

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 07/10/2023.



**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO
DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA**

Rodrigo José Pizzello Zogheib

**Triagem de Doença de Fabry (DF) Através de Estudo
Imuno-histoquímico para Globotriaosilceramida (Gb3) em
Pacientes com Lesões de Esclerose Glomerular
Segmentar e Focal e Imunofluorescência Negativa para
Depósitos em Biópsias Renais Por Agulha Grossa**

Dissertação apresentada à Faculdade de
Medicina, Universidade Estadual Paulista “Júlio
de Mesquita Filho”, Campus de Botucatu, para
obtenção do título de Mestre em Ciências, Área
de Patologia.

Orientadora: Profa. Dra. Maria Aparecida Custodio Domingues
Coorientadora: Profa. Dra. Rosa Marlene Viero

**Botucatu
2022**

Rodrigo José Pizzello Zogheib

**Triagem de Doença de Fabry (DF) Através de
Estudo Imuno-histoquímico para
Globotriaosilceramida (Gb3) em Pacientes com
Lesões de Esclerose Glomerular Segmentar e
Focal e Imunofluorescência Negativa para
Depósitos em Biópsias Renais Por Agulha Grossa**

Dissertação apresentada à Faculdade de
Medicina, Universidade Estadual Paulista
“Júlio de Mesquita Filho”, Campus de
Botucatu, para obtenção do título de
Mestre em Ciências, Área de Patologia.

Orientadora: Profa. Dra. Maria Aparecida Custodio Domingues
Coorientadora: Profa. Dra. Rosa Marlene Viero

Botucatu
2022

Z85t

Zogheib, Rodrigo José Pizzello

Triagem de Doença de Fabry (DF) através de estudo imuno-histoquímico para Globotriaosilceramida (Gb3) em pacientes com lesões de esclerose glomerular segmentar e focal e imunofluorescência negativa para depósitos em biópsias renais por agulha grossa / Rodrigo José Pizzello Zogheib. -- Botucatu, 2022

42 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Medicina, Botucatu

Orientadora: Maria Aparecida Custodio Domingues

Coorientadora: Rosa Marlene Viero

1. Patologia. 2. Biópsias por agulha. 3. Imunohistoquímica. 4. Nefropatia. I. Título.

AGRADECIMENTOS

Agradeço às minhas orientadoras, Dra. Maria Aparecida Custodio Domingues e Dra. Rosa Marlene Viero, pelos ensinamentos e incentivo, e ao Dr. José Cândido Caldeira Xavier-Junior pelo convite a ser professor na Disciplina de Patologia no Centro Universitário Católico Salesiano Auxilium (UniSALESIANO), sendo os três os responsáveis pelo meu início na carreira acadêmica.

Agradeço a Dra. Marlene Antônia dos Reis por me estimular a adentrar na área de Nefropatologia, que tanto me instiga.

Agradeço ao Dr. Luís Gustavo Modelli de Andrade pela contribuição durante o delineamento do projeto da pesquisa e ao Dr. Stanley de Almeida Araújo pelo suporte à realização da técnica imuno-histoquímica.

Agradeço a toda equipe do Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina da UNESP de Botucatu e colegas residentes (da Patologia e Nefrologia), responsáveis pela minha formação como Médico Patologista, e de modo especial aos amigos Vinicius Cardoso Nóbrega e Marcelo Padovani Toledo de Moraes.

Agradeço, ainda, às equipes do Instituto de Patologia de Araçatuba (IPAT) e Instituto de Patologia de Bauru (ANATOMED), e ao Dr. Cleverson Teixeira Soares, pelo suporte técnico, apoio e amizade durante o período de desenvolvimento deste estudo.

EPÍGRAFE

Nossa vida é um presente de Deus e o que fazemos dela é o nosso presente a Ele.

São João Bosco

RESUMO

Contexto: A doença de Fabry (DF) é um distúrbio de armazenamento lisossomal ligado a X, causado pela atividade deficiente da enzima α -galactosidase A, resultando no acúmulo de glicosfingolípídios, particularmente a globotriaosilceramida (Gb3) e globotriaosilesfingosina (liso-Gb3). Esses lipídios se acumulam progressivamente na circulação e em praticamente todas as células e órgãos, resultando no desenvolvimento de uma desordem multissistêmica. Esses pacientes estão sob alto risco de desenvolver síndrome nefrótica devido à deposição glomerular de Gb3, especialmente envolvendo os podócitos, podendo resultar em lesões glomerulares de esclerose segmentar e focal, mesmo em estágios iniciais da doença, elencando a Glomeruloesclerose Segmentar e Focal (GESF) como um importante diagnóstico diferencial. O objetivo do estudo é pesquisar depósitos de Gb3 por imunoistoquímica em biópsias renais de pacientes com lesões glomerulares de esclerose. **Método:** Realizada pesquisa de Gb3 por imunoistoquímica em 27 biópsias renais analisadas no Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina de Botucatu, no período de 2015-2019, com diagnóstico de GESF. **Resultados:** Não foram detectados depósitos de Gb3 por meio da imunoistoquímica nas vinte e sete biópsias renais analisadas. **Conclusão:** A DF compromete o parênquima renal manifestando-se principalmente por síndrome nefrótica, podendo evoluir para doença renal crônica necessitando de terapia renal substitutiva. Novos estudos de triagem da DF devem ser incentivados em casos subclínicos, especialmente em pacientes com biópsias renais com lesões crônicas de etiologia pouco definida e pacientes com doença renal crônica em tratamento dialítico.

SUMMARY

Background: Fabry disease (FD) is an X-linked lysosomal storage disorder caused by deficient activity of α -galactosidase A resulting in accumulation of glycosphingolipids, particularly globotriaosylceramide (Gb3) and globotriaosylsphingosine (lyso-Gb3). These lipids progressively accumulate in the circulation and in virtually all cells and organs, resulting in the development of a multisystemic disorder. Those patients are at high risk of developing nephrotic syndrome due to glomeruli Gb3 deposition, especially involving podocytes, which insult might result in focal and segmental glomerular sclerotic lesions even in early stages of the disease, leading Focal and Segmental Glomerulosclerosis (FSGS) as an important differential diagnosis. **Methods:** Immunohistochemistry for Gb3 was performed in 27 kidney biopsies from 2015 to 2019 of patients with FSGS from the Department of Pathology of the Botucatu Medical School. **Results:** No Gb3 deposits were detected by immunohistochemistry in the twenty-seven renal biopsies analyzed. **Conclusion:** FD compromises the renal parenchyma, manifesting itself mainly by nephrotic syndrome, and may progress to chronic kidney disease requiring renal replacement therapy. Further FD screening studies should be encouraged in subclinical cases, especially in patients with renal biopsies with chronic lesions of undefined etiology and patients with chronic kidney disease undergoing dialysis.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
DAMP	Padrão Molecular Associado a Dano
DBS	<i>Dry Blood Sample</i>
DF	Doença de Fabry
DRC	Doença Renal Crônica
Gb3	Globotriaosilceramida
liso-Gb3	Globotriasilesfingosina
GESF	Glomeruloesclerose Segmentar e Focal
HE	Hematoxilina e Eosina
ISGFN	<i>International Study Group of Fabry Nephropathy</i>
KDIGO	<i>Kidney Disease Improving Global Outcomes</i>
MBG	Membrana Basal Glomerular
OMIM	<i>Online Mendelian Inheritance in Man</i>
TRE	Terapia de Reposição Enzimática
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TM	Tricrômio de Masson
VUS	<i>Variant of Unknown Significance</i>
α-Gal A	α -galactosidase A

SUMÁRIO

Capítulo I – Revisão da Literatura	9
I. INTRODUÇÃO	10
1. Revisão da Doença de Fabry	10
2. Prevalência de glomeruloesclerose segmentar e focal em biópsias renais de pacientes com DF	12
2.1. Os depósitos de Gb3 e a pseudolipidose iatrogênica	13
2.2. Viabilidade da avaliação em blocos parafinados	14
3. Prevalência da Doença de Fabry	14
4. Doença de Fabry e transplante renal	15
5. Doença de Fabry e o biomarcador liso-Gb3	16
6. Doença de Fabry e podocitúria	16
7. O papel da inflamação no microambiente glomerular na Doença de Fabry	17
8. Estratégias de Triagem da Doença de Fabry	18
8.1. Técnicas utilizadas na triagem para Doença de Fabry	18
8.2. Triagem em recém-nascidos	19
8.3. Triagem em pacientes dialisados	19
8.4. Triagem em pacientes de alto risco	20
8.5. Triagem em pacientes com síndromes glomerulares	21
9. Terapia de Reposição Enzimática	24
II. JUSTIFICATIVA	24
III. OBJETIVO DO ESTUDO	25
IV. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	26
Capítulo II - Artigo Científico	30

CAPÍTULO I – Revisão da Literatura

I. INTRODUÇÃO

1. Revisão da Doença de Fabry

A Doença de Fabry (OMIM 301500) é uma desordem de armazenamento lisossomal ligada ao X, causada por mutações no gene GLA. A ausência ou redução drástica da atividade da enzima α -galactosidase A (α -Gal A, EC 3.2.1.22) resulta no progressivo acúmulo de glicolipídeos, principalmente a globotriasilceramida (GL-3, Gb3), em várias células do organismo e de sua forma desacilada, a globotriaosilesfingosina (liso-Gb3), no plasma (Ortiz *et al.*, 2018). O acometimento de células endoteliais vasculares, podócitos, cardiomiócitos e células musculares lisas arteriais, entre outras, como células tubulares renais e do sistema nervoso central é responsável pelas manifestações clínicas da doença (Schiffmann *et al.*, 2017).

A α -Gal A é uma glicoproteína homodimérica codificada pelo gene GLA, localizado no braço longo do cromossomo X. Várias mutações desse gene são descritas; em geral, as do tipo “*nonsense*”, em sítio de “*splice*” e “*frameshift*” resultam diminuição ou ausência da atividade da α -Gal A e estão associadas ao fenótipo clássico. Em contraste, uma proporção de mutações “*missenses*” e em sítios de “*splicing*” crípticos raros podem codificar enzimas com atividade residual da α -Gal A, o que explicaria os fenótipos tardios da doença (Ortiz *et al.*, 2018).

Em pacientes do sexo feminino heterozigotas, ocorre a inativação aleatória do cromossomo X, sendo desafiador a predição do curso da doença, podendo haver superexpressão ou supressão da mutação. Pacientes heterozigotas que expressam preferencialmente o alelo GLA normal podem apresentar poucos, se nenhum sintoma, enquanto as que expressam o alelo mutado podem apresentar curso clínico compatível com o fenótipo da doença em homens (clássica ou de início tardio) (Ortiz *et al.*, 2018).

Durante a infância e adolescência (menos de 17 anos), acroparestesias (a sensação de queimação crônica ou episódica nas palmas das mãos ou solas dos pés, exacerbada por mudanças de temperatura, febre, estresse, exercício físico) e angioqueratomas (pequenas e elevadas manchas vermelhas escuras que se desenvolvem lentamente, encontradas nas nádegas, genitália, coxas internas, costas e cavidade oral) são comuns. Anormalidades oftalmológicas, como a córnea verticillata (opacidade em forma de “*whorl*”), catarata subcapsular posterior, lesões vasculares tortuosas na retina e conjuntiva e vasos dilatados na margem superior da pálpebra podem ser encontradas. Entre outras alterações, destacam-se perda auditiva neurosensorial, hipohidrose ou anidrose, albuminúria aumentada, história de distúrbios intestinais inespecíficos e de letargia e fadiga (Schiffmann *et al*, 2017).

No início da idade adulta, aproximadamente entre 17 e 30 anos, podem aparecer angioqueratomas mais proeminentes, início de albuminúria ($> 1\text{g}/24$ horas), edema ou linfedema, febre, hipohidrose ou anidrose, sensibilidade ao calor, diarreia e dor abdominal e alterações cardíacas, como bradicardia, intervalo PR curto, hipertrofia ventricular esquerda e defeitos de condução (Schiffmann *et al*, 2017).

Na idade adulta (mais de 30 anos), apresentam-se alterações mais cronificadas, como hipertrofia ventricular fibrótica, esquerda e direita, anormalidades valvares cardíacas e disritmias, morte súbita cardíaca, angina, insuficiência cardíaca diastólica, doença renal crônica, acidentes vasculares cerebrais ou ataques isquêmicos transitórios e surdez de início agudo ou crônico (Schiffmann *et al*, 2017).

O rim é afetado em 55% dos pacientes com DF e a injúria renal leva à proteinúria e aumento dos níveis séricos de creatinina. A característica histológica mais característica na microscopia de luz é a vacuolização celular e depósitos hialinos (Valbuena *et al*., 2012), contudo, durante a evolução da doença pode-se notar desorganização da MBG e

glomeruloesclerose focal ou difusa e segmentar ou global, atrofia tubular e fibrose intersticial (Kayalar *et al.*, 2018). A DF pode estar associada a glomerulopatias primárias, sendo uma delas a GESF (Kayalar *et al.*, 2018).

O teste de atividade da α -Gal A é diagnóstica para pacientes do sexo masculino, contudo a caracterização do tipo de mutação do GLA nesses pacientes é importante para ajudar a estabelecer o fenótipo da doença, descartando polimorfismos benignos que levam à diminuição da atividade da α -Gal A e permite pesquisá-la posteriormente em familiares. Nas pacientes do sexo feminino, a detecção da mutação do GLA é necessária, uma vez que o nível de atividade enzimática plasmática geralmente está normal (Ortiz *et al.*, 2018).

A terapêutica consiste na Terapia de Reposição Enzimática (TRE), disponível no Brasil na forma de agalsidase alfa (Rapagal®) e agalsidase beta (Fabrazyme®). Há ainda a possibilidade de uso de chaperona farmacológica, o Migalastat®, na variante *amenable* da doença, cuja mutação produz uma α -Gal A com erro conformacional molecular, onde a medicação atua corrigindo tal conformação, permitindo a ação da enzima.

2. Prevalência de glomeruloesclerose segmentar e focal em biópsias renais de pacientes com DF

Um relato de caso de 2005 apresenta dois pacientes, um homem e uma mulher, com associação entre a DF e lesões de esclerose segmentares e focais e vasculares, e indaga seus valores como marcadores morfológicos na progressão da doença, sugerindo a realização de biópsia renal antes do início da TRE (Svarstad *et al.*, 2005).

Em 2009, foi publicado pelo Grupo de Estudo Internacional da Nefropatia de Fabry (ISGFN) (Fogo *et al.*, 2010) um sistema de escores para a doença renal de Fabry, sendo o achado de glomeruloesclerose comum, mesmo em pacientes com doença renal crônica estadio 1 ou 2 com discreta proteinúria. A glomeruloesclerose segmentar, discreta a intensa, foi observada em dezenove de trinta e cinco pacientes masculinos (9 DRC

estadio 1, 3 DRC estadio 2), e onze de vinte e quatro pacientes femininos (2 DRC estadio 1, 8 DRC estadio 2). A porcentagem média de glomeruloesclerose segmentar foi $4,7 \pm 7,8\%$ dos glomérulos com lesões discretas e intensas observadas na mesma biópsia. Esclerose global esteve presente em $14,8 \pm 22,7\%$ dos glomérulos. Dez de quinze pacientes masculinos (66,7%) com DRC estadio 1 tinham esclerose segmentar ou global em $6,2 \pm 8,7\%$ (mediana 2,9) de seus glomérulos, e sete de dez pacientes femininas com DRC estadio 1 tinham as mesmas lesões em $5,7 \pm 9,0\%$ (mediana 3,0).

Kalayar *et al*, 2018, investigaram em 65 pacientes com GESF a possível associação com DF, através da dosagem sérica da globotriaosilesfingosina (liso-Gb3). Nenhum dos pacientes apresentavam sinais clássicos da doença. Genotipagem com sequenciamento de DNA de Sanger foi realizado nos pacientes com atividade reduzida da α -Gal A (<1.2 mol/l/h). Nesses pacientes, nenhuma mutação foi encontrada. Nesse estudo, não foi encontrada associação de DF com GESF.

2.1. Os depósitos de Gb3 e a pseudolipidose iatrogênica

O Gb3 apresenta-se na análise ultraestrutural como estruturas membranosas lameladas intracelulares, osmiofílicas, com padrão concêntrico, denominado ‘*myelin bodies*’ ou com padrão de listras alongadas, denominado ‘*zebra bodies*’, com diâmetro de aproximadamente $0,3\text{--}10\text{ }\mu\text{m}$; (Colpart & Félix, 2017) e periodicidade lamelar de $3,5\text{--}5,0\text{ nm}$ (Silva *et al.*, 2021).

Embora a biópsia renal seja um método diagnóstico e a microscopia eletrônica de transmissão ferramenta confiável para identificar os depósitos de Gb3, eles não são patognomônicos de DF. Depósitos semelhantes são encontrados em indivíduos com nefropatia da sílica e pseudolipidose iatrogênica induzida por drogas tais como amiodarona, clo-roquina e hidroxiclороquina (Abensur & Reis, 2016) e na nefropatia associada ao LMX1B

IV. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Online Mendelian Inheritance in Man, OMIM®. McKusick-Nathans Institute of Genetic Medicine, Johns Hopkins University (Baltimore, MD), {08.11.2019}. World Wide Web URL: <https://omim.org/>
2. Ortiz, A., Germain, D. P., Desnick, R. J., Politei, J., Mauer, M., Burlina, A., Eng, C., Hopkin, R. J., Laney, D., Linhart, A., Waldek, S., Wallace, E., Weidemann, F., & Wilcox, W. R. (2018). Fabry disease revisited: Management and treatment recommendations for adult patients. *Molecular Genetics and Metabolism*, 123(4), 416–427. <https://doi.org/10.1016/j.ymgme.2018.02.014>
3. Schiffmann, R., Hughes, D. A., Linthorst, G. E., Ortiz, A., Svarstad, E., Warnock, D. G., West, M. L., & Wanner, C. (2017). Screening, diagnosis, and management of patients with Fabry disease: conclusions from a “Kidney Disease: Improving Global Outcomes” (KDIGO) Controversies Conference. *Kidney International*, 91(2), 284–293. <https://doi.org/10.1016/j.kint.2016.10.004>
4. Valbuena, C., Leitão, D., Carneiro, F., & Oliveira, J. P. (2012). Immunohistochemical diagnosis of Fabry nephropathy and localisation of globotriaosylceramide deposits in paraffin-embedded kidney tissue sections. *Virchows Archiv*, 460(2), 211–221. <https://doi.org/10.1007/s00428-011-1182-y>
5. Kayalar AO, Yilmaz M, Akbayl FG, Yücel FSK, Kudu A, Deger G, Apaydin S. *Screening of Fabry Disease in patients with Focal Segmental glomerulosclerosis*. Nephrology Dialysis Transplantation, Volume 33, Issue suppl_1, May 2018, Page i409. <https://doi.org/10.1093/ndt/gfy104.SP194>
6. Svarstad, E., Bostad, L., Kaarbøe, Houge, G., Tøndel, C., Lyngdal, P. T., & Iversen, B. M. (2005). Focal and segmental glomerular sclerosis (FSGS) in a man and a woman with Fabry’s disease. *Clinical Nephrology*, 63(5), 394–401. <https://doi.org/10.5414/CNP63394>
7. Fogo, A. B., Bostad, L., Svarstad, E., Cook, W. J., Moll, S., Barbey, F., Geldenhuys, L., West, M., Ferluga, D., Vujkovic, B., Howie, A. J., Burns, Á., Reeve, R., Waldek, S., Noël, L. H., Grünfeld, J. P., Valbuena, C., Oliveira, J. P., Müller, J., ... Warnock, D. G. (2010). Scoring system for renal pathology in Fabry disease: Report of the International Study Group of Fabry Nephropathy (ISGFN). *Nephrology Dialysis Transplantation*, 25(7), 2168–2177. <https://doi.org/10.1093/ndt/gfp528>
8. Colpart, P., & Félix, S. (2017). Fabry nephropathy. *Archives of Pathology and Laboratory Medicine*, 141(8), 1127–1131. <https://doi.org/10.5858/arpa.2016-0418-RS>
9. Silva CAB, Moura-Neto JA, Dos Reis MA, Vieira Neto OM, Barreto FC. Renal Manifestations of Fabry Disease: A Narrative Review. *Can J Kidney Health Dis*. 2021 Jan 19;8:2054358120985627. doi: 10.1177/2054358120985627. PMID: 33786192; PMCID: PMC7960898.
10. Abensur, H., & Reis, M. A. Dos. (2016). Renal involvement in Fabry disease. *Jornal Brasileiro de Nefrologia : órgão Oficial de Sociedades Brasileira e Latino-Americana de Nefrologia*, 38(2), 245–254. <https://doi.org/10.5935/0101-2800.20160034>

11. Lei L, Oh G, Sutherland S, Abra G, Higgins J, Sibley R, Troxell M, Kambham N. Myelin bodies in LMX1B-associated nephropathy: potential for misdiagnosis. *Pediatr Nephrol*. 2020 Sep;35(9):1647-1657. doi: 10.1007/s00467-020-04564-w. Epub 2020 Apr 30. PMID: 32356190.
12. Shimohata H, Miyake Y, Yoshida Y, Usui J, Mori T, Sohara E, Uchida S, Hirayama K, Kobayashi M. LMX1B-associated nephropathy that showed myelin figures on electron microscopy. *CEN Case Rep*. 2021 Nov;10(4):588-591. doi: 10.1007/s13730-021-00612-y. Epub 2021 Jun 2. PMID: 34076843; PMCID: PMC8494852.
13. Kadosawa K, Morikawa T, Konishi Y. Zebra bodies without Fabry disease or hydroxychloroquine. *Clin Exp Nephrol*. 2021 Jan;25(1):94-96. doi: 10.1007/s10157-020-01965-x. Epub 2020 Sep 11. PMID: 32915367.
14. Mehta A, Hughes DA. Fabry Disease. 2002 Aug 5 [updated 2022 Jan 27]. In: Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, Wallace SE, Bean LJH, Gripp KW, Mirzaa GM, Amemiya A, editors. *GeneReviews*® [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993–2022. PMID: 20301469
15. Hwu WL, Chien YH, Lee NC, Chiang SC, Dobrovolny R, Huang AC, Yeh HY, Chao MC, Lin SJ, Kitagawa T, Desnick RJ, Hsu LW. Newborn screening for Fabry disease in Taiwan reveals a high incidence of the later-onset GLA mutation c.936+919G>A (IVS4+919G>A). *Hum Mutat*. 2009 Oct;30(10):1397-405. doi: 10.1002/humu.21074. PMID: 19621417; PMCID: PMC2769558.
16. Spada M, Pagliardini S, Yasuda M, Tukel T, Thiagarajan G, Sakuraba H, Ponzzone A, Desnick RJ. High incidence of later-onset fabry disease revealed by newborn screening. *Am J Hum Genet*. 2006 Jul;79(1):31-40. doi: 10.1086/504601. Epub 2006 Apr 28. PMID: 16773563; PMCID: PMC1474133.
17. Burton BK, Charrow J, Hoganson GE, Waggoner D, Tinkle B, Braddock SR, Schneider M, Grange DK, Nash C, Shryock H, Barnett R, Shao R, Basheeruddin K, Dizikes G. Newborn Screening for Lysosomal Storage Disorders in Illinois: The Initial 15-Month Experience. *J Pediatr*. 2017 Nov;190:130-135. doi: 10.1016/j.jpeds.2017.06.048. Epub 2017 Jul 17. PMID: 28728811.
18. Elliott S, Buroker N, Cournoyer JJ, *et al*. Dataset and standard operating procedure for newborn screening of six lysosomal storage diseases: By tandem mass spectrometry. *Data Brief*. 2016;8:915-924. Published 2016 Jul 5. doi:10.1016/j.dib.2016.06.052
19. Veroux, M., Monte, I. P., Rodolico, M. S., Corona, D., Bella, R., Basile, A., Palmucci, S., Pistorio, M. L., Lanza, G., De Pasquale, C., & Veroux, P. (2020). Screening for fabry disease in kidney transplant recipients: Experience of a multidisciplinary team. *Biomedicines*, 8(10), 1–13. <https://doi.org/10.3390/biomedicines8100396>
20. Suarez, a L. G., Thongprayoon, C., Hansrivijit, P., Medaura, J., Vaitla, P., Mao, M. A., Bathini, T., Boonpheng, B., Kanduri, S. R., & Karthik. (2020). Outcomes of Kidney Transplantation in Fabry Disease: A Meta-Analysis. *Diseases*, 102(11), 1924–1933. <https://doi.org/10.1097/TP.0000000000002252>

21. Nowak, A., Mechtler, T. P., Desnick, R. J., & Kasper, D. C. (2017). Plasma LysoGb3: A useful biomarker for the diagnosis and treatment of Fabry disease heterozygotes. *Molecular Genetics and Metabolism*, 120(1–2), 57–61. <https://doi.org/10.1016/j.ymgme.2016.10.006>
22. Carnicer-Cáceres C, Arranz-Amo JA, Cea-Arestin C, Camprodon-Gomez M, Moreno-Martinez D, Lucas-Del-Pozo S, Moltó-Abad M, Tigri-Santiña A, Agraz-Pamplona I, Rodriguez-Palomares JF, Hernández-Vara J, Armengol-Bellapart M, Del-Toro-Riera M, Pintos-Morell G. Biomarkers in Fabry Disease. Implications for Clinical Diagnosis and Follow-up. *J Clin Med*. 2021 Apr 13;10(8):1664. doi: 10.3390/jcm10081664. PMID: 33924567; PMCID: PMC8068937.
23. Pereira, E. M., Silva, A. S. da, Labilloy, A., Monte Neto, J. T. do, & Monte, S. J. H. do. (2016). Podocyturia in Fabry disease. *Jornal Brasileiro de Nefrologia : 'orgao Oficial de Sociedades Brasileira e Latino-Americana de Nefrologia*, 38(1), 49–53. <https://doi.org/10.5935/0101-2800.20160008>
24. Levstek, T., Vujkovic, B., & Podkrajsek, K. T. (2020). Biomarkers of fabry nephropathy: Review and future perspective. *Genes*, 11(9), 1–19. <https://doi.org/10.3390/genes11091091>
25. Rozenfeld P, Feriozzi S. Contribution of inflammatory pathways to Fabry disease pathogenesis. *Mol Genet Metab*. 2017 Nov;122(3):19-27. doi: 10.1016/j.ymgme.2017.09.004. Epub 2017 Sep 13. PMID: 28947349.
26. Tol, L. Van Der, Smid, B. E., Poorthuis, B. J. H. M., Biegstraaten, M., Deprez, R. H. L., Linthorst, G. E., & Hollak, C. E. M. (2014). *A systematic review on screening for Fabry disease : prevalence of individuals with genetic variants of unknown significance*. 1–9. <https://doi.org/10.1136/jmedgenet-2013-101857>
27. Sawada, T., Kido, J., Yoshida, S., Sugawara, K., & Momosaki, K. (2020). Newborn screening for Fabry disease in the western region of Japan. *Molecular Genetics and Metabolism Reports*, 22(November 2019), 100562. <https://doi.org/10.1016/j.ymgmr.2019.100562>
28. Colon, C., Ortolano, S., Melcon-crespo, C., Alvarez, J. V, Lopez-suarez, O. E., Couce, M. L., Fernández-lorenzo, J. R., Colon, C., & Melcon-crespo, C. (2017). *Newborn screening for Fabry disease in the north-west of Spain*. 1075–1081. <https://doi.org/10.1007/s00431-017-2950-8>
29. Inoue, T., Hattori, K., Ihara, K., Ishii, A., Nakamura, K., & Hirose, S. (2013). Newborn screening for Fabry disease in Japan : prevalence and genotypes of Fabry disease in a pilot study. *Journal of Human Genetics*, 58(8), 548–552. <https://doi.org/10.1038/jhg.2013.48>
30. Trachoo, O., Jittorntam, P., Pibalyart, S., & Kajanachumphol, S. (2017). *Screening of Fabry disease in patients with end-stage renal disease of unknown etiology : the first Thailand study*. 31(August 2016), 17–24. <https://doi.org/10.7555/JBR.31.20160063>

31. Moiseev S, Fomin V, Savostyanov K, Pushkov A, Moiseev A, Svistunov A, Nama-zova-Baranova L. The Prevalence and Clinical Features of Fabry Disease in Hemodialy-sis Patients: Russian Nationwide Fabry Dialysis Screening Program. *Nephron*. 2019;141(4):249-255. doi: 10.1159/000495886. Epub 2019 Jan 24. PMID: 30677769; PMCID: PMC6492520.
32. Nishino T, Obata Y, Furusu A, Hirose M, Shinzato K, Hattori K, Nakamura K, Matsu-moto T, Endo F, Kohno S. Identification of a novel mutation and prevalence study for fabry disease in Japanese dialysis patients. *Ren Fail*. 2012;34(5):566-70. doi: 10.3109/0886022X.2012.669300. PMID: 22563919.
33. Okur I, Ezgu F, Biberoglu G, Tumer L, Erten Y, Isitman M, Eminoglu FT, Hasanoglu A. Screening for Fabry disease in patients undergoing dialysis for chronic renal failure in Turkey: identification of new case with novel mutation. *Gene*. 2013 Sep 15;527(1):42-7. doi: 10.1016/j.gene.2013.05.050. Epub 2013 Jun 10. PMID: 23756194.
34. Silva CA, Barreto FC, Dos Reis MA, Moura Junior JA, Cruz CM. Targeted Screening of Fabry Disease in Male Hemodialysis Patients in Brazil Highlights Importance of Family Screening. *Nephron*. 2016 ;134(4):221-230. DOI: 10.1159/000448740. PMID: 27576502.
35. Yoshida S, Kido J, Sawada T, Momosaki K, Sugawara K, Matsumoto S, Endo F, Nakamura K. Fabry disease screening in high-risk populations in Japan: a nationwide study. *Orphanet J Rare Dis*. 2020 Aug 26;15(1):220. doi: 10.1186/s13023-020-01494-6. PMID: 32843101; PMCID: PMC7448968.
36. Skrunes, R., Svarstad, E., Larsen, K. K., Leh, S., & Tondel, C. (2017). Reaccumulation of globotriaosylceramide in podocytes after agalsidase dose reduction in young Fabry patients. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 32(5), 807–813. <https://doi.org/10.1093/ndt/gfw094>

CAPÍTULO II – Artigo Científico

Artigo científico apresentado conforme as normas especificadas na revista “Surgical and Experimental Pathology”. Disponível em:
<https://surgexppathol.biomedcentral.com/submission-guidelines>