elevados de lysoGB3. Esses dados são compatíveis com a literatura, que mostra que pacientes com variantes patogênicas têm maior chance de apresentar fenótipo clássico<sup>7</sup>.

#### CORRELAÇÃO ENTRE SINTOMAS CLÍNICOS

Realizamos análise de correlações mostrando as associações entre os sintomas relacionados à DF. A perda auditiva foi associada à presença de

angioqueratomas tanto na população de variantes de Fabry ( $\rho = 0,37$ ) quanto na análise sensibilizada excluindo os casos de VUS ( $\rho = 0,49$ ). Os angioqueratomas foram associados com palpitações, respectivamente: todas as variantes de Fabry ( $\rho = 0,21$ ) e excluindo as VUS ( $\rho = 0,26$ ). Podemos também notar um agrupamento tanto em todas as variantes de Fabry quanto na análise sensibilizada dos sintomas acroparestesia, dor abdominal e hipoidrose.

A frequência de sintomas de DF está claramente reportada especialmente nos pacientes de fenótipo clássico<sup>3</sup>, entretanto a presente análise agrega a forma como esses sinais e sintomas se agrupam. Dessa maneira, a análise gráfica contida neste estudo pode ajudar no entendimento de como os sintomas se correlacionam (Figura 3).

#### LIMITAÇÕES

Este estudo apresenta algumas limitações por sua natureza retrospectiva e a ocorrência de dados faltosos. Optamos por reportar o número de dados faltosos nas tabelas. Em contraponto, houve pequeno número de dados faltosos, sendo de 6% para os sintomas, 12% para dados de função renal e 4% para comorbidades relacionadas a familiares dos casos de triagem. Outra limitação do estudo foi a não avaliação da albuminúria que precede a proteinúria nas manifestações renais da DF.

Nesta análise, não conseguimos reportar dados de avaliação cardiológica ou neurológica. Não há dados de histologia disponíveis para os casos de VUS, em especial para a variante R118C e para a variante A143T. Não podemos, portanto, atribuir de forma definitiva o diagnóstico de doença de Fabry para os pacientes com variantes VUS neste estudo.

#### CONCLUSÕES

Este estudo caracterizou uma extensa coorte de pacientes com variantes para Fabry (DF) genética e fenotipicamente. Pacientes com variantes patogênicas associaram-se a uma maior ocorrência de sintomas de Fabry, maiores níveis de lysoGB3 e menores valores de alfa-GAL. Encontramos uma elevada proporção de variantes de significado incerto (54%) devido à natureza do estudo de rastreamento. Foram descritas as características dos pacientes com VUS que requerem uma avaliação mais detalhada para confirmar o diagnóstico definitivo de DF. Descrevemos duas novas variantes pouco relatadas

que foram consideradas patogênicas. Este é, ao nosso conhecimento, o primeiro estudo brasileiro caracterizando uma extensa população de pacientes com variantes para DF (n = 82) com grande riqueza de detalhes de genética, clínica e de biomarcadores. Acreditamos que este estudo possa auxiliar na melhor caracterização da população brasileira com DF e nos tipos mais frequentes de variantes encontradas no nosso meio.

## CONTRIBUIÇÃO DOS AUTORES

OTP: Participação na coleta, análise e interpretação dos dados; RCTL: Participação na coleta, análise e interpretação dos dados; LGMA: Participação na escrita do artigo e em sua revisão crítica.

## CONFLITO DE INTERESSE

Os autores declaram não haver conflito de interesse.

## MATERIAL SUPLEMENTAR

O seguinte material on-line está disponível para o presente artigo:

Tabela S1 – Localização geográfica dos casos e por tipo de variante no estudo de Fabry do Vale do Paraíba e Zona Leste de São Paulo.

Tabela S2 – Características gerais, genótipo e fenótipo dos pacientes com variantes para Fabry do Vale do Paraíba e Zona Leste de São Paulo dividido por tipo de variante.

Gráfico S1 – Correlação entre sintomas clínicos na população com variantes de Fabry do Vale do Paraíba e Zona Leste de São Paulo.

Gráfico S2 – Correlação entre sintomas clínicos nos pacientes com variantes de Fabry do Vale do Paraíba e Zona Leste de São Paulo excluindo os casos de VUS.

## REFERÊNCIAS

1. Brady RO, Gal AE, Bradley RM, Martensson E, Warshaw AL, Laster L. Enzymatic defect in Fabry's disease. Ceramidetrihexosidase deficiency. *N Engl J Med.* 1967;276(21):1163-7. doi: <http://dx.doi.org/10.1056/NEJM196705252762101>. PubMed PMID: 6023233.
2. Sweeley CC, Kliensky B. Fabry's disease: classification as a sphingolipidosis and partial characterization of a novel glycolipid. *J Biol Chem.* 1963;238(9):3148-50. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/S0021-9258\(18\)51888-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0021-9258(18)51888-3). PubMed PMID: 14081947.
3. Germain DP. Fabry disease. *Orphanet J Rare Dis.* 2010;5:30. doi: <http://dx.doi.org/10.1186/1750-1172-5-30>. PubMed PMID: 21092187.
4. Popli S, Leehey DJ, Molnar ZV, Nawab ZM, Ing TS. Demonstration of Fabry's disease deposits in placenta. *Am J Obstet Gynecol.* 1990;162(2):464-5. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/0002-9378\(90\)90410-9](http://dx.doi.org/10.1016/0002-9378(90)90410-9). PubMed PMID: 2155532.
5. Neufeld EF. Lysosomal storage diseases. *Annu Rev Biochem.* 1991;60(1):257-80. doi: <http://dx.doi.org/10.1146/annurev.bi.60.070191.001353>. PubMed PMID: 1883197.
6. 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(5):550-5. doi: <http://dx.doi.org/10.1203/PDR.0b013e318183f132>. PubMed PMID: 18596579.
7. Ortiz A, Germain DP, Desnick RJ, Politei J, Mauer M, Burlina A, et al. Fabry disease revisited: management and treatment recommendations for adult patients. *Mol Genet Metab.* 2018;123(4):416-27. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ymgme.2018.02.014>. PubMed PMID: 29530533.
8. Smid BE, van der Tol L, Cecchi F, Elliott PM, Hughes DA, Linthorst GE, et al. Uncertain diagnosis of Fabry disease: consensus recommendation on diagnosis in adults with left ventricular hypertrophy and genetic variants of unknown significance. *Int J Cardiol.* 2014;177(2):400-8. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijcard.2014.09.001>. PubMed PMID: 25442977.
9. van der Tol L, Smid BE, Poorthuis BJHM, Biegstraaten M, Deprez RHL, Linthorst GE, et al. A systematic review on screening for Fabry disease: prevalence of individuals with genetic variants of unknown significance. *J Med Genet.* 2014;51(1):1-9. doi: <http://dx.doi.org/10.1136/jmedgenet-2013-101857>. PubMed PMID: 23922385.
10. Germain DP, Shabbeer J, Cotigny S, Desnick RJ. Fabry disease: twenty novel alpha-galactosidase A mutations and genotype-phenotype correlations in classical and variant phenotypes. *Mol Med.* 2002;8(6):306-12. doi: <http://dx.doi.org/10.1007/BF03402156>. PubMed PMID: 12428061.
11. Silva CA, Barreto FC, Dos Reis MA, Moura Jr JA, Cruz CM. Targeted screening of Fabry disease in male hemodialysis patients in Brazil highlights importance of family screening. *Nephron.* 2016;134(4):221-30. doi: <http://dx.doi.org/10.1159/000448740>. PubMed PMID: 27576502.
12. Porsch DB, Nunes ACF, Milani V, Rossato LB, Mattos CB, Tsao M, et al. Fabry disease in hemodialysis patients in southern Brazil: prevalence study and clinical report. *Ren Fail.* 2008;30(9):825-30. doi: <http://dx.doi.org/10.1080/08860220802353777>. PubMed PMID: 18925518.
13. Richards S, Aziz N, Bale S, Bick D, Das S, Gastier-Foster J, et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med.* 2015;17(5):405-24. doi: <http://dx.doi.org/10.1038/gim.2015.30>. PubMed PMID: 25741868.
14. Levey AS, Stevens LA, Schmid CH, Zhang YL, Castro 3rd AF, Feldman HI, et al. A new equation to estimate glomerular filtration rate. *Ann Intern Med.* 2009;150(9):604-12. doi: <http://dx.doi.org/10.7326/0003-4819-150-9-200905050-00006>. PubMed PMID: 19414839.
15. Schwartz GJ, Muñoz A, Schneider MF, Mak RH, Kaskel F, Warady BA, et al. New equations to estimate GFR in children with CKD. *J Am Soc Nephrol.* 2009;20(3):629-37. doi: <http://dx.doi.org/10.1681/ASN.2008030287>. PubMed PMID: 19158356.
16. Biegstraaten M, Arngrímsson 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(1):36. doi: <http://dx.doi.org/10.1186/s13023-015-0253-6>. PubMed PMID: 25885911.
17. Silva CAB, Andrade LGM, Vaisbich MH, Barreto FC. Brazilian consensus recommendations for the diagnosis, screening, and treatment of individuals with fabry disease: Committee for Rare Diseases – Brazilian Society of Nephrology/2021. *Braz J Nephrol.* 2022;44(2):249-67. doi: <https://doi.org/10.1590/2175-8239-JBN-2021-0208>.



18. Laney DA, Fernhoff PM. Diagnosis of Fabry disease via analysis of family history. *J Genet Couns.* 2008;17(1):79–83. doi: <http://dx.doi.org/10.1007/s10897-007-9128-x>. PubMed PMID: 18172746.
19. Beck M. Demographics of FOS – the Fabry Outcome Survey. In: Mehta A, Beck M, Sunder-Plassmann G, organizadores. *Fabry Disease: perspectives from 5 Years of FOS* [Internet]. Oxford: Oxford PharmaGenesis; 2006 [citado 2022 mar 3]. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK11581/>
20. Villalobos J, Politei JM, Martins AM, Cabrera G, Amartino H, Lemay R, et al. Fabry disease in latin america: data from the fabry registry. *JIMD Rep.* 2013;8:91–9. doi: [http://dx.doi.org/10.1007/8904\\_2012\\_165](http://dx.doi.org/10.1007/8904_2012_165). PubMed PMID: 23430525.
21. Sodré LSS, Huaira RMNH, Colugnati FAB, Carminatti M, Braga LSS, Coutinho MP, et al. Screening of family members of chronic kidney disease patients with Fabry disease mutations: a very important and underrated task. *J Bras Nefrol.* 2021;43(1):28–33. doi: <https://doi.org/10.1590/2175-8239-JBN-2020-0080>.
22. Arends M, Wanner C, Hughes D, Mehta A, Oder D, Watkinson OT, et al. Characterization of classical and nonclassical Fabry disease: a multicenter study. *J Am Soc Nephrol.* 2017;28(5):1631–41. doi: <http://dx.doi.org/10.1681/ASN.2016090964>. PubMed PMID: 27979989.
23. Shabbeer J, Yasuda M, Luca E, Desnick RJ. Fabry disease: 45 novel mutations in the alpha-galactosidase A gene causing the classical phenotype. *Mol Genet Metab.* 2002;76(1):23–30. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/S1096-7192\(02\)00012-4](http://dx.doi.org/10.1016/S1096-7192(02)00012-4). PubMed PMID: 12175777.
24. Filoni C, Caciotti A, Carraresi L, Cavicchi C, Parini R, Antuzzi D, et al. Functional studies of new GLA gene mutations leading to conformational Fabry disease. *Biochim Biophys Acta.* 2010;1802(2):247–52. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbdis.2009.11.003>. PubMed PMID: 19941952.
25. Talbot A, Nicholls K. Elevated Lyso-Gb3 suggests the R118C GLA mutation is a pathological fabry variant. *JIMD Rep.* 2019;45:95–8. doi: [http://dx.doi.org/10.1007/8904\\_2018\\_146](http://dx.doi.org/10.1007/8904_2018_146). PubMed PMID: 30569317.
26. Ferreira S, Ortiz A, Germain DP, Viana-Baptista M, Caldeira-Gomes A, Camprecios M, et al. The alpha-galactosidase A p.Arg118Cys variant does not cause a Fabry disease phenotype: data from individual patients and family studies. *Mol Genet Metab.* 2015;114(2):248–58. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ymgme.2014.11.004>. PubMed PMID: 25468652.
27. Valtola K, Nino-Quintero J, Hedman M, Lottonen-Raikaslehto L, Laitinen T, Maria M, et al. Cardiomyopathy associated with the Ala143Thr variant of the  $\alpha$ -galactosidase A gene. *Heart.* 2020;106(8):609–15. doi: <http://dx.doi.org/10.1136/heartjnl-2019-315933>. PubMed PMID: 31949022.
28. Lenders M, Weidemann F, Kurschat C, Canaan-Kühl S, Duning T, Stypmann J, et al. Alpha-Galactosidase A p.A143T, a non-Fabry disease-causing variant. *Orphanet J Rare Dis.* 2016;11(1):54. doi: <http://dx.doi.org/10.1186/s13023-016-0441-z>. PubMed PMID: 27142856.