

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

**Doença de Fabry em pacientes submetidos à hemodiálise no  
Rio Grande do Sul: estudo de prevalência e relato clínico**

**Daiana Benck Porsch**

Dissertação de Mestrado

**Porto Alegre, 2008**

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

## **Doença de Fabry em pacientes submetidos à hemodiálise no Rio Grande do Sul: estudo de prevalência e relato clínico**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas da Faculdade de Medicina na Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como parte dos pré-requisitos para obtenção do título de Mestre em Medicina: Ciências Médicas.

Prof. Dr. Elvino José Guardão Barros

**Orientador**

Prof<sup>a</sup> Dra. Ane Cláudia Fernandes Nunes

**Co-Orientadora**

## CIP - Catalogação na Publicação

Benck Porsch, Daiana

Doença de Fabry em pacientes submetidos à hemodiálise no Rio Grande do Sul: estudo de prevalência e relato clínico / Daiana Benck Porsch. -- 2008.

67 f.

Orientador: Elvino José Guardão Barros.

Coorientadora: Ane Cláudia Fernandes Nunes.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas, Porto Alegre, BR-RS, 2008.

1. Doença de Fabry. 2. nefropatia hereditária. 3. deficiência da atividade da enzima alfa-galactosidase A. I. Guardão Barros, Elvino José, orient. II. Fernandes Nunes, Ane Cláudia, coorient. III. Título.

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da UFRGS com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

## AGRADECIMENTOS

A minha mãe, pelo apoio incondicional, financeiro e moral, compreensão e incentivo em todos os momentos e por tudo que ela representa em minha vida.

A minha família, Vagner e Gaetano, por ser a força que sustenta minha existência.

Aos meus amigos, sempre presentes, seja física ou virtualmente, nas horas alegres e difíceis, amenizando as dificuldades do caminho.

Ao Dr. Elvino Barros, agradeço pela orientação e pela tolerância em momentos de dificuldade.

Aos professores, pelos ensinamentos, disponibilidade e atenção.

Às secretárias do Serviço de Nefrologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

Aos colegas do laboratório, pelo auxílio nas coletas de dados e amostras e pelo companheirismo.

A todos os pacientes, funcionários e dirigentes das clínicas que se disponibilizaram a fazer parte do estudo.

À Dr<sup>a</sup>. Ane Nunes, co-orientadora e grande parceira, por toda colaboração, compreensão e horas de dedicação a esse trabalho, por ter talento, brilhantismo e vocação que inspiram e contagiam e pela grande amizade.

A todas as outras pessoas que contribuíram para a concretização desse trabalho, direta ou indiretamente, muito obrigada!

## **DEDICATÓRIA**

Dedico este trabalho ao meu filho Gaetano, meu pequeno grande tesouro, que ilumina meus dias e completa o meu viver.

## LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

*(dissertação e manuscrito)*

$\alpha$ -Gal A	enzima $\alpha$ -galactosidase A
GL-3 ou Gb3	globotriaosilceramida
DRC	doença renal crônica
DRCT	doença renal crônica terminal
ECA	enzima conversora de angiotensina
iECA	inibidor da enzima conversora de angiotensina
FD	Fabry disease / <i>doença de Fabry</i>
ESRD	end-stage renal disíase / <i>doença renal crônica terminal</i>
SD	standard deviation / <i>desvio padrão</i>
SBP	systolic blood pressure / <i>pressão sangüínea sistólica</i>
DBP	diastolic blood pressure / <i>pressão sangüínea diastólica</i>
LVH	left ventricular hypertrophy / <i>hipertrofia ventricular esquerda</i>
BMI	body mass index / <i>índice de massa corporal</i>

## LISTA DE FIGURAS

**Figura 1** - *Defeito enzimático na Doença de Fabry*

**Figura 2** - *Modelo de segregação da Doença de Fabry.*

**Figura 3** - *Angioqueratoma periumbilical típico de Fabry.*

**Figura 4** - *Opacidade da córnea observado na doença de Fabry.*

**Figura 5** - *Depósitos de GL-3 difusamente observados no parênquima renal.*

**Figura 6** - *Perda da função renal em pacientes com doença de Fabry.*

**Figura 7** - *Procedimento de coleta de amostra de sangue me papel de filtro.*

**Figura 8** - *Parênquima renal pré- e pós-tratamento por reposição enzimática.*

## SUMÁRIO

RESUMO.....	8
ABSTRACT.....	9
INTRODUÇÃO.....	10
REVISÃO DA LITERATURA.....	11
Aspectos Genéticos.....	12
Aspectos Clínicos.....	13
Comprometimento Renal da Doença de Fabry.....	16
Diagnóstico e Tratamento da Doença de Fabry.....	20
JUSTIFICATIVA.....	23
OBJETIVOS	
Objetivo Geral.....	24
Objetivos Específicos.....	24
PACIENTES E MÉTODOS	
Delineamento.....	24
Amostragem.....	26
Tamanho da amostra.....	26
Considerações Éticas.....	26
Coleta de Sangue Periférico e Cuidados com Segurança.....	26
Medida da atividade de $\alpha$ -Galactosidase A.....	27
Orientações sobre aconselhamento genético e medidas de tratamento.....	27
Análise Estatística.....	28
REFRÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	29
MANUSCRITOS COM OS RESULTADOS	
Fabry disease on dialysis in Southern Brazil: prevalence study and clinical report.....	31
Doença de Fabry na diálise no Sul do Brasil: estudo de prevalência e relato clínico.....	49
COSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS.....	68



## RESUMO

A Doença de Fabry é uma desordem de depósito lisossômico causada pela deficiência da atividade da enzima  $\alpha$ -galactosidase A ( $\alpha$ -Gal A). Esta nefropatia surge geralmente na quinta década de vida do paciente evoluindo à insuficiência renal crônica terminal e levando-o à hemodiálise e/ou transplante renal.

O objetivo deste trabalho é determinar a prevalência da Doença de Fabry em homens com insuficiência renal terminal submetidos à hemodiálise no Rio Grande do Sul, um estado do Sul do Brasil, e relatar os casos encontrados.

Para tanto, a triagem para a atividade da  $\alpha$ -GAL A em pacientes homens em hemodiálise foi realizada através da coleta de sangue em papel filtro (valor normal de referência:  $>1,5$  nmoles/hora/mL). Resultados positivos da triagem foram confirmados pelo teste da atividade da  $\alpha$ -GAL A em plasma (valor de referência:  $>3,3$  nmoles/hora/mL).

Quinhentos e cinquenta e oito pacientes homens em hemodiálise foram avaliados. Destes, apenas dois apresentaram atividade da  $\alpha$ -GAL A reduzida e foram diagnosticados com Doença de Fabry (0.36%). Um deles, com 42 anos, apresentava hipertrofia ventricular esquerda e variante renal da Doença de Fabry, sem os sintomas clássicos. O outro, de 46 anos, apresentou manifestações clássicas, com angioqueratomas, acroparestesia, hipoidrose e opacidade de córnea.

Embora a prevalência da Doença de Fabry seja baixa em nosso estudo (0.36%), triagens de rotina em homens em hemodiálise permitirão a identificação precoce de outros familiares que poderão ser beneficiados com tratamentos clínicos específicos.

## ABSTRACT

Fabry disease (FD) is a lysosomal storage disorder caused by the deficient  $\alpha$ -galactosidase A ( $\alpha$ -Gal A) activity. Fabry nephropathy typically progresses throughout the fifth decade to end-stage renal disease (ESRD) requiring hemodialysis and/or kidney transplantation.

Screening for  $\alpha$ -GAL A activity was performed by a dried blood spot test (normal reference value:  $>1,5$  nmoles/hour/mL). Positive screening results were confirmed by plasma  $\alpha$ -GAL A activity assay (reference value:  $>3,3$  nmoles/hour/mL).

Five hundred and fifty eight male patients under hemodialysis were evaluated. Of these, only two had low  $\alpha$ -GAL A activity and were diagnosed with Fabry disease (0.36%). One of these, age 42, had left ventricular hypertrophy and renal manifestation of Fabry disease, without the classic symptoms. The other, age 46, presented classical manifestations of angiokeratomas, acroparesthesias, hypohidrose and ocular opacities.

Although the prevalence of Fabry disease is very low in our study (0.36%), routine screening of male hemodialysis patients would enable earlier identification of other family members who might benefit from specific clinical treatment.

## **1. INTRODUÇÃO**

Muitos pacientes afetados com insuficiência renal terminal em programa de hemodiálise não têm reconhecido o diagnóstico de Doença de Fabry. Estes pacientes apresentam erroneamente o diagnóstico de glomerulonefrite crônica como diagnóstico etiológico da insuficiência renal. Com o diagnóstico definido, tratamento com enzima de reposição pode melhorar a qualidade de vida destes indivíduos. Dados epidemiológicos sobre essa patologia ainda não são totalmente conhecidos em nosso meio.

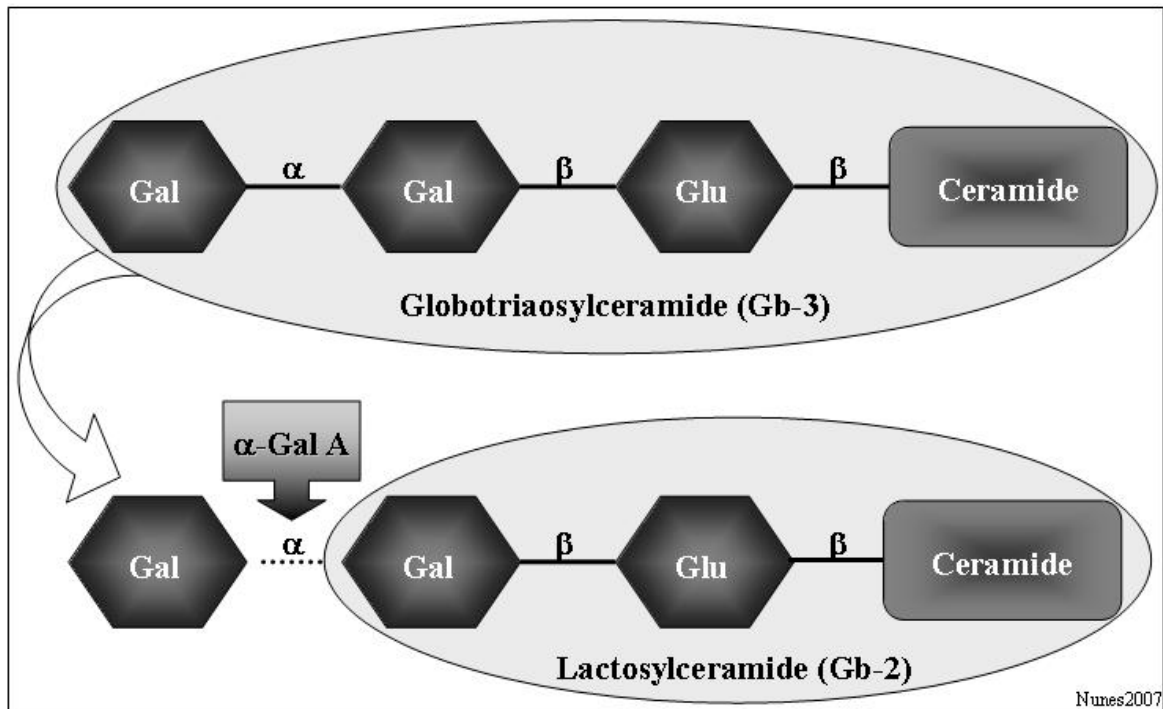
## 2. REVISÃO DA LITERATURA

A Doença de Fabry é uma doença hereditária, ligada ao X que se caracteriza pela deficiência ou ausência da enzima  $\alpha$ -galactosidase A ( $\alpha$ -Gal A). É uma doença de depósito lisossômico com comprometimento de vários órgãos como: rins, fígado, cérebro e pele. Também é conhecida como doença de Anderson-Fabry, Morbus Fabry ou *angioqueratoma corporis difusum* e foi descrita pela primeira vez há pouco mais de um século (Peters *et.al.*, 2001).

A incidência estimada da doença de Fabry é de 1 em cada 40.000 indivíduos do sexo masculino, sendo que a doença já foi descritas em diversas etnias (Desnick *et al.*, 2001).

Os pacientes com doença de Fabry apresentam mutações no gene da  $\alpha$ -galactosidase A ( $\alpha$ -Gal A), uma enzima lisossômica também conhecida como  $\alpha$ -galactosidase A e tri-hexosidase de ceramida. O resultado fenotípico se reflete na incapacidade ou na diminuição da capacidade de catabolizar lipídeos com resíduos terminais de  $\alpha$ -galactosil. Nestas situações como a  $\alpha$ -GAL é ausente ou deficiente esses lipídeos se acumulam progressivamente nos lisossomos em diferentes tecidos. Um desses lipídeos em particular é a globotriaosilceramida (GL-3, também conhecida como GL-3, tri-hexósido de ceramida e CTH). A figura 1 ilustra o mecanismo pelo qual ocorre a deposição de GL-3 em diferentes tecidos.

O acúmulo de GL-3 no endotélio vascular tem conseqüências de importância clínica, como complicações renais, cardíacas e cerebrovasculares nos pacientes portadores da doença de Fabry. Na maioria dos casos de doença de Fabry tipo clássico, as alterações patológicas renais são progressivas e levam o paciente a insuficiência renal crônica terminal, sendo indicado o tratamento hemodialítico ou transplante renal. Nos pacientes sem tratamento específico a expectativa de vida é de 41 anos (Desnick *et al.*, 2001).



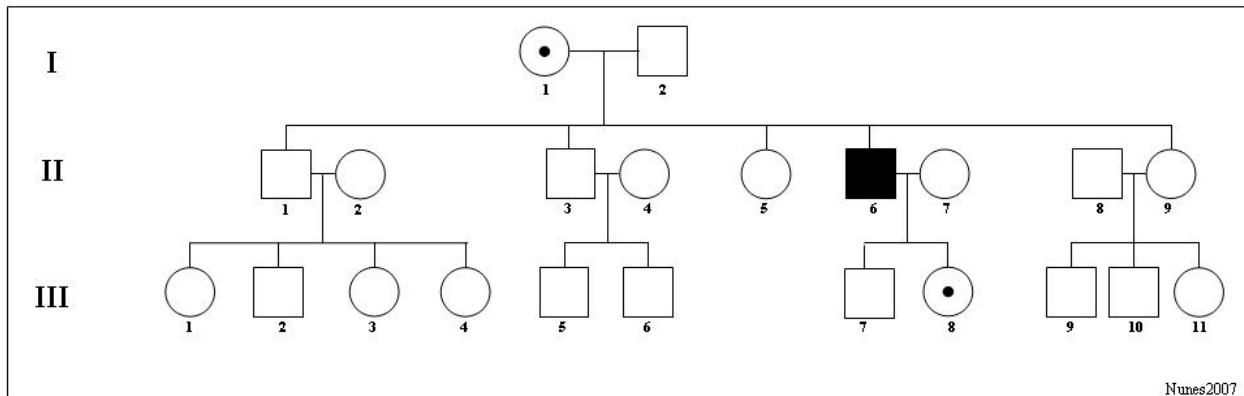
**Figura 1:** Defeito enzimático na Doença de Fabry.

## 2.1 Aspectos Genéticos

A doença de Fabry tem um padrão de herança recessivo ligado ao X, com penetrância completa nos hemizigotos e manifestações clínicas variáveis nas heterozigotas.

Diversas mutações relacionadas ao gene da  $\alpha$ -galactosidase já foram descritas (Ashton-Prolla *et al.*, 1999; Brown *et al.*, 1997), contudo a maioria das famílias apresenta mutações isoladas. Mais de 300 mutações diferentes já foram associadas à doença de Fabry (Krawczak *et al.*, 2000). Esse número elevado de mutações pode justificar as diferenças observadas em relação aos sintomas clínicos e comprometimento de diferentes órgãos (Ashton-Prolla *et al.*, 1999; Knol *et al.*, 1999).

A figura 2 ilustra o modelo geral de segregação da Doença de Fabry, respeitando o padrão de herança recessivo ligado ao X: Um indivíduo diagnosticado como portador de Doença de Fabry obrigatoriamente determina a condição de portadora de sua mãe (mesmo que ela não tenha outros filhos com o mesmo diagnóstico) e de todas as filhas mulheres.



**Figura 2:** Modelo de segregação da Doença de Fabry.

## 2.2 Aspectos Clínicos

Embora haja uma variabilidade clínica considerável em relação à doença de Fabry, podem ser distinguidos três grupos de pacientes: 1) *casos clássicos*; 2) *casos sub-clínicos* observados somente nas heterozigotas e 3) *casos atípicos*.

Um dos sinais mais comuns nos pacientes com doença de Fabry é a presença dos angioqueratomas, principalmente na região periumbilical, em flancos e região inguinal (figura 3). Os angioqueratomas típicos de Fabry são lesões planas ou pouco elevadas, de bordas difusas e coloração vermelha-escura ou negra, podem ser escassos ou aglomerados em grandes grupos e geralmente não causam irritação, desse modo podem passar despercebidos pelos pacientes durante muito tempo.



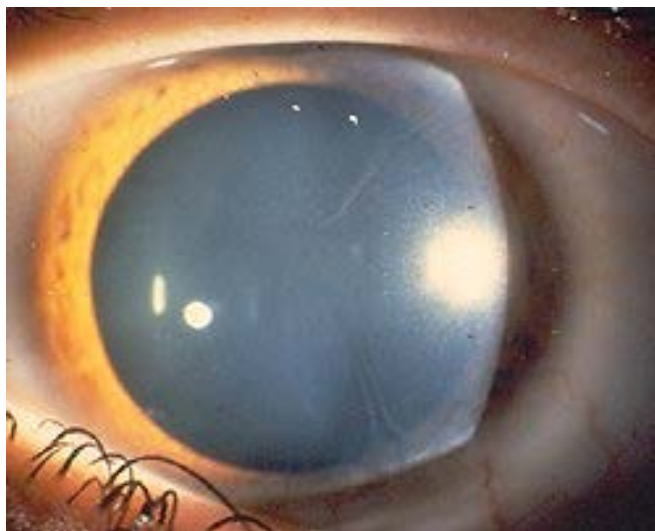
**Figura 3:** *Angioqueratoma periumbilical típico de Fabry.*

Imagem obtida do paciente identificado nesse estudo.

As lesões endoteliais decorrentes do acúmulo progressivo de GL-3 estão relacionadas com as manifestações clínicas sistêmicas. Os alvos podem ser os rins, o sistema nervoso central e periférico e o coração (Desnick *et al.*, 2001; Okuda, 2000; Linhart *et al.*, 2000; Alizad *et al.*, 2000; Meroni *et al.*, 1997; Grewal, 1994).

As heterozigotas apresentam quadro clínico mais leve e apresentam menos febre ou dores de extremidades quando comparados com os indivíduos hemizigotos com a doença de Fabry clássica. A maioria das heterozigotas não apresenta sintomas durante a infância e vida adulta, podendo apresentar alguns sintomas em torno da quarta ou quinta décadas de vida.

As principais características clínicas comuns nos pacientes com doença de Fabry clássica, independente da faixa etária são: (1) acroparestasia intermitente e crises episódicas de dor e febre; (2) angioqueratomas; (3) hipoidrose e (4) uma opacidade córnea verticilada característica que não interfere na visão (figura 4).



**Figura 4:** Opacidade da córnea observado na doença de Fabry

Imagem disponível em [medschool.ucsf.edu/lysosomal/fabry/eyes.aspx](http://medschool.ucsf.edu/lysosomal/fabry/eyes.aspx)

Whybra *et al.* (2001), avaliaram a evolução clínica de 20 portadores da doença de Fabry. Além dos sintomas dermatológicos, diversos outros sintomas relacionados com a doença foram descritos, incluindo acroparestasia, insuficiência renal, doença cerebrovascular e distúrbios gastrointestinais e cardíacos.

MacDermot *et al.* (2001a), investigaram 98 homens com doença de Fabry. A faixa etária média de sobrevida encontrada foi de 50 anos. Dor neuropática foi observada em 93 pacientes (77%), com um escore médio de dor de 5 (escala de 0 a 10). Complicações cerebrovasculares foram observadas em 24,2% dos pacientes e insuficiência renal ocorreu em 30%. Também foi observada uma alta frequência de surdez, sendo confirmada em 78% dos exames audiométricos feitos nos pacientes. A faixa etária média dos diagnósticos foi 21,9 anos. Nesses pacientes, também, se constatou que o interesse e frequência escolar, a prática de esportes e a execução de atividades sociais foram significativamente afetadas pelo desenvolvimento da doença de Fabry. Apenas um paciente de 46 anos desempenhava atividade profissional. Identificou-se, ainda, que a



função sexual foi afetada nesses pacientes pela presença de angioqueratoma genital, dor genital e impotência.

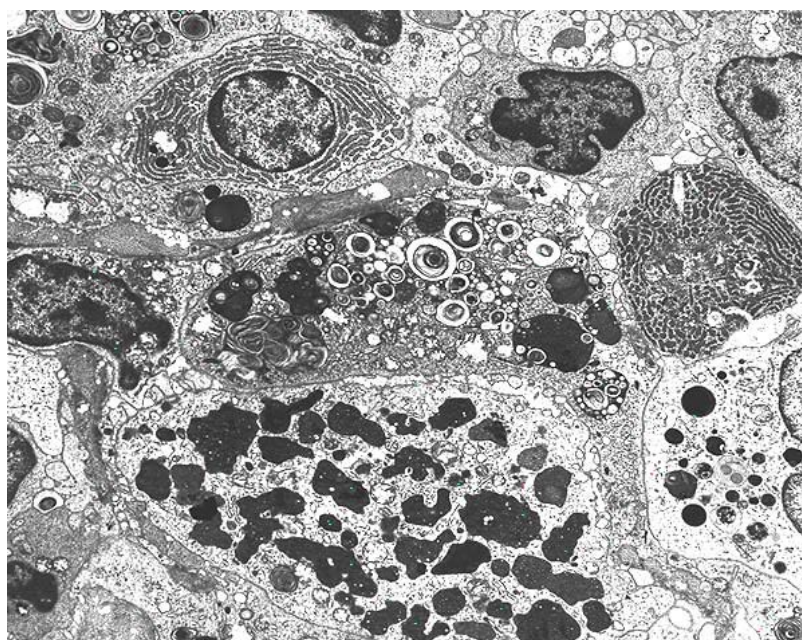
Além dos hemizigotos, MacDermot *et al.* (2001b), descreveram em outro trabalho as manifestações clínicas prevalentes em 60 mulheres heterozigotas para doença de Fabry. A idade média cumulativa de sobrevida observada foi de 70 anos, o que representa uma redução de 15 anos em relação à população em geral. Dentre as pacientes, 6 apresentavam insuficiência renal e 9 morreram por complicações cerebrovasculares (28%). Quarenta e duas pacientes (70%) apresentavam dor neuropática e 20 (30%) algumas manifestações debilitantes relacionadas a doença de Fabry. Germain *et al.* (2002) observaram perda progressiva da audição, sendo a surdez súbita um achado freqüente nestes pacientes. Alterações auditivas foram observadas em 12 pacientes (54,5%), desses 5 apresentaram perda progressiva da audição e 7 surdez súbita. A prevalência de perda auditiva foi significativamente maior nos pacientes que apresentavam insuficiência renal ( $p < 0,01$ ) ou lesões cardiovasculares ( $p < 0,01$ ), sendo que não foi encontrada correlação com hipertrofia ventricular esquerda nesses portadores de doença de Fabry.

Senechal e Germanin (2003), avaliaram complicações cardíacas funcionais e anatômicas em 20 homens hemizigotos com diagnóstico de doença de Fabry. A hipertrofia ventricular esquerda e/ou remodelação concêntrica foram observadas em 60% dos casos. Distúrbios estruturais de válvula mitral e aórtica foram identificados em 25% dos pacientes.

### **2.3 Comprometimento Renal na Doença de Fabry**

A lesão renal pode ser leve com proteinúria discreta ou severa, aumento da taxa de filtração glomerular e subsequente perda da função renal. O desenvolvimento de insuficiência renal crônica está diretamente relacionado com a progressão do dano renal no paciente com doença de Fabry, porque os depósitos lisossomais ocorrem de forma simultânea e aleatória em

diferentes partes do parênquima renal (figura 5). O acúmulo de lipídeos nos rins começa no glomérulo: os podócitos aumentam de tamanho e vacuolizam-se, apresentando-se, à microscopia eletrônica, como corpos mielóides lamelares em diferentes partes da estrutura. A deposição nas células endoteliais e epiteliais da cápsula de Bowman pode conduzir à expansão do mesângio e da matriz extracelular. Há também depósitos de lipídios nos vasos sanguíneos e nos túbulos renais. Todas essas mudanças são similares as que ocorrem na nefropatia diabética.



**Figura 5:** *Depósitos de GL-3 difusamente observados no parênquima renal (ME,4000X).*

Imagem disponível em [path.upmc.edu/cases/case137/dx.html](http://path.upmc.edu/cases/case137/dx.html)

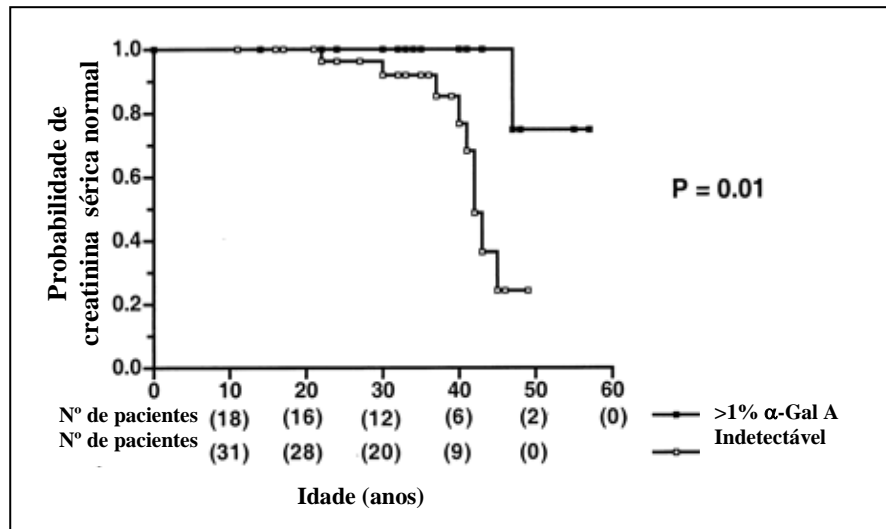
Warnock (2005) revisou as manifestações renais da doença de Fabry e descreveu que o declínio progressivo da função renal é uma condição fundamental e freqüentemente é marcado pelo aumento da proteinúria. As primeiras alterações renais costumam aparecer na infância e antes da puberdade. Entretanto, os sintomas costumam aparecer em torno dos 20 ou 30 anos. A magnitude do comprometimento renal é variável: alguns pacientes apresentam insuficiência renal

leve enquanto outros apresentam a doença de forma severa. A hipertensão arterial é a complicação que acontece tanto nas formas leves quanto severas.

A doença renal crônica terminal (DRCT) é a principal causa de morte nos pacientes com doença de Fabry antes de serem submetidos à hemodiálise e/ou transplante renal, o que ocorre em média aos 40 anos (Warnock, 2005).

No estudo conduzido por Branton *et al.* (2002), a progressão da insuficiência renal até o estágio terminal ocorreu em média em  $4\pm 3$  anos (intervalo de 1 a 13 anos). A média de declínio da taxa de filtração glomerular observada foi de 12.2 mL/min por ano. Essa taxa de perda de função renal é comparável àquela observada em pacientes com nefropatia diabética não submetidos à terapia com antagonista de angiotensina II e maior do que aquela observada em outras doenças renais, incluindo algumas formas de glomerulonefrites.

Através de uma análise de probabilidade (Kaplan-Meier), Branton *et al.* (2002), mostraram que a atividade residual da  $\alpha$ -Gal A pode afetar a probabilidade do desenvolvimento de insuficiência renal crônica e isso poderia explicar o espectro variado de expressões da doença renal crônica nesses pacientes (figura 6).



**Figura 6:** Perda da função renal em pacientes com doença de Fabry. A probabilidade de normalização da creatinina sérica (<1.5mg/dL) é expressa em função da idade. A análise foi processada entre pacientes com doença de Fabry com níveis indetectáveis de atividade enzimática (□) e em pacientes com atividade enzimática residual superior a 1% (■)

Adaptado de Branton *et al.* (2002)

Embora freqüente, a hipertensão não aparece como a comorbidade que mais contribui no avanço da nefropatia no paciente com doença de Fabry, uma vez que apenas 30% desses pacientes desenvolvem hipertensão em algum momento no curso da doença. Cerca de 35% dos pacientes Fabry desenvolvem hipertensão antes da doença renal crônica (DRC), 12% simultaneamente e 53% se tornam hipertensos após o início da DRC. Relativamente poucos pacientes com doença de Fabry recebem Inibidores da Enzima Conversora de Angiotensina (iECA) ou antagonistas da angiotensina II, o que dificulta a análise de eficiência desses agentes nesse tipo de paciente.

Em outro estudo, Nakao *et al.* (2003), avaliaram pacientes com insuficiência renal crônica terminal submetidos à hemodiálise, sem diagnóstico de base definido. Dentre os 514 homens investigados, 6 (1,2%) apresentavam níveis baixos de atividade plasmática da  $\alpha$ -galactosidase e apresentavam mutações *missense* previamente descritas (E66Q, A97V e M2961I) e uma mutação

nova (G373D). As idades variaram entre 30 e 68 anos e 5 pacientes apresentavam as manifestações típicas da doença de Fabry: angioqueratoma, acroparestasia e opacidade de córnea. O trabalho conclui sugerindo que a prevalência da “variante renal” da doença de Fabry justifica a avaliação da atividade da  $\alpha$ -Gal A em pacientes em tratamento dialítico ou transplantados renais que não tenham causa diagnosticada para insuficiência renal crônica.

Linthorst *et al.* (2003), avaliaram a atividade da  $\alpha$ -galactosidase num grupo de 508 homens em hemodiálise na Holanda. Desses pacientes, apenas um (0,22%) foi identificado como portador da Doença de Fabry (95 IC 0-1.1%). Os autores sugerem que um estudo num grupo amostral maior poderia identificar outros pacientes com a Doença de Fabry.

Obrador *et al.* (2002), descrevem em sua revisão que entre os anos de 1985 a 1993, 78% dos pacientes com Doença de Fabry iniciavam o tratamento renal substitutivo com hemodiálise, os demais pacientes 18% eram submetidos à diálise peritoneal e apenas 1% desses eram diretamente encaminhados ao transplante renal.

## **2.4 Diagnóstico e Tratamento da Doença de Fabry**

Além dos sintomas clínicos, o diagnóstico definitivo da doença de Fabry se dá através da medida da atividade enzimática da  $\alpha$ -galactosidase A, que é deficiente nos leucócitos e/ou no plasma dos hemizigotos e reduzida nas heterozigotas. Segundo o banco de dados OMIM (On-line Mendelian Inheritance in Man - <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?db=OMIM>), o primeiro protocolo de ensaio enzimático foi descrito em 1970. Desde a década passada o diagnóstico também pode ser feito através de marcadores moleculares.

A atividade da  $\alpha$ -Gal A pode ser determinada no plasma ou em leucócitos através da reação com um substrato fluorogênico de 4-metilumbeliferil- $\alpha$ -D-galactopiranosídeo, conforme descrito por Desnick *et al.* (2001).

O diagnóstico laboratorial de doença de Fabry é feito quando os níveis de atividade plasmática forem significativamente abaixo dos valores de referência, em torno de 10%, caracterizando um comprometimento funcional significativo desta enzima. O protocolo mais usado é o ensaio com sangue seco em papel de filtro (figura 7). A adoção desse método facilitou e impulsionou os estudos de triagem para doença de Fabry em diversos grupos, incluindo pacientes submetidos à hemodiálise.

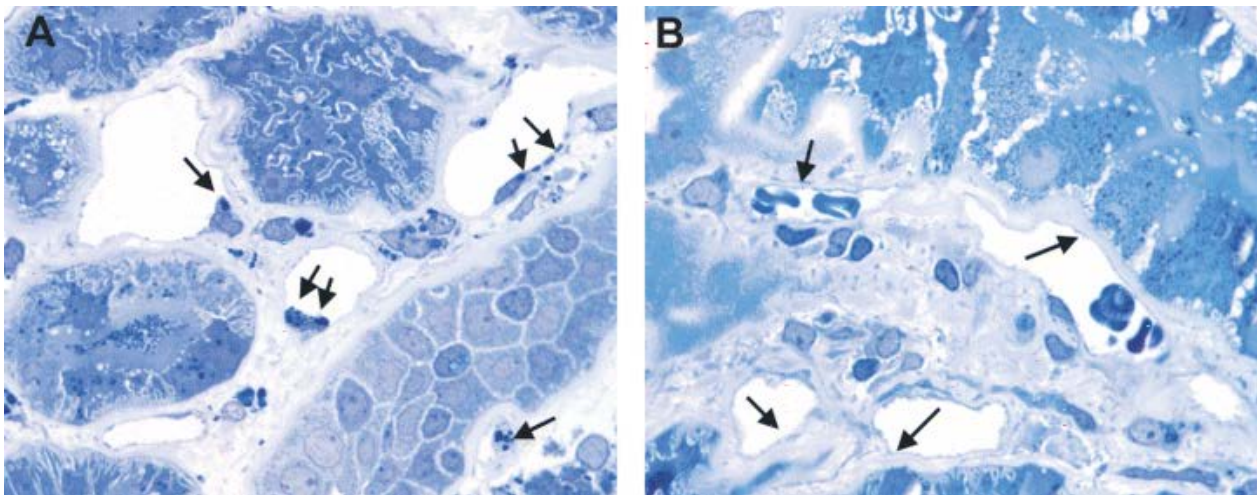


**Figura 7:** Procedimento de coleta de amostra de sangue em papel de filtro.

A doença de Fabry, durante muito tempo, era tratada com medidas paliativas. Hoje o tratamento específico com a reposição enzimática tem melhorado muitos sintomas e complicações vasculares crônicas desta doença. A enzima recombinante é produzida artificialmente e é muito semelhante à  $\alpha$ -Gal A em termos moleculares. A administração é

endovenosa, geralmente quinzenal, e o tratamento permite a remoção de uma quantidade considerável dos depósitos lisossomais (figura 8).

Os exames clínicos realizados nos pacientes tratados demonstram uma significativa e rápida melhora no nível de dor, bem como uma redução da hipertrofia cardíaca. Também foi observada uma melhora na morfologia glomerular, o que poderia reverter a insuficiência renal. Entretanto, esse aspecto ainda é controverso.



**Figura 8:** *Parênquima renal pré- e pós-tratamento por reposição enzimática. Depósitos lisossomais de GL-3 difusamente distribuídos no parênquima renal (imagem A). Remoção dos depósitos após o tratamento com reposição enzimática com recombinante sintético da  $\alpha$ -Gal A (imagem B).*

Imagem retirada de Thurberg *et al.* (2002).

### 3. JUSTIFICATIVA

No estado do Rio Grande do Sul existem aproximadamente 5.000 pacientes com insuficiência renal crônica em tratamento dialítico, a imensa maioria em hemodiálise. Cerca de 40% destes pacientes não apresentam uma causa definitiva para perda da função renal. A doença de Fabry é um diagnóstico potencial da insuficiência renal destes pacientes. Muitas vezes ela é confundida com o diagnóstico de glomerulonefrite crônica dificultando um diagnóstico mais definitivo. Estudos epidemiológicos em pacientes com insuficiência renal crônica em tratamento com hemodiálise feitos no Japão e Itália têm mostrado que aproximadamente 1% destes pacientes apresenta como diagnóstico etiológico a doença de Fabry (Desnick *et al.*, 2001). Além disto, o conhecimento das variantes genéticas que influenciam a etiopatogenia da Doença de Fabry podem fornecer compreensão biológica do possível mecanismo de predisposição genética às formas mais graves desta patologia.

Além disso, com a identificação dos portadores da doença de Fabry é possível um tratamento mais específico com reposição enzimática, ao mesmo tempo possibilita o aconselhamento genético para as famílias envolvidas.

Desse modo, o presente estudo contribui para o entendimento da doença de Fabry no Rio Grande do Sul, assim como para outros estudos feitos no Brasil ou em outras populações.



## **4. OBJETIVOS**

### **4.1 Objetivo Geral:**

- Avaliar a prevalência da Doença de Fabry em serviços de Hemodiálise no Rio Grande do Sul, através da análise bioquímica dos pacientes que atendam aos critérios de inclusão.

### **4.2 Objetivos Específicos:**

- Descrever os aspectos epidemiológicos e clínicos dos pacientes diagnosticados, além dos principais sintomas associados.
- Comparar os dados verificados nos pacientes da nossa amostra com os descritos para outros grupos e populações, no Brasil e outros países.

## **5. PACIENTES E MÉTODOS**

### **5.1 Delineamento**

Trata-se de um estudo transversal multicêntrico. Para a determinação da prevalência foram considerados como numeradores todos os pacientes submetidos à hemodiálise que foram diagnosticados para Doença de Fabry através de ensaio enzimático. Os denominadores foram os demais pacientes em hemodiálise coletados no estudo.

## 5.2 Amostragem

Sendo a doença de Fabry uma condição ligada ao X e que afeta mais gravemente os homens do que as mulheres, as manifestações renais, nessas últimas, são bastante mais tardias e menos frequentes. Para tornar nosso estudo mais eficiente em identificar novos casos de Doença de Fabry, restringiremos a população a ser investigada aos indivíduos de sexo masculino.

### Critérios de Inclusão:

Foram amostrados os pacientes do sexo masculino submetidos à hemodiálise no Rio Grande do Sul que não apresentavam diagnóstico determinado para doença renal, conforme os dados do prontuário. Pacientes que apresentavam um ou mais sintomas da forma clássica da doença de Fabry foram priorizados mesmo os que apresentavam outros diagnósticos no registro médico. Pacientes com diagnóstico clínico de glomerulonefrite crônica, contudo não comprovada por biópsia, também foram incluídos.

### Critérios de Exclusão:

Foram excluídos os pacientes com os seguintes diagnósticos registrados nos prontuários: (1) Diabetes tipo 1, diagnosticados há mais de 5 anos; (2) Diabetes tipo 2, diagnosticados há mais de 3 anos; (3) Glomerulonefrite crônica, comprovada por biópsia renal, apresentando lesões típicas; (4) Lupus eritematoso sistêmico; (5) Nefropatia obstrutiva comprovada; (6) Pielonefrite crônica comprovada e (7) Doença renal policística.

### **5.3 Tamanho da amostra**

Considerando a frequência de pacientes em hemodiálise que não possui etiologia bem definida (~40%) e a população total em hemodiálise no Rio Grande do Sul (~ 5.000 indivíduos), aproximadamente 2.000 pacientes seriam candidatos potenciais para a análise da  $\alpha$ -Gal A por contemplarem os nossos critérios de inclusão. Entretanto, de acordo com os dados descritos para Doença de Fabry em outras populações, a inclusão apenas de pacientes do sexo masculino e o cálculo do tamanho amostral, uma amostra aproximada de 1.000 pacientes é suficiente para se encontre pelo menos um portador de Doença de Fabry em nosso meio.

### **5.4 Considerações Éticas**

Todos os indivíduos convidados a participar deste estudo tiveram esclarecimento prévio dos objetivos dessa investigação e a inclusão dos mesmos só foi considerada após a assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

O projeto de pesquisa relacionado a esse estudo foi submetido à Comissão de Ética e Pesquisa do Grupo de Pesquisa e Pós-Graduação do Hospital de Clínicas de Porto Alegre e aprovada em 23 de novembro de 2004, sob o registro 03491.

### **5.5 Coleta de Sangue Periférico e Cuidados com Segurança**

O sangue venoso foi coletado por punção aspirativa simples, a partir do set arterial do circuito de hemodiálise, com assepsia local pré e pós-procedimento, com uso de seringa e agulha (25x8) descartáveis. Dessa maneira, não houve a necessidade de uma nova punção nos pacientes.

Até seis gotas de sangue total foram coletadas em papel filtro e deixadas para secagem por aproximadamente 2 horas a temperatura ambiente. Após esse período, as amostras foram

mantidas sob refrigeração moderada até que a atividade enzimática da  $\alpha$ -Gal A fosse analisada, o que é realizado num prazo máximo de 7 dias.

Todo material usado foi descartado conforme as normas técnicas de descarte estabelecidas pelo Hospital de Clínicas de Porto Alegre. Materiais cortantes tiveram coleta separada, assim como aqueles que entrarem em contato direto com sangue.

### **5.6 Medida da atividade de $\alpha$ -Galactosidase A**

A atividade da  $\alpha$ -Gal A nas amostras de sangue coletadas em papel filtro foi determinada através de ensaio fluorométrico que utiliza como substrato o 4-metilumbeliferil- $\alpha$ -D-galactopiranosídeo (Chamoles *et al.* 2001). Como método de confirmação, todas as amostras com valores abaixo do limite inferior de normalidade tiveram a atividade de  $\alpha$ -Gal A testada também em amostras de plasma (previamente obtidas do sangue coletado com heparina).

Os valores que persistiam abaixo de 10 % de limite inferior da normalidade foram considerados positivos para o diagnóstico da doença de Fabry.

### **5.7 Orientações sobre aconselhamento genético e medidas de tratamento**

Os casos foram organizados por famílias. Assim, a partir da identificação de um caso índice, reconhecido pelo ensaio enzimático, outros indivíduos em risco na sua família puderam ser identificados.

Os indivíduos do sexo masculino foram convidados a realizar o mesmo ensaio enzimático, se assim desejassem e desde que fossem maiores de idade (ou sob a tutela de um responsável legal). Todas as mulheres com possibilidade de serem portadoras do gene também foram convidadas a realizar estudo molecular, para confirmar ou não essa situação. Foi oferecido o aconselhamento

genético e a orientação sobre os métodos terapêuticos disponíveis a todas as famílias com casos confirmados. Os detalhes deste procedimento estão descritos nos itens “relato de caso nº 1 e nº 2” do manuscrito apresentado nos “resultados”.

## **5.8 Análise Estatística**

Os dados coletados junto aos prontuários foram organizados em um banco de dados no programa estatístico *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS) versão 8.1 (Microsoft™), onde foram executados os testes estatísticos selecionados para as comparações entre o grupos.

As comparações das frequências dos diagnósticos, bem como dos dados clínicos e bioquímicos foram realizadas utilizando o Teste do Qui-quadrado ( $\chi^2$ ), com Correção de Yates, quando necessário, para os dados qualitativos e Teste t, para os dados quantitativos.

O nível de significância adotado foi de  $\alpha = 0,05$ .

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALIZAD, A.; SEWALL, J. Echocardiographic disease; part 2. Storage disease. **Em Journal of the American Society of Echocardiology** 13(2): 164-70, **2000**.
- ASTHON-PROLLA, P.; ASHLEY, G.; GIUGLIANI, R.; PIRES, R.; DESNICK, R.; ENG, C. Fabry disease: comparison of enzymatic, linkage and mutation analysis for carrier detection in a family with a novel mutation (30delG). **American Journal of Medical Genetics** 84(5): 420-4, **1999**.
- BRANTON, M.; SCHIFFMANN, R.; KOPP, J. Natural history and treatment of renal involvement in Fabry disease. **Journal of American Society of Nephrology** 13: S-139-S143, **2002**.
- BROWN, L.; MILLER, A.; BHUPTANI, A.; SLOANE, M.; ZIMMERMAN, M.; SCHILERO, G.; DESNICK, R. Pulmonary involvement in Fabry disease. **American Journal of Respiratory Critical Care Medicine** 155(3): 1004-10, **1997**.
- CHAMOLES, N. A.; BLANCO, M.; GAGGIOLI, D. Fabry disease: enzymatic diagnosis in dried blood spots on filter paper. **Clinica Chimica Acta** 308: 195-196, **2001**
- DESNICK, R.; IOANNOU, Y.; ENG, C.  $\alpha$ -Galactosidase A deficiency: Fabry disease, in **The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease**, 8<sup>th</sup> ed., edited by SCRIVER CR, BEAUDET AL SLY WS *et al.*, New York, McGraw-Hill, pp 3733-3734, **2001**.
- GERMAIN, D.; AVAN, P.; CHASSAING, A.; BONFILS, P. Patients affected with Fabry disease have an increased incidence of progressive hearing loss and sudden deafness: an investigation of twenty-two hemizygous male patients. **BMC Medical Genetics** (NOTE: ELECTRONIC ARTICLE) 3: 10, **2002**
- GREWAL, R. Stroke in Fabry's disease. **Journal of Neurology** 241:153-6, **1994**.
- KNOL, I.; AUSEMS, M.; LINDHOUT, D.; van DIGGELEN, O.; VERWEY, H.; DAVIES, J.; PLOOS van AMSTEL, J.; POLL-THE, B. Different phenotypic expression in relatives with Fabry disease caused by a W226X mutation. **American Journal of Medical Genetics** 82(5):436-9, **1999**.
- KRAWCZAK, M.; BAIL, E.; FENTON, I.; STENSON, P. ABEYSINGHE, S.; THOMAS, N.; COOPER, D. Human gene mutation database – a biomedical information and research resource. **Human Mutation** 15(1): 45-51, **2000**.
- LINHART, A.; PALÉČEK, T.; BULTAS, J.; FERGUSON, J.; HRUDOVÁ, J.; KARETOVÁ, D.; ZEMAN, J.; LEVIDOVÁ, J.; POUPEĚTOVÁ, H.; ELLEDER, M.; ASCHEMANN, N. New insights in cardiac structural changes in patients with Fabry's disease. **American Heart Journal** 39(6): 1101-8, **2000**.

- LINTHORST, G.E.; HOLLAK, C.E.; KOREVAAR, J.C.; VAN MANEN, J.G.; AERTS, J.M.; BOESCHOTEN, E.W. Alpha-Galactosidase A deficiency in Dutch patients on dialysis: a critical appraisal of screening for Fabry disease. **Nephrology Dialysis Transplantation** 18(8):1581-4, **2003**.
- MacDERMOT, K.; HOLMES, A.; MINERS, A. Anderson-Fabry disease: clinical manifestations and impact of disease in a cohort of 98 hemizygous males. **Journal of Medical Genetics** 38: 750-760, **2001a**.
- MacDERMOT, K.; HOLMES, A.; MINERS, A. Anderson-Fabry disease: clinical manifestations and impact of disease in a cohort of 60 obligate carrier females. **Journal of Medical Genetics** 38: 769-807, **2001b**.
- MERONI, M.; SESSA, A.; BATTINI, G.; TAZZARIS, S.; TARELLI, L. Kidney involvement in Anderson-Fabry disease. **Contrib Nephrology** 122: 178-84, **1997**.
- NAKAO, S.; KODAMA, C.; TAKENAKA, T.; TANAKA, A.; YASUMOTO, Y.; YOSHIDA, T.; KANZAKI, T.; ENRIQUEZ, A.; ENG, C.; TANAKA, H.; TEI, C.; DESNICK, R. Fabry disease: Detection of undiagnosed hemodialysis patients and identification of a "renal variant" phenotype. **Kidney International** 64: 801-807, **2003**.
- OBRADOR, G.T.; OJO, A. THADHANI, R. End-stage renal disease in patients with Fabry disease. **Journal of the American Society of Nephrology** 13 Suppl 2:S144-6, **2002**.
- OKUDA, S. Renal involvement in Fabry's disease. **Internal Medicine** 39(8): 601-2, **2000**.
- PETERS, F.; VERMEULEN, A.; KHO, T.; Andersen-Fabry's disease: alpha galactosidase deficiency. **Lancet** 357(9250): 138-40, **2001**.
- SENECHAL, M. GERMAIN, D. Fabry disease; a functional and anatomical study of cardiac manifestations in 20 hemizygous male patients. **Clinical Genetics** 63: 46-52, **2003**.
- THURBERG, B.L.; RENNKE, H.; COLVIN, R.B.; DIKMAN, S.; GORDON, R.E.; COLLINS, A.B.; DESNICK, R.J.; O' CALLAGHAM, M. Globotriaosylceramide accumulation in the Fabry kidney is cleared from multiple cell types after enzyme replacement therapy. **Kidney International** 62: 1933-46, **2002**.
- WARNOCK, D.G. Fabry disease: diagnosis and management, with emphasis on the renal manifestations. **Current Opinion in Nephrology and Hypertension** 14(2): 87-95, **2005**.
- WHYBRA, C.; KAMPMAN, C.; WILLERS, I.; DAVIES, J.; WINCHESTRER, B.; KRIEGSMAN, J.; BRUHL, K.; GAL, A.; BUNGE, S.; BECK, M. Anderson-Fabry disease: clinical manifestations of disease in female heterozygotes. **Journal of Inheritance Metabolic Disease** 24: 715-724, **2001**.

## Fabry disease on dialysis in Southern Brazil: prevalence study and clinical report

Daiana Benck Porsch (1)\*

Ane Cláudia Fernandes Nunes (2)\*

Vagner Milani (1)

Liana Bertolin Rossato (1)

Cristiane Bastos de Mattos (1)

Marilyn Tsao (3)

Cristina Netto (3)

Maira Burin (3)

Janice Coelho (3)

Laura Jardim (3)

Fernanda Pereira (3)

Úrsula Matte (3,4)

Roberto Giugliani (3,4,5)

Elvino José Guardão Barros (1,5,6)

1. Post-Graduated Program of Medicine: Medical Science, Federal University of Rio Grande do Sul. Porto Alegre/RS, Brazil
2. Laboratory of Cellular, Genetic and Molecular Nephrology. Division of Nephrology, São Paulo University Medical School, University of São Paulo. São Paulo/SP, Brazil.
3. Medical Genetics Department, Clinical Hospital of Porto Alegre, Federal University of Rio Grande do Sul. Porto Alegre/RS, Brazil.
4. Post-Graduated Program of Medical Science: Pediatric, Federal University of Rio Grande do Sul. Porto Alegre/RS, Brazil.
5. Internal Medicine Department, Faculty of Medicine, Federal University of Rio Grande do Sul. Porto Alegre/RS, Brazil.
6. Nephrology Department, Clinical Hospital of Porto Alegre, Federal University of Rio Grande do Sul. Porto Alegre/RS, Brazil.

\* Both first and second authors contributed equally to the development of this study

**Contact:** Prof. Elvino J.G. Barros <ebarros@hcpa.ufrgs.br>

**Words count only in main text:** 1,979

Running Head Title: **Fabry disease on dialysis in Southern Brazil**

**Key Words:** Fabry disease; End-Stage Renal Disease;  $\alpha$ -Gal A activity; lysosomal storage disorder; hemodialysis; inherited nephropathy

*Manuscript submitted to journal Renal Failure*



## ABSTRACT

**Background:** Fabry disease (FD) is a lysosomal storage disorder caused by the deficient  $\alpha$ -galactosidase A ( $\alpha$ -Gal A) activity. Fabry nephropathy typically progresses throughout the fifth decade to end-stage renal disease (ESRD) requiring hemodialysis and/or kidney transplantation.

**Goal:** To determine the prevalence of FD among ESRD males on hemodialysis treatment in Rio Grande do Sul, a Southern Brazilian State, and to report the cases found.

**Methods:** Screening for  $\alpha$ -GAL A activity was performed by a dried blood spot test (normal reference value:  $>1,5$  nmoles/hour/mL). Positive screening results were confirmed by plasma  $\alpha$ -GAL A activity assay (reference value:  $>3,3$  nmoles/hour/mL).

**Results:** Five hundred and fifty eight male patients under hemodialysis were evaluated. Of these, only two had low  $\alpha$ -GAL A activity and were diagnosed with Fabry disease (0.36%). One of these, age 42, had left ventricular hypertrophy and renal manifestation of Fabry disease, without the classic symptoms. The other, age 46, presented classical manifestations of angiokeratomas, acroparesthesias, hypohidrose and ocular opacities.

**Conclusions:** Although the prevalence of Fabry disease is very low in our study (0.36%), routine screening of male hemodialysis patients would enable earlier identification of other family members who might benefit from specific clinical treatment.

## INTRODUCTION

Fabry disease (FD) is a rare inborn error due to the deficient activity of  $\alpha$ -galactosidase A ( $\alpha$ -Gal A) with a recessive X-linkage inherited pattern [1]. The estimated incidence of FD is between 1:40,000 and 1:117,000 in general population [1,2,3]. Both pedigree and population screening studies have been described and it can be carried out in subpopulations thought to be at higher risk of disease than the general population [4]. There is a progressive intracellular accumulation of glycosphingolipids, mainly in the form of globotriaosylceramides (Gb3), especially in vascular and in various cell types of vital organs, such as the kidney, heart and brain. The Gb3 increase leads to renal, cardiac and cerebrovascular manifestations and may outcome in early death [1,5].

The 'classical phenotype' includes the pain and paresthesias in extremities, diffused angiokeratoma and hypohidrosis during childhood or adolescence, and also corneal opacities and renal failure [6]. Fabry nephropathy typically progresses throughout the fifth decade of life to ESRD requiring hemodialysis and/or kidney transplantation. In view of this fact, hemodialysis patients represent an important target group for FD screening [5,7]. Death usually occurs due to renal failure, cardiac or cerebrovascular disease. In addition, milder variants with residual  $\alpha$ -Gal A activity have been described [7,8]. The cardiac and renal variants present with either late-onset manifestations primarily limited to the heart or kidney [1,9].

The interest of nephrologists for FD increased subsequent to description by Nakao *et al.* [10] of the 'renal variant'. Large-scale dialysis screening efforts of end-stage renal disease (ESRD) populations have been carried out [10-14] and seemed to be worthwhile since kidney failure is an important outcome in FD.

The aim of the current study was to determine the prevalence of FD among ESRD males on hemodialysis treatment in Rio Grande do Sul, a Southern Brazilian State, and to report the cases found.

## **SUBJECTS AND METHODS**

### **Study Population**

We performed a prospective cross-sectional study with all patients treated at 24 hemodialysis centers in Rio Grande do Sul, a Southern Brazilian State. This Brazilian geographic region has in total 54 dialysis centers and 3285 patients submitted to hemodialysis treatment, according to current records of Brazilian Society of Nephrology ([www.sbn.org.br](http://www.sbn.org.br)). The study was conducted in 10 different cities from December 2003 to December 2006. The first step consisted of a search through all the medical records. Only males were selected for  $\alpha$ -Gal A activity testing in dried blood spots. Patients with hypertension, glomerulosclerosis and/or diabetes that presented background of inexplicable pain or others FD signs were also analyzed. Patients with polycystic kidney disease or another final diagnosis were excluded.

This study was approved by the Ethics Committee of Clinical Hospital of Porto Alegre, Federal University of Rio Grande do Sul. The patients invited to participate were informed about the purposes of the study and an individual informed 'Consent Form' was obtained from each subject.

### **Blood Collecting Procedure**

Blood samples of selected patients on hemodialysis treatment were evaluated and it was collected with syringe directly of arterial set at hemodialysis circuit. About 5 mL of blood was

collected and spotted in paper filter circles with needle. The remaining blood was kept in tubes with heparin for the assay of enzyme activity in plasma. This procedure was performed during the hemodialysis session between 30 minutes and 1 hour after onset of dialysis [15].

### **$\alpha$ -Gal A Activity Testing**

The  $\alpha$ -Gal A activity in dried blood spots was measured by fluorometric assay using artificial substrate 4-methylumbelliferyl- $\alpha$ -D-galactopyranoside [16]. The values were observed in nmoles/h/mL in spot test (normal range: 1.5 -14.0).

To measure plasma  $\alpha$ -Gal A activity an aliquot was incubated with substrate solution containing N-acetyl- $\alpha$ -D-galactosamine and the fluorescence was determined [17]. The values were observed in nmoles/h/mL on plasma samples (normal range: 4.0 - 22.0).

### **Statistical Analysis**

This is a descriptive analysis. Data were expressed as mean  $\pm$  standard deviation (SD). Differences were compared by unpaired t-test. Data analyses were performed using the SPSS 8.0 software package (SPSS Inc, Chicago, IL) and the statistical significance was set at 0.05 levels.

## RESULTS

### Population Study

Of the total 1079 unrelated ESRD patients from 24 hemodialysis centers 558 males were selected for  $\alpha$ -Gal A activity analysis because they filled the inclusion criteria and signed the 'Consent Form' (Figure 1).

The values of  $\alpha$ -Gal A activity analysis, assessed by dried blood spot test, range between 0.29-34.1 nmoles/hour/mL and the mean are  $3.5\pm 2.7$  nmoles/hour/mL. The mean values of age and age of onset on hemodialysis treatment are  $59.1\pm 14.2$  and  $56.3\pm 15.1$  years old, respectively. The mean time of permanence on hemodialysis treatment are  $5.2\pm 3.6$  months (Table 1). Only two patients (0.36%) had low  $\alpha$ -Gal A activity and were diagnosed with Fabry disease. Their clinical features are reported in the following.

### Case Report #1

The first patient identified was a European descent man with 47 years old who had only renal failure and an important left ventricular hypertrophy (LVH). Gross inspection do not showed skin angiokeratomas and he did not confirm a history of pain episodes at extremities. His  $\alpha$ -Gal A activity, assessed by dried blood spot test, was 0.3 nmoles/h/mL.

This patient progressed to ESRD without known etiology and he died because of cardiovascular disease, myocardial failure, before it was possible to confirm the FD diagnosis by plasmatic  $\alpha$ -Gal A activity assay. He had onset hemodialysis at 41 years old and presented a persistent hypertension (mean SBP/DBP: 160/90 mmHg). During hemodialysis treatment (approximately 6 years) and probably before that, the patient presented several signs of psychological depressive behavior. The family history could not be investigated because the

patient was adopted and there was no record of his biological parents and relatives. This case was considered a cardiac variant.

### **Case Report #2**

The other patient is a European descent man with 46 years old. Since adolescence he has suffered from painful acroparesthesia, disseminated skin angiokeratomas, hypohidrosis and heat intolerance. During his life, he has been submitted to a thorough investigation with different specialists, but never reached a diagnosis of Fabry disease. Three years ago he was diagnosed with renal failure, progressing to ESRD and one year ago he onset hemodialysis treatment. A biopsy of the kidney performed 6 months before the onset on hemodialysis revealed tubular atrophy, interstitial fibrosis and glomerular sclerosis without histological changes that suggest FD diagnosis. At the moment, he is in standby for kidney transplantation. He also has LVH and impaired vision.

His  $\alpha$ -Gal A activity in dried blood spot test was 0.29 nmoles/h/mL. The diagnosis of FD was confirmed by reduced serum  $\alpha$ -Gal A activity at plasmatic test (0.027 nmol/h/mL).

On physical examination the patient was normotensive (mean SBP/DBP: 115/75 mmHg) and his BMI was normal (58Kg/178 cm). Cutaneous lesions were diffusely located at the bottom area (Figure 2). These lesions were first noticed during adolescence, and progressively increased in number with time. His echocardiogram demonstrated left ventricular hypertrophy, but his electrocardiogram did not show conduction abnormalities. Because of the diagnosis of this patient by our screening among ESRD males, a review of kidney biopsy findings was performed in archived material. This critical analysis revealed additional light microscopic changes, while

hyaline deposits in glomeruli globally sclerosed and increased mesangial matrix. These findings are compatible with diffuse Gb3 depositions.

The family history is very rich, as the patient has 15 siblings (Figure 3). At present, the patient (II-28) and more 34 members of his family were investigated: three brothers (II-1, II-8 and II-18); five sisters (II-3, II-5, II-16, II-19, II-23 and II-25); sixteen nephews (III-5, III-11, III-12, III-18, III-20, III-21, III-22, III-23, III-27, III-28, III-29, III-30, III-31, III-32, III-38, III-41); and three grandnephews (IV-12, IV-14, IV-23). He had two brothers (II-11 and II-20) who died of renal failure at 28 and 39 years old, respectively. These brothers also presented hypohidrosis, heat intolerance and renal failure and we considered FD suspects. Due to genetic counseling it was possible to identify one nephew (III-29) who also has reduced serum activity of  $\alpha$ -Gal A in dried blood spot test (0.18 nmol/h/mL). This nephew presents mild symptoms of FD and his diagnosis of FD was confirmed by reduced serum  $\alpha$ -Gal A activity at plasma (0.05 nmol/h/mL).

## DISCUSSION

Our survey is an effort to determine the prevalence of FD diagnosis by  $\alpha$ -Gal A activity tests among ESRD Southern Brazilian males. Previous reports found prevalence values between 0.22% and 1.2% in North American, Asian and European populations [10-14,18]. The value observed in this study (0.36%) is equivalent with others studies results recently reported in our country (0.24%) [19,20]. Our prevalence also is similar with others countries in Latin American, like Peru (0.3%) [21] and Colombia (0.4%) [22].

The population sample available in present study represents about 33% (1079/3285) of total patients submitted on hemodialysis treatment in our region. Prevalence of FD in our study was small (2/558, 0.36%) compared with the outcome by Nakao et al. (6/514, 1.2%) [10]. That

difference could be in part attributed to the different ethnical profile of the two studies, once the Southern Brazil population is predominately shaped by European descents. However, other study in Japanese population also found a small prevalence (1/450, 0.22%) of FD among male dialysis patients [23]. According to the nationwide screening for FD among dialysis patients performed by Kotanko et al. [13] in Austria (4/2480, 0.161%), FD prevalence is really low. These outcomes support our hypothesis that true FD prevalence is average 0.5% among ESRD male and the overestimation in some studies may be related to small populations groups and/or a selection bias of the patients screened. Further studies are required in different ethnical groups with greater samples, especially among ESRD males with unknown cause for chronic renal failure.

However, this fact does not reduce the importance of FD screening. While in an epidemiological point of view FD occurrence is low, on the other hand the FD diagnosis is very important for detection of family members. Each screened confirmed patient could allow early diagnosis of others related subjects, who can get treatment before the symptoms manifestations. In these terms, FD screening among ESRD patients consists of an important tool for detection of FD patients and it could be followed by FD screening between family members of the index case.

In the present study we found 2 patients that were undiagnosed for Fabry disease. According to the clinical features of these patients we suppose that case #1 is an example of the 'cardiac variant' in addition to the 'renal variant' profiles of FD; and case #2 is a classical phenotype carrier. In both cases we found a common medical pre-diagnosis history: visits to several specialists (cardiologist, dermatologist, urologist, neurologist among others) without an accurate diagnosis or specific treatment. This fact stresses the importance of Fabry disease reports because a single FD diagnosed patient by screening is a potential indicator for finding others Fabry carriers within his family. In our investigation we found subject III-29 (Figure 3) due to the case #2 diagnosis. At this moment, this young man (18 years old) presents isolated



painful acroparesthesia episodes and moderate hypohidrosis, and his case is being followed by multidisciplinary specialists. A similar approach was not possible for case #1, once he had no information regarding his biological family history.

As treatment for Fabry disease is now available the enzyme replacement therapy. This treatment, among other benefits, reduced Gb3 depositions in renal tissue and could represent a better outcome for FD patients. However, this approach is important if applied before the onset of ESRD when the efficiency of treatment is more evidenced. This fact also indicates the importance of FD diagnosis before the classical symptoms appear. A better awareness about FD among physicians and scientists should increase the number of patients that will be identified by different specialists and through population and family screening. Subsequently, FD diagnosis should be considered in every patient with unexplained renal disease, especially in patients with painful uncleared episodes, disseminate cutaneous lesions or when cardiac or cerebral complications suggest an underlying multisystemic disorder.

### **ACKNOWLEDGMENT**

This study was supported by CNPq (support agency of Ministry of Science and Technology), CAPES (support agency of Ministry of Education), FIPE (support agency of Clinical Hospital of Porto Alegre) and Genzyme do Brasil Ltda., a subsidiary of Genzyme Corporation. We would like to thank all nursing and medical staffs who sampled patients described in this study.

## REFERENCES

1. Desnick R, Ioannou Y, Eng C. a-galactosidase a deficiency: Fabry disease. In: Scriver CR, Sly WS, Beaudet AL, Valle D, editors. The metabolic and molecular bases of inherited disease. 8th ed. New York: McGraw-Hill. 2001. Pp. 3733-4.
2. Sachdev B, T.T., Teraguchi T et al., Prevalence of Anderson-Fabry disease in male patients with late onset hypertrophic cardiomyopathy. *Circulation*, 2002. 105: p. 1407-1411.
3. Rolfs A, B.T., Zschesche M et al., Prevalence of Fabry disease in patients with cryptogenic stroke: a prospective study. *Lancet*, 2005. 366: p. 1794-1796.
4. Warnock, D., Fabry disease: diagnosis and management, with emphasis on the renal manifestations. *Cur Opinion in Nephrol and Hypert*, 2005. 14: p. 87-95.
5. Desnick, R.J., et al., Fabry disease, an under-recognized multisystemic disorder: expert recommendations for diagnosis, management, and enzyme replacement therapy. *Ann Intern Med*, 2003. 138(4): p. 338-46.
6. Clarke JT, Knaack J, Crawhall JC, Wolfe LS. Ceramide trihexosidosis (Fabry's disease) without skin lesions. *N Engl J Med*. 1971; 284(5):233-5.
7. Nakao S, T.T., Maeda M et al, An atypical variant of Fabry disease in men with left ventricular hypertrophy. *N. Engl. J. Med.*, 1995. 333: p. 288-293.
8. Desnick, R.J. and R.O. Brady, Fabry disease in childhood. *J Pediatr*, 2004. 144(5 Suppl): p. S20-6.
9. Meroni M, Sessa A, Battini G, Tazzari S, Torri Tarelli L. Kidney involvement in Anderson-Fabry disease. *Contrib Nephrol*. 1997;122:178-84.
10. Nakao S, Kodama C, Takenaka T, et al. Fabry disease: detection of undiagnosed hemodialysis patients and identification of a "renal variant" phenotype. *Kid Int*. 2003;64(3):801-7.
11. Linthorst GE, G., Hollak CE, Korevaar JC et al., Alpha-Galactosidase A deficiency in Dutch patients on dialysis: a critical appraisal of screening for Fabry disease. *Nephrol Dial Transplant*, 2003. 18: p. 1581-1584.

12. Torra R, D.P.C., Yague J et al., Treatment of three Fabry patients with moderate renal failure and description of the renal variant. *Nephrol Dial Transplant*, 2003. 18(4): p. 634.
13. Kotamko P, K.R., Devrnja D et al., Results of a nationwide screening for Anderson-Fabry disease among dialysis patients. *J Am Soc Nephrol*, 2004. 15: p. 1323-1329.
14. Thadhani R, Wolf M, West ML, et al. Patients with Fabry disease on dialysis in the United States. *Kidney Int*. 2002; 61(1):249-55.
15. Nunes ACF, Delgado V, Porsch DB, et al. Fabry disease and hemodialysis: Determining a procedure for blood collecting on a Brazilian screening. *Book of Abstracts (pp279)*. World Congress of Nephrology, Rio de Janeiro, Brazil, 2007.
16. Chamoles NA, Blanco M, Gaggioli D. Fabry disease: enzymatic diagnosis in dried blood spots on filter paper. *Clin Chim Acta* 2001; 308(1-2): 195-6.
17. Morgan SH, Rudge P, Smith SJ, et al. The neurological complications of Anderson-Fabry disease (alpha-galactosidase A deficiency): investigation of symptomatic and presymptomatic patients. *Q J Med* 1990; 75: 491-507.
18. Grünfeld J-P. How to improve the early diagnosis of Fabry disease? *Kidney Int* 2003; 64: 1136-7.
19. Biagini G, Pecoits RRPF and Weber HHMW. Prevalence of Fabry disease in patients with chronic renal insufficiency undergoing hemodialysis in the State of Paraná – Brazil. *Book of Abstracts (pp356)*. World Congress of Nephrology, Rio de Janeiro, Brazil, 2007.
20. Delgado V, Nunes ACF, Canuto M, et al. Fabry disease epidemiology in Rio de Janeiro State: Partial outcome of screening in patients on dialysis treatment. *Book of Abstracts (pp280)*. World Congress of Nephrology, Rio de Janeiro, Brazil, 2007.
21. Tumialán C, Carvalho C, Chavez R., et al. Prevalence in Peru of Fabry disease among males with chronic renal insufficiency. *Book of Abstracts (pp191)*. X Latin American Symposium in Lysosomal Storage Disease, San Jose, Costa Rica, 2005.
22. Martínez JA, Ardila ME, Gamarra G, at al. Prevalence of Fabry disease in Colombia – Preliminary report. *Book of Abstracts (pp237)*. X Latin American Symposium in Lysosomal Storage Disease, San Jose, Costa Rica, 2005.

23. Ichinose M, Nakayama M, Ohashi T. et al. Significance of screening for Fabry disease among male dialysis patients. Clin Exp Nephrol 2005; 9: 228-32.

## LEGENDS

### **Table#1**

Title: Demographics features of selected patients

### **Figure #1**

Title: Flow chart illustrating the patients screening

### **Figure #2**

Title: Disseminated cutaneous lesions of case #2

### **Figure #3**

Title: Pedigree of case #2

Footnote: Fabry carrier (black) and Fabry suspects (gray) are dyed; Diagonal lines indicate dead subjects; Square brackets indicate an adopted daughter (III-42).

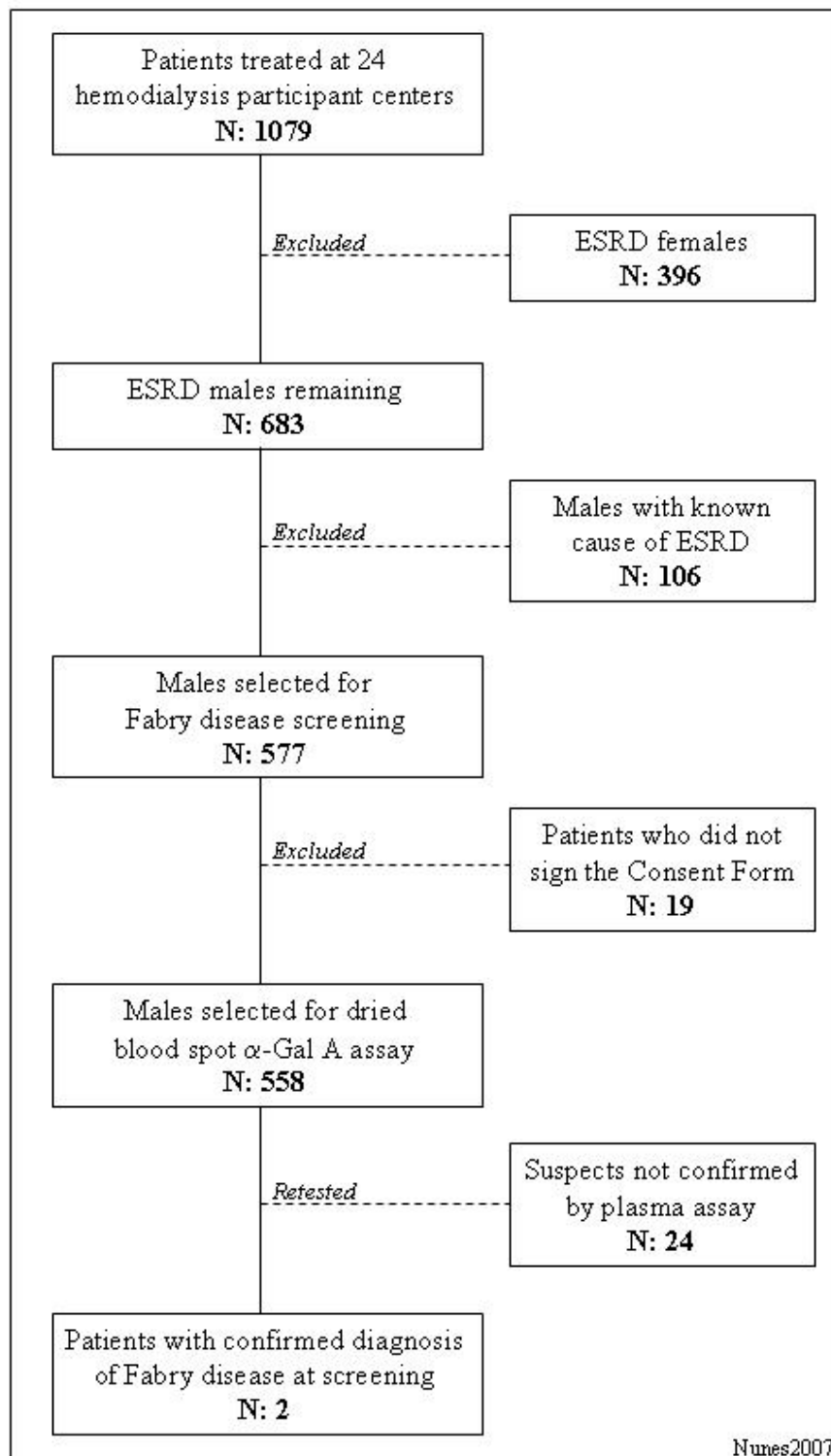
**Table #1:**

---

Number of males selected	558
Age (mean $\pm$ SD)	59.1 $\pm$ 14.2 years
Age at onset ESRD (mean $\pm$ SD)	56.3 $\pm$ 15.1 years
Duration of hemodialysis (mean $\pm$ SD)	5.2 $\pm$ 3.6 months
$\alpha$ -Gal A activity (mean $\pm$ SD)	3.5 $\pm$ 2.7 nmoles/hour/mL
<u>Associated disorders</u>	
Diabetes mellitus	30.5%
Hypertension	69.3%

---

**Figure #1:**

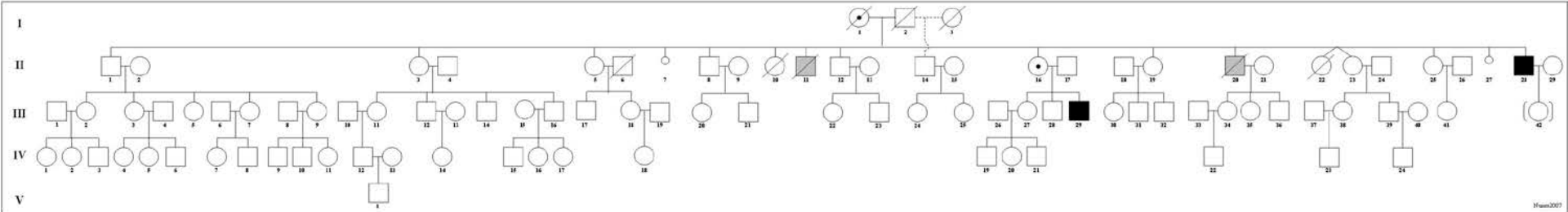


**Figure #2:**





Figure #3:



## Doença de Fabry em pacientes submetidos à hemodiálise no Rio Grande do Sul: estudo de prevalência e relato clínico

Daiana Benck Porsch (1)\*

Ane Cláudia Fernandes Nunes (2)\*

Vagner Milani (1)

Liana Bertolin Rossato (1)

Cristiane Bastos de Mattos (1)

Marilyn Tsao (3)

Cristina Netto (3)

Maira Burin (3)

Janice Coelho (3)

Laura Jardim (3)

Fernanda Pereira (3)

Úrsula Matte (3,4)

Roberto Giugliani (3,4,5)

Elvino José Guardão Barros (1,5,6)

1. Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre/RS, Brasil
2. Laboratório de Nefrologia Celular, Genética e Molecular. Divisão de Nefrologia, Escola de Medicina da Universidade de São Paulo, Universidade de São Paulo. São Paulo/SP, Brasil.
3. Departamento de Genética Médica, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre/RS, Brasil.
4. Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas: Pediatria, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre/RS, Brasil.
5. Departamento de Medicina Interna, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre/RS, Brasil.
6. Serviço de Nefrologia, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre/RS, Brasil.

\* Primeiro e segundo autores contribuíram igualmente para o desenvolvimento deste estudo

**Contato:** Prof. Elvino J.G. Barros <ebarros@hcpa.ufrgs.br>

**Total de palavras no texto:** 2253

**Palavras-chave:** Doença de Fabry; Doença Renal Terminal; atividade da  $\alpha$ -Gal A; desordem de depósito lisossômico; hemodiálise; nefropatia hereditária

*Manuscrito submetido à revista "Renal Failure"*

## RESUMO

**Introdução:** Doença de Fabry é uma desordem de depósito lisossômico causada pela deficiência da atividade da enzima  $\alpha$ -galactosidase A ( $\alpha$ -Gal A). Esta nefropatia surge geralmente na quinta década de vida do paciente evoluindo à insuficiência renal crônica terminal e levando-o à hemodiálise e/ou transplante renal.

**Objetivo:** Determinar a prevalência da Doença de Fabry em homens com insuficiência renal terminal submetidos à hemodiálise no Rio Grande do Sul, um estado do Sul do Brasil, e relatar os casos encontrados.

**Métodos:** A triagem para a atividade da  $\alpha$ -GAL A foi realizada através da coleta de sangue em papel filtro (valor normal de referência:  $>1,5$  nmoles/hora/mL). Resultados positivos da triagem foram confirmados pelo teste da atividade da  $\alpha$ -GAL A em plasma (valor de referência:  $>3,3$  nmoles/hora/mL).

**Resultados:** Quinhentos e cinquenta e oito pacientes homens em hemodiálise foram avaliados. Destes, apenas dois apresentaram atividade da  $\alpha$ -GAL A reduzida e foram diagnosticados com Doença de Fabry (0.36%). Um deles, com 42 anos, apresentava hipertrofia ventricular esquerda e variante renal da Doença de Fabry, sem os sintomas clássicos. O outro, de 46 anos, apresentou manifestações clássicas, com angioqueratomas, acroparestesia, hipoidrose e opacidade de córnea.

**Conclusões:** Embora a prevalência da Doença de Fabry seja baixa em nosso estudo (0.36%), triagens de rotina em homens em hemodiálise permitirão a identificação precoce de outros familiares que poderão ser beneficiados com tratamentos clínicos específicos.

## INTRODUÇÃO

A Doença de Fabry consiste num erro inato de metabolismo raro, de herança ligada ao X, que leva à deficiência da atividade da enzima  $\alpha$ -galactosidase A ( $\alpha$ -Gal A) [1]. Há um acúmulo intracelular progressivo de glicosfingolipídeos, na forma de globotriosilceramidas (Gb3), especialmente vascular e em várias células de órgãos vitais, como rins, coração e cérebro. O aumento de Gb3 leva à manifestações renais, cardíacas e cerebrovasculares e pode levar à morte [1-5]. A incidência estimada da Doença de Fabry está entre 1:40.000 e 1:117.000 na população em geral [1,2,3]. Estudos de triagem, tanto familiares quanto populacionais, estão sendo amplamente descritos e podem ser conduzidos tanto em subgrupos de alto risco quanto na população em geral [4].

A forma clássica inclui dor e parestesia nas extremidades, angioqueratoma difuso e hipoidrose durante a infância ou adolescência, opacidade de córnea e insuficiência renal [6]. A nefropatia de Fabry geralmente progride a partir da quinta década de vida para doença renal crônica terminal (DRCT), levando o paciente à hemodiálise e/ou transplante renal. Desse modo, pacientes em hemodiálise representam um importante grupo alvo para estudos da Doença de Fabry [5,7]. A morte geralmente ocorre devido à insuficiência renal, complicações cardíacas ou doenças cerebrovasculares. Além disso, variantes brandas com atividade de  $\alpha$ -Gal A residual têm sido descritas [7,8]. As variantes cardíaca e renal apresentam também início tardio das manifestações que inicialmente se limitam ao coração e ao rim [1,9].

O interesse dos nefrologistas pela Doença de Fabry aumentou após a descrição de Nakao *et al.* [10] da variante renal. Vários estudos de triagem em larga escala conduzidos em populações

de pacientes com DRCT estão mostrando resultados importantes, uma vez que a insuficiência renal constitui num desfecho definitivo da DF [10,14].

A intenção deste estudo foi determinar a prevalência da Doença de Fabry entre homens com DRCT submetidos à hemodiálise no Rio Grande do Sul, um estado do Sul do Brasil.

## **MATERIAIS E MÉTODOS**

### **População em Estudo**

Foi realizado um estudo transversal multicêntrico incluindo pacientes tratados em 24 centros de hemodiálise do Rio Grande do Sul. Esta região do Brasil tem um total de 54 centros de diálise e 3285 pacientes submetidos ao tratamento de hemodiálise, de acordo com os dados da Sociedade Brasileira de Nefrologia ([www.sbn.org.br](http://www.sbn.org.br)). O estudo foi conduzido em 10 diferentes cidades entre Dezembro de 2003 e Dezembro de 2006. O primeiro passo consistiu na procura a partir de prontuários médicos. Somente homens foram selecionados para o teste da atividade da  $\alpha$ -Gal A em papel filtro. Pacientes com hipertensão, glomeruloesclerose e/ou diabetes que apresentavam histórico de dor inexplicável ou outros sinais de Doença de Fabry também foram analisados. Pacientes com doença renal policística ou outro diagnóstico estabelecido foram excluídos.

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética do Hospital de Clínicas de Porto Alegre da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (IRB#0000921). Os pacientes convidados a participar foram informados acerca dos propósitos do estudo e só foram incluídos após assinarem um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

### **Coleta de Sangue Periférico e Cuidados com Segurança**

As amostras de sangue dos pacientes selecionados foram coletadas por punção aspirativa simples, a partir do “set arterial” do circuito de hemodiálise. Cerca de 5 mL de sangue foram coletados e pingados em papel filtro e deixadas para secagem por aproximadamente 2 horas à temperatura ambiente. O sangue restante foi acondicionado em tubos com heparina para o ensaio da atividade enzimático em plasma. Este procedimento ocorreu durante a sessão de hemodiálise entre 30 minutos e 1 hora após o início da diálise [15].

### **Teste da Atividade da $\alpha$ -Gal A**

A atividade da  $\alpha$ -Gal A nas amostras de sangue coletadas em papel filtro foi determinada através de ensaio fluorimétrico que utiliza como substrato o 4-metilumbeliferil- $\alpha$ -D-galactopiranosideo [16]. Os valores foram observados em nmoles/h/mL (valores normais: 1.5 - 14.0). Como método de confirmação, todas as amostras com valores abaixo do limite inferior de normalidade tiveram a atividade de  $\alpha$ -Gal A testada também em amostras de plasma (previamente obtidas do sangue coletado com heparina). Para mensurar a atividade da  $\alpha$ -Gal A em plasma uma alíquota foi incubada com uma solução-substrato contendo N-acetil- $\alpha$ -D-galactosamina [17]. Os valores foram observados em nmoles/h/mL nas amostras de plasma (valores normais: 4.0 – 22.0).

Os valores que persistiam abaixo de 10 % de limite inferior da normalidade foram considerados positivos para o diagnóstico da doença de Fabry.

## **Análise Estatística**

Os dados coletados junto aos prontuários foram organizados em um banco de dados no programa estatístico *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS Inc, Chicago, IL) versão 8.1 (Microsoft™), onde foram executados os testes estatísticos selecionados para as comparações entre os grupos.

As comparações entre os diagnósticos, bem como dos dados clínicos e bioquímicos foram realizadas utilizando o Teste do Qui-quadrado ( $\chi^2$ ), com Correção de Yates, quando necessário, para os dados qualitativos e Teste t, para os dados quantitativos.

O nível de significância adotado foi de  $\alpha = 0,05$ .

## **RESULTADOS**

### **População estudada**

Do total de 1079 pacientes com DRCT não-relacionados de 24 centros de hemodiálise, 558 homens foram selecionados para a análise da atividade da  $\alpha$ -Gal A porque se encaixavam nos critérios de inclusão e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Figura 1).

Os valores da atividade da  $\alpha$ -Gal A, coletados a partir do papel filtro, abrangeram valores entre 0,29 e 34,1 nmoles/hora/mL e a média foi de  $3,5 \pm 2,7$  nmoles/hora/mL. A média de idade dos pacientes e a idade ao início de hemodiálise foi  $59,1 \pm 14,2$  e  $56,3 \pm 15,1$  anos, respectivamente. A média do tempo de permanência em hemodiálise foi  $5,2 \pm 3,6$  meses (Tabela 1). Ao final, somente dois pacientes (0,36%) foram confirmados com atividade da  $\alpha$ -Gal A reduzida e diagnosticados com Doença de Fabry. Suas apresentações clínicas seguem abaixo.

### **Caso nº 1**

O primeiro paciente identificado foi um homem caucasiano de 47 anos que apresentava apenas a disfunção renal e hipertrofia ventricular esquerda (HVE) importantes. A avaliação cuidadosa da pele não mostrou existência de angioqueratomas e não foram relatados episódios de dor nas extremidades. A atividade de  $\alpha$ -Gal A, analisada a partir do papel filtro foi de 0.3 nmoles/h/mL.

Este paciente progrediu para DRCT sem causa definida e faleceu devido à doença cardiovascular (falência do miocárdio), antes que fosse possível confirmar o diagnóstico de Doença de Fabry pelo ensaio da atividade da  $\alpha$ -Gal A em plasma. Ele iniciou a hemodiálise aos 41 anos e apresentou hipertensão persistente (PAS/PAD: 160/90 mmHg). Durante o tratamento de hemodiálise (aproximadamente 6 anos) e provavelmente antes disso, o paciente apresentou inúmeros sinais de depressão. A história familiar não pôde ser investigada porque o paciente foi adotado e não havia registros de seus pais biológicos e parentes. Este caso foi considerado como portador da variante cardíaca da Doença de Fabry.

### **Caso nº 2**

O outro paciente diagnosticado trata-se de um homem caucasiano de 46 anos. O paciente relatou que desde a adolescência sofreu de dores devido a acroparestesia, angioqueratomas disseminados pela pele, hipoidrose e intolerância ao calor. Durante sua vida, foi submetido à investigação com diferentes especialistas, mas o diagnóstico de Doença de Fabry nunca foi estabelecido. Três anos antes deste estudo ele foi diagnosticado com insuficiência renal, progredindo para DRCT e um ano antes deste estudo começou o tratamento por hemodiálise.



Uma biópsia renal, realizada 6 meses antes do início da hemodiálise, revelou atrofia tubular, fibrose intersticial e esclerose glomerular sem mudanças histológicas sugestivas de diagnóstico de Doença de Fabry. Além desses sinais, o paciente também apresentava HVE e visão prejudicada. Este paciente aguardava na lista para transplante renal.

A atividade de  $\alpha$ -Gal A em papel filtro foi de 0.29 nmoles/h/mL. O diagnóstico de Doença de Fabry foi confirmado pela atividade reduzida da  $\alpha$ -Gal A em plasma (0.027 nmol/h/mL).

Ao exame físico o paciente apresentava-se normotenso (média PAS/PAD: 115/75 mmHg) e seu IMC foi considerado normal (58Kg/178 cm). Lesões cutâneas foram localizadas na região umbilical (Figura 2). Essas lesões foram primeiramente relatadas durante a adolescência, e aumentaram progressivamente em número com o tempo. Seu ecocardiograma demonstrou HVE, mas não mostrou anormalidades de condução. Devido ao diagnóstico deste paciente pelo nosso estudo de triagem entre homens com DRCT, uma revisão da biópsia renal foi realizada no material arquivado. Essa análise crítica revelou dados microscópicos adicionais, como depósitos hialinos nos glomérulos esclerosados e aumento da matriz mesangial. Esses achados são compatíveis com depósito difuso de Gb3.

Como o paciente tem 15 irmãos, sua história familiar é muito rica (Figura 3). Atualmente, o paciente (II-28) e mais 34 membros de sua família foram investigados: três irmãos (II-1, II-8 e II-18); cinco irmãs (II-3, II-5, II-16, II-19, II-23 e II-25); dezesseis sobrinhos (III-5, III-11, III-12, III-18, III-20, III-21, III-22, III-23, III-27, III-28, III-29, III-30, III-31, III-32, III-38, III-41); e três sobrinhos-netos (IV-12, IV-14, IV-23). Ele teve dois irmãos (II-11 e II-20) que morreram devido à perda da função renal aos 28 e 39 anos de idade, respectivamente. Esses irmãos também

apresentavam hipoidrose e intolerância ao calor, sendo por isso considerados como suspeitos de portarem Doença de Fabry. Através da família foi possível identificar um sobrinho (III-29) com atividade da  $\alpha$ -Gal A reduzida no teste do papel filtro (0.18 nmol/h/mL). Esse sobrinho apresenta sintomas moderados de Doença de Fabry e seu diagnóstico foi confirmado pela atividade reduzida da  $\alpha$ -Gal A em plasma (0.05 nmol/h/mL).

## DISCUSSÃO

Nosso estudo foi conduzido para estimar a prevalência da DF entre homens com DRCT sem causa definida no sul do Brasil. Relatos anteriores encontraram prevalências entre 0,22% e 1,2% em populações da América do Norte, Ásia e Europa [10-14,18]. O valor observado nesse estudo (0,36%) é compatível ao de outros estudos recentemente realizados em nosso país (0,24%) [19,20]. Nossa prevalência também é semelhante às observadas em outros países da América Latina, como o Peru (0,3%) [21] e a Colômbia (0,4%) [22].

A amostra da população avaliada no presente estudo representa em torno de 33% (1079/3285) do total de pacientes submetidos ao tratamento de hemodiálise em nossa região. A prevalência da Doença de Fabry em nosso estudo foi pequena (2/558, 0,36%) comparada com a encontrada por Nakao *et al.* (6/514, 1,2%) [10]. Essa diferença poderia ser atribuída, em parte, a diferenças no perfil étnico dos dois estudos, uma vez que a população do sul do Brasil é predominantemente formada por descendentes de europeus com alguma influência africana. Entretanto, outro estudo na população japonesa também encontrou uma prevalência pequena (1/450, 0,22%) de Doença de Fabry entre pacientes homens em diálise [23]. De acordo com um estudo de triagem em escala nacional para Doença de Fabry entre pacientes em diálise realizado

por Kotanko *et al.* [13] na Áustria (4/2480, 0,161%), a prevalência da doença é realmente baixa. Esses resultados sustentam a nossa hipótese de que a prevalência da Doença de Fabry entre homens com DRCT é, em média, de 0,5%. A super-estimação observada em alguns estudos pode ser atribuída a amostras pequenas e/ou vieses de seleção. Mais estudos são necessários em diferentes grupos étnicos com amostras maiores, especialmente entre homens com DRCT de causa desconhecida.

Contudo, essa baixa frequência não reduz a importância da triagem para Doença de Fabry. Enquanto que do ponto de vista individual a ocorrência de Doença de Fabry é pequena, por outro lado, o diagnóstico de Doença de Fabry é muito importante para a detecção de outros membros da família. Cada paciente confirmado poderia permitir o diagnóstico de muitos outros parentes, que podem ser identificados e mesmo tratados antes que ocorram manifestações clínicas significativas. Nesses termos, a triagem para Doença de Fabry entre pacientes com DRCT consiste em uma importante ferramenta para a detecção de pacientes, especialmente se acompanhado de triagem entre membros da família dos casos encontrados.

No presente estudo encontramos 2 pacientes sem diagnóstico prévio para Doença de Fabry. De acordo com as apresentações clínicas desses pacientes, supomos que o caso nº 1 trata-se de um exemplo de “variante cardíaca” seguida de um perfil compatível com “variante renal” da DF; e o caso nº 2 trata-se de um paciente com a forma clássica da DF. Em ambos os casos, encontramos uma história de pré-diagnóstico médico em comum: consultas a inúmeros especialistas (cardiologista, dermatologista, urologista, neurologista, entre outros) sem diagnóstico exato ou tratamento específico. Esse fato enfatiza a importância da triagem para Doença de Fabry e como um único paciente de Fabry é um potencial indicador para encontrar outros pacientes em sua família. Em nossa investigação, encontramos o sujeito III-29 (Figura 3)

depois do diagnóstico do caso nº 2. Esse jovem (18 anos de idade) apresenta episódios isolados de dor devido à acroparestesia e hipoidrose moderada, e especialistas multidisciplinares estão acompanhando seu caso. Uma abordagem semelhante não foi possível para o caso nº 1, uma vez que ele não tinha nenhuma informação a respeito da história de sua família biológica.

O tratamento para Doença de Fabry atualmente disponível é a terapia de reposição enzimática (TRE). Esse tratamento, entre outros benefícios, reduz os depósitos de Gb3 nos tecidos e poderia trazer um desfecho melhor para os pacientes com DF. Entretanto, esse tratamento é mais efetivo se for conduzido antes que se estabeleça a DRCT. Esse fato também indica a importância do diagnóstico de DF antes que ocorram manifestações clínicas significativas. Um melhor entendimento da Doença de Fabry entre médicos e cientistas poderá aumentar o número de pacientes diagnosticados. Aliado a isso, a Doença de Fabry poderá ser considerada em cada paciente com doença renal não explicada, especialmente em pacientes com crises de dor inexplicáveis, lesões cutâneas disseminadas ou quando complicações cardíacas ou cerebrais sugerirem uma desordem multissistêmica primária.

## **AGRADECIMENTOS**

Esse estudo foi financiado pelo CNPq, CAPES, FIPE e Genzyme do Brasil Ltda. Agradecemos a todas as equipes de enfermeiros e médicos que colaboraram com esse estudo.

## **REFERÊNCIAS**

1. Desnick R, Ioannou Y, Eng C. Alpha-galactosidase A deficiency: Fabry disease. In: Scriver CR, Sly WS, Beaudet AL, Valle D, editors. The metabolic and molecular bases of inherited disease. 8th ed. New York: McGraw-Hill. 2001. Pp. 3733-4.

2. Sachdev B, T.T., Teraguchi T *et al.*, Prevalence of Anderson-Fabry disease in male patients with late onset hypertrophic cardiomyopathy. *Circulation*, 2002. 105: p. 1407-1411.
3. Rolfs A, B.T., Zschesche M *et al.*, Prevalence of Fabry disease in patients with cryptogenic stroke: a prospective study. *Lancet*, 2005. 366: p. 1794-1796.
4. Warnock, D., Fabry disease: diagnosis and management, with emphasis on the renal manifestations. *Cur Opinion in Nephrol and Hypert*, 2005. 14: p. 87-95.
5. Desnick, R.J., *et al.*, Fabry disease, an under-recognized multisystemic disorder: expert recommendations for diagnosis, management, and enzyme replacement therapy. *Ann Intern Med*, 2003. 138(4): p. 338-46.
6. Clarke JT, Knaack J, Crawhall JC, Wolfe LS. Ceramide trihexosidosis (Fabry's disease) without skin lesions. *N Engl J Med*. 1971; 284(5):233-5.
7. Nakao S, T.T., Maeda M *et al.*, An atypical variant of Fabry disease in men with left ventricular hypertrophy. *N. Engl. J. Med.*, 1995. 333: p. 288-293.
8. Desnick, R.J. and R.O. Brady, Fabry disease in childhood. *J Pediatr*, 2004. 144(5 Suppl): p. S20-6.
9. Meroni M, Sessa A, Battini G, Tazzari S, Torri Tarelli L. Kidney involvement in Anderson-Fabry disease. *Contrib Nephrol*. 1997;122:178-84.
10. Nakao S, Kodama C, Takenaka T, *et al.* Fabry disease: detection of undiagnosed hemodialysis patients and identification of a "renal variant" phenotype. *Kid Int*. 2003;64(3):801-7.
11. Linthorst GE, G., Hollak CE, Korevaar JC *et al.*, Alpha-Galactosidase A deficiency in Dutch patients on dialysis: a critical appraisal of screening for Fabry disease. *Nephrol Dial Transplant*, 2003. 18: p. 1581-1584.
12. Torra R, D.P.C., Yague J *et al.*, Treatment of three Fabry patients with moderate renal failure and description of the renal variant. *Nephrol Dial Transplant*, 2003. 18(4): p. 634.

13. Kotamko P, K.R., Devrnja D *et al.*, Results of a nationwide screening for Anderson-Fabry disease among dialysis patients. *J Am Soc Nephrol*, 2004. 15: p. 1323-1329.
14. Thadhani R, Wolf M, West ML, *et al.* Patients with Fabry disease on dialysis in the United States. *Kidney Int.* 2002; 61(1):249-55.
15. Nunes ACF, Delgado V, Porsch DB, *et al.* Fabry disease and hemodialysis: Determining a procedure for blood collecting on a Brazilian screening. Book of Abstracts (pp279). World Congress of Nephrology, Rio de Janeiro, Brazil, 2007.
16. Chamoles NA, Blanco M, Gaggioli D. Fabry disease: enzymatic diagnosis in dried blood spots on filter paper. *Clin Chim Acta* 2001; 308(1-2): 195-6.
17. Morgan SH, Rudge P, Smith SJ, *et al.* The neurological complications of Anderson-Fabry disease (alpha-galactosidase A deficiency): investigation of symptomatic and presymptomatic patients. *Q J Med* 1990; 75: 491-507.
18. Grünfeld J-P. How to improve the early diagnosis of Fabry disease? *Kidney Int* 2003; 64: 1136-7.
19. Biagini G, Pecoits RRP and Weber HHMW. Prevalence of Fabry disease in patients with chronic renal insufficiency undergoing hemodialysis in the State of Paraná – Brazil. Book of Abstracts (pp356). World Congress of Nephrology, Rio de Janeiro, Brazil, 2007.
20. Delgado V, Nunes ACF, Canuto M, *et al.* Fabry disease epidemiology in Rio de Janeiro State: Partial outcome of screening in patients on dialysis treatment. Book of Abstracts (pp280). World Congress of Nephrology, Rio de Janeiro, Brazil, 2007.
21. Tumialán C, Carvalho C, Chavez R., *et al.* Prevalence in Peru of Fabry disease among males with chronic renal insufficiency. Book of Abstracts (pp191). X Latin American Symposium in Lysosomal Storage Disease, San Jose, Costa Rica, 2005.
22. Martínez JA, Ardila ME, Gamarra G, *at al.* Prevalence of Fabry disease in Colombia – Preliminary report. Book of Abstracts (pp237). X Latin American Symposium in Lysosomal Storage Disease, San Jose, Costa Rica, 2005.

23. Ichinose M, Nakayama M, Ohashi T. *et al.* Significance of screening for Fabry disease among male dialysis patients. *Clin Exp Nephrol* 2005; 9: 228-32.

## LEGENDAS

### **Tabela nº 1**

Título: Apresentação demográfica dos pacientes selecionados

### **Figura nº 1**

Título: Esquema de seleção dos pacientes para o estudo de triagem

### **Figura nº 2**

Título: Lesões cutâneas disseminadas do caso nº 2

Nota de rodapé: Angioqueratomas de pele na região umbilical

### **Figura nº 3**

Título: Genealogia do caso nº 2

Nota de rodapé: Portadores de Fabry (em preto) e suspeitos de Fabry (em cinza); Linhas diagonais indicam óbito; Parênteses indicam uma filha adotiva (III-42).



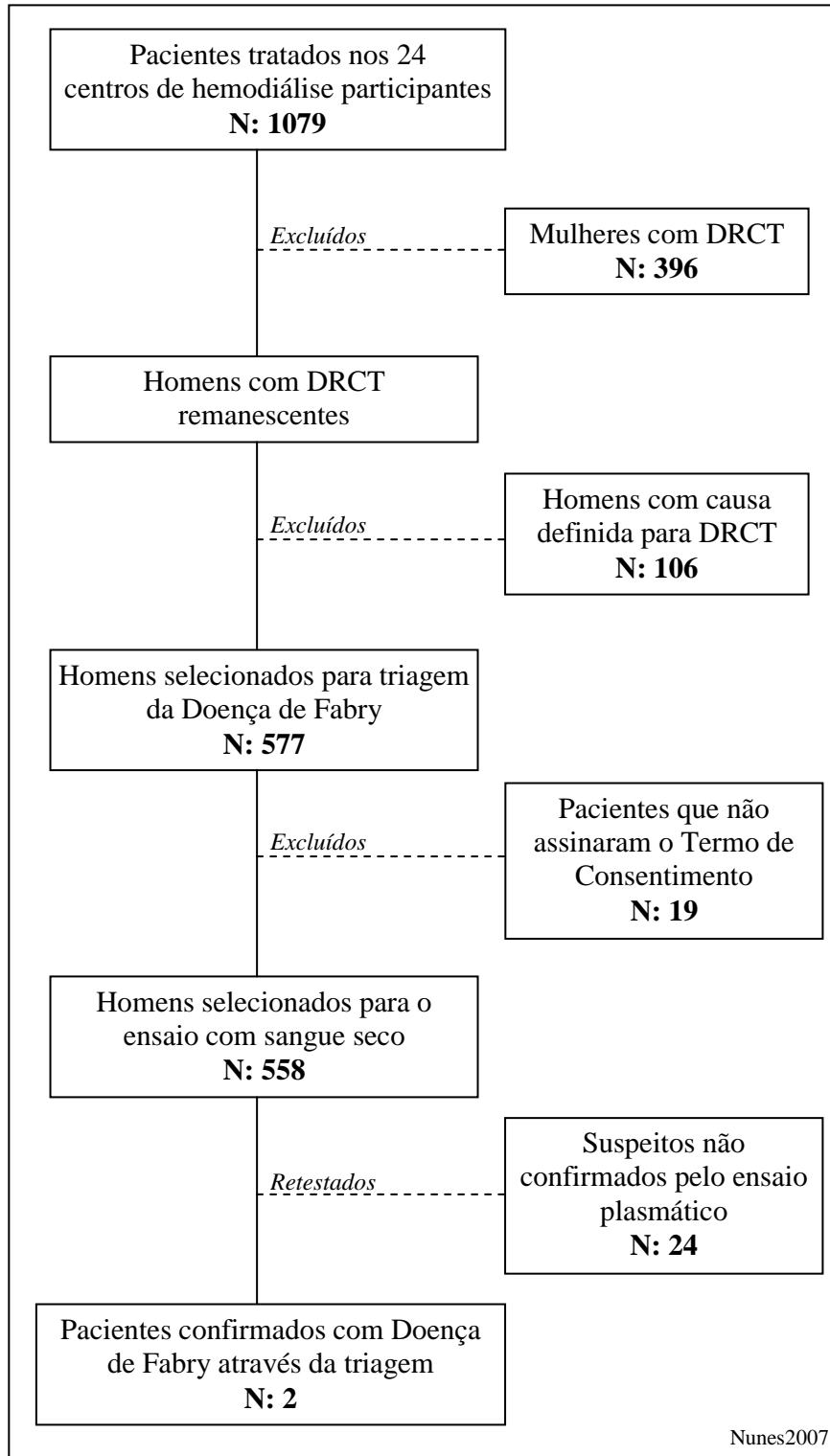
**Tabela nº 1:**

---

Número de homens selecionados	558
Idade (média ± DP)	59,1 ± 14,2 anos
Idade de início de insuficiência renal terminal (média ± DP)	56,3 ± 15,1 anos
Tempo de hemodiálise (média ± DP)	5,2±3,6 meses
Atividade da $\alpha$ -Gal A (média ± DP)	3,5±2,7 nmoles/hora/mL
Desordens associadas	
Diabetes mellitus	30,5%
Hipertensão	69,3%

---

**Figura nº 1:**



**Figura n° 2:**



Figura nº 3:

