



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

Oswaldo Theodoro da Paz

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

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de Botucatu, para obtenção do título de Mestre em Fisiopatologia em Clínica Médica.

Orientador: Prof. Dr. Luís Gustavo Modelli de Andrade

Botucatu
2022

Oswaldo Theodoro da Paz

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

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de Botucatu, para obtenção do título de Mestre em Fisiopatologia em Clínica Médica.

Orientador: Prof. Dr. Luís Gustavo Modelli de Andrade

Botucatu
2022

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE-CRB 8/5651

Paz, Osvaldo Theodoro da.

Perfil genético e fenotípico da doença de Fabry na
população do Vale do Paraíba e zona leste de São Paulo /
Osvaldo Theodoro da Paz. - Botucatu, 2022

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista
"Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina de
Botucatu

Orientador: Luis Gustavo Modelli de Andrade
Capes: 40101002

1. Doença de Fabry. 2. Insuficiência renal crônica.
3. Biomarcadores. 4. Perfil genético.

Palavras-chave: Biomarcadores; Doença de Fabry;
Insuficiência renal crônica; lyso GB3.

Agradecimentos

A realização deste trabalho de Mestrado só foi possível graças à colaboração de pessoas especiais que contribuíram de forma direta e indireta, a elas o meu mais sincero e profundo agradecimento.

Em primeiro lugar, agradeço a Deus pelo dom da vida e pela possibilidade de hoje estar trilhando esse caminho, dentro de uma Universidade de ponta e prestígio, com pessoas éticas e do mais alto gabarito intelectual.

De forma muito especial, agradeço ao meu orientador Professor Doutor Luís Gustavo Modelli de Andrade que me acolheu para esta jornada, pela sua sensibilidade, disponibilidade, apoio e incentivo, com dedicação, rigor técnico, sempre presente e disponível, com conselhos e orientações que nortearam todo o trabalho que hoje concretizamos.

À amiga e enfermeira Rosiane Cassia Teixeira Lacerda, pessoa fundamental nesta jornada dos pacientes com Doença de Fabry, com seu apoio e dedicação este sonho se tornou real, gratidão por estar sempre disponível e disposta a aprender e ajudar, um modelo de ser humano a ser seguido.

Aos professores e formadores pela prestimosa colaboração, paciência e conhecimentos ministrados com carinho e imensa dedicação.

Aos colegas de curso que sempre mantiveram um espírito de amizade e auxílio, contribuindo para meu crescimento pessoal e intelectual.

Aos funcionários da Instituição que sempre estiveram disponíveis a ajudar e, de forma especial, à Vânia Soler da pós-graduação, que nunca nos deixou sem auxílio.

Aos meus pacientes que acreditaram e aceitaram participar deste desafio, se tornando objeto do estudo e partilhando suas vidas conosco.

À banca examinadora que com muita sabedoria orientou melhorias e corrigiu deficiências.

Aos meus pais José Theodoro da Paz e Adelaide Siqueira da Paz (*in memoriam*) que sempre me incentivaram e não mediram esforços para que eu tivesse acesso ao conhecimento, apesar de serem semianalfabetos. Ao meu irmão Paulo Theodoro da Paz pelo apoio e ajuda em diversos momentos.

À minha esposa Maria Julia e minha filha Maria Catarina que com imenso amor e abnegação aceitaram dividir comigo o tempo e as ausências para que fosse possível

a conclusão deste projeto, me oferecendo apoio e compreensão inestimáveis, com constante encorajamento a fim de prosseguir a elaboração deste trabalho. E por fim às minhas sobrinhas Maria Eduarda, Maria Clara e Natan que me ajudaram com apoio tecnológico.

A todos, reitero o meu apreço e a minha eterna gratidão.

RESUMO

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

Palavras-chave: Doença de Fabry; Insuficiência Renal Crônica, lysoGB3; biomarcadores.

ABSTRACT

Introduction: Fabry disease (FD) is an inborn error of metabolism characterized by a deficiency of the enzyme α -galactosidase A. The primary objective was to evaluate the genetic and phenotypic profile of Fabry disease in the population undergoing hemodialysis. **Methods:** An observational cohort study to determine the incidence of genetic variations and phenotypic changes in patients undergoing hemodialysis therapy in Vale do Paraiba and East Zone of São Paulo. Genetic testing for the GLA gene was performed for men and women in all hemodialysis clinic patients over 12 years of age between January-2016 to December-2019 as a screening protocol. **Results:** The sample result from screening tests of the index case among patients with chronic kidney disease, resulting in 17 families totaling 82 patients in the study. The most prevalent variant was the variant of uncertain significance (54%) followed by the pathogenic variant (46%). Five patients in two families were described with two types of variants not previously described in the literature with pathogenic behavior. When comparing the types of variants, the presence of a pathogenic variant was associated with higher levels of lysoGB3, lower values of alpha-GAL activity and higher frequency of symptoms related to FB. **Conclusion:** We characterized an extensive population of patients with FB with a wealth of genetic, clinical and biomarker details. We believe that this study can help to better characterize the Brazilian population with FD and the most frequent types of variants.

Key-words: Fabry Disease, Chronic Kidney Failure, lysoGB3; biomarkers.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. A. Número total de casos e famílias em estudo por tipo de variante no estudo de Fabry no Vale do Paraíba e na Zona Leste de São Paulo; B. Número total de casos por tipo de variante.....	16
Figura 2. Região geográfica da população do estudo.	17
Figura 3. A. Correlação entre sintomas clínicos nos pacientes com variantes de Fabry do Vale do Paraíba e Zona Leste de São Paulo (network plot); B. Correlação entre sintomas clínicos nos pacientes com variantes de Fabry do Vale do Paraíba e Zona Leste de São Paulo excluindo os casos de VUS (network plot).....	22
Figura 4. Correlação entre sintomas clínicos na população com variantes de Fabry do Vale do Paraíba e da Zona Leste de São Paulo.	23
Figura 5. Correlação entre sintomas clínicos nos pacientes com variantes de Fabry do Vale do Paraíba e da Zona Leste de São Paulo excluindo os casos de VUS.....	23
Figura 6. Concentração de lysoGB3 entre os grupos de variantes VUS e patogênicas nos pacientes com variantes para Fabry do Vale do Paraíba e Zona Leste de São Paulo (estratificados por sexo).	24
Figura 7. Concentração de alfa-GAL entre os grupos de variantes VUS e patogênicas nos pacientes com variantes para Fabry do Vale do Paraíba e Zona Leste de São Paulo.	25

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Localização geográfica dos casos e tipos de variantes no estudo de Fabry do Vale do Paraíba e Zona Leste de São Paulo. 17

Tabela 2. Características gerais, genótipo e fenótipo dos pacientes com variantes para Fabry do Vale do Paraíba e da Zona Leste de São Paulo. 19

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

DF: Doença de Fabry

α -gal A: α -galactosidase A lisossômica

Gb3: glicosfingolípídeo

IBGE: Instituto Brasileiro de Geografia e estatística

VUS: Variante de significado incerto

TER: Terapia de reposição enzimática

PAS: Pressão arterial sistólica

PAD: Pressão arterial diastólica

eGFR: Taxa de filtração glomerular estimada

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	11
2.	OBJETIVO.....	12
3.	MATERIAIS E MÉTODOS.....	12
3.1.	DESENHO DO ESTUDO	12
3.2.	POPULAÇÃO DE ESTUDO.....	12
3.3.	CRITÉRIOS DE INCLUSÃO/EXCLUSÃO.....	12
3.4.	PROTOCOLO DE RASTREIO E AVALIAÇÃO DOS CASOS POSITIVOS.....	12
3.5.	DEFINIÇÕES	13
3.6.	GRUPOS	14
3.7.	CÁLCULO DA AMOSTRA	14
3.8.	ANÁLISES ESTATÍSTICAS	15
4.	RESULTADOS	15
4.1.	ANÁLISE DE INCIDÊNCIAS.....	17
4.2.	ANÁLISE DESCRITIVA DA POPULAÇÃO	18
4.3.	ANÁLISE DESCRITIVA SENSIBILIZADA.....	18
4.4.	DESCRIÇÃO DETALHADA DOS CASOS DE VUS.....	21
4.5.	ANÁLISE ENTRE GRUPOS DE VARIANTES	21
4.6.	ANÁLISE DE CORRELAÇÃO DOS SINTOMAS CLÍNICOS.....	22
4.7.	ANÁLISE DOS BIOMARCADORES E ATIVIDADE DA ALFA-GAL.....	24
4.7.1.	ANÁLISE DE LYSOGB3 NO BASELINE.....	24
4.7.2.	ANÁLISE ATIVIDADE DA ALFA-GAL NO BASELINE	24
5.	DISCUSSÃO	25
5.1.	ANÁLISE DA POPULAÇÃO.....	26
5.2.	VARIANTES PATOGÊNICAS.....	26
5.3.	DESCRIÇÃO DAS VUS	27
5.4.	COMPARAÇÃO ENTRE VARIANTES.....	28
5.5.	CORRELAÇÃO ENTRE SINTOMAS CLÍNICOS	28
6.	LIMITAÇÕES DO ESTUDO.....	29
7.	CONCLUSÕES	29
	REFERÊNCIAS.....	30

1. INTRODUÇÃO

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

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

2. OBJETIVO

O objetivo primário foi avaliar o perfil genético e fenotípico para a doença de Fabry na população em hemodiálise do Vale do Paraíba e na Zona Leste de São Paulo estendendo a análise aos familiares dos casos afetados.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. DESENHO DO ESTUDO

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

3.2. POPULAÇÃO DE ESTUDO

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

3.3. CRITÉRIOS DE INCLUSÃO/EXCLUSÃO

Os critérios de inclusão utilizados foram: todos os pacientes em terapia renal substitutiva tipo hemodiálise concordantes; os familiares dos pacientes com teste genético positivo observando o padrão de herança ligado ao cromossomo X até a terceira geração. Foram excluídos os pacientes com idade inferior a 12 anos.

3.4. PROTOCOLO DE RASTREIO E AVALIAÇÃO DOS CASOS POSITIVOS

Nos homens foi realizado a dosagem da atividade enzimática da alfa-GAL e nas mulheres foi realizado o teste de sequenciamento do gene GLA. Adicionalmente, nos homens com atividade da α -GAL menor que o valor de referência (15,3 $\mu\text{mol/L/h}$) foi realizado o teste genético para o gene GLA. Os casos de análise genética positiva foram seguidos por médico especialista na doença de Fabry para determinar a

patogenicidade da variante através de análise clínica, familiar e dos exames complementares. Foram realizadas análises clínicas incluindo a pesquisa de sinais e sintomas para Fabry, tais como história de dor neuropática e pesquisa de angioqueratomas. Os pacientes foram submetidos ao exame de lâmpada de fenda para pesquisa de córnea verticillata, análise da função renal através da estimativa de filtração glomerular e proteinúria, avaliação da função cardíaca e massa ventricular por ecocardiograma. As análises clínicas, bioquímicas e genéticas foram estendidas aos familiares do caso índice.

3.5. DEFINIÇÕES

Todas as análises de atividade enzimática da alfa-GAL e testes genéticos foram realizados por análise de papel de filtro no laboratório CENTOGENE (AG; Schillingallee 68; 18057 Rostock, Germany). A análise do lysoGB3 foi realizada por espectrometria de massa por cromatografia líquida. O valor de referência para o lyso-GB3 foi de 1,8 ng/mL. A análise da alfa-GAL foi realizada pelo método da fluorimetria. O valor de normalidade para atividade da alfa-GAL foi de 15,3 $\mu\text{mol/L/h}$. O gene GLA foi analisado por uma abordagem de sequenciamento de próxima geração baseada em amplicóns. Os amplicóns cobrem toda a região codificante e as junções de splice éxon-intron altamente conservadas. Uma cobertura mínima de 20 vezes para cada amplicón foi alcançada. Regiões ausentes ou regiões com baixa qualidade são completadas com o sequenciamento clássico de Sanger para atingir 100% de cobertura. Regiões ausentes ou regiões com baixa qualidade são completadas com o sequenciamento clássico de Sanger para atingir 100% de cobertura. A sequência de referência foi: GLA: NM_000169.2.

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

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

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

As localizações geográficas das cidades de moradias dos casos índices e familiares foram obtidas pelas coordenadas do *Google maps* (<https://www.google.com.br/maps/preview>). A população de cada município foi obtida no IBGE para o ano de 2021. Para o município de São Paulo foi considerada a sub-região de morada de cada família (Penha e Grajaú) sendo somadas a população destas duas sub-regiões. Os cálculos de incidência de DF foram feitos por 100.000 habitantes.

3.6. GRUPOS

Para as descrições das características genotípicas e fenotípicas os pacientes formam divididos em sexo masculino e feminino. Foram realizadas análises dos pacientes agrupados por tipo de variante em dois grupos: variante de significado incerto (VUS) e patogênica.

3.7. CÁLCULO DA AMOSTRA

Estima-se que foram realizados exames de rastreio em aproximadamente 1980 pacientes em hemodiálise no período do estudo. A incidência estimada de Doença de Fabry nesta população é estimada entre 0,25 e 0,5% (11,12). Segundo Laney et al para cada caso índice estima-se o encontre de 5 familiares com DF (18). Assim

estima-se 5 a 10 casos índices com diagnóstico de Fabry e estendendo a análise para os familiares estima-se um total de 25 a 50 pacientes.

3.8. ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Os dados numéricos foram descritos em mediana e percentis 25 e 75%. A normalidade foi aferida pelo teste de Shapiro-Wilk. Os dados contínuos foram apresentados em número e percentagem. Os dados faltosos foram descritos em todas as tabelas. As análises de sensibilidade foram realizadas excluindo os pacientes portadores de VUS.

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

Para as análises de correlação foi utilizado teste de correlação de Spearman. Os coeficientes de correlação foram o rho de Spearman. Para os sintomas clínicos, foram feitos gráficos de correlação usando a network plot criado a partir um painel de correlação no qual as variáveis que são mais altamente correlacionadas aparecem mais próximas e são unidas por setas. As setas são coloridas por seu sinal (verde para positivo e vermelho para negativo). A proximidade dos pontos é determinada usando agrupamento multidimensional. Os gráficos foram construídos com o pacote ggplot2 e as análises estatísticas realizadas com o software R versão 4.0.1.

4. RESULTADOS

Obtivemos um total de 94 casos em estudo provenientes de 17 diferentes famílias. Excluindo os menores de 12 anos restaram 82 casos em análise. A família menos numerosa teve um caso e a mais numerosa 29 casos. Houve 9 famílias com variantes classificadas como patogênicas e 8 famílias com variantes de significado incerto (VUS) (Figura 1A).

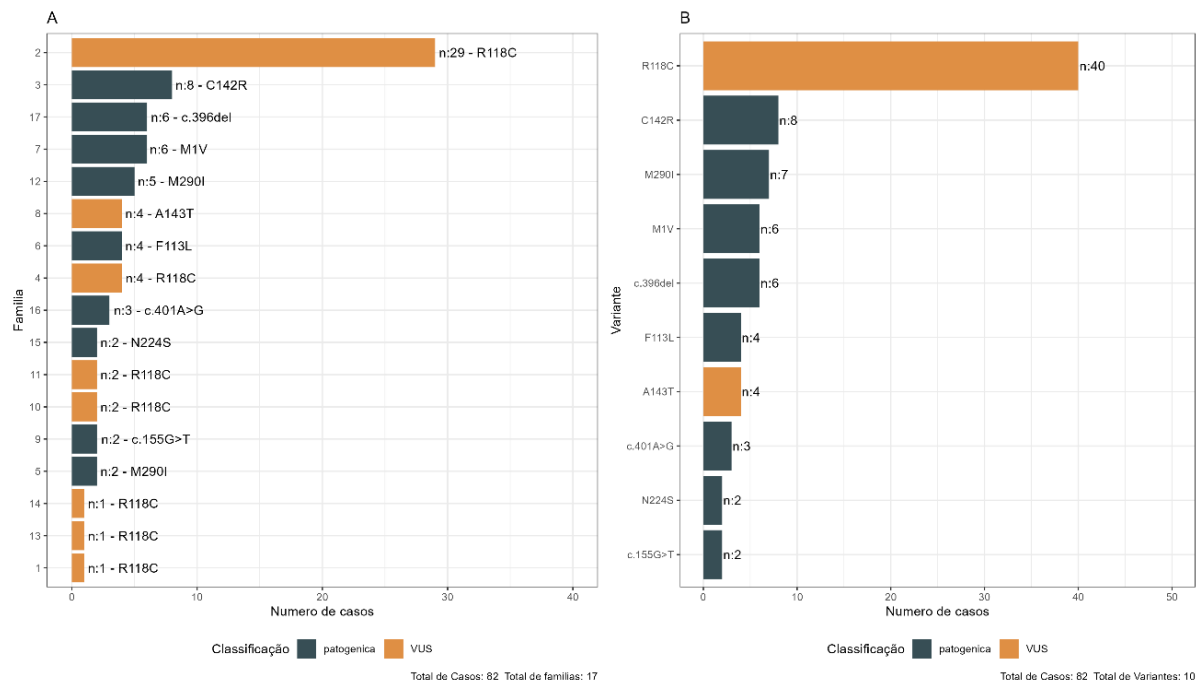


Figura 1. A. Número total de casos e famílias em estudo por tipo de variante no estudo de Fabry no Vale do Paraíba e na Zona Leste de São Paulo; **B.** Número total de casos por tipo de variante.

Todos os casos 82 casos foram provenientes de rastreamento de pacientes em hemodiálise. Foram 13 casos índices (6 do sexo feminino) provenientes de pacientes de hemodiálise e 69 provenientes de rastreamento familiar do caso índice. No total foram descritas 10 variantes relacionadas ao gene GLA. Obtivemos 8 casos de variantes patogênicas (C142R, M290I, c.396del, F113L, N224S, c.401A>G, M1V e c.155G>T) e duas variantes classificadas como VUS (R118C, e A143T) (Figura 1B). Do grupo das patogênicas duas variantes, não previamente descritas, puderam ser classificadas como patogênicas (c.401A>G e c.155G>T). A variante M1V reportada como VUS pode ser caracterizada como patogênica devido confirmação por histologia do caso índice.

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

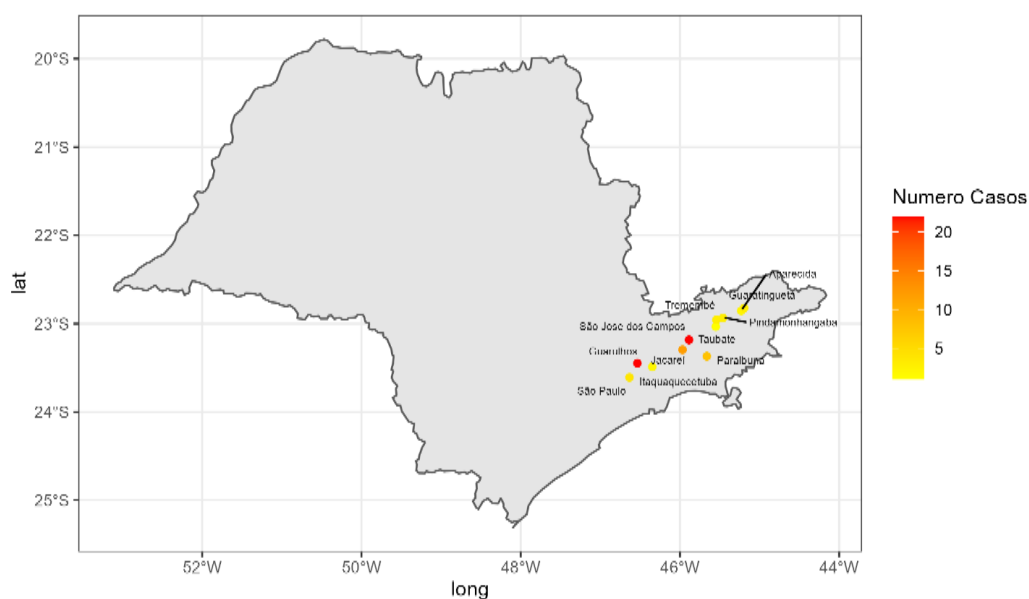


Figura 2. Região geográfica da população do estudo.

Tabela 1. Localização geográfica dos casos e tipos de variantes no estudo de Fabry do Vale do Paraíba e Zona Leste de São Paulo.

Cidade	Variante	Classe variante	Nº de casos	Latitude	Longitude
Aparecida	M290I	Patogênica	2	-22.84800	-45.22740
Guaratinguetá	c.396del	Patogênica	3	-22.81620	-45.19350
Guarulhos	A143T	VUS	4	-23.45416	-46.53410
Guarulhos	c.401A>G	Patogênica	3	-23.45416	-46.53410
Guarulhos	M1V	Patogênica	6	-23.45416	-46.53410
Guarulhos	M290I	Patogênica	5	-23.45416	-46.53410
Guarulhos	R118C	VUS	4	-23.45416	-46.53410
Itaquaquecetuba	R118C	VUS	2	-23.48660	-46.34890
Jacareí	R118C	VUS	12	-23.30550	-45.96700
Paraibuna	C142R	Patogênica	8	-23.38140	-45.66260
Pindamonhangaba	F113L	Patogênica	3	-22.92782	-45.45957
São Jose dos Campos	R118C	VUS	22	-23.17910	-42.88720
São Paulo	c.155G>T	Patogênica	2	-23.61824	-46.63520
São Paulo	N224S	Patogênica	2	-23.61824	-46.63520
Taubaté	F113L	Patogênica	1	-23.03090	-45.54830
Tremembé	c.396del	Patogênica	3	-22.96050	-45.54070

4.1. ANÁLISE DE INCIDÊNCIAS

Para as análises de incidência foram consideradas apenas as variantes patogênicas. A incidência global da doença de Fabry apresentou uma frequência de 0,16 casos por 100.000 habitantes, sendo menor em Taubaté (0,31 casos/100.000) e maior em Paraibuna (5,46 casos/100.000).

4.2. ANÁLISE DESCRITIVA DA POPULAÇÃO

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

4.3. ANÁLISE DESCRITIVA SENSIBILIZADA

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

Tabela 2. Características gerais, genótipo e fenótipo dos pacientes com variantes para Fabry do Vale do Paraíba e da Zona Leste de São Paulo.

Variável	Patogênica (n = 38)¹	VUS (n = 44)¹	p-valor²
<i>Idade (anos)</i>	41 (27, 50)	38 (24, 53)	0,8
<i>Sexo</i>			0,6
Feminino	23 (61%)	29 (66%)	
Masculino	15 (39%)	15 (34%)	
<i>Raça</i>			0,6
Branco	36 (95%)	43 (98%)	
Negra	2 (5,3%)	1 (2,3%)	
<i>Tabagismo</i>			0,7
Sim	4 (11%)	3 (7,0%)	
Não	32 (89%)	40 (93%)	
Desconhecido	2	1	
<i>Hipertensão arterial</i>			0,7
Sim	11 (31%)	15 (35%)	
Não	25 (69%)	28 (65%)	
Desconhecido	2	1	
<i>Diabetes Mellitus</i>			>0,9
Sim	3 (8,3%)	4 (9,3%)	
Não	33 (92%)	39 (91%)	
Desconhecido	2	1	
<i>PAS (mmHg)</i>	120 (110, 140)	120 (110, 130)	>0,9
Dados faltoso	7	3	
<i>PAD (mmHg)</i>	80 (70, 80)	80 (70, 80)	0,6
Dados faltoso	7	3	
<i>eGFR (mL/min)</i>	97 (77, 106)	78 (59, 102)	0,11
Dados faltoso	10	12	
<i>Proteinúria (mg/24h)</i>	1 (0, 37)	60 (1, 88)	0,056
Dados faltoso	11	13	
Genética			
<i>Variante tipo</i>			0,008
Deleção	6 (16%)	0 (0%)	
Missense	32 (84%)	44 (100%)	
<i>Diagnóstico</i>			
Triagem	38 (100%)	44 (100%)	
Sintomas			
<i>Córnea verticillata</i>			0,003
Não	28 (80%)	42 (100%)	
Sim	7 (20%)	0 (0%)	
Dados faltoso	3	2	
<i>Angioqueratoma</i>			0,003
Não	28 (80%)	42 (100%)	
Sim	7 (20%)	0 (0%)	
Dados faltoso	3	2	
<i>Diarreia</i>			>0,9
Não	32 (91%)	39 (93%)	
Sim	3 (8,6%)	3 (7,1%)	
Dados faltoso	3	2	
<i>Ortopneia</i>			0,071
Não	28 (80%)	40 (95%)	

Variável	Patogênica (n = 38) ¹	VUS (n = 44) ¹	p-valor ²
Sim	7 (20%)	2 (4,8%)	
Dado faltoso	3	2	
Palpitações			0,3
Não	19 (54%)	28 (67%)	
Sim	16 (46%)	14 (33%)	
Dado faltoso	3	2	
Hipoacusia			>0,9
Não	34 (97%)	40 (95%)	
Sim	1 (2,9%)	2 (4,8%)	
Dado faltoso	3	2	
Acroparestesia			0,10
Não	8 (23%)	17 (40%)	
Sim	27 (77%)	25 (60%)	
Dado faltoso	3	2	
Hipoidrose			0,010
Não	9 (26%)	23 (55%)	
Sim	26 (74%)	19 (45%)	
Dado faltoso	3	2	
Cefaleia			0,3
Não	16 (46%)	24 (57%)	
Sim	19 (54%)	18 (43%)	
Dado faltoso	3	2	
Alterações de humor			0,5
Não	29 (83%)	37 (88%)	
Sim	6 (17%)	5 (12%)	
Dado faltoso	3	2	
Dor abdominal			0,012
Não	19 (54%)	34 (81%)	
Sim	16 (46%)	8 (19%)	
Dado faltoso	3	2	
Perda auditiva			0,7
Não	31 (89%)	39 (93%)	
Sim	4 (11%)	3 (7,1%)	
Dado faltoso	3	2	
Biomarcadores e Tratamento			
lysoGB3 (ng/mL)	4 (2, 24)	1 (1, 2)	<0,001
Dado faltoso	0	2	
Alfa-GAL (mmol/h/L)	2,00 (0,83, 2,00)	7,50 (5,73, 8,78)	<0,001
Dado faltoso	24	30	
Tratamento TRE			<0,001
Sim	28 (74%)	16 (37%)	
Não	3 (7,9%)	22 (51%)	
Solicitado	7 (18%)	5 (12%)	
Dado faltoso	0	1	

²Teste de soma de postos de Wilcoxon; teste Qui-quadrado de Pearson; teste exato de Fisher; PAS: pressão arterial sistólica; PAD: pressão arterial diastólica; eGFR: função renal estimada; VUS: variante de significado incerto; TER: terapia de substituição enzimática.

4.4. DESCRIÇÃO DETALHADA DOS CASOS DE VUS

A maioria dos casos relatados foram variantes de significado incerto (VUS). Foram 44 casos correspondendo a 52% do total. Os casos de R118C foram mais frequentes (n = 40). Neste grupo a mediana de idade ao diagnóstico foi de 37 (21-53) anos, com 65% de mulheres. Não houve casos de sintomas de angioqueratomas ou presença de córnea verticillata. Houve 55% de acroparestesias e 7,9% de casos de perda auditiva. A função renal mediana foi de 78 (60-103) mL/min e a proteinúria de 59 (1-87) mg/24h. A concentração mediana de lysoGb3 foi de 1,4 (1,2 – 1,6) ng/mL. A atividade da alfa-GAL foi de 8,2 (6,7 a 8,8) mmol/h/L o que corresponde a 54% de atividade do valor de referência. O caso índice foi uma paciente do sexo feminino em hemodiálise. Do total 12 pacientes (31% dos casos) estavam em tratamento com terapia de reposição enzimática.

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

4.5. ANÁLISE ENTRE GRUPOS DE VARIANTES

Realizamos uma comparação entre os 2 tipos de variantes (VUS e patogênica). As características de idade, sexo, presença de comorbidades e função renal foram semelhantes entre os grupos. A presença de deleção foi mais frequente nas variantes patogênicas comparadas a VUS: 16% versus 0% (p = 0,008). A presença de sintomas específicos da doença de Fabry como angioqueratomas de córnea verticillata foram mais frequentes nas variantes patogênicas comparadas a VUS: 20% versus 0% (p = 0,003). Não houve diferenças na presença de acroparestesias entre os grupos. A concentração de lysoGB3 foi maior nas variantes patogênicas 4 (2-24) ng/mL comparadas a variantes VUS 1 (1-2) ng/mL (p<0,001). A atividade enzimática de alfa-GAL foi menor nas variantes patogênicas comparadas as variantes VUS (p<0,001). O

tratamento com terapia de reposição enzimática foi mais frequente nas variantes patogênicas comparados a VUS: 74% versus 37%($p < 0,001$) (Tabela 2).

4.6. ANÁLISE DE CORRELAÇÃO DOS SINTOMAS CLÍNICOS

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

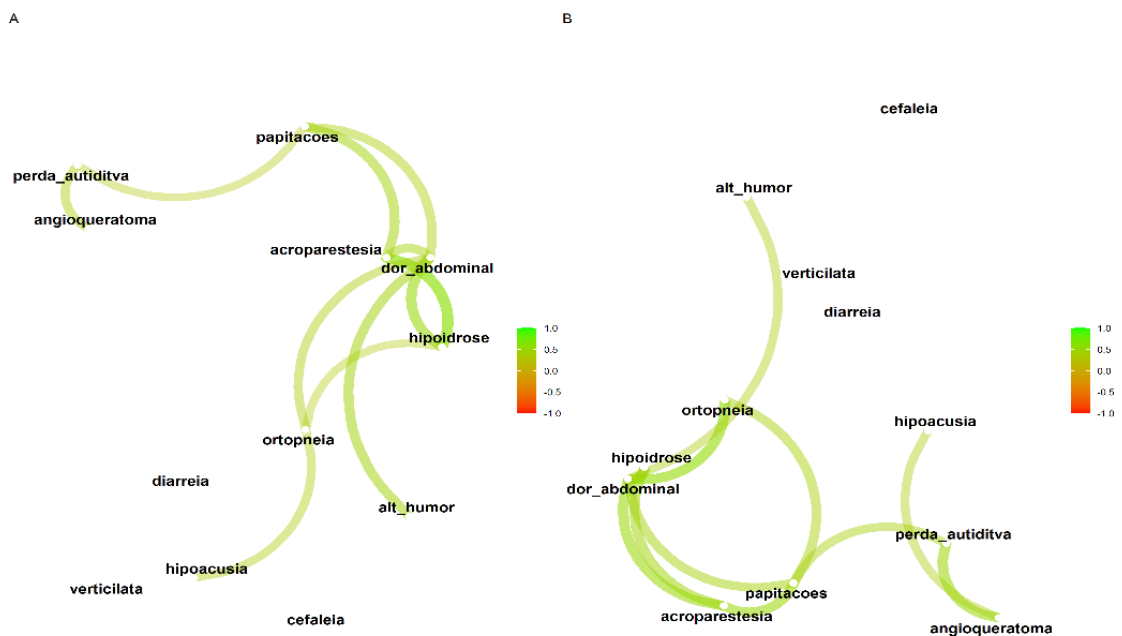


Figura 3. A. Correlação entre sintomas clínicos nos pacientes com variantes de Fabry do Vale do Paraíba e Zona Leste de São Paulo (network plot); **B.** Correlação entre sintomas clínicos nos pacientes com variantes de Fabry do Vale do Paraíba e Zona Leste de São Paulo excluindo os casos de VUS (network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

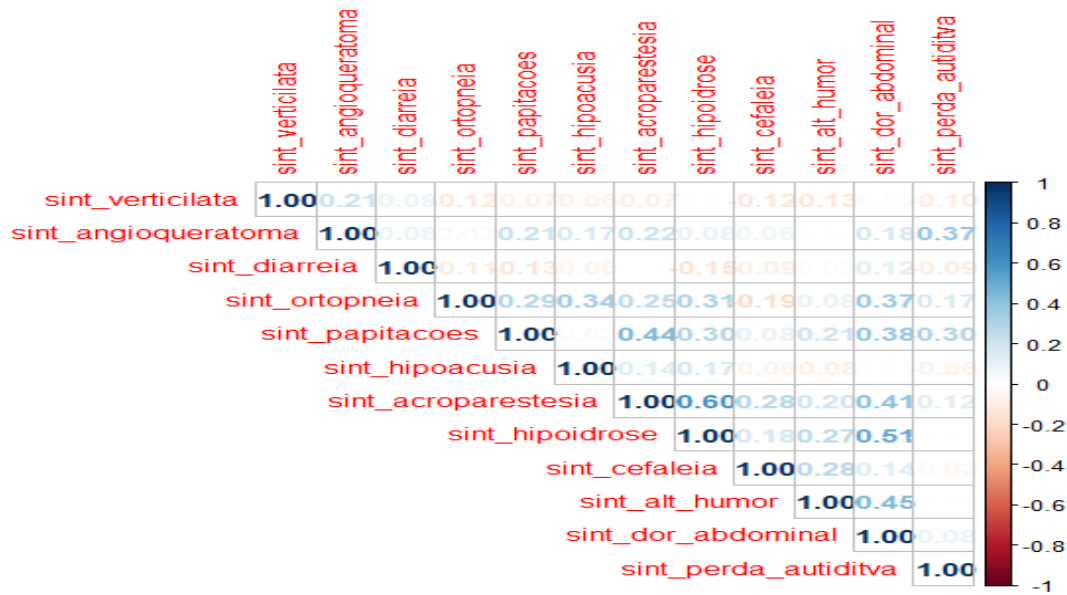


Figura 4. Correlação entre sintomas clínicos na população com variantes de Fabry do Vale do Paraíba e da Zona Leste de São Paulo.

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

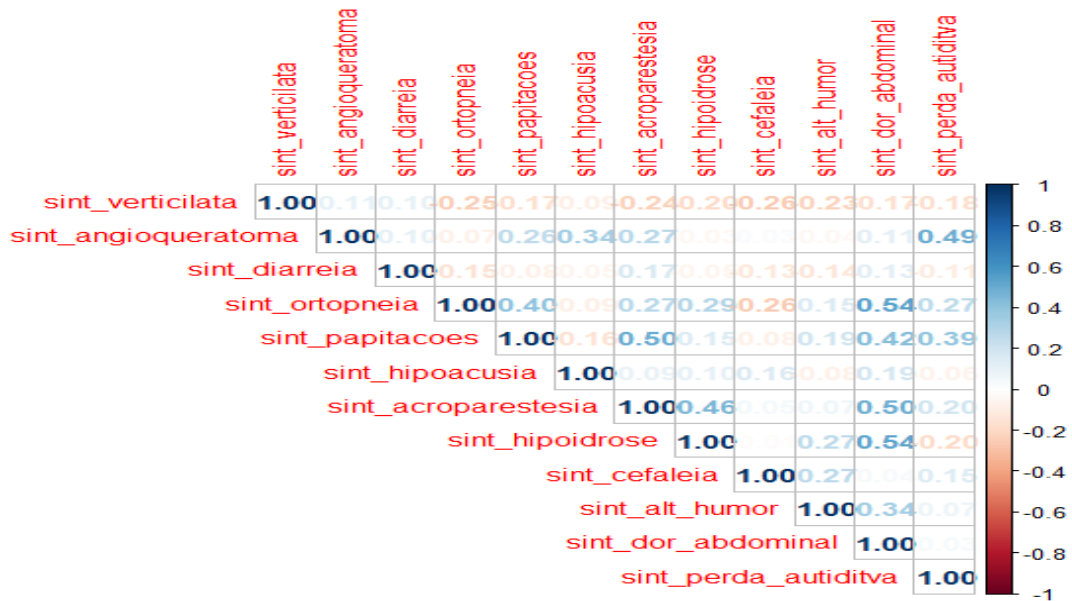


Figura 5. Correlação entre sintomas clínicos nos pacientes com variantes de Fabry do Vale do Paraíba e da Zona Leste de São Paulo excluindo os casos de VUS.

4.7. ANÁLISE DOS BIOMARCADORES E ATIVIDADE DA ALFA-GAL

4.7.1. ANÁLISE DE LYSOGB3 NO BASELINE

A concentrações medianas no sexo feminino foram respectivamente para o grupo patogênico e VUS: 3,40 (1,45 – 5,05) ng/mL versus 1,40 (1,20 – 1,63) ng/mL ($p < 0,001$). A concentrações medianas no sexo masculino foram respectivamente para grupo patogênico e VUS: 44 (5 - 58) ng/mL versus 2 (1 - 2) ng/mL, sendo o valor de referência menor que 1,8 ng/mL ($p < 0,001$) (Figura 6).

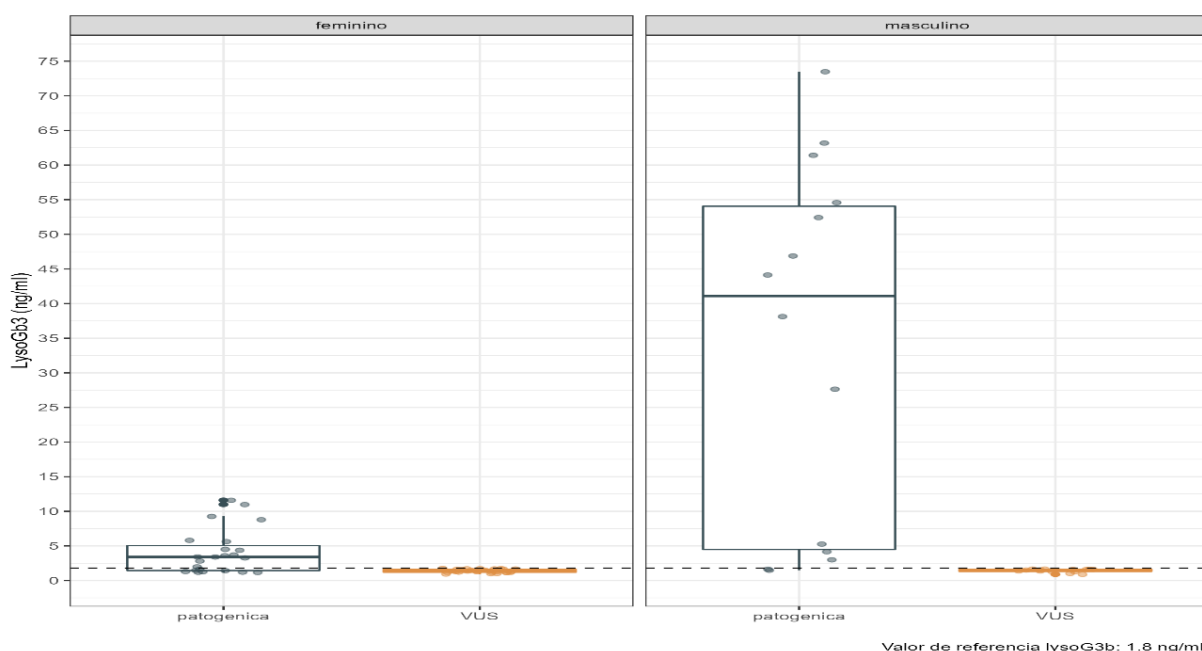


Figura 6. Concentração de lysoGB3 entre os grupos de variantes VUS e patogênicas nos pacientes com variantes para Fabry do Vale do Paraíba e Zona Leste de São Paulo (estratificados por sexo).

4.7.2. ANÁLISE ATIVIDADE DA ALFA-GAL NO BASELINE

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

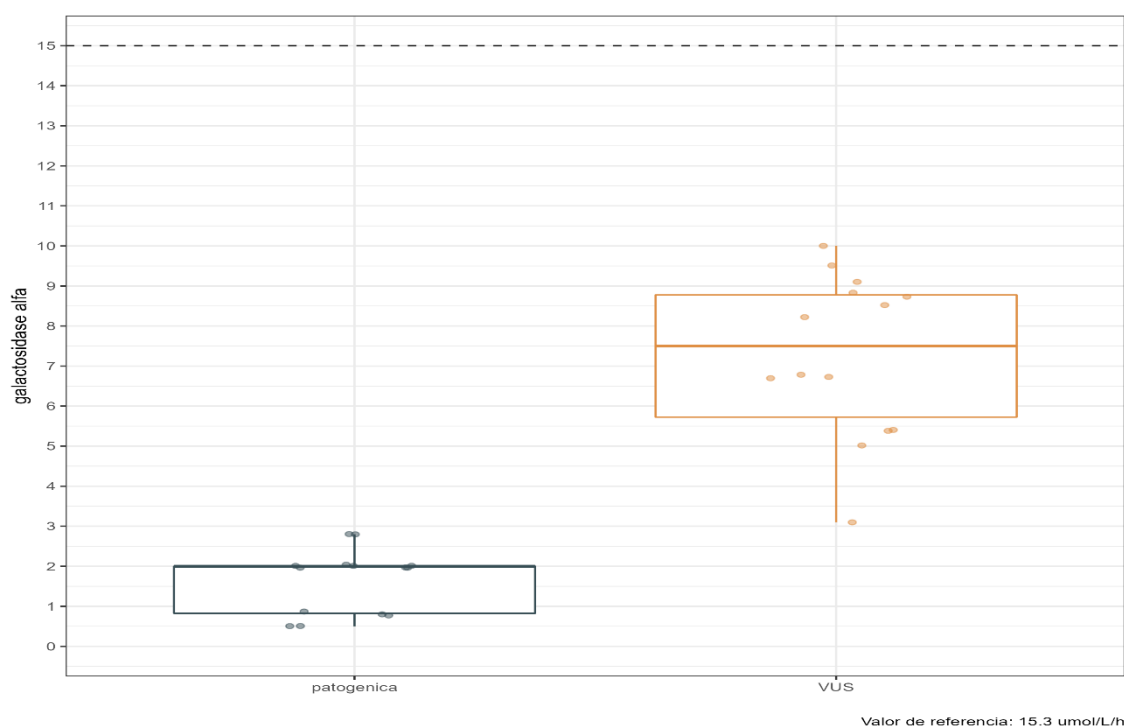


Figura 7. Concentração de alfa-GAL entre os grupos de variantes VUS e patogênicas nos pacientes com variantes para Fabry do Vale do Paraíba e Zona Leste de São Paulo.

5. DISCUSSÃO

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

5.1. ANÁLISE DA POPULAÇÃO

Dados deste estudo mostraram uma idade mediana ao diagnóstico de 34 anos para as mulheres e 45 anos para os homens, com predomínio do sexo feminino (63%). Excluindo os pacientes com VUS a idade ao diagnóstico foi de 35 anos para as mulheres e 42 anos para os homens. Uma análise do registro do FOS mostrou idade média nas mulheres ao diagnóstico de 37 anos e nos homens de 34 anos, com um total de 52% de mulheres (19). Em análise da coorte do REGISTRY na América Latina a idade média dos homens foi de 35 anos e das mulheres de 37, 8 anos com percentagem semelhante entre os sexos (20). Notamos, na presente análise, uma maior idade ao diagnóstico nos homens e uma maior percentagem de diagnóstico nas mulheres. A idade ao diagnóstico mais elevada pode ser explicada pela dificuldade diagnóstica da DF e pelas condições do sistema de saúde. Estudo de mulheres com DF na América Latina mostrou uma idade elevada ao diagnóstico com 10 anos do início dos sintomas ao diagnóstico (20).

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

5.2. VARIANTES PATOGÊNICAS

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

A presença de sintomas clássicos da doença de Fabry foram mais elevados nos pacientes com variantes patogênicas. A presença de angioqueratomas e córnea

verticillata ocorreu em 20% e a perda auditiva ocorreu em 11%. Estes pacientes apresentaram menores valores de alfa-GAL e valores mais elevados de lyso-GB3 em comparação aos pacientes com VUS. Uma percentagem mais elevada de sintomas clássicos de angioqueratomas e córnea verticillata foram descritos em homens com fenótipo clássico em comparação ao presente estudo (3). Na presente análise, no entanto, encontramos uma elevada percentagem de mulheres o que pode explicar uma menor frequência de sintomas clássicos de DF. Possivelmente trata-se de pacientes do sexo feminino sem o fenótipo clássico da DF. Na visão de alguns autores o fenótipo clássico nas mulheres é definido como a presença da variante patogênica associado a uma característica clássica de DF como dor neuropática, angioqueratoma ou córnea verticillata (22). Ressalta-se ainda que neste grupo temos uma elevada frequência de dor neuropática (77%) o que poderia caracterizar estes pacientes como fenótipo clássico. Em contraponto a dor neuropática traz uma maior subjetividade na avaliação em comparação aos outros dois sinais clássicos da DF.

5.3. DESCRIÇÃO DAS VUS

A maioria dos casos relatados se encaixa em casos de variantes de significado incerto (VUS). Foram 44 casos correspondendo a 53% do total. Como o desenho deste estudo foi através de exame de rastreio em pacientes de hemodiálise e seus familiares é esperado um encontro maior deste tipo de variante. As variantes tipo VUS são mais frequentes em comparação as variantes patogênicas (7). Desta forma, estudos que avaliam pacientes de rastreio apresentam elevada percentagem de variantes do tipo VUS. A definição da doença de Fabry nos casos de VUS requer avaliação clínica, laboratorial e histológica mais detalhada para caracterizar a patogenicidade da variante (9, 15, 16).

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

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

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

5.4. COMPARAÇÃO ENTRE VARIANTES

Nas variantes patogênicas encontramos uma maior percentagem de sintomas da DF como angioqueratomas, córnea verticillata, dor neuropática em comparação as variantes VUS. Estes pacientes apresentam menores valores de atividade da alfa-GAL e valores mais elevados de lysoGB3. Estes dados são compatíveis com a literatura que mostram que pacientes com variantes patogênicas tem maior chance de apresentarem fenótipo clássico (7).

5.5. CORRELAÇÃO ENTRE SINTOMAS CLÍNICOS

Realizamos análises de correlações mostrando as associações entre os sintomas relacionados a DF. A perda auditiva foi associada a presença de angioqueratomas tanto na população de variantes de Fabry ($\rho = 0,37$) quanto na análise sensibilizada excluindo os casos de VUS ($\rho = 0,49$). Os angioqueratomas foram associados com palpitações respectivamente: todas as variantes de Fabry ($\rho=0,21$) e excluindo as VUS ($\rho=0,26$). Podemos também notar um agrupamento tanto em todas as variantes de Fabry quanto na análise sensibilizada dos sintomas acroparestesia, dor abdominal e hipoidrose.

A frequência de sintomas de DF está claramente reportada especialmente nos pacientes de fenótipo clássico (3). Entretanto, a presente análise agrega a forma como estes sinais e sintomas se agrupam. Desta maneira, a análise gráfica contida neste

estudo pode ajudar no entendimento de como os sintomas se correlacionam. (Figura 3).

6. LIMITAÇÕES DO ESTUDO

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

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

7. CONCLUSÕES

Este estudo caracterizou uma extensa coorte de pacientes com variantes para Doença de Fabry (DF) genética e fenotipicamente. Pacientes com variantes patogênicas associaram-se a uma maior ocorrência de sintomas de Fabry, maiores níveis de lysoGB3 e menores valores de alfa-GAL. Encontramos uma elevada proporção de variantes de significado incerto (54%) devido à natureza do estudo de rastreio. Foram descritas as características dos pacientes com VUS que requer uma avaliação mais detalhada para confirmar o diagnóstico definitivo de DF. Descrevemos duas novas variantes pouco relatadas que foram consideradas patogênicas. Este é, ao nosso conhecimento, o primeiro estudo brasileiro caracterizando uma extensa população de pacientes com variantes para DF (n = 82) com grande riqueza de detalhes de genética, clínica e de biomarcadores. Acreditamos que este estudo possa auxiliar na melhor caracterização da população brasileira com DF e nos tipos mais frequentes de variantes encontradas no nosso meio.

REFERÊNCIAS

1. Brady RO, Gal AE, Bradley RM, Martensson E, Warshaw AL, Laster L. Enzymatic defect in Fabry's disease. Ceramidetrihexosidase deficiency. *N Engl J Med.* 1967;276(21):1163–7.
2. Sweeley CC, Klionsky B. Fabry's disease: classification as a sphingolipidosis and partial characterization of a novel glycolipid. *J Biol Chem.* 1963; 238:3148–50.
3. Germain DP. Fabry disease. *Orphanet J Rare Dis.* 2010; 5:30.
4. Popli S, Leehey DJ, Molnar ZV, Nawab ZM, Ing TS. Demonstration of Fabry's disease deposits in placenta. *Am J Obstet Gynecol.* 1990;162(2):464–5.
5. Neufeld EF. Lysosomal storage diseases. *Annu Rev Biochem.* 1991; 60:257–80.
6. Hopkin RJ, Bissler J, Banikazemi M, Clarke L, Eng CM, Germain DP, et al. Characterization of Fabry disease in 352 pediatric patients in the Fabry Registry. *Pediatr Res.* 2008;64(5):550–5.
7. Ortiz A, Germain DP, Desnick RJ, Politei J, Mauer M, Burlina A, et al. Fabry disease revisited: Management and treatment recommendations for adult patients. *Mol Genet Metab.* 2018;123(4):416–27.
8. Smid BE, van der Tol L, Cecchi F, Elliott PM, Hughes DA, Linthorst GE, et al. Uncertain diagnosis of Fabry disease: consensus recommendation on diagnosis in adults with left ventricular hypertrophy and genetic variants of unknown significance. *Int J Cardiol.* 2014;177(2):400–8.
9. Van der Tol L, Smid BE, Poorthuis BJHM, Biegstraaten M, Deprez RHL, Linthorst GE, et al. A systematic review on screening for Fabry disease: prevalence of individuals with genetic variants of unknown significance. *J Med Genet.* 2014;51(1):1–9.
10. Germain DP, Shabbeer J, Cotigny S, Desnick RJ. Fabry disease: twenty novel alpha-galactosidase A mutations and genotype-phenotype correlations in classical and variant phenotypes. *Mol Med Camb Mass.* 2002;8(6):306–12.

11. 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. Epub 2016 Aug 31. PMID: 27576502.
12. Porsch DB, Nunes ACF, Milani V, Rossato LB, Mattos CB, Tsao M, et al. Fabry disease in hemodialysis patients in southern Brazil: prevalence study and clinical report. *Ren Fail*. 2008;30(9):825–30.
13. Richards S, Aziz N, Bale S, Bick D, Das S, Gastier-Foster J, et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med Off J Am Coll Med Genet*. 2015;17(5):405–24.
14. Levey AS, Stevens LA, Schmid CH, Zhang YL, Castro AF, Feldman HI, et al. A new equation to estimate glomerular filtration rate. *Ann Intern Med*. 2009;150(9):604–12.
15. Schwartz GJ, Muñoz A, Schneider MF, Mak RH, Kaskel F, Warady BA, et al. New equations to estimate GFR in children with CKD. *J Am Soc Nephrol JASN*. 2009;20(3):629–37.
16. Biegstraaten M, Arngrímsson R, Barbey F, Boks L, Cecchi F, Deegan PB, et al. Recommendations for initiation and cessation of enzyme replacement therapy in patients with Fabry disease: the European Fabry Working Group consensus document. *Orphanet J Rare Dis*. 2015; 10:36.
17. Silva CAB, Andrade LGM de, Vaisbich MH, Barreto F de C. Brazilian consensus recommendations for the diagnosis, screening, and treatment of individuals with fabry disease: Committee for Rare Diseases - Brazilian Society of Nephrology/2021. *J Bras Nefrol Orgao of Soc Bras E Lat-Am Nefrol*. 2022; S0101-28002022005017400.
18. Laney DA, Fernhoff PM. Diagnosis of Fabry disease via analysis of family history. *J Genet Couns*. 2008;17(1):79–83.

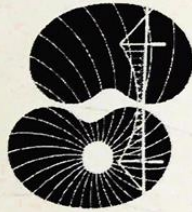
19. Beck M. Demographics of FOS – the Fabry Outcome Survey. Em: Mehta A, Beck M, Sunder-Plassmann G, organizadores. Fabry Disease: Perspectives from 5 Years of FOS [Internet]. Oxford: Oxford PharmaGenesis; 2006 [citado 3 de março de 2022]. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK11581/>
20. Villalobos J, Politei JM, Martins AM, Cabrera G, Amartino H, Lemay R, et al. Fabry disease in latin america: data from the fabry registry. *JIMD Rep.* 2013; 8:91–9.
21. Sodr  LS de S, Huaira RMNH, Colugnati FAB, Carminatti M, Braga LS de S, Coutinho MP, et al. Screening of family members of chronic kidney disease patients with Fabry disease mutations: a very important and underrated task. *J Bras Nefrol Orgao of Soc Bras E Lat-Am Nefrol.* 2021;43(1):28–33.
22. Arends M, Wanner C, Hughes D, Mehta A, Oder D, Watkinson OT, et al. Characterization of Classical and Nonclassical Fabry Disease: A Multicenter Study. *J Am Soc Nephrol JASN.* 2017;28(5):1631–41.
23. Shabbeer J, Yasuda M, Luca E, Desnick RJ. Fabry disease: 45 novel mutations in the alpha-galactosidase A gene causing the classical phenotype. *Mol Genet Metab.* 2002;76(1):23–30.
24. Filoni C, Caciotti A, Carraresi L, Cavicchi C, Parini R, Antuzzi D, et al. Functional studies of new GLA gene mutations leading to conformational Fabry disease. *Biochim Biophys Acta.* 2010;1802(2):247–52.
25. Talbot A, Nicholls K. Elevated Lyso-Gb3 Suggests the R118C GLA Mutation Is a Pathological Fabry Variant. *JIMD Rep.* 2019; 45:95–8.
26. Ferreira S, Ortiz A, Germain DP, Viana-Baptista M, Caldeira-Gomes A, Camprecios M, et al. The alpha-galactosidase A p. Arg118Cys variant does not cause a Fabry disease phenotype: data from individual patients and family studies. *Mol Genet Metab.* 2015;114(2):248–58.
27. Valtola K, Nino-Quintero J, Hedman M, Lottonen-Raikaslehto L, Laitinen T, Maria M, et al. Cardiomyopathy associated with the Ala143Thr variant of the α -galactosidase A gene. *Heart Br Card Soc.* 2020;106(8):609–15.

28. Lenders M, Weidemann F, Kurschat C, Canaan-Kühl S, Duning T, Stypmann J, et al. Alpha-Galactosidase A p.A143T, a non-Fabry disease-causing variant. *Orphanet J Rare Dis.* 2016;11(1):54.

Apêndice

1. Apresentação no Congresso Brasileiro de Nefrologia (CBN 2022)
2. Carta de aprovação no Jornal Brasileiro de Nefrologia (JBN)
3. Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
4. Parecer do Comitê de Ética (CEP)

03



**XXXI CONGRESSO
BRASILEIRO DE NEFROLOGIA**
XIII Congresso Luso-Brasileiro de Nefrologia
XIX Congresso Brasileiro de Enfermagem em Nefrologia
21 A 24 DE SETEMBRO DE 2022 • CENTROSUL • FLORIANÓPOLIS-SC

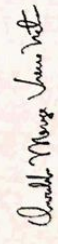
Certificamos que o trabalho

**PERFIL GENÉTICO E FENOTÍPICO DA DOENÇA DE FABRY NA POPULAÇÃO DO VALE DO
PARAÍBA E ZONA LESTE DE SÃO PAULO**

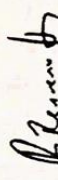
dos autores: OSVALDO THEODORO DA PAZ; ROSIANE CASSIA TEIXEIRA LACERDA; JOÃO MANOEL FÁCIO LUIZ; EDUARDO DE PAIVA LUCIANO; DIANA RÉGIA BEZERRA FEITOSA; LUIS GUSTAVO MODELI DE ANDRADE, foi apresentado na modalidade Apresentação oral, no evento XXXI Congresso Brasileiro de Nefrologia, XIII Congresso Luso-Brasileiro de Nefrologia e XIX Congresso Brasileiro de Enfermagem em Nefrologia ocorrido de 21 a 24 de setembro de 2022, no Centro de Convenções de Florianópolis (CentroSul) em Florianópolis/SC.

24 de setembro de 2022

Para validar, acesse <http://www.ccmcongresses.com.br/validacao?cod=55890969>


Dr. Osvaldo Merege Vieira Neto
Presidente da
Sociedade Brasileira de Nefrologia


Dr. José H. Rocco Sulasaina
Diretor Científico da
Sociedade Brasileira de Nefrologia


Dr. Roberto Benvenuti
Presidente do XXXI Congresso
Brasileiro de Nefrologia


Dr. Marcelo Mazza do Nascimento
Diretor do Departamento de
Estatística, Florianópolis, SC



• Brazilian Journal of Nephrology - Decision on Manuscript ID JBN-2022-0107.R2

Yahoo/Entrada ☆



• **Miguel Riella** <onbehalf@manuscriptcentral.com>

Para: gustavomodelli@yahoo.com.br



seg., 19 de dez. de 2022 às 17:40 ☆

19-Dec-2022

Dear Dr. Andrade:

It is a pleasure to accept your manuscript entitled "Perfil genético e fenotípico da doença de Fabry na população do Vale do Paraíba e Zona Leste de São Paulo" in its current form for publication in the Brazilian Journal of Nephrology. The comments of the reviewer(s) who reviewed your manuscript are included at the foot of this letter.

Thank you for your fine contribution. On behalf of the Editors of the Brazilian Journal of Nephrology, we look forward to your continued contributions to the Journal.

Sincerely,
Dr. Miguel Riella
Editor-in-Chief, Brazilian Journal of Nephrology

Associate Editor
Comments to the Author:
(There are no comments.)

**TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)
RESOLUÇÃO 466/2012**

CONVIDO, o Senhor (a) para participar do Projeto de Pesquisa intitulado "Perfil genético e fenotípico para a doença de Fabry na população em terapia de substituição renal do Vale do Paraíba e Zona Leste de São Paulo", que será desenvolvido por mim Osvaldo Theodoro da Paz, médico nefrologista e do Professor (a) Luis Gustavo Modelli de Andrade da Faculdade de Medicina de Botucatu -UNESP.

Solicito seu consentimento para consultar seu prontuário médico para coletar outras informações lá contidas como idade, características da sua doença e exames de laboratório e imagem referentes a consultas feitas anteriormente pelo (a) Senhor (a).

Seu benefício em participar será ajudar futuros pacientes a conhecer melhor o perfil da Doença de Fabry na população brasileira e a resposta ao tratamento.

Fique ciente de que sua participação neste estudo é voluntária e que mesmo após ter dado seu consentimento para participar da pesquisa, você poderá retirá-lo a qualquer momento, sem qualquer prejuízo na continuidade do seu tratamento.

Será garantido o direito à assistência integral e gratuita a você em caso de quaisquer danos decorrentes da participação nessa pesquisa e pelo tempo que for necessário. Você tem direito de buscar indenização diante de eventuais danos decorrentes desta pesquisa.

Este Termo de Consentimento Livre e Esclarecido será elaborado em 2 vias de igual teor, o qual 01 via será entregue ao Senhor (a) devidamente rubricada, e a outra via será arquivada e mantida pelos pesquisadores por um período de 5 anos após o término da pesquisa.

Qualquer dúvida adicional você poderá entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa através dos telefones (14) 3880-1608 ou 3880-1609 que funciona de 2ª a 6ª feira das 8:00 às 12.00 e das 13.30 às 17horas, na Chácara Butignolli s/nº em Rubião Júnior - Botucatu - São Paulo. Os dados de localização dos pesquisadores estão abaixo descritos:

Após terem sido sanadas todas minhas dúvidas a respeito deste estudo, CONCORDO em participar de forma voluntária, estando ciente que todos os meus dados estarão resguardados através do sigilo que os pesquisadores se comprometeram. Estou ciente que os resultados desse estudo poderão ser publicados e revistas científicas.

Botucatu, ____/____/_____

Pesquisador

Participante da Pesquisa

Nome Luis Gustavo Modelli de Andrade

Endereço: Av. Mario Rubens Montenegro s/n. Ambulatório Tx. Rubião Jr. Botucatu/SP

Telefone: 14 3811.6547

Email: Gustavo.modelli@unesp.br

Nome Osvaldo Theodoro da Paz

Endereço: Av. Mario Rubens Montenegro s/n. Ambulatório Tx. Rubião Jr. Botucatu/SP

Telefone: 14 3811.6547

Email: medicosvaldopaz@yahoo.com.br

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Perfil genético e fenotípico para a doença de Fabry na população em terapia de substituição renal do Vale do Paraíba e Zona Leste de São Paulo

Pesquisador: OSVALDO THEODORO DA PAZ

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 45885721.0.0000.5411

Instituição Proponente: Departamento de Clínica Médica

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 4.725.634

Apresentação do Projeto:

Trata-se de resposta do pesquisador aos questionamentos e apontamento constantes no Parecer nº 4.698.992, de 07 de maio de 2021.

Segundo informações contidas no documento PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1705101.pdf, a doença de Fabry é um erro inato do metabolismo caracterizado pela deficiência da enzima -galactosidase A levando ao acúmulo e deposição de glicoesfingolípido (Gb3) nos lisossomos. A atividade deficiente de -galactosidase A lisossômica (-gal A) resulta no acúmulo progressivo de globotriaosilceramida (Gb3 ou GL-3) e glicoesfingolípidos relacionados (galabiosilceramida) nos lisossomos de vários tipos celulares, incluindo células endoteliais capilares, renais (podócitos, células tubulares, glomerulares endoteliais, mesangiais e intersticiais), cardíacas (cardiomiócitos e fibroblastos) e células nervosas.

Desta forma, o objetivo primário deste estudo será avaliar o perfil genético e fenotípico para a doença de Fabry na população em terapia de substituição renal. O objetivo secundário será avaliar o efeito do tratamento após 12 e 24 meses com terapia de reposição enzimática dos casos de Doença de Fabry com indicação de tratamento.

Trata-se de um estudo de coorte observacional para se determinar a incidência de variações

Endereço: Chácara Butignolli, s/n

CEP: 18.618-970

UF: SP

Município: BOTUCATU

E-mail: cep@fmb.unesp.br

Continuação do Parecer: 4.725.634

genéticas e alterações fenotípicas para doença de Fabry em pacientes em terapia de substituição renal no Vale do Paraíba e Zona Leste de São Paulo. Os pacientes com teste genético positivo serão seguidos pelo período mínimo de 12 meses para avaliar a presença de sinais e sintomas de doença de Fabry e para avaliar a resposta ao tratamento de reposição enzimática nos casos com indicação de tratamento.

Os pacientes que realizam hemodiálise no Vale do Paraíba foram submetidos a teste de rastreio para doença de Fabry entre Janeiro de 2016 a Dezembro de 2019 por indicação clínica segundo protocolo dos centros. O teste genético para o gene da alfa-GAL foi realizado para homens e mulheres em todos os pacientes das clínicas de hemodiálise que concordaram em participar, maiores de 18 anos.

Como trata-se de uma doença genética a análise foi estendida aos familiares dos pacientes com teste genético positivo observando o padrão de herança ligado ao cromossomo X até a terceira geração. De acordo com os esclarecimentos prestados no documento resposta_comite_etica.pdf, os familiares investigados com teste genético positivo passaram a ser pacientes do serviço com prontuário registrado formalmente no mesmo centro de dialise de seu caso índice (paciente da hemodiálise). Estes pacientes são seguidos em ambulatório apesar de não realizarem hemodiálise.

Serão analisados os dados demográficos desta população e de seus familiares e os dados de exames laboratoriais dos pacientes submetidos a tratamento de reposição enzimática. Estima-se a participação de 150 pessoas, sendo 25 com indicação de tratamento e 125 sem indicação de tratamento.

O efeito do tratamento será avaliado sobre a progressão da função renal (variação da estimativa da filtração glomerular e proteinúria), progressão da doença cardíaca (variação da massa ventricular esquerda indexada) e da doença cerebral (episódios de acidentes vascular cerebral).

Objetivo da Pesquisa:

De acordo com as informações retiradas do documento PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1705101.pdf, o objetivo primário do estudo será avaliar o perfil genético e fenotípico para a doença de Fabry na população em terapia de substituição renal do Vale do Paraíba e Zona Leste de São Paulo estendendo a análise aos familiares dos casos

Endereço: Chácara Butignolli , s/n

CEP: 18.618-970

UF: SP

Município: BOTUCATU

E-mail: cep@fmb.unesp.br

Continuação do Parecer: 4.725.634

afetados. Desta forma pode-se estimar a incidência de pacientes com Diagnóstico Definitivo de Doença de Fabry.

O objetivo secundário será avaliar o efeito do tratamento após 12 e 24 meses com terapia de reposição enzimática dos casos de Doença de Fabry com indicação de tratamento.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Segundo o pesquisador, como se trata de uma análise retrospectiva de exames genéticos e exames clínicos já realizados, não há riscos para os participantes da pesquisa. Todo o cuidado será tomado com a coleta e posterior análise de dados mantendo a confidencialidade e anonimato. Os casos não serão identificados nominalmente e nenhuma informação sensível será analisada seguindo a lei geral de proteção de dados (documento PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1705101.pdf).

Quanto aos benefícios, este estudo permitirá conhecer a incidência da Doença de Fabry em pacientes em terapia de substituição renal no Brasil. Adicionalmente serão conhecidas as principais variantes genéticas no Brasil e, para o grupo de pacientes em tratamento com reposição enzimática, será possível avaliar a resposta ao tratamento (documento PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1705101.pdf).

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Trata-se de projeto de pesquisa a ser conduzido pelo aluno de Mestrado Osvaldo Theodoro da Paz, sob orientação do Professor Luis Gustavo Modelli de Andrade (documentos TermoDeAnuencialInstitucional.pdf e Mestrado_Fabry_Osvaldo.pdf).

O projeto refere-se a um estudo de coorte, observacional, retrospectivo, para se determinar a incidência de variações genéticas e alterações fenotípicas para doença de Fabry em pacientes em terapia de substituição renal no Vale do Paraíba e Zona Leste de São Paulo (documento PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1705101.pdf).

O projeto está orçado em R\$500,00 provenientes de orçamento próprio (documento PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1705101.pdf).

De acordo com Parecer do CEP nº 4.698.992, de 07 de maio de 2021, o projeto de pesquisa apresentava as seguintes pendências:

Endereço: Chácara Butignolli , s/n

CEP: 18.618-970

UF: SP

Município: BOTUCATU

E-mail: cep@fmb.unesp.br

Continuação do Parecer: 4.725.634

1) De acordo com a descrição da coorte, trata-se de "pacientes das clínicas de hemodiálise que concordaram em participar sem restrição de idade ou sexo" (documento PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1705101.pdf). Há participantes com menos de 18 anos de idade? Eles serão incluídos no estudo? Em caso afirmativo, o pesquisador deve atentar para a necessidade de TALE e TCLE direcionado aos responsáveis.

RESPOSTA: Pendência satisfatoriamente atendida. O pesquisador esclarece que não serão incluídos os menores de 18 anos (Documento resposta_comite_etica.pdf) e, então, faz as modificações pertinentes no projeto de pesquisa (Mestrado_Fabry_Osvaldo_2021.pdf).

2) Ainda em relação aos critérios de inclusão, prevê-se a inclusão de "familiares dos pacientes com teste genético positivo observando o padrão de herança ligado ao cromossomo X até a terceira geração" (documento PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1705101.pdf). Entretanto, o TCLE fala da coleta de dados apenas do paciente, sem menção à coleta de informações de familiares. Que dados serão coletados dos familiares? Esses dados se encontram no prontuário do paciente/participante?

RESPOSTA: Pendência satisfatoriamente atendida. O pesquisador esclarece que os familiares investigados com teste genético positivo passaram a ser pacientes do serviço com prontuário registrado formalmente no mesmo centro de dialise de seu caso índice (paciente da hemodiálise). Estes pacientes são seguidos em ambulatório apesar de não realizarem hemodiálise. Desta forma entende-se por pacientes no termo de consentimento os maiores de 18 anos, renais crônicos ou não, concordantes no estudo. Os mesmos dados clínicos descritos na metodologia do caso índice (paciente de hemodiálise) serão coletados de seus prontuários (Documento resposta_comite_etica.pdf), não havendo necessidade de nova versão do TCLE.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Foram apresentados os documentos obrigatórios:

- Projeto de Pesquisa na íntegra, com as alterações pertinentes diante do Parecer nº 4.698.992 do CEP (documento Mestrado_Fabry_Osvaldo_2021.pdf)
- Folha de rosto devidamente assinada (documento folha_rostro_assinada_2021.pdf)
- Termos de anuência institucional FMB (documento TermoDeAnuencialInstitucional.pdf) e Única - Gestão Transparente (documento autorizacao_centro.pdf)

Endereço: Chácara Butignolli, s/n

CEP: 18.618-970

UF: SP

Município: BOTUCATU

E-mail: cep@fmb.unesp.br

Continuação do Parecer: 4.725.634

- TCLE (documento TCLE_fabry.docx)

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Após reunião Extraordinária realizada pelo Comitê de Ética em Pesquisa FMB/UNESP, o projeto de pesquisa apresentado encontra-se APROVADO.

Considerações Finais a critério do CEP:

Conforme deliberação do Colegiado, em reunião Extraordinária do Comitê de Ética em Pesquisa FMB/UNESP, realizada em 20/05/2021, o Projeto de Pesquisa apresentado encontra-se APROVADO. Após o término da pesquisa, deverá ser encaminhado o Relatório Final de Atividades.

Atenciosamente,

Comitê de Ética em Pesquisa FMB/UNESP

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BASICAS_DO_PROJETO_1705101.pdf	10/05/2021 12:26:14		Aceito
Outros	resposta_comite_etica.pdf	10/05/2021 12:25:42	Luis Gustavo Modelli de Andrade	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Mestrado_Fabry_Osvaldo_2021.pdf	10/05/2021 12:24:19	Luis Gustavo Modelli de Andrade	Aceito
Outros	autorizacao_centro.pdf	16/04/2021 14:03:02	Luis Gustavo Modelli de Andrade	Aceito
Outros	TermoDeAnuencialInstitucional.pdf	16/04/2021 14:02:41	Luis Gustavo Modelli de Andrade	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_fabry.docx	16/04/2021 14:01:52	Luis Gustavo Modelli de Andrade	Aceito
Folha de Rosto	folha_rostro_assinada_2021.pdf	16/04/2021 14:01:21	Luis Gustavo Modelli de Andrade	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Endereço: Chácara Butignolli, s/n

CEP: 18.618-970

UF: SP

Município: BOTUCATU

E-mail: cep@fmb.unesp.br

Continuação do Parecer: 4.725.634

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

BOTUCATU, 21 de Maio de 2021

Assinado por:
SILVANA ANDREA MOLINA LIMA
(Coordenador(a))

Endereço: Chácara Butignolli, s/n

CEP: 18.618-970

UF: SP

Município: BOTUCATU

E-mail: cep@fmb.unesp.br