Samantha Vernaschi Kelmann

**Angioqueratoma como marcador para o
diagnóstico de doença de Fabry**

Dissertação apresentada à Faculdade de
Medicina da Universidade de São Paulo para
obtenção do título de Mestre em Ciências

Programa de Pediatria

Orientadora: Profa. Dra. Chong Ae Kim

(Versão corrigida. Resolução CoPGr 5890, de 20 de dezembro de 2010.

A versão original está disponível na Biblioteca FMUSP)

**São Paulo
2013**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Kelmann, Samantha Vernaschi
Angioqueratoma como marcador para o diagnóstico de doença de Fabry /
Samantha Vernaschi Kelmann. -- São Paulo, 2013.
Dissertação(mestrado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.
Programa de Pediatria.
Orientadora: Chong Ae Kim.

Descritores: 1.Doença de Fabry/genética 2.Doença de Fabry/diagnóstico
3.Angioqueratoma/genética 4.Biópsia 5.Aconselhamento genético

USP/FM/DBD-323/13

Aos meus pais, Jaime e Eliana, e ao meu irmão Bruno por todo carinho.

Ao meu esposo Lucas por todo incentivo e compreensão.

Agradecimentos

À **Profa. Dra. Chong Ae Kim** por toda confiança em que este projeto seria concluído, estímulo e paciência.

À **Dra. Rachel Sayuri Honjo Kawahira** por ter sido a maior incentivadora da minha iniciação científica e ter me ajudado em todos os percalços, grandes e pequenos, que surgiram durante todo o caminho.

À **Dra. Débora Bertola** pelo apoio e amizade e à **Dra. Lilian Albano** por ter sido a pioneira e fonte de inspiração para este trabalho.

Ao **Dr. Charles Marques Lourenço** por todo suporte dado durante a coleta de dados em Ribeirão Preto e por todas as informações cedidas prontamente.

Ao **Dr. Nilton Salles Rosa** pela disposição em compartilhar informações.

À **Dra. Isabel Furquim** e **Dra. Nathalia Portilho Kelmann** por toda amizade e prontidão em ajudar.

Ao **Dr. Caio Robledo D'Angioli Costa Quaio** pela ajuda com a elaboração do artigo

Ao **Dr. Sérgio Zucolloto** (*in memoriam*) pela prontidão em ajudar com a seleção de casos de pacientes em Ribeirão Preto.

À **Dra Maria Cecília Rivitte-Machado** pela grande ajuda na obtenção de pacientes e prontuários.

Ao **Dr. Nílceo Michalany** pelo estímulo inicial e desprendimento em compartilhar casos e conhecimentos.

À **Monica Alves de Souza** que tantas vezes salvou a minha vida mantendo-me dentro dos prazos e me orientando corretamente em todas as fases de minha dissertação.

Esta tese está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento desta publicação:

Referências: adaptado de *International Committee of Medical Journals Editors* (Vancouver).

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Divisão de Biblioteca e Documentação. *Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias*. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia de A. L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 3a ed. São Paulo: Divisão de Biblioteca e Documentação; 2011.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE TABELAS

LISTA DE ABREVIATURAS

LISTA DE SÍMBOLOS

LISTA DE SIGLAS

RESUMO

SUMMARY

1 INTRODUÇÃO	1
1.1 Doença de Fabry	2
1.1.1 História	2
1.1.2 Incidência	3
1.1.3 Manifestações Clínicas Clássicas	3
1.1.4 Variantes Atípicas da Doença de Fabry	9
1.1.5 Mulheres Portadoras	10
1.1.6 Patologia e Mecanismo da Doença	11
1.1.7 Angioqueratomas na Doença de Fabry	12
1.1.8 Diagnóstico	17
1.1.9 Tratamento	19
2 JUSTIFICATIVA	22
3 OBJETIVOS	24
4 CAUSUÍSTICA E MÉTODOS	26
5 RESULTADOS e DISCUSSÃO	30
6 CONCLUSÕES	49
7 ANEXOS	51
ANEXO A – Aprovação do estudo pela Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa – CAPPesq	52

ANEXO B – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido ...	53
ANEXO C – Protocolo de anamnese	57
8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	60

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Local de clivagem da α -galactosidase	3
Figura 2 – Foto ilustrativa da córnea <i>verticillata</i>	5
Figura 3 – Idade de princípio de sintomas em crianças com DF.....	6
Figura 4 – Alterações faciais em paciente com DF	7
Figura 5 – Principais manifestações clínicas por faixa etária	9
Figura 6 – Classificação dos angioqueratomas	13
Figura 7 – Angioqueratomas em pacientes com DF	16
Figura 8 – Heredograma família 1	33
Figura 9 – Heredograma família 2	35
Figura 10 – Heredograma família 3	39
Figura 11 – Angioqueratomas antes/depois de 30 meses de tratamento.....	35
Figura 12 – Fluxograma de detecção de DF a partir de angioqueratomas..	47

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Doenças lisossomais que apresentam angioqueratomas
disseminados15

Tabela 2 – Distribuição de pacientes31

LISTA DE ABREVIATURAS

Dr.	Doutor
Dra.	Doutora
et al.	e outros
Profa.	Professora

LISTA DE SÍMBOLOS

g/24h	gramas por 24 horas
mcg/min	micrograma por minuto
mg/d	miligrama por dia
mg/24h	miligrama por 24 horas
mL	mililitro
mm	milímetros
umol/L/h	micromol por litro por hora
%	porcentagem
>	maior que
<	menor que

LISTA DE SIGLAS

α -Gal A	alfa galactosidase A - enzima
AR	autossômico recessivo
AVC	acidente vascular cerebral
CAPPesq	Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa do Hospital de Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
DF	doença de Fabry
DNA	ácido desoxirribonucleico
ECG	eletrocardiograma
e-NOS	óxido nítrico endotelial sintase
FDA	Food and Drug Administration
FMUSP	Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
FOS	Fabry Outcome Survey
Gb3	globotriaosilceramida
GLA	Galactosidase alfa – símbolo oficial do gene
HCFMUSP	Hospital de Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
HGMD	Human Gene Mutation Database
ICAM -1	molécula de adesão intracelular 1
PAI	inibidor do ativador de plasminogênio

PCR	reação em cadeia da polimerase (<i>polymerase chain reaction</i>)
PR/QRS/T	nomenclatura das ondas do eletrocardiograma
RM – FLAIR	ressonância magnética com recuperação inversa atenuada de fluido (fluid attenuated inversion recovery)
TRE	terapia de reposição enzimática
USP	Universidade de São Paulo
VCAM -1	molécula de adesão de célula vascular 1
VE	Ventrículo esquerdo

RESUMO

Kelmann SV. *Angioqueratoma como marcador para diagnóstico de Doença de Fabry* [dissertação]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2013.

INTRODUÇÃO: A Doença de Fabry (DF) é uma doença lisossomal de herança ligada ao X, causada pela deficiência da enzima α -galactosidase A (α -Gal A), que leva ao acúmulo gradual de glicoesfingolipídeos, em especial a globotriaosilceramida, nos lisossomos do endotélio vascular de tecidos cardíaco, renal, cerebral, olhos e pele. Os principais sintomas iniciais são: dores neuropáticas de extremidades, hipoidrose, dores abdominais recorrentes, angioqueratomas e córnea *verticillata*. As complicações, que aparecem a partir da terceira década de vida, incluem morte prematura por insuficiência renal, cardíaca e alterações cerebrovasculares. Angioqueratomas são uma das manifestações mais precoces da DF. **OBJETIVOS:** detectar os portadores da DF a partir de casos de angioqueratoma diagnosticados através de exames anatomopatológicos de biópsia cutânea; descrever o quadro clínico dos afetados e portadoras heterozigotas; realizar aconselhamento genético. **MÉTODOS:** Uma revisão sistemática de biópsias de pele de 2003 a 2012 foi feita em quatro hospitais universitários. Os pacientes foram convocados para anamnese, exame físico e coleta de história familiar. A dosagem enzimática de α -Gal A por papel filtro e em leucócitos em homens e a análise molecular por PCR e sequenciamento do gene *GLA* em homens e mulheres foram realizados naqueles com suspeita de DF. **RESULTADOS:** Foram localizados 125 registros de angioqueratomas, sendo possível convocar 52 pacientes. Destes, 45 (M:21 e F:24) compareceram para serem examinados. O diagnóstico de DF foi confirmado 3/45 (6,6%), todos do sexo masculino, pela baixa atividade enzimática da α -Gal A. A idade dos pacientes eram 16, 21 e 32 anos. Foram identificados outros 13 familiares (cinco homens e oito mulheres) destas 3 famílias. Os principais achados clínicos nos oito homens afetados foram: dores de extremidades (62,5%), angioqueratomas (87,5%), alterações renais (87,5%), cardíacas (12,5%) e presença de córnea *verticillata*(37,5%) Nas oito mulheres os achados clínicos foram: dores de extremidades (75%), angioqueratomas (12,5%), alterações renais (37,5%) cardíacas (12,5%) e presença de córnea *verticillata*(0%). A frequência desses achados mostrou-se semelhante à descrita na literatura. As mutações patogênicas no gene *GLA*, herdadas da mãe, foram identificadas nas 3 famílias e já haviam sido descritas anteriormente. **CONCLUSÕES:** A DF foi identificada em 3/45 pacientes (6,6%) pelos registros histopatológicos. Portanto, o angioqueratoma é um marcador útil para a detecção da doença. A dosagem enzimática de α -Gal A e/ou estudo molecular foram fundamentais para a confirmação diagnóstica da DF. Foi possível identificar outros 13 familiares afetados (5 homens, 8 mulheres), o que reforça a importância do aconselhamento genético. Todos os pacientes apresentavam outros achados clínicos da DF além dos angioqueratomas, os quais, no entanto, não haviam sido diagnosticados. O diagnóstico da DF ainda é tardio e há necessidade de reconhecimento dos médicos sobre as manifestações dessa doença para possibilitar um diagnóstico precoce.

Descritores: Doença de Fabry/genética; Doença de Fabry/diagnóstico; Angioceratoma/genética; Biópsia; Aconselhamento genético

ABSTRACT

Kelmann SV. *Angiokeratoma: a marker for the diagnosis of Fabry disease* [dissertation]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2013.

INTRODUCTION: Fabry disease (FD) is an X-linked lysosomal disorder, caused by the deficiency of the enzyme α -galactosidase A (α -Gal A), which leads to gradual accumulation of glycosphingolipids, especially globotriaosylceramide, in lysosomes of the vascular endothelium of the cardiac tissue, kidney, brain, eyes and skin. The main initial symptoms are: neuropathic pain in the extremities, hypohidrosis, recurrent abdominal pain, angiokeratomas and cornea *verticillata*. Complications, which appear from the third decade of life on, include premature death from renal, cardiac and cerebrovascular abnormalities. Angiokeratomas are one of the earliest manifestations of FD. **OBJECTIVES:** to identify relatives with FD from cases of angiokeratoma diagnosed by pathological examinations of skin biopsy; to describe the clinical features of the affected individuals and heterozygotes; to perform genetic counseling. **METHODS:** A systematic review of skin biopsies from 2003 to 2012 was done in four university hospitals. Patients were submitted to anamnesis, physical examination and family history collection. The enzymatic assay of α -Gal A using dried blood spot in filter paper and leukocytes in men and molecular analysis by PCR and sequencing of the *GLA* gene in men and women were performed in patients with suspected FD. **RESULTS:** We found 125 biopsy records of angiokeratomas, and were able to contact 52 patients. Of these, 45 (M: 21 and F: 24) were evaluated. The diagnosis of FD was confirmed in 3/45 (6.6%), all male, with low enzymatic activity of α -Gal A. The patients' ages were 16, 21 and 32 years. We identified 13 other family members (five men and eight women) of these three families. The main clinical findings in the eight affected men were pain in the extremities (62,5%), angiokeratomas (87,5%), renal abnormalities (87,5%), cardiac abnormalities (12,5%) and cornea *verticillata* (37,5%). In the eight female patients the clinical findings were: pain in the extremities (75%), angiokeratomas (12,5%), renal abnormalities (37,5%) cardiac abnormalities (12,5%) and cornea *verticillata* (0%). The frequency of these findings was similar to that described in the literature. The pathogenic mutations in the *GLA* gene, maternally inherited, were identified in three families and had been described previously. **CONCLUSIONS:** FD was identified in 3/45 patients (6.6%) by histopathologic records. Therefore, angiokeratoma is a useful marker for the detection of disease. The enzymatic measurement of α -Gal A and / or molecular studies were essential to confirm the diagnosis of FD. It was possible to identify 13 other affected family members (5 men, 8 women), which reinforces the importance of genetic counseling. All patients, in addition to angiokeratomas, had other clinical manifestations of FD; however these had not been diagnosed before. The diagnosis of FD is still late and doctors need to be aware of the manifestations of this disease to enable early diagnosis.

Descriptors: Fabry disease/genetics; Fabry disease/diagnosis;

Angiokeratoma/genetics; Biopsy; Genetic counseling

1 INTRODUÇÃO

1- INTRODUÇÃO

1.1 - DOENÇA DE FABRY

1.1.1 - História

Em 1898, o médico inglês William Anderson e o dermatologista alemão Johannes Fabry, em estudos independentes, descreveram uma nova doença a partir da presença de angioqueratomas na pele, o *angiokeratoma corporis diffusum* (Anderson, 1898) (Fabry, 1898). Essa doença foi posteriormente denominada doença de Anderson-Fabry ou apenas doença de Fabry (DF). Em 1947 foi reconhecida como sendo uma doença vascular sistêmica (Pompen et al., 1947) e, posteriormente em 1953, como uma doença de depósito de lipídios.

A demonstração do acúmulo de glicolípides, e sua composição, na DF foi descrita em 1963 (Sweeley and Klionsky, 1963). Em 1965 foi identificado o padrão de herança da DF - recessiva ligada ao cromossomo X (Opitz et al., 1965). A etiologia bioquímica da condição, a deficiência da ceramidatriexosidase, completa ou parcial, também denominada α -galactosidase A foi descoberta em 1967 (Brady et al., 1967). Em 1970, foi reconhecida como uma doença lisossomal devido deficiência da enzima alfa-galactosidase A (α -Gal A) (Kint, 1970). Essa deficiência enzimática ocasiona falha em metabolizar glicosfingolípides principalmente a globotriaosilceramida (Gb3) (Duve, 1975) (Figura 1).

FONTE: Modificada de Corino N, 2009

Figura 1 - Local de clivagem da enzima lisossomal α -galactosidase no glicosfingolípide neutro, globotriaosilceramida, reduzindo-se em lactosilceramida

1.1. 2 - Incidência

A incidência varia de 1: 117.000 nascidos vivos masculinos na Austrália (Meikle et al., 1999) a 1: 80.000 nos Estados Unidos (Desnick, 2001). A incidência na população brasileira ainda não foi determinada.

A DF é encontrada em todos os grupos raciais, étnicos e demográficos (Mehta and Hughes, 1993).

1.1.3 Manifestações Clínicas Clássicas

Há uma grande variabilidade das manifestações clínicas entre os pacientes. Na faixa pediátrica, os sintomas são inespecíficos, o que dificulta o diagnóstico precoce (Zarate and Hopkin, 2008).

Na DF há tendência de piora progressiva do quadro clínico, pelo contínuo acúmulo de Gb3 nos tecidos do corpo. Desta forma as

manifestações se somam com o passar dos anos (Mehta and Widmer, 2006).

→ Infância

O acúmulo de Gb3 lisossomal se inicia no estágio intrauterino sendo detectado em células renais, cardíacas e córneas dos fetos (Elleder et al., 1998) (Desnick, 2007) (Pintos-Morell and Beck, 2009).

O diagnóstico da DF na infância é difícil pela inespecificidade dos sintomas, com a apresentação em meninos se iniciando antes do que em meninas (Hopkin et al., 2008) (Figura 3). Os principais são:

- **Dores em extremidades:** ou também chamadas acroparestesias, são episódios de dor intensa, que tipicamente começam em pés e mãos, em queimação, que podem generalizar para todo o corpo, com duração de minutos a dias; podem ser limitantes e incapacitantes. Podem ocorrer dores em articulações (Roche et al., 2007). As crises de dor são frequentemente desencadeadas por fatores ambientais como calor, estresse, gripes, cansaço e exercícios (Zarate and Hopkin, 2008).
- **Hipohidrose/anidrose:** causando intolerância ao calor e ao exercício (Ries et al., 2005). Pode ocorrer também redução na produção de lágrimas ou saliva (Cable et al., 1982).
- **Dor abdominal e diarreia pós-prandial:** esses sintomas são comuns na infância. Alguns ataques de dores abdominais podem ser tão intensos que simulam apendicite ou cólica renal (Ramaswami, 2008).
- **Córnea *verticillata*:** O acometimento ocular pode envolver córneas, lentes, conjuntivas e retinas. A característica opacidade córnea, denominada córnea *verticillata*, (Figura 2), observada somente com lâmpada de fenda, é encontrada em homens afetados e mulheres portadoras. Esta alteração ocular usualmente não interfere com a acuidade visual e não há correlação com a gravidade da doença (Nguyen et al., 2005). A lesão inicial é uma nebulosidade córnea difusa na camada subepitelial (Sodi et al., 2006). Foram relatadas alterações oftalmológicas como córnea *verticillata*, presença de vasos tortuosos, catarata subcapsular posterior e distúrbios visuais, em aproximadamente 60% das crianças com DF sendo que foi diagnosticada córnea *verticillata* em uma de 3,7 anos (Ramaswami, 2008).
O uso de amiodarona ou cloroquina pode causar uma alteração de córneas semelhante à córnea *verticillata* (Whitley et al., 1983).

FONTE: Samiy N (Samiy, 2008)

Figura 2 – Foto ilustrativa de córnea *verticillata*

- Angioqueratomas: lesões vasculares cutâneas, assintomáticas, diminutos pontos vermelho escuros, que nas formas clássicas podem ser múltiplos, ocorrem particularmente em região de calção de banho, mas que podem aparecer em qualquer parte da pele. As demais manifestações dermatológicas como telangiectasias, edema periférico e linfedema também são relatados (Orteu et al., 2007). Foi reportado caso de criança de 5,5 anos com angioqueratomas (Ramaswami, 2008).
- Proteinúria: na infância já pode ser observado o início do acometimento renal demonstrado pela presença, no sedimento urinário, de proteínas, cilindros, hemácias e glóbulos lipídicos birrefringentes com as características “cruzes de Malta” (Mehta and Hughes, 1993) (Tondel et al., 2008).
- Fadiga: As queixas de fadiga são comuns, porém, um pouco mais encontradas no sexo feminino (Wang et al., 2007). A sonolência diurna excessiva com impacto em qualidade de vida também está presente (Duning et al., 2009).
- Alterações auditivas: Nos pacientes com DF a perda de audição supera o encontrado na população em geral e é uma das causas da piora nos índices de qualidade de vida (Keilmann et al., 2006). É uma perda de audição lenta e progressiva na maioria das vezes e tinidos podem estar presentes (Conti and Sergi, 2003). Casos de surdez súbita, de origem neurossensorial, foram relatados (MacDermot et al., 2001). Apesar destas alterações serem relatadas desde a infância elas são mais intensas e alteram a qualidade de vida em adultos.

- Dificuldades escolares: os vários sinais e sintomas, com necessidade de consultas médicas frequentes e às vezes até internações, levam a ausências escolares e pouca participação em atividades físicas. Isso leva a piora significativa da qualidade de vida (Ries et al., 2005, (Laney et al., 2010). Podem ser verificados alguns déficits cognitivos (Segal et al., 2010).

FONTE: Ramaswami U, Parini R, Pintos-Morell G. (2006)

Figura 3 – Idade de princípio dos sintomas em crianças com DF

→ Adolescência

Os sintomas clínicos vistos na infância geralmente persistem e se acrescentam:

- Alterações faciais: dismorfismos faciais em pacientes com DF foram estudados de modo quantitativo e detalhado e incluem: plenitude periorbital, proeminência dos lóbulos das orelhas, sobrancelhas espessas, fronte levemente ampla, ângulo nasal pronunciado, nariz proeminente/bulboso, cristas supraorbitais proeminentes, hipoplasia de face média, lábios cheios, ponte nasal proeminente, base alar ampla, características grosseiras, pavilhões auriculares rodados posteriormente e prognatismo (Ries

et al., 2006). Dedos das mãos curtos também foram relatados (Ries et al., 2006).

Figura 4 – Alterações faciais de paciente com DF.

→ **Adultos**

As complicações podem se iniciar desde a segunda década de vida, porém, são mais comuns da terceira a quinta década resultando em redução da expectativa de vida (Mehta et al., 2004).

A maior causa de morbidade e mortalidade na DF, em ambos os sexos, são as complicações cardiovasculares (Waldek et al., 2009).

- Alterações renais: O envolvimento renal na DF é descrito em aproximadamente 50% dos pacientes (Mehta et al., 2010). A alteração renal está associada progressiva proteinúria seguindo ao declínio da taxa de filtração glomerular e que resultará ao final em insuficiência renal com necessidade de diálise e/ou transplante renal (Branton et al., 2002). Isostenúria, e deterioração gradual da reabsorção tubular com desenvolvimento de azotemia ocorrem usualmente da terceira a quarta décadas da vida (MacDermot et al., 2001) (Desnick et al., 1989). As lesões ocorrem por acúmulo de Gb3 primeiro nas células epiteliais dos glomérulos e túbulos distais. Nas fases tardias é encontrado também em túbulos proximais e células intersticiais (Desnick et al., 1989).
- Alterações cardíacas: As complicações cardíacas incluem cardiomiopatia hipertrófica progressiva com disfunção diastólica, defeitos na condução e arritmias. Podem aparecer no eletrocardiograma (ECG): encurtamentos de PR, aumento de QRS, inversão da onda T. Em crianças pode ocorrer

diminuição da variabilidade cardíaca. Estas alterações estruturais e funcionais surgem do acometimento das células endoteliais cardíacas, miócitos, fibrócitos valvulares e sistema de condução cardíaco (Pierre-Louis et al., 2009).

- Alterações cerebrovasculares: Ataques isquêmicos transitórios são relativamente comuns (Moore et al., 2007). Lesões cerebrais assintomáticas, vistas através de ressonância magnética, são frequentes principalmente na substância branca, e são um fator de risco para complicações vasculopáticas na DF (Moore et al., 2003). Um estudo publicado em 2005 estimou que pacientes com DF apresentaram um risco de cerca de 20 vezes maior de acidente vascular cerebral (AVC) isquêmico e ataque isquêmico transitório se comparados com a população geral (Mehta and Ginsberg, 2005). Pacientes com DF apresentam mais comumente um achado radiológico consistente com doença de pequenos vasos, sequela de AVC sintomático ou como lesões clinicamente silenciosas encontradas incidentalmente em neuroimagem (Moore et al., 2007). Estas lesões de pequenos vasos são visualizadas melhor por ressonância magnética tipo FLAIR (*fluid attenuated inversion recovery*), tem preferência pela substância branca e ocorrem na maioria das vezes na região periventricular posterior e semioval central. São mais prevalentes quanto maior a faixa etária, porém, em DF este sinal surge duas ou três décadas antes do que a população normal (Moore et al., 2007).

FONTE: Modificado de Mehta, A., M. Beck, et al. (2010).

Figura 5 - Principais manifestações clínicas em diferentes faixas etárias.

1.1.4 Variantes Atípicas da DF

A maioria dos pacientes apresenta a forma clássica da doença. No entanto, alguns apresentam variações moderadas ou leves da DF com alterações predominantemente cardíacas ou renais (Nakao et al., 1995) (Nakao et al., 2003).

A expressão clínica da DF é modificada de acordo com a atividade residual da α -Gal A. A atividade residual de 5-10% de α -Gal A no plasma é

suficiente para evitar acúmulos de Gb3 clinicamente significantes. Em contrapartida, quando não há qualquer atividade enzimática residual, os pacientes apresentam a forma clássica da doença (Pierre-Louis et al., 2009).

- Variante Cardíaca: homens com essa variante são assintomáticos durante a maior parte da vida. Entretanto, eles apresentam na sexta a oitava década hipertrofia ventricular esquerda, insuficiência mitral e/ou cardiomiopatia com proteinúria leve a moderada, porém com função renal normal para idade (Sachdev et al., 2002). Essa variante pode afetar tanto homens quanto mulheres (Chimenti et al., 2004). Existe um estudo na população chinesa de Taiwan onde encontraram 1:1600 meninos com a variante cardíaca e a mutação IVS4+919G→A. Esses pacientes haviam sido diagnosticados com cardiomiopatia hipertrófica idiopática (Lin et al., 2009). Um estudo japonês constatou que 3% de 230 homens com hipertrofia de ventrículo esquerdo, selecionados ao acaso, tinham baixa atividade de α -Gal A (4-14% do normal) (Pierre-Louis et al., 2009).
- Variante Renal: inicia-se nos adultos jovens e evoluem predominantemente para insuficiência renal. Têm uma atividade residual de α -Gal A maior que 1% e também podem cursar com hipertrofia de ventrículo esquerdo. Poucas vezes apresentam angioqueratomas, córnea *verticillata* ou AVC (Nakao et al., 2003).

1.1.5 - Mulheres Portadoras

As mulheres portadoras podem ser desde assintomáticas até apresentarem a forma clássica da doença incluindo acidentes vasculares cerebrais, doenças cardíacas e insuficiência renal progressiva (Whybra et al., 2001) (Boggio et al., 2009). Estudos demonstraram que as mulheres “carreadoras” frequentemente sofrem de dores, sintomas gastrointestinais e envolvimento de órgãos centrais bem como substancial redução de índices de qualidade de vida (Wilcox et al., 2008). Uma hipótese para a variabilidade clínica nas mulheres com DF é o processo de lionização, que propõe que, em cada célula somática feminina, um dos dois cromossomos X é geneticamente inativo e que este mesmo X inativo é mantido em seus descendentes. Portanto, haveria células com atividade da α -Gal A normal e células com deficiência dessa enzima (Mehta and Hughes, 1993) (Vedder et al., 2006).

1.1.6 - Patologia e Mecanismo da Doença

O mecanismo pelo qual a deficiência de α -Gal A e o acúmulo de glicolípides levam a variadas complicações ainda não é bem compreendido (Schiffmann, 2009). Baseado na patologia da DF, o acúmulo crônico de partes da α -D-galactosil, particularmente a Gb3, parece resultar em um estado tóxico crônico (Gieselmann, 2006).

O acúmulo sistêmico de glicoesfingolípides ocorre preferencialmente nas células do endotélio vascular e músculo liso, miocárdio, epitélio renal e sistema nervoso central. No SNC, um acúmulo difuso ocorre na vasculatura cerebral com mais envolvimento nos neurônios centrais junto com gânglio da raiz dorsal e autonômico no sistema nervoso periférico (Moore et al., 2001).

No estudo das placentas das mães portadoras heterozigotas as inclusões de Gb3 foram encontradas apenas na porção materna quando o recém nascido era normal (Popli et al., 1990) e em ambos, parte materna e fetal de placenta quando recém nascido afetado (Vedder et al., 2006).

As alterações patológicas na DF são divididas em doença-específica e alterações secundárias. No primeiro grupo encontram-se os depósitos de lipídios intralisossomais que serão visualizados na maioria das células, porém, mais proeminentes em células endoteliais vasculares, cardíacas, epiteliais renais e nervosas (Schiffmann, 2009).

As alterações secundárias refletem as disfunções causadas nos órgãos acometidos e incluem: hipertrofia cardíaca, progressiva insuficiência renal, isquemia cerebral, entre outras (Ries et al., 2003).

A DF é uma doença vascular sistêmica extensa que causa complicações cardiovasculares e AVC (Schiffmann, 2009). Além disso, tem todas as características clássicas de uma vasculopatia com anormalidades relacionadas aos componentes do sangue (como pró-coagulantes e anticoagulantes), fluxo sanguíneo e parede dos vasos (tríade de Virchow) (Moore et al., 2007).

O encontro do aumento solúvel de ICAM-1 (Molécula de adesão intracelular 1), VCAM-1 (Molécula de adesão de célula vascular 1), P-selectina, inibidor do ativador de plasminogênio (PAI) e a diminuição de trombomodulina combinada com o aumento da expressão monocítica de CD11b (receptor para fibrinogênio) e fator X confirma o estado pró-trombótico na DF (DeGraba et al., 2000).

A relação entre o aumento do risco de AVC na DF e o aumento do fluxo sanguíneo cerebral é incerta. É possível que o aumento do fluxo contribua para a disfunção endotelial e dilatação da parede do vaso resultando num estado pró-trombótico (Schiffmann, 2009). Também foi encontrado que polimorfismos em interleucina 6, e-NOS (óxido nítrico endotelial sintase), fator V e proteína Z influenciam significativamente a probabilidade de pacientes com DF desenvolverem sinais de alta intensidade em lesões cerebrais pela técnica de RM-FLAIR provavelmente relacionado a doença de pequenos vasos, o que sugere que um estado pró-coagulante age como um importante mecanismo nas lesões cerebrais (Altarescu et al., 2005).

O achado patológico do envolvimento renal na DF caracteriza-se por vacúolos em podócitos e células epiteliais nos glomérulos e túbulos renais. A microscopia eletrônica mostra corpos lamelares irregulares intracitoplasmáticos que são os lisossomos contendo Gb3 (Branton et al., 2002). Com o tempo o glomérulo desenvolve esclerose mesangial e progressiva, atrofia tubular e fibrose intersticial. Diminuição da habilidade de concentrar a urina pode ser precoce com proteinúria presente na infância, no adulto jovem e início de falência renal aos 40-50 anos (Sunder-Plassmann, 2006).

Um dos sinais patológicos da DF é o aumento da espessura da camada íntima das carótidas durante a proliferação de células de músculo liso. Interessantemente quando a cultura de células de músculo liso é exposta a globotriaosilesfingosina (uma forma desacetilada de Gb3) em concentrações similares ao plasma de pacientes, estas células mostram um aumento de proliferação, fornecendo uma explicação direta do aumento da espessura da íntima (Aerts et al., 2008).

Um estudo de 2007 usou diferentes técnicas de imunodeteção (como microscopia eletrônica com ouro como imunomarcador,) em tecidos e cultura de fibroblastos de pacientes com DF. Foi encontrado Gb3 em toda a célula incluindo compartimentos celulares não lisossomais e membrana celular e não somente nos lisossomos como se pensava (Askari et al., 2007).

1.1.7 – Angioqueratomas na Doença de Fabry

A característica inicial relacionada à anormalidade vascular reconhecida na DF é o angioqueratoma (Anderson, 1898) (Figura 7).

O termo angioqueratoma é usado para condições distintas mas, que compartilham a apresentação clínica com lesões de pele vasculares hiperkeratóticas assintomáticas e uma combinação histológica de ectasia dérmica superficial e hiperqueratose (Rook S 2004).

FONTE: Modificado de Rooks Textbook Dermatology (2004)

Figura 6 – Classificação dos angioqueratomas

Localizados

Angioqueratoma papular solitário

É a forma mais frequente. Aparece mais tarde (entre 10 e 40 anos) e geralmente segue uma história de trauma, com predileção pelas pernas (Sampaio and Rivitti, 2007).

Angioqueratoma acral

Também denominado angioqueratoma de Mibelli, é condição rara transmitida como um traço autossômico dominante com penetrância variável. Mulheres são mais afetadas e existe alguma relação com o frio. São lesões de cerca de 05 mm, principalmente em dorso e lateral de dedos de mãos e pés mas pode atingir joelhos e cotovelos. Raramente pode sumir espontaneamente (Sampaio and Rivitti, 2007)

Angioqueratoma de escroto e vulva

Também chamado de angioqueratoma de Fordyce, torna-se mais presente com o aumento da idade. A hipertensão venosa local tem um papel importante no seu desenvolvimento. Atingem poucos milímetros. Lesões idênticas podem ocorrer em glândula, virilhas e porção superior de coxas (Sampaio and Rivitti, 2007) (Atherton, 2004).

Angioqueratoma circunscrito

Circunscrito ou neviforme é uma malformação vascular de vasos da derme papilar que se apresentam ectasiados e até trombosados. São raros, tipicamente unilaterais, localizados mais em membros inferiores e nádegas. São congênitos ou surgem na infância. Podem medir vários centímetros (Atherton, 2004).

Disseminados

Angioqueratoma corporis diffusum

É considerado um marcador dermatológico para diversas doenças raras lisossomais. Não são patognomônicos de doenças lisossomais de depósito mas, são encontradas em grande porcentagem de pacientes com: Doença de Fabry, fucosidose tipo II, atividade lisossomal de α -N-acetil-galactosidase deficiente com glicopeptidúria, aspartilglicosaminúria, GM1 gangliosidose do adulto, galactosialidose, deficiência de β - manosidase, entre outros (Kawachi et al., 1998) (Tabela 1). Podem ser encontrados também nas síndromes de Klippel-Trenaunay e Cobb (Atherton, 2004).

Idiopáticos

São lesões de pele onde não se encontram correlações com distúrbios metabólicos.

Tabela 1 – Doenças lisossomais que apresentam angioqueratomas disseminados

Designação	Defeito enzimático	Herança
Doença de Fabry	A – Galactosidase A	X
Fucosidose	A-L-Fucosidase	AR
Sialidose	A-Neuraminidase	AR
Galactossialidose	B-Galactosidase,	
Doença de Kanzaki	A-N-Acetilgalactosaminidase	AR
B-Manosidose	B-Manosidase	AR
GM1-Gangliosidose	B-Galactosidase	AR
Aspartilglicosaminúria	Aspartilglucosaminidase	AR

X = cromossomo X, AR = autossômico recessivo

FONTE: Mehta, A., M. Beck, et al. (2010).

Histologicamente todas as variedades de angioqueratomas são semelhantes apresentando hiperqueratose com cones interpapilares epidérmicos geralmente circundando os vasos dilatados; vasos dilatados na derme superficial, sem muita proliferação endotelial; presença de trombos (Rapini, 2007).

Angioqueratomas são frequentemente uma das manifestações mais precoces na DF. O número e o tamanho destas lesões cutâneas progressivamente aumentam com a idade. Também tendem a uma distribuição simétrica (Lidove et al., 2006).

Segundo dados do Fabry Outcome Survey (FOS) em 2007, de 714 indivíduos afetados (345 homens e 369 mulheres) os angioqueratomas estavam presentes em 66% dos homens e 36% das mulheres, com idade média de início de, respectivamente, 19 anos e de 28 anos (Orteu et al., 2007). Essas lesões isoladas, em grupo ou generalizadas, podem surgir antes dos 16 anos de idade (Pintos Morell, 2002), variando em distribuição e em intensidade, mas, caracteristicamente, “em calção de banho”, ou seja, na região interna das coxas, nádegas, umbigo, hipogástrio, escroto e pênis/genital feminino (Atherton, 2004).

Essas angiectasias podem constituir as manifestações mais precoces e capazes de levar ao diagnóstico de DF. Por outro lado, em alguns pacientes, os angioqueratomas podem não ser prontamente detectados, requerendo-se um exame cuidadoso da pele, especialmente na região do escroto e do umbigo, onde pode haver lesões isoladas (Desnick, 2001). Os angioqueratomas também podem acometer as mucosas como as da conjuntiva, da boca, das vias respiratórias e as dos tratos gastrointestinal e geniturinário (Kanda et al., 2000) (Larralde et al., 2004).

Também pode haver pessoas com a forma clássica da DF sem angioqueratomas ou apenas com lesões isoladas (Mohrenschlager et al., 2001, (Mohrenschlager et al., 2004).

Figura 7 - Angioqueratomas em pacientes com DF.

→ Diagnósticos Diferenciais dos Angioqueratomas

Algumas lesões são semelhantes clinicamente aos angioqueratomas e precisam ser diferenciadas. São elas: angioma eruptivo, angioma serpiginoso, sarcoma de kaposi, síndrome

angiodisplásica, ceratose seborréica irritada, basalioma pigmentado, nevo azul, melanoma maligno superficial, metástases de melanomas, telangiectasia hemorrágica hereditária (Atherton, 2004).

Angioqueratomas também podem ser vistos em outras doenças de depósitos: mannosidose, fucosidose, sialidose, deficiência de beta-galactosidase, doença de Schindler (Beratis et al., 1989), (George and Graham-Brown, 1994), (Kawachi et al., 1998), (Suzuki et al., 2004), bem como angioqueratomas isolados sem material de depósito associado (Fimiani et al., 1997).

→ Tratamento dos Angioqueratomas

As lesões, que são na maioria das vezes assintomáticas, podem ser tratadas com eletrocoagulação, nitrogênio líquido ou laser ablativo (Bechara, 2002). Em lesões mais extensas, pode ser feita ressecção cirúrgica local. Caso os angioqueratomas de escroto estejam associados a alterações locais que aumentem a pressão venosa, particularmente a varicocele, o tratamento da doença de base pode levar a regressão dos angioqueratomas (Mohrenschlager et al., 2003). Do mesmo modo, o tratamento com a terapia de reposição enzimática na DF (como será relatado a seguir) também leva a regressão dos angioqueratomas em alguns casos (Fauchais et al., 2010).

1.1.8 - Diagnóstico

→ Estudo bioquímico

O diagnóstico da DF, que esta presente desde o desenvolvimento intrauterino (Vedder et al., 2006), pode ser confirmado pela detecção de baixa atividade enzimática da α -Gal A em gota de sangue em papel de filtro, ou pela dosagem da enzima em leucócitos, plasma, fibroblastos da pele ou culturas de outras células. O método usado é o ensaio fluorimétrico com substrato 4-metilumbeliferil- α -D-galactopiranosídeo (Mehta, 2009).

A dosagem enzimática é muito útil em homens com a forma clássica da DF que terão menos de 1% da atividade da α -Gal A, enquanto que aqueles com a forma atípica mantêm uma atividade residual enzimática maior que 1% do normal (Desnick, 2001).

A medida da atividade enzimática pode não identificar todas as mulheres heterozigotas portadoras, pois em geral estas podem apresentar nível enzimático normal. Assim, a análise do DNA é fundamental para o diagnóstico de DF em mulheres (Wilcox et al., 2008).

O aumento de Gb3 no sedimento urinário, da urina de 24 horas, é útil para o diagnóstico da DF. Há um benefício na utilização de dosagem de Gb3 na urina pelo fato de ser um exame não invasivo, simples e fácil de ser usado como triagem, porém, falha em 40% dos afetados (Kitagawa et al., 2008). Quando os valores encontrados excedem do nível normal será necessária prosseguir a investigação na amostra de sangue (Kitagawa et al., 2008).

→ Estudo molecular

O gene que codifica a α -Gal A, *GLA*, localiza-se no cromossomo Xq22.1 e foi identificado em 1988 por Bishop et al. (Bishop et al., 1988).

O gene *GLA* possui aproximadamente 13Kb e contém 7 exons. Possui 1290 bases e codifica polipeptídios de 429 aminoácidos.

Em um estudo de 2009, foram relatadas 431 mutações descritas, destas, 295 eram do tipo “missense/nonsense”, 66 deleções pequenas, 12 deleções grandes, 21 defeitos de “splicing”, três rearranjos complexos e um era uma inserção grande (Schiffmann, 2009). Esse número, porém, aumenta a cada dia com o diagnóstico de novas mutações (Gal et al., 2006).

Na revisão feita pelo grupo italiano apontou 630 mutações descritas até dezembro de 2011 segundo fonte o Human Gene Mutation Database (HGMD) (Zampetti et al., 2012).

A correlação genótipo-fenótipo na DF ainda é incerta devido a grande variabilidade de descrições clínicas e genéticas.

→ Aconselhamento genético

A grande maioria dos pacientes com DF têm a doença por herança materna, no entanto, a proporção de mutações novas ocorre entre 3 a 10%. (Schafer et al., 2005).

Sendo uma doença ligada ao cromossomo X, um homem afetado transfere o gene responsável pela doença para todas as suas filhas, mas nunca para um filho do sexo masculino, e todos os filhos de suas filhas (ou seja, seus netos) têm 50% de chance de herdar o gene afetado. As

mulheres heterozigotas na DF também manifestam a doença, diferentemente da maioria das outras doenças recessivas ligadas ao cromossomo X (Mehta and Hughes, 1993).

Há possibilidade do diagnóstico pré-natal da DF pela dosagem da atividade da α -Gal A nas células epitelióides derivadas do fluido amniótico (Romeo and Migeon, 1970), ou por análise molecular de uma mutação já conhecida na família (Schiffmann, 2009). O estudo da mutação familiar é fundamental para o diagnóstico pré-natal e pré-implantacional em caso de gravidez de risco (Brady et al., 1971) (Raas-Rothschild and Lacombe, 2008).

1.1.9 - Tratamento

→ Terapia não específica

Indispensável para o manejo dos sintomas da DF.

Para dor neuropática utilizam-se baixas doses de carbamazepina, gabapentina, fenitoína, nortriptilina, amitriptilina e lamotrigina (Schiffmann et al., 2001). Para disfunção renal usam-se os inibidores da enzima conversora de angiotensina e bloqueadores dos receptores de angiotensina. Nos casos de insuficiência renal irreversível, hemodiálise crônica e/ou transplante renal podem ser necessários (Tahir et al., 2007).

A profilaxia de doenças renovasculares, doença cardíaca isquêmica e cerebrovascular nas pessoas com DF é a mesma da população geral (Pierre-Louis et al., 2009).

→ Terapia de Reposição Enzimática

A terapia de reposição enzimática (TRE) é a primeira terapia específica para DF e está disponível desde 2001 (Schiffmann, 2009).

A TRE é baseada no conceito que as hidrolases lisossomais recombinantes, a maioria enzimas precursoras, podem ser internalizadas em células e tecidos através de manoses que se ligam aos receptores de manose-6-fosfato, e são finalmente entregues aos lisossomos, onde são ativadas e substituem a função de hidrolases deficientes (Parenti, 2009).

Existem duas enzimas possíveis para TRE na DF: a alfa-galactosidase (Replagal, Shire Human Genetic Therapies, Cambridge, MA, 0,2mg/kg por infusão) e a beta-galactosidase (Fabrazyme, Genzyme Corporation,

Cambridge, MA, 1mg/Kg por infusão). Ambas são aprovadas na Europa e outros países incluindo Brasil, porém nos Estados Unidos apenas a betagalsidase é aprovada pelo FDA (Food and Drug Administration). Ambas são administradas endovenosas a cada duas semanas.

Evidências sugerem que a TRE retarda o declínio da função renal glomerular (Germain et al., 2007). Isto parece ser particularmente efetivo se a TRE for iniciada antes que a reserva renal esteja exausta e a taxa de filtração glomerular comece a decair (Banikazemi et al., 2007). A extensão da proteinúria é um importante fator preditor da taxa de declínio da função renal e da resposta a TRE, entretanto, a terapia não reduz a proteinúria nem normaliza a função tubular. Ela reduz as inclusões lisossomais nas células endoteliais vasculares renais e a excreção urinária de Gb3 (Banikazemi et al., 2007).

Um estudo controlado por placebo, multinacional, duplo-cego e randomizado com betagalsidase demonstrou redução de Gb3 das células endoteliais dos rins, coração e pele daqueles tratados com o medicamento, o que não ocorreu com os tratados com placebo (Thurberg et al., 2002). Além disso, houve 53% de diminuição do risco de eventos clínicos maiores como morte, infarto do miocárdio, AVC e insuficiência renal crônica (Banikazemi et al., 2007).

Outro estudo mostrou melhora na função das fibras nervosas C, Adelta e Abeta na neuropatia de Fabry com o tratamento com a betagalsidase (Hilz et al., 2004).

Em relação a dor neuropática, a TRE a reduz em comparação ao placebo, utilizando-se a escala “Brief Pain Inventory” (9 questões relacionadas a dor a serem respondidas com valor de 0 a 10) (Schiffmann et al., 2001), porém, a dor neuropática não é eliminada completamente e os pacientes precisam continuar com sua medicação para dor, embora com doses menores (Schiffmann, 2009).

A TRE com alfafalsidase não apresentou qualquer efeito sobre sensações de frio ou calor em um seguimento de seis meses (Schiffmann et al., 2001).

Houve um significativo declínio da duração do complexo QRS, medido através do ECG, naqueles tratados com TRE (Schiffmann et al., 2001).

Em crianças a TRE tem sido estudada, mas, somente em estudos abertos. Tem se mostrado um tratamento seguro e associado com redução de Gb3 urinário e cutâneo (no endotélio dérmico), diminuição da dor neuropática, dos sintomas gastrointestinais, aumento da taxa de variabilidade cardíaca, estabilidade da função renal e cardíaca (Ramaswami, 2008) (Wraith et al., 2008).

Especialistas recomendam que a TRE seja iniciada, o mais breve possível, em todos os homens com a doença, incluindo crianças e aqueles caminhando para diálise ou transplante renal, bem como em

mulheres portadoras, pois todos têm risco alto de complicações cardíacas e cerebrovasculares (Desnick et al., 2003).

Foi encontrado aumento de coloração para 3-nitrotirosina nos vasos sanguíneos dérmicos e cerebrais e aumento de níveis de nitrotirosina e mieloperoxidase no sangue de pacientes com DF comparado aos controles e isso se modificou com a TRE (Moore et al., 2001).

Apesar de todos os benefícios advindos do uso da TRE já se sabe que esta terapêutica ainda é falha na prevenção de AVC e outras alterações no sistema nervoso central, pela inabilidade da enzima recombinante em cruzar a barreira hematoencefálica (Murray et al., 2007). Também é insuficiente na remoção do Gb3 acumulado nos podócitos renais. Além disso, seu custo é bastante alto e as frequentes infusões necessárias levam a um alto impacto na qualidade de vida. Desta forma, novas tentativas farmacológicas têm sido estudadas, como é o caso das chaperonas (Kato et al., 2010).

→ Chaperonas

São pequenas moléculas capazes de auxiliar o correto enovelamento de algumas proteínas e as manterem com sua conformação nativa. Também estão envolvidos na dissolução de agregados protéicos (Borges, 2001). Podem ser proteínas inatas ou pequenas moléculas farmacológicas. As chaperonas melhoram a atividade residual enzimática protegendo a enzima mutante de um enovelamento incorreto e degradação na célula (Brady and Schiffmann, 2006). Tem a vantagem de a administração ser por via oral e a possibilidade de evitar a neurodegeneração nas doenças de depósito lisossomal. Por outro lado, a experiência clínica ainda é limitada, os efeitos adversos a longo prazo são desconhecidos e somente pacientes com mutações específicas são tratáveis (Parenti, 2009).

2 - JUSTIFICATIVA

2 - JUSTIFICATIVA

Já havia sido realizado um projeto na Unidade de Genética do Instituto da Criança (HCFMUSP) sobre identificação de DF pelo registro de angioqueratoma do Departamento de Dermatologia do Hospital das Clínicas – FMUSP, no período de 1991-2002.

Este trabalho demonstrou que o angioqueratoma é um marcador cutâneo importante na busca de pacientes com DF (Albano et al., 2010).

Decidimos estender o projeto incluindo outras instituições universitárias nas quais arquivos histológicos de angioqueratomas estivessem disponíveis.

3 - OBJETIVOS

3 - OBJETIVOS

- Detectar os portadores da DF a partir de casos de angioqueratoma diagnosticados através de exames anatomopatológicos de biópsia cutânea.
- Descrever o quadro clínico dos afetados e portadoras heterozigotas.
- Realizar aconselhamento genético.

4 CASUÍSTICA E MÉTODOS

4 - CASUÍSTICA E MÉTODOS

O projeto, inscrito como Protocolo de Pesquisa nº 0195/09, assim como o Termo de Consentimento, foram aprovados pela Comissão de Ética para Análise de projetos de Pesquisa – CAPPesq da Diretoria Clínica do Hospital das Clínicas e da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

Tratou-se de um estudo transversal a coorte, em que foram localizadas biópsias de angioqueratomas de pacientes provenientes dos arquivos anatomopatológicos das seguintes instituições:

- Departamento de Dermatologia do Instituto Central do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo – Dra. Maria Cecília Rivitti-Machado.
- Departamento de Patologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo Campus Ribeirão Preto – Dr. Charles Lourenço Marques.
- Departamento de Patologia da Universidade Federal de São Paulo – UNIFESP – Dra. Milvia Maria Simões e Silva Enochibara e Dr. Nilceo S Michalany.
- Departamento de Patologia da Santa Casa de Misericórdia de São Paulo.- Dra. Rute Facchini Lellis.

A participação no estudo estava condicionada à assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido pelos pacientes, pais ou responsáveis.

- Investigação Clínica

Todos os pacientes, de ambos os sexos, foram incluídos para avaliação clínica e laboratorial através de um protocolo que compreendeu:

- Anamnese e exame físico completo;
- Dosagem da enzima α - Gal A através de uma amostra de sangue periférico em papel filtro. As amostras de sangue foram coletadas por punção venosa, em tubos heparinizados, e depositados em papel filtro Whatman® 903. O ensaio fluorimétrico estava de acordo com protocolo pré-estabelecido (Muller et al., 2010) e foi usado como método de triagem para a atividade de α -galactosidase A diminuída (intervalo normal: $4,57 \pm 1,37$ umol/L/h). A dosagem enzimática foi realizada no Laboratório de Erros Inatos do Metabolismo do Hospital São Paulo, pela Dra. Vânia D'Almeida ou no centro diagnóstico CentoGene na Alemanha;
- As amostras positivas foram refeitas a partir da dosagem enzimática em leucócitos;
- Análise de DNA por estudo molecular das mulheres suspeitas e homens afetados. O gene GLA foi analisado por PCR e sequenciado ambas cadeias de DNA realizado no centro diagnóstico CentoGene na Alemanha.

Nos pacientes afetados seguiu-se a investigação clínica com:

- Dosagem sérica de: uréia, creatinina, sódio, potássio, cálcio, fósforo, magnésio, ácido úrico, glicemia;
- Exames de Urina (urina tipo 1, proteinúria de 24 horas, microalbuminúria isolada e de 24 horas e *clearence* de creatinina de 24 horas);

- Avaliação cardíaca com medida da pressão arterial, eletrocardiograma (ECG) e ecocardiograma doppler;
- Ultrassom abdominal total;
- Avaliação oftalmológica com exame de lâmpada de fenda para pesquisa de córnea *verticillata*.

Os familiares dos indivíduos afetados também foram submetidos a mesma investigação clínica e laboratorial incluindo as mulheres assintomáticas.

5 RESULTADOS e DISCUSSÃO

5 RESULTADOS e DISCUSSÃO

O período dos achados de registros variou de 7 a 16 anos de acordo com o sistema de informatização de cada serviço. O ano final de todos foi fevereiro de 2012.

Foram localizados 125 registros de angioqueratoma das diversas instituições. Destes conseguimos convocar 52 pacientes mas, apenas 45 pacientes compareceram para avaliação.

Tabela 2: Distribuição de pacientes.

Instituições	Ano de pesquisa	Pacientes registrados	Pacientes atendidos (convocados)
USP	2003-2012*	34	22 (25)
USP- Ribeirão	2005-2012	13	12 (13)
Escola Paulista de Medicina	1996-2012	59	09 (12)
Santa Casa de Misericórdia	2003-2012	19	02 (02)
Total		125	45 (52)

* Os casos de 1997-2002 do HC da USP foram previamente analisados em outro estudo (Albano et al 2009)
Fonte: Albano 2003

Dos 45 pacientes, 21 homens e 24 mulheres, avaliados foram identificados três pacientes masculinos afetados (6,6%) sendo: um paciente proveniente do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, um do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina USP- Ribeirão Preto e um da Universidade Federal de São Paulo.

Paciente 01

AP, sexo masculino, 32 anos.

O paciente procurou o serviço de reumatologia com a queixa de dor intensa em mão direita, após avaliação e afastado causa reumatológica foi encaminhado a Unidade de Genética do Instituto da Criança por achado de lesões sugestivas de angioqueratomas em abdome.

- Anamnese: episódios de dores em membros existiam desde a infância, associados a hipohidrose, o que dificultava a atividade física e intolerância ao calor e ao exercício. Cólicas abdominais eram recorrentes. Negava problemas cardíacos ou renais.

- Exame físico:

- Ótimo aspecto geral, presença de angioqueratomas em região abdominal, perineal, lábios, mãos e linfedema em mão direita.

- Exames complementares:

- Dosagem α - Gal A em papel filtro: 1,3 umol/L/h (N>2,5 umol/L/h) confirmando a deficiência enzimática;

- Hemograma, perfil bioquímico normais;

- Avaliação renal: uréia, creatinina, sódio, potássio, normais , proteinúria 900mg/24h; ultrassom de rins normais;

- Avaliação cardíaca: pressão arterial, ECG e ecocardiograma normais

- Avaliação oftalmológica: sem alterações;

- Ressonância magnética de encéfalo: sugeria focos de acometimento pela doença de base;

- Estudo molecular: mutação *nonssense* no exon 5 do gene *GLA* (c.785G>A p.W262X) confirmando o diagnóstico de DF.

Figura 8: Heredograma família 1, sendo ■ paciente índice afetado, ● portadoras mulheres e ▧ óbito.

- História familiar:

- Mãe, MP, 57 anos (II – 2)

- Anamnese: Paciente iniciou alteração renal em exames laboratoriais iniciados por volta dos 40 anos, que foram gradualmente progredindo até aos 52 anos quando foi submetida a transplante renal por falência. Refere que sempre se sentiu um pouco mais cansada principalmente em épocas quentes. Relata hipoidrose.

- Exame físico:

- Bom aspecto geral, ausência de angioqueratomas.

- Exames complementares:

- Dosagem α - Gal A em papel filtro: 2,2 umol/L/h ($N > 2,5$ umol/L/h) confirmando a deficiência enzimática;

- Hemograma, perfil bioquímico normal;

- Avaliação renal: adequado após transplante;

- Avaliação cardíaca: pressão arterial, ECG e ecocardiograma normais

- Avaliação oftalmológica: sem alterações;

- Estudo molecular: mutação *missense* no exon 5 do gene *GLA* (c.785G>A p.W262X) confirmando o diagnóstico de DF.

-Irmã, PP, 34 anos (III – 1)

- Anamnese: refere um pouco de dor nas mãos.

- Exame físico:

- Bom aspecto geral, ausência de angioqueratomas.

- Exames complementares:

- Dosagem α - Gal A em papel filtro: 2,6 $\mu\text{mol/L/h}$ ($N > 2,5 \mu\text{mol/L/h}$);
- Hemograma, perfil bioquímico normal;
- Avaliação renal: sem alterações;
- Avaliação cardíaca: pressão arterial, ECG e ecocardiograma normais;
- Avaliação oftalmológica: sem alterações;
- Estudo molecular: mutação *missense* no exon 5 do gene *GLA* (c.785G>A p.W262X) confirmando o diagnóstico de DF.

Tia materna de 54 anos e avó materna de 70 anos não tinham queixas de dor ou presença de angioqueratomas. Também foram submetidas à análise molecular que veio sem alterações.

Portanto, foram detectados 2 familiares portadoras (mãe e irmã) com comprovação de estudo molecular.

- Seguimento

Optado por iniciar o tratamento com terapia de reposição enzimática do paciente índice e a mãe. Os mesmos estão em tratamento por respectivamente 24 e 18 meses. A irmã, por apresentar sintomas leves, mantém seguimento clínico regular.

A decisão em se iniciar o tratamento de ambos se baseou principalmente nas alterações renais já estabelecidas, proteinúria (de 900mg/24h) e pós-transplante renal e especialmente no quadro álgico do probando (Desnick et al., 2003).

Com o decorrer do tratamento do paciente índice 1 foi observado melhora importante da dor e normalização da proteinúria e do hábito intestinal. Também foi iniciada a terapia adjuvante com gabapentina 300mg/d e losartan 50mg/d. Quanto aos angioqueratomas, não houve melhora clínica neste paciente conforme observado em figura abaixo.

Fotografia em fevereiro de 2011

Fotografia em agosto de 2013

Figura 11. Angioqueratomas em abdome antes e 30 meses após tratamento com terapia de reposição enzimática. Sem melhora clínica significativa.

Paciente 02

DDL, sexo masculino, 21 anos

- Anamnese: O paciente foi encaminhado ao serviço de genética do Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto com a queixa de importante dor em extremidades associado a lesões em pele. Também relatava anidrose com intolerância ao calor e ao exercício e migrânea.

- Exame físico:

- Bom aspecto geral, presença de angioqueratomas em região abdominal, perineal tipo angioqueratoma *corporis diffusum*.

- Exames complementares:

- Dosagem α - Gal A em papel filtro: 0,8 $\mu\text{mol/L/h}$ ($N > 2,5 \mu\text{mol/L/h}$), com confirmação por dosagem em leucócitos e plasma, demonstrando a deficiência enzimática;
- Hemograma, perfil bioquímico normal;
- Avaliação renal: presença de proteinúria moderada e microalbuminúria; ultrassom com doppler de rins normal;
- Avaliação cardíaca: pressão arterial, ECG e ecocardiograma normais;
- Avaliação oftalmológica: presença de córnea *verticillata*;
- Ressonância magnética de encéfalo com angiorressonância :normal sugeria focos de acometimento pela doença de base;
- Estudo molecular: sequenciamento genômico mostrou presença da mutação missense c.1025G>A p.R342Q no gene *GLA*.

Figura 9: Heredograma família 2, sendo

■ paciente índice afetado, ⊙

portadoras mulheres ⊙ e óbito.

- História familiar:

- Mãe (II – 1), 51 anos
 - Anamnese: relata cefaleia/migrânea e acroparestesias.
- Exame físico:
- Bom aspecto geral, ausência de angioqueratomas.
- Exames complementares:
 - Hemograma, perfil bioquímico normal;
 - Avaliação renal: proteinúria leve;

- Avaliação cérebro-vascular: alteração de substância branca em ressonância de encéfalo;
- Avaliação oftalmológica: sem alterações;
- Estudo molecular: sequenciamento genômico mostrou presença da mutação *missense* c.1025G>A R342Q no gene *GLA*.

-Tia (II – 2), 52 anos

- Anamnese: refere zumbido/vertigem, acroparestesias.

- Exame físico:

- Bom aspecto geral, ausência de angioqueratomas.

- Exames complementares:

- Hemograma, perfil bioquímico normal;
- Avaliação renal: proteinúria leve;
- Avaliação cardíaca: leve hipertrofia de VE (ventrículo esquerdo);
- Avaliação oftalmológica: sem alterações;
- Avaliação cerebrovascular: microangiopatia cerebral e aumento de tortuosidade vascular em angiorressonância.

- Irmão (III – 2), 17 anos

- Anamnese: relata acroparestesias e hipoidrose.

- Exame físico:

- Presença de angioqueratomas em região de bolsa escrotal.

- Exames complementares:

- Hemograma, perfil bioquímico normal;
- Avaliação renal: proteinúria moderada;
- Avaliação cerebrovascular: angiorressonância normal;
- Avaliação oftalmológica: presença de córnea *verticillata*;
- Avaliação cardíaca: ecocardiograma normal;
- Estudo molecular: ainda não realizado.

-Irmã (III – 3), 31 anos

- Anamnese: relata acroparestesias e cefaléia/migrânea.

- Exame físico:

- Bom aspecto geral, ausência de angioqueratomas.

- Exames complementares:

- Hemograma, perfil bioquímico normal;
- Avaliação renal: sem alteração;
- Avaliação cardíaca: sem alteração;

- Avaliação oftalmológica: sem alterações;
- Avaliação cerebrovascular: sem alteração.

- Irmã (III – 4), 22 anos
 - Anamnese: relata leves acroparestesias.

 - Exame físico:
 - Ausência de angioqueratomas.

 - Exames complementares:
 - Hemograma, perfil bioquímico normal;
 - Avaliação renal: sem alteração;
 - Avaliação cardíaca: sem alteração;
 - Avaliação oftalmológica: sem alterações;
 - Avaliação cerebrovascular: sem alteração.

- Irmã (III – 4), 25 anos
 - Anamnese: relata leves acroparestesias.

 - Exame físico:
 - Ausência de angioqueratomas.

 - Exames complementares:
 - Hemograma, perfil bioquímico normal;
 - Avaliação renal: sem alteração;
 - Avaliação cardíaca: sem alteração;
 - Avaliação oftalmológica: sem alterações;
 - Avaliação cerebrovascular: sem alteração.

- Irmã (III – 5), 25 anos
 - Anamnese: relata leves acroparestesias.

 - Exame físico:
 - Ausência de angioqueratomas.

 - Exames complementares:
 - Hemograma, perfil bioquímico normal;
 - Avaliação renal: sem alteração;
 - Avaliação cardíaca: sem alteração;
 - Avaliação oftalmológica: sem alterações;
 - Avaliação cerebrovascular: sem alteração.

- Irmão (III – 6), 20 anos
 - Anamnese: nega qualquer sintoma.
 - Exame físico:
- Presença de angioqueratomas em região de bolsa escrotal.
 - Exames complementares:
 - Hemograma, perfil bioquímico normal;
 - Avaliação renal: proteinúria moderada;
 - Avaliação cerebrovascular: angiorressonância normal;
 - Avaliação oftalmológica: sem alteração;
 - Avaliação cardíaca: ecocardiograma normal.
- Primo (III – 7), 32 anos
 - Anamnese: nega qualquer sintoma.
 - Exame físico:
- Ausência de angioqueratomas.
 - Exames complementares:
 - Hemograma, perfil bioquímico normal;
 - Avaliação renal: proteinúria moderada;
 - Avaliação cerebrovascular: angiorressonância normal;
 - Avaliação oftalmológica: sem alteração;
 - Avaliação cardíaca: cardiomiopatia hipertrófica.
- Sobrinho (IV - 1), 15 anos
 - Anamnese: cefaleias ocasionais e acroparestesias.
 - Exame físico:
- Presença de angioqueratomas esparsos em região de bolsa escrotal.
 - Exames complementares:
 - Hemograma, perfil bioquímico normal;
 - Avaliação renal: proteinúria moderada;
 - Avaliação cerebrovascular: aumento de tortuosidade de vasos cerebrais, porém sem alteração de substância branca cerebral;
 - Avaliação oftalmológica: presença de córnea *verticillata*;
 - Avaliação cardíaca: ecocardiograma sem alteração.

Portanto foram detectados 4 portadoras mulheres e 4 afetados homens.

- Seguimento:

Até o momento foi iniciado tratamento com terapia de reposição enzimática em quatro pacientes: caso índice, desde 2009, a mãe e o irmão (III – 2) desde 2010 e o sobrinho em 2011.

Os demais familiares, com poucos sintomas, estão em acompanhamento clínico.

O paciente índice diagnosticado com angioqueratoma *corporis diffusum* teve muito pouca redução das lesões cutâneas mesmo com quatro anos ininterruptos de tratamento. Neste quesito os demais familiares em tratamento não apresentaram melhora.

O sintoma que mais notavelmente apresentou regressão foram as acroparestesias, acompanhadas de prostração e febre, com redução da frequência e intensidade das crises que anteriormente ocorriam a cada dois a três dias e agora ocorrem em intervalos de dois a três meses. A função renal se estabilizou e não houve aparecimento de alterações cardíacas ou cerebrais.

Paciente 03

LHVM, sexo masculino, 16 anos

- Anamnese: O paciente foi encaminhado ao serviço de genética do Hospital São Paulo da Universidade Federal de São Paulo, através da Dermatologia, pelo encontro de lesões de angioqueratomas. Associadamente relatava muitas dores em pés.

- Exame físico:

- Bom aspecto geral, presença de angioqueratomas em região abdominal, perineal agrupadas em esparsas lesões em membros inferiores.

- Exames complementares:

- Dosagem α - Gal A em papel filtro de 2,5 umol/L/h com confirmação por dosagem em leucócitos e plasma, demonstrando a deficiência enzimática.
 - Hemograma, perfil bioquímico normal;
 - Avaliação renal: presença de proteinúria de 0,15g/24h e microalbuminúria de 13,5mcg/min; ultrassom de rins normal;
 - Avaliação cardíaca: pressão arterial e ECG normais; ecocardiograma com 63% da fração de ejeção;
 - Avaliação oftalmológica: presença de córnea *verticillata*.
- Estudo molecular: sequenciamento genômico mostrou presença da mutação missense c.1025G>A p.R342Q no gene *GLA*.

Figura 10: Heredograma família 3, sendo paciente índice afetado, portadora mulher e irmão afetado.

- História familiar:

A pesquisa familiar confirmou diagnóstico da mãe e do irmão e os mesmos serão posteriormente avaliados.

- Mãe (II – 2) 34 anos
 - Anamnese: sem sintomas gerais.
 - Exame físico:
 - Bom aspecto geral, ausência de angioqueratomas.
 - Exames complementares:
 - Hemograma, perfil bioquímico normal;
 - Avaliação renal: proteinúria leve;

- Avaliação cerebrovascular: alteração de substância branca em ressonância de encéfalo;
- Avaliação oftalmológica: sem alterações;
- Estudo molecular: sequenciamento genômico mostrou presença da mutação *missense* R342Q no gene *GLA*.

-Irmão (III – 3) 13 anos

- Anamnese: refere acroparestesias.
- Exame físico:
- Presença de angioqueratomas em abdome.

- Exames complementares:
- Hemograma, perfil bioquímico normal;
- Avaliação renal: proteinúria leve;
- Avaliação cardíaca: leve hipertrofia de VE (ventrículo esquerdo);
- Avaliação oftalmológica: sem alterações.

Portanto foram detectados 1 afetado (irmão) e uma portadora (mãe)

- Seguimento:

Até o momento os três familiares estão em seguimento clínico e ainda não iniciaram tratamentos com enzima de reposição enzimática.

Discussão

A DF é uma doença pouco conhecida que apresenta inúmeras manifestações clínicas (Mehta et al., 2010) conforme também observado nos achados clínicos dos pacientes avaliados.

A idade deles eram 16, 21 e 32 anos demonstrando um diagnóstico tardio da DF, semelhantes aos da literatura (Germain, 2010) (MacDermot et al., 2001).

O que motivou a procura pelo atendimento médico de dois deles foram as dores em extremidades, sendo os angioqueratomas achados no exame físico, enquanto um procurou o atendimento devido apenas as alterações de pele.

Todos tinham queixas de dores em extremidades, hipoidrose com intolerância ao calor e atividades físicas desde a infância. O aparecimento de angioqueratomas iniciou-se desde a adolescência na região periumbilical que

posteriormente se estendeu para abdome, glúteos e coxas região genital (calção de banho) nos três pacientes. O paciente de 32 anos apresentava angioqueratomas inclusive nos lábios e nas pontas de dedos das mãos.

Nas três famílias estudadas, encontramos outros familiares afetados:

Família 1: irmã e mãe

Família 2: 2 irmãos, 3 irmãs, um sobrinho, um primo, uma tia e a mãe.

Família 3: irmão e mãe.

Assim conseguimos identificar 13 familiares sendo cinco homens e oito mulheres. A idade dos homens variou de 13 a 32 anos enquanto que das mulheres variou de 21 a 57 anos.

Os principais achados clínicos nos oito homens afetados foram: dores de extremidades (62,5%), angioqueratomas (87,5%), alterações renais (87,5%), cardíacas (12,5%) e presença de córnea *verticillata*(37,5%) Nas oito mulheres os achados clínicos foram: dores de extremidades (75%), angioqueratomas (12,5%), alterações renais (37,5%) cardíacas (12,5%) e presença de córnea *verticillata*(0%). A frequência desses achados mostrou-se semelhante à descrita na literatura. As mutações patogênicas no gene *GLA*, herdadas da mãe, foram identificadas nas 3 famílias e já haviam sido descritas anteriormente.

O estudo de Albano et al, a partir de registros de angioqueratomas do Hospital das Clínicas da Universidade de São Paulo de 1996-2002 encontrou, de 29 casos (16 pacientes com biópsias de angioqueratomas e 13 familiares destes), 3 pacientes com DF (10,3%). Outros estudos também apontam sobre o encontro de pacientes com DF a partir do achado de angioqueratomas (Hogarth et al., 2011, (Zampetti et al., 2011, (Zampetti et al., 2012).

Por outro lado, pacientes triados a partir de casos em hemodiálise (Merta et al., 2007) (Porsch et al., 2008) (Okur et al., 2013) cardiomiopatia hipertrófica (Monserrat et al., 2007) e AVC criptogênico (Rolfs et al., 2005) tiveram resultados menos expressivos.

Mais conhecimento sobre o assunto e divulgação da doença fará com que mais pacientes possam ser diagnosticados, bem como suas famílias a partir do aconselhamento genético, e beneficiados com o tratamento de reposição enzimática.

A busca sistemática por pacientes com DF a partir da presença de angioqueratomas é uma ferramenta importante para um diagnóstico precoce. Em indivíduos onde o achado no exame físico inclui a presença de

angioqueratomas múltiplos e difusos (*angioqueratoma corporis diffusum*), em área de calção de banho especialmente em homens a pesquisa de possibilidade de DF é mandatória.

Casos de angioqueratomas isolados, que levaram ao diagnóstico de DF existem (Corry et al., 2011) bem como é observado através do exame físico de alguns portadores familiares dos casos índice, incluindo as mulheres. Por outro lado sabe-se que a lesão única de angioqueratoma é benigna e comum. Desta forma, para garantir o achado de portadores da DF em meio a toda população é indispensável que se pesquise outros sintomas associados respondendo algumas questões:

1. Há hipoidrose ou anidrose?
2. Há acroparestesias?
3. Há ou houve, na infância limitações por dores, intolerância aos exercícios?
4. Há história familiar de doença renal, cardíaca ou AVC precoces?

A positividade de pelo menos uma destas questões permite se pensar e investigar DF.

A investigação inicia-se com a pesquisa de proteína na urina e exame oftalmológico de lâmpada de fenda para visualização de córnea *verticillata*.

Figura 12. Fluxograma de detecção de Doença de Fabry a partir do encontro de angioqueratoma.

É necessária a instrução de médicos, especialmente dermatologistas, para que estejam cientes de que pacientes com angioqueratomas, e suas famílias, devem ser investigados quanto a possibilidade de terem DF. Apesar de não ser patognomônico, o angioqueratoma é um bom marcador para o encontro e diagnóstico da DF.

6 - CONCLUSÕES

6 - CONCLUSÕES

- A DF foi identificada em 3/45 pacientes (6,6%) pelos registros histopatológicos, portanto angioqueratoma é um marcador útil para detecção da doença.
- A dosagem enzimática de α -Gal A e/ou estudo molecular foram fundamentais para confirmação diagnóstica da DF.
- Foi possível identificar outros 13 familiares afetados (5 homens: 8 mulheres) enfatizando a importância do aconselhamento genético.
- Todos os pacientes apresentavam outros achados clínicos associados ao angioqueratoma, no entanto, não haviam sido diagnosticados.
- O diagnóstico ainda é tardio e há necessidade de reconhecimento dos médicos sobre a DF para possibilitar um diagnóstico precoce.

ANEXO A – Folha de aprovação do estudo pela Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa – CAPPesq da diretoria clínica do Hospital das Clínicas e da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

APROVAÇÃO

A Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa - CAPPesq da Diretoria Clínica do Hospital das Clínicas e da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, em sessão de 15/07/2009, **APROVOU** o Protocolo de Pesquisa nº **0195/09**, intitulado: "**ANGIOQUERATOMA COMO MARCADOR PARA O DIAGNÓSTICO DE DOENÇA DE FABRY**" apresentado pelo Departamento de **PEDIATRIA**. Inclui o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Cabe ao pesquisador elaborar e apresentar à CAPPesq, os relatórios parciais e final sobre a pesquisa (Resolução do Conselho Nacional de Saúde nº 196, de 10/10/1996, inciso IX.2, letra "c").

Pesquisadores Responsáveis: **Dra. Chong Ae Kim, Dra. Lillian Maria José Albano**
Pesquisador (a) Executante: **Samantha Vernaschi Kelmann**

CAPPesq, 16 de Julho de 2009

PROF. DR. CLAUDIO LEONE
Vice - Presidente da Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa

ANEXO B – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

**HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA
UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO-HCFMUSP**

MODELO DE TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO SUJEITO DA PESQUISA OU RESPONSÁVEL LEGAL

1. NOME:
DOCUMENTO DE IDENTIDADE Nº: SEXO: .M ☐ F ☐
DATA NASCIMENTO:/...../.....
ENDEREÇO Nº APTO:
BAIRRO: CIDADE
CEP: TELEFONE: DDD (.....)
.....

2. RESPONSÁVEL LEGAL
NATUREZA (grau de parentesco, tutor, curador etc.)
DOCUMENTO DE IDENTIDADE : SEXO: M ☐ F ☐
DATA NASCIMENTO:/...../.....
ENDEREÇO: Nº APTO:
BAIRRO: CIDADE:
CEP: TELEFONE: DDD
(.....).....

DADOS SOBRE A PESQUISA

1. TÍTULO DO PROTOCOLO DE PESQUISA : **Angioqueratoma como marcador para o diagnóstico da Doença de Fabry**

2. PESQUISADOR : Dra Chong Ae Kim (Responsável); Dra Lilian Maria José Albano (Responsável); Dra Samantha Vernaschi Kelmann (Executante);

CARGO/FUNÇÃO: Dra Chong Ae Kim: Chefe da Unidade de Genética do Instituto da Criança do HC-FMUSP. INSCRIÇÃO CONSELHO REGIONAL Nº 40.054; Dra Lilian M J Albano: Médica Geneticista

da Unidade de Genética do Instituto da Criança do HC-FMUSP. INSCRIÇÃO CONSELHO REGIONAL Nº 37.753; Samantha Vernaschi Kelmann: Médica Dermatologista. INSCRIÇÃO CONSELHO REGIONAL Nº109.119.

UNIDADE DO HCFMUSP: Genética do Instituto da Criança do HC-FMUSP

3. AVALIAÇÃO DO RISCO DA PESQUISA:

RISCO MÍNIMO ☐

RISCO MÉDIO ☐

RISCO BAIXO ☒

RISCO MAIOR ☐

4. DURAÇÃO DA PESQUISA : 2 anos

1 – Desenho do estudo e objetivo(s): “essas informações estão sendo fornecidas para sua participação voluntária neste estudo, que visa identificar dentre os indivíduos com angioqueratoma aqueles que possam ter a doença de Fabry. Trata-se de uma doença causada pela ausência ou baixa atividade de uma substância, a enzima alfa-galactosidase, presente no nosso organismo e que é essencial na remoção de um tipo particular de gordura (lipídeo GL-3). Pacientes com essa doença apresentam acúmulo desse tipo de gordura nos vasos que conduzem o sangue podendo causar problemas no cérebro, coração e rins. Quando os sintomas da doença são reconhecidos logo no início, é possível um tratamento mais adequado da doença. Assim, após seu consentimento, você será avaliado pelo médico e será submetido a um questionário para verificar possível caso da doença em você ou na sua família.

2 – Descrição dos procedimentos que serão realizados, com seus propósitos e identificação dos que forem experimentais e não rotineiros: Serão realizados: uma entrevista com o paciente e com os familiares responsáveis para se coletar os dados de história clínica; realizar o heredograma que é um diagrama da história familiar do paciente e de seus parentes mais próximos e, um exame físico geral e direcionado a procura das lesões de pele – o angioqueratoma; avaliações de outras especialidades como oftalmologia , cardiologia e nefrologia quando necessário; e exames complementares pertinentes, tais como ultra-sonografia abdominal para avaliação dos rins , ecocardiograma para avaliação do tamanho do coração e coleta de sangue (3 ml) e urina (50ml) para estudar e investigar traços que sugiram a doença no sangue e urina.

3 – Relação dos procedimentos rotineiros e como são realizados – anamnese, exame físico completo, coleta de sangue por punção periférica da veia do antebraço; exames de imagem se necessário, como por exemplo, ultra-som abdominal e ecocardiograma.

4 – Descrição dos desconfortos e riscos esperados nos procedimentos dos itens 2 e 3: os pacientes podem sentir discretas dores pela punctura com agulha para coletas de sangue.

5 – Benefícios para o participante. A vantagem dessa investigação é que o diagnóstico precoce dessa doença permite um acompanhamento mais adequado desses doentes e uma abordagem mais abrangente, procurando-se evitar, deter ou impedir que complicações próprias da evolução da doença possam ocorrer.

6 – Relação de procedimentos alternativos que possam ser vantajosos, pelos quais o paciente pode optar. Não há.

7 – Garantia de acesso: em qualquer etapa do estudo, você terá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de eventuais dúvidas. As principais investigadoras são as Dras Chong Ae Kim e a Dra Lílian Maria José Albano, que podem ser encontradas no endereço: Av Dr Enéas de Carvalho Aguiar, 647. Cerqueira César. Telefone(s) 3069-8671. Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) – Rua Ovídio Pires de Campos, 225 – 5º andar – tel: 3069-6442 ramais 16, 17, 18 ou 20, FAX: 3069-6442 ramal 26 – E-mail: cappesq@hcnet.usp.br.

8 – É garantida a liberdade da retirada de consentimento a qualquer momento e deixar de participar do estudo, sem qualquer prejuízo à continuidade de seu tratamento **na** **Instituição;**

09 – Direito de confidencialidade – As informações obtidas serão analisadas em conjunto com outros pacientes, não sendo divulgado a identificação de nenhum paciente;

10 – Direito de ser mantido atualizado sobre os resultados parciais das pesquisas, quando em estudos abertos, ou de resultados que sejam do conhecimento dos pesquisadores;

11 – Despesas e compensações: não há despesas pessoais para o participante em qualquer fase do estudo, incluindo exames e consultas. Também não há compensação financeira relacionada à sua participação. Se existir qualquer despesa adicional, ela será absorvida pelo orçamento da pesquisa.

12 - **Compromisso do pesquisador** de utilizar os dados e o material coletado somente para esta pesquisa.

Acredito ter sido suficientemente informado a respeito das informações que li ou que foram lidas para mim, descrevendo o estudo” **ANGIOQUERATOMA COMO MARCADOR PARA O DIAGNÓSTICO DE DOENÇA DE FABRY**”.

Eu discuti com as Dras Chong Ae Kim e Lilian Maria José Albano sobre a minha decisão em participar nesse estudo. Ficaram claros para mim quais são os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que minha participação é isenta de despesas e que tenho garantia do acesso a tratamento hospitalar quando necessário. Concordo voluntariamente em participar deste estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidades ou prejuízo ou perda de qualquer benefício que eu possa ter adquirido, ou no meu atendimento neste Serviço.

Assinatura do paciente/representante legal Data ____/____/____

Assinatura da testemunha Data ____/____/____

para casos de pacientes menores de 18 anos, analfabetos, semi-analfabetos ou portadores de deficiência auditiva ou visual.

(Somente para o responsável do projeto)

Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o Consentimento Livre e Esclarecido deste paciente ou representante legal para a participação neste estudo.

Assinatura do responsável pelo estudo Data ____/____/____

ANEXO C – Protocolo de anamnese aos pacientes analisados.

PROTOCOLO – DOENÇA DE FABRY

Data

Nome: _____ REG _____

DN ____/____/____ Sexo _____

End _____ CEP _____

Fones _____

Mãe _____ Idade _____

Pai _____ Idade _____

Biópsia nº _____ Local _____ Instituição _____

HistóricoQuadro similar na família ☐Aparência facial característica ☐Angioqueratomas ☐

Idade de aparecimento _____

Região “calção de banho” ☐

Outras áreas corporais _____

Único ☐Múltiplos ☐esq ☐

Outras lesões vasculares _____

Dor neuropática

Idade de aparecimento _____

Acroparestesias ☐Dor em queimação ☐Dor crônica ☐Ataques de dor ☐Crise de dor com febre ☐**Edema**

Idade de aparecimento _____

Alterações Oftalmológicas

Idade de aparecimento _____

Córnea verticilata ☐Catarata subcapsular posterior ☐**Alterações Cardíacas**

Idade de aparecimento _____

Hipertrofia de ventricular ☐ dir ☐Anormalidade valvar ☐Distúrbio de condução ☐Arritmia ☐Pré-cordialgia ☐Dispnéia ☐Hipertensão ☐**Alterações Renais**

Idade de aparecimento _____

Alterações da sudorese

Idade de aparecimento _____

Anidrose ☐Hipohidrose ☐Hiperhidrose ☐Redução de saliva ou lágrimas ☐Ataque isquêmico transitório ☐Acidente vascular cerebral ☐Distúrbio da concentração ☐Cefaléia ☐Epilepsia ☐**Alterações Gastrointestinais**

Idade de aparecimento _____

Dor abdominal ☐Náuseas ☐Vômitos ☐Diarréia/ Constipação ☐**Outros sinais/sintomas:****Medicações em uso:****Heredograma:**Proteinúria ☐Insuficiência renal ☐Cistos renais paracorticais e pélvicos ☐Diálise/hemodiálise ☐**Alterações neurológicas**

Idade de aparecimento _____

Alterações auditivas

Idade de aparecimento _____

Tinnitus ☐Zumbidos ☐Vertigens ☐Perda da audição neuro-sensorial ☐**Alterações pulmonares**

Idade de aparecimento _____

Cansaço ☐Respiração curta/asma ☐Insuficiência respiratória ☐

8 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICA

8 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Aerts JM, Groener JE, Kuiper S, Donker-Koopman WE, Strijland A, Ottenhoff R, van Roomen C, Mirzaian M, Wijburg FA, Linthorst GE, Vedder AC, Rombach SM, Cox-Brinkman J, Somerharju P, Boot RG, Hollak CE, Brady RO, Poorthuis BJ. Elevated globotriaosylsphingosine is a hallmark of Fabry disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2008 Feb 26;105(8):2812-7.

Albano LM, Rivitti C, Bertola DR, Honjo RS, Kelmann SV, Giugliani R, Kim CA. Angiokeratoma: a cutaneous marker of Fabry's disease. *Clinical and experimental dermatology*. 2010 Jul;35(5):505-8.

Altarescu G, Moore DF, Schiffmann R. Effect of genetic modifiers on cerebral lesions in Fabry disease. *Neurology*. 2005 Jun 28;64(12):2148-50.

Anderson WA. Angeio-keratoma. *The British journal of dermatology*. 1898;10:113-7.

Askari H, Kaneski CR, Semino-Mora C, Desai P, Ang A, Kleiner DE, Perlee LT, Quezado M, Spollen LE, Wustman BA, Schiffmann R. Cellular and tissue localization of globotriaosylceramide in Fabry disease. *Virchows Archiv : an international journal of pathology*. 2007 Oct;451(4):823-34.

Atherton DJ, Moss, C. Naevi and other Developmental Defects. In: Burns T. BS, Cox N., Griffiths C., editor. *Rook's Textbook of Dermatology*. 7^a ed. Oxford: Blackwell Publishing; 2004. p. 87-90.

Banikazemi M, Bultas J, Waldek S, Wilcox WR, Whitley CB, McDonald M, Finkel R, Packman S, Bichet DG, Warnock DG, Desnick RJ. Agalsidase-beta therapy for advanced Fabry disease: a randomized trial. *Annals of internal medicine*. 2007 Jan 16;146(2):77-86.

Bechara FGH, M.; Altmeyer, P.; Hoffmann, K; Jansen, T. . Angiokeratoma of the glans penis: successful treatment with Nd: YAG laser. *Acta Paediatr Suppl*. 2002(439):143.

Beratis NG, Varvarigou-Frimas A, Beratis S, Sklower SL. Angiokeratoma corporis diffusum in GM1 gangliosidosis, type 1. *Clinical genetics*. 1989 Jul;36(1):59-64.

Bishop DF, Kornreich R, Desnick RJ. Structural organization of the human alpha-galactosidase A gene: further evidence for the absence of a 3' untranslated region. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1988 Jun;85(11):3903-7.

Boggio P, Luna PC, Abad ME, Larralde M. [Fabry disease]. *Anais brasileiros de dermatologia*. 2009 Aug;84(4):367-76.

Borges JCP, M.C.; Ramos, C.H.I. Molecular chaperones genes in the sugarcane expressed sequence database. *Genet Mol Biol*. 2001;24(1):85-92.

Brady RO, Gal AE, Bradley RM, Martensson E, Warshaw AL, Laster L. Enzymatic defect in Fabry's disease. Ceramidetrihexosidase deficiency. *The New England journal of medicine*. 1967 May 25;276(21):1163-7.

Brady RO, Schiffmann R. Possible future therapies for Fabry disease. In: Mehta A, Beck M, Sunder-Plassmann G, editors. *Fabry Disease: Perspectives from 5 Years of FOS*. Oxford 2006.

Brady RO, Uhlenendorf BW, Jacobson CB. Fabry's disease: antenatal detection. *Science*. 1971 Apr 9;172(3979):174-5.

Branton MH, Schiffmann R, Sabnis SG, Murray GJ, Quirk JM, Altarescu G, Goldfarb L, Brady RO, Balow JE, Austin Iii HA, Kopp JB. Natural history of Fabry renal disease: influence of alpha-galactosidase A activity and genetic mutations on clinical course. *Medicine*. 2002 Mar;81(2):122-38.

Cable WJ, Kolodny EH, Adams RD. Fabry disease: impaired autonomic function. *Neurology*. 1982 May;32(5):498-502.

Chimenti C, Pieroni M, Morgante E, Antuzzi D, Russo A, Russo MA, Maseri A, Frustaci A. Prevalence of Fabry disease in female patients with late-onset hypertrophic cardiomyopathy. *Circulation*. 2004 Aug 31;110(9):1047-53.

Conti G, Sergi B. Auditory and vestibular findings in Fabry disease: a study of hemizygous males and heterozygous females. *Acta Paediatr Suppl*. 2003 Dec;92(443):33-7; discussion 27.

Corry A, Feighery C, Alderdice D, Stewart F, Walsh M, Dolan OM. A family with Fabry disease diagnosed by a single angiokeratoma. *Dermatology online journal*. 2011;17(4):5.

DeGraba T, Azhar S, Dignat-George F, Brown E, Boutiere B, Altarescu G, McCarron R, Schiffmann R. Profile of endothelial and leukocyte activation in Fabry patients. *Annals of neurology*. 2000 Feb;47(2):229-33.

Desnick RJ. Prenatal diagnosis of Fabry disease. *Prenatal diagnosis*. 2007 Aug;27(8):693-4.

Desnick RJ, Astrin KH, Bishop DF. Fabry disease: molecular genetics of the inherited nephropathy. *Advances in nephrology from the Necker Hospital*. 1989;18:113-27.

Desnick RJ, Brady R, Barranger J, Collins AJ, Germain DP, Goldman M, Grabowski G, Packman S, Wilcox WR. Fabry disease, an under-recognized multisystemic disorder: expert recommendations for diagnosis, management, and enzyme replacement therapy. *Annals of internal medicine*. 2003 Feb 18;138(4):338-46.

Desnick RJ, Ioannou Y. A. , Eng C. M. . Alpha-Galactosidase A deficiency: Fabry disease. In: Scriver C.R. BAL, Sly W.S., Valle D., Childs B., Kinzler K.W., Vogelstein B., editor. *The metabolic and molecular bases of inherited disease*. 8^a ed. New York: McGraw-Hill; 2001. p. 3733-74.

Duning T, Deppe M, Keller S, Schiffbauer H, Stypmann J, Bontert M, Schaefer R, Young P. Excessive Daytime Sleepiness Is a Common Symptom in Fabry Disease. *Case reports in neurology*. 2009;1(1):33-40.

Duve C. Exploring cells with a centrifuge. *Science*. 1975 Jul 18;189(4198):186-94.

Elleder M, Poupetova H, Kozich V. [Fetal pathology in Fabry's disease and mucopolysaccharidosis type I]. *Ceskoslovenska patologie*. 1998 Jan;34(1):7-12.

Fabry J. Ein Beitrag Zur Kenntnis der Purpura haemorrhagica nodularis (Purpura papulosa hemorrhagica Hebrae). *Arch Dermatol Syphilis*. 1898;43:187-200.

Fauchais AL, Prey S, Ouatarra B, Vidal E, Sparsa A. Angiokeratoma regression in a Fabry disease after treatment with agalsidase-beta: clinical effectiveness

marker? *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology : JEADV*. 2010 Jun;24(6):737-8.

Fimiani M, Mazzatenta C, Rubegni P, Andreassi L. Idiopathic angiokeratoma corporis diffusum. *Clinical and experimental dermatology*. 1997 Jul;22(4):205-6.

Gal A, Schafer E, Rohard I. The genetic basis of Fabry disease. In: Mehta A, Beck M, Sunder-Plassmann G, editors. *Fabry Disease: Perspectives from 5 Years of FOS*. Oxford2006.

George S, Graham-Brown RA. Angiokeratoma corporis diffusum in fucosidosis. *Journal of the Royal Society of Medicine*. 1994 Nov;87(11):707.

Germain DP. Fabry disease. *Orphanet journal of rare diseases*. 2010;5:30.

Germain DP, Waldek S, Banikazemi M, Bushinsky DA, Charrow J, Desnick RJ, Lee P, Loew T, Vedder AC, Abichandani R, Wilcox WR, Guffon N. Sustained, long-term renal stabilization after 54 months of agalsidase beta therapy in patients with Fabry disease. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN*. 2007 May;18(5):1547-57.

Gieselmann V. Cellular pathophysiology of lysosomal storage diseases. In: Mehta A, Beck M, Sunder-Plassmann G, editors. *Fabry Disease: Perspectives from 5 Years of FOS*. Oxford2006.

Hilz MJ, Brys M, Marthol H, Stemper B, Dutsch M. Enzyme replacement therapy improves function of C-, Adelta-, and Abeta-nerve fibers in Fabry neuropathy. *Neurology*. 2004 Apr 13;62(7):1066-72.

Hogarth V, Dhoat S, Mehta AB, Orteu CH. Late-onset Fabry disease associated with angiokeratoma of Fordyce and multiple cherry angiomas. *Clinical and experimental dermatology*. 2011 Jul;36(5):506-8.

Hopkin RJ, Bissler J, Banikazemi M, Clarke L, Eng CM, Germain DP, Lemay R, Tylki-Szymanska A, Wilcox WR. Characterization of Fabry disease in 352 pediatric patients in the Fabry Registry. *Pediatric research*. 2008 Nov;64(5):550-5.

Kanda A, Nakao S, Tsuyama S, Murata F, Kanzaki T. Fabry disease: ultrastructural lectin histochemical analyses of lysosomal deposits. *Virchows Archiv : an international journal of pathology*. 2000 Jan;436(1):36-42.

Kato A, Yamashita Y, Nakagawa S, Koike Y, Adachi I, Hollinshead J, Nash RJ, Ikeda K, Asano N. 2,5-Dideoxy-2,5-imino-d-altritol as a new class of pharmacological chaperone for Fabry disease. *Bioorganic & medicinal chemistry*. 2010 Jun 1;18(11):3790-4.

Kawachi Y, Matsu-ura K, Sakuraba H, Otsuka F. Angiokeratoma corporis diffusum associated with galactosialidosis. *Dermatology*. 1998;197(1):52-4.

Keilmann A, Hegemann S, Conti G, Hajioff D. Fabry disease and the ear. In: Mehta A, Beck M, Sunder-Plassmann G, editors. *Fabry Disease: Perspectives from 5 Years of FOS*. Oxford 2006.

Kint JA. Fabry's disease: alpha-galactosidase deficiency. *Science*. 1970 Feb 27;167(3922):1268-9.

Kitagawa T, Suzuki K, Ishige N, Ohashi T, Kobayashi M, Eto Y, Tanaka A, Odaka H, Owada M. Non-invasive high-risk screening for Fabry disease hemizygotes and heterozygotes. *Pediatr Nephrol*. 2008 Sep;23(9):1461-71.

Laney DA, Gruskin DJ, Fernhoff PM, Cubells JF, Ousley OY, Hipp H, Mehta AJ. Social-adaptive and psychological functioning of patients affected by Fabry disease. *Journal of inherited metabolic disease*. 2010 Jan 20.

Larralde M, Boggio P, Amartino H, Chamoles N. Fabry disease: a study of 6 hemizygous men and 5 heterozygous women with emphasis on dermatologic manifestations. *Archives of dermatology*. 2004 Dec;140(12):1440-6.

Lidove O, Jaussaud R, Aractingi S. Dermatological and soft-tissue manifestations of Fabry disease: characteristics and response to enzyme replacement therapy. In: Mehta A, Beck M, Sunder-Plassmann G, editors. *Fabry Disease: Perspectives from 5 Years of FOS*. Oxford 2006.

Lin HY, Chong KW, Hsu JH, Yu HC, Shih CC, Huang CH, Lin SJ, Chen CH, Chiang CC, Ho HJ, Lee PC, Kao CH, Cheng KH, Hsueh C, Niu DM. High incidence of the cardiac variant of Fabry disease revealed by newborn screening in the Taiwan Chinese population. *Circulation Cardiovascular genetics*. 2009 Oct;2(5):450-6.

MacDermot KD, Holmes A, Miners AH. Anderson-Fabry disease: clinical manifestations and impact of disease in a cohort of 98 hemizygous males. *Journal of medical genetics*. 2001 Nov;38(11):750-60.

Mehta A, Beck M, Eyskens F, Feliciani C, Kantola I, Ramaswami U, Rolfs A, Rivera A, Waldek S, Germain DP. Fabry disease: a review of current management strategies. *QJM : monthly journal of the Association of Physicians*. 2010 Sep;103(9):641-59.

Mehta A, Ginsberg L. Natural history of the cerebrovascular complications of Fabry disease. *Acta Paediatr Suppl*. 2005 Mar;94(447):24-7; discussion 9-10.

Mehta A, Hughes DA. Fabry Disease. In: Pagon RA, Bird TD, Dolan CR, Stephens K, Adam MP, editors. GeneReviews. Seattle (WA)1993.

Mehta A, Ricci R, Widmer U, Dehout F, Garcia de Lorenzo A, Kampmann C, Linhart A, Sunder-Plassmann G, Ries M, Beck M. Fabry disease defined: baseline clinical manifestations of 366 patients in the Fabry Outcome Survey. *European journal of clinical investigation*. 2004 Mar;34(3):236-42.

Mehta A, Widmer U. Natural history of Fabry disease. In: Mehta A, Beck M, Sunder-Plassmann G, editors. Fabry Disease: Perspectives from 5 Years of FOS. Oxford2006.

Mehta AB. Anderson-Fabry disease: developments in diagnosis and treatment. *International journal of clinical pharmacology and therapeutics*. 2009;47 Suppl 1:S66-74.

Meikle PJ, Hopwood JJ, Clague AE, Carey WF. Prevalence of lysosomal storage disorders. *JAMA : the journal of the American Medical Association*. 1999 Jan 20;281(3):249-54.

Merta M, Reiterova J, Ledvinova J, Poupetova H, Dobrovolny R, Rysava R, Maixnerova D, Bultas J, Motan J, Slivkova J, Sobotova D, Smrzova J, Tesar V. A nationwide blood spot screening study for Fabry disease in the Czech Republic haemodialysis patient population. *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association*. 2007 Jan;22(1):179-86.

Mohrenschlager M, Braun-Falco M, Ring J, Abeck D. Fabry disease: recognition and management of cutaneous manifestations. *American journal of clinical dermatology*. 2003;4(3):189-96.

Mohrenschlager M, Henkel V, Ring J. Fabry disease: more than angiokeratomas. *Archives of dermatology*. 2004 Dec;140(12):1526-8.

Mohrenschlager M, Ring J, Abeck D. Skin manifestations of Fabry disease. *JAMA : the journal of the American Medical Association*. 2001 Sep 19;286(11):1315.

Montserrat L, Gimeno-Blanes JR, Marin F, Hermida-Prieto M, Garcia-Honrubia A, Perez I, Fernandez X, de Nicolas R, de la Morena G, Paya E, Yague J, Egido J. Prevalence of fabry disease in a cohort of 508 unrelated patients with hypertrophic cardiomyopathy. *Journal of the American College of Cardiology*. 2007 Dec 18;50(25):2399-403.

Moore DF, Altarescu G, Barker WC, Patronas NJ, Herscovitch P, Schiffmann R. White matter lesions in Fabry disease occur in 'prior' selectively hypometabolic and hyperperfused brain regions. *Brain research bulletin*. 2003 Dec 30;62(3):231-40.

Moore DF, Kaneski CR, Askari H, Schiffmann R. The cerebral vasculopathy of Fabry disease. *Journal of the neurological sciences*. 2007 Jun 15;257(1-2):258-63.

Moore DF, Scott LT, Gladwin MT, Altarescu G, Kaneski C, Suzuki K, Pease-Fye M, Ferri R, Brady RO, Herscovitch P, Schiffmann R. Regional cerebral hyperperfusion and nitric oxide pathway dysregulation in Fabry disease: reversal by enzyme replacement therapy. *Circulation*. 2001 Sep 25;104(13):1506-12.

Muller KB, Rodrigues MD, Pereira VG, Martins AM, D'Almeida V. Reference values for lysosomal enzymes activities using dried blood spots samples - a Brazilian experience. *Diagnostic pathology*. 2010;5:65.

Murray GJ, Anver MR, Kennedy MA, Quirk JM, Schiffmann R. Cellular and tissue distribution of intravenously administered agalsidase alfa. *Molecular genetics and metabolism*. 2007 Mar;90(3):307-12.

Nakao S, Kodama C, Takenaka T, Tanaka A, Yasumoto Y, Yoshida A, Kanzaki T, Enriquez AL, Eng CM, Tanaka H, Tei C, Desnick RJ. Fabry disease: detection of undiagnosed hemodialysis patients and identification of a "renal variant" phenotype. *Kidney international*. 2003 Sep;64(3):801-7.

Nakao S, Takenaka T, Maeda M, Kodama C, Tanaka A, Tahara M, Yoshida A, Kuriyama M, Hayashibe H, Sakuraba H, et al. An atypical variant of Fabry's disease in men with left ventricular hypertrophy. *The New England journal of medicine*. 1995 Aug 3;333(5):288-93.

Nguyen TT, Gin T, Nicholls K, Low M, Galanos J, Crawford A. Ophthalmological manifestations of Fabry disease: a survey of patients at the Royal Melbourne Fabry Disease Treatment Centre. *Clinical & experimental ophthalmology*. 2005 Apr;33(2):164-8.

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 Jun 10.

Opitz JM, Stiles FC, Wise D, Race RR, Sanger R, Von Gemmingen GR, Kierland RR, Cross EG, De Groot WP. The Genetics of Angiokeratoma Corporis Diffusum (Fabry's Disease) and Its Linkage Relations with the Xg Locus. *American journal of human genetics*. 1965 Jul;17(4):325-42.

Orteu CH, Jansen T, Lidove O, Jaussaud R, Hughes DA, Pintos-Morell G, Ramaswami U, Parini R, Sunder-Plassman G, Beck M, Mehta AB. Fabry disease and the skin: data from FOS, the Fabry outcome survey. *The British journal of dermatology*. 2007 Aug;157(2):331-7.

Parenti G. Treating lysosomal storage diseases with pharmacological chaperones: from concept to clinics. *EMBO molecular medicine*. 2009 Aug;1(5):268-79.

Pierre-Louis B, Kumar A, Frishman WH. Fabry disease: cardiac manifestations and therapeutic options. *Cardiology in review*. 2009 Jan-Feb;17(1):31-5.

Pintos-Morell G, Beck M. Fabry disease in children and the effects of enzyme replacement treatment. *European journal of pediatrics*. 2009 Nov;168(11):1355-63.

Pintos Morell G. Enfermedad de Fabry: reconocimiento en la edad pediátrica. *Anales Españoles de Pediatría*. 2002;57(1):45-50.

Pompen AW, Ruiter M, Wyers HJ. Angiokeratoma corporis diffusum (universale) Fabry, as a sign of an unknown internal disease; two autopsy reports. *Acta medica Scandinavica*. 1947 Jun 30;128(3):234-55.

Popli S, Leehey DJ, Molnar ZV, Nawab ZM, Ing TS. Demonstration of Fabry's disease deposits in placenta. *American journal of obstetrics and gynecology*. 1990 Feb;162(2):464-5.

Porsch DB, Nunes AC, Milani V, Rossato LB, Mattos CB, Tsao M, Netto C, Burin M, Pereira F, Matte U, Giugliani R, Barros EJ. Fabry disease in hemodialysis patients in southern Brazil: prevalence study and clinical report. *Renal failure*. 2008;30(9):825-30.

Raas-Rothschild A, Lacombe D. Fabry disease prenatal diagnosis. *Prenatal diagnosis*. 2008 Mar;28(3):268.

Ramaswami U. Fabry disease during childhood: clinical manifestations and treatment with agalsidase alfa. *Acta Paediatr Suppl*. 2008 Apr;97(457):38-40.

Rapini R. Dermatopatologia Prática. primeira ed. Rio de Janeiro - Brasil 2007.

Ries M, Gupta S, Moore DF, Sachdev V, Quirk JM, Murray GJ, Rosing DR, Robinson C, Schaefer E, Gal A, Dambrosia JM, Garman SC, Brady RO, Schiffmann R. Pediatric Fabry disease. *Pediatrics*. 2005 Mar;115(3):e344-55.

Ries M, Mengel E, Kutschke G, Kim KS, Birklein F, Krummenauer F, Beck M. Use of gabapentin to reduce chronic neuropathic pain in Fabry disease. *Journal of inherited metabolic disease*. 2003;26(4):413-4.

Ries M, Moore DF, Robinson CJ, Tiffit CJ, Rosenbaum KN, Brady RO, Schiffmann R, Krasnewich D. Quantitative dysmorphology assessment in Fabry disease. *Genetics in medicine : official journal of the American College of Medical Genetics*. 2006 Feb;8(2):96-101.

Roche O, Orssaud C, Germain D, Dufier JL. [Pediatric aspects of Fabry's disease]. *Archives de pediatrie : organe officiel de la Societe francaise de pediatrie*. 2007 Jul;14(7):909-14.

Rolfs A, Bottcher T, Zschesche M, Morris P, Winchester B, Bauer P, Walter U, Mix E, Lohr M, Harzer K, Strauss U, Pahnke J, Grossmann A, Benecke R. Prevalence of Fabry disease in patients with cryptogenic stroke: a prospective study. *Lancet*. 2005 Nov 19;366(9499):1794-6.

Romeo G, Migeon BR. Genetic inactivation of the alpha-galactosidase locus in carriers of Fabry's disease. *Science*. 1970 Oct 9;170(3954):180-1.

Sachdev B, Takenaka T, Teraguchi H, Tei C, Lee P, McKenna WJ, Elliott PM. Prevalence of Anderson-Fabry disease in male patients with late onset hypertrophic cardiomyopathy. *Circulation*. 2002 Mar 26;105(12):1407-11.

Samir N. Ocular features of Fabry disease: diagnosis of a treatable life-threatening disorder. *Survey of ophthalmology*. 2008 Jul-Aug;53(4):416-23.

Sampaio S, Rivitti E. Dermatologia. 3 ed. São Paulo: Milton Hecht; 2007.

Schafer E, Baron K, Widmer U, Deegan P, Neumann HP, Sunder-Plassmann G, Johansson JO, Whybra C, Ries M, Pastores GM, Mehta A, Beck M, Gal A. Thirty-four novel mutations of the GLA gene in 121 patients with Fabry disease. *Human mutation*. 2005 Apr;25(4):412.

Schiffmann R. Fabry disease. *Pharmacology & therapeutics*. 2009 Apr;122(1):65-77.

Schiffmann R, Kopp JB, Austin HA, 3rd, Sabnis S, Moore DF, Weibel T, Balow JE, Brady RO. Enzyme replacement therapy in Fabry disease: a randomized controlled trial. *JAMA : the journal of the American Medical Association*. 2001 Jun 6;285(21):2743-9.

Segal P, Kohn Y, Pollak Y, Altarescu G, Galili-Weisstub E, Raas-Rothschild A. Psychiatric and cognitive profile in Anderson-Fabry patients: a preliminary study. *Journal of inherited metabolic disease*. 2010 Aug;33(4):429-36.

Sodi A, Ioannidis A, Pitz S. Ophthalmological manifestations of Fabry disease. In: Mehta A, Beck M, Sunder-Plassmann G, editors. *Fabry Disease: Perspectives from 5 Years of FOS*. Oxford 2006.

Sunder-Plassmann G. Renal manifestations of Fabry disease. In: Mehta A, Beck M, Sunder-Plassmann G, editors. *Fabry Disease: Perspectives from 5 Years of FOS*. Oxford 2006.

Suzuki N, Konohana I, Fukushige T, Kanzaki T. Beta-mannosidosis with angiokeratoma corporis diffusum. *The Journal of dermatology*. 2004 Nov;31(11):931-5.

Sweeley CC, Klionsky B. Fabry's Disease: Classification as a Sphingolipidosis and Partial Characterization of a Novel Glycolipid. *The Journal of biological chemistry*. 1963 Sep;238:3148-50.

Tahir H, Jackson LL, Warnock DG. Antiproteinuric therapy and fabry nephropathy: sustained reduction of proteinuria in patients receiving enzyme replacement therapy with agalsidase-beta. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN*. 2007 Sep;18(9):2609-17.

Thurberg BL, Rennke H, Colvin RB, Dikman S, Gordon RE, Collins AB, Desnick RJ, O'Callaghan M. Globotriaosylceramide accumulation in the Fabry kidney is cleared from multiple cell types after enzyme replacement therapy. *Kidney international*. 2002 Dec;62(6):1933-46.

Tondel C, Bostad L, Hirth A, Svarstad E. Renal biopsy findings in children and adolescents with Fabry disease and minimal albuminuria. *American journal of kidney diseases : the official journal of the National Kidney Foundation*. 2008 May;51(5):767-76.

Vedder AC, Strijland A, vd Bergh Weerman MA, Florquin S, Aerts JM, Hollak CE. Manifestations of Fabry disease in placental tissue. *Journal of inherited metabolic disease*. 2006 Feb;29(1):106-11.

Waldek S, Patel MR, Banikazemi M, Lemay R, Lee P. Life expectancy and cause of death in males and females with Fabry disease: findings from the Fabry Registry. *Genetics in medicine : official journal of the American College of Medical Genetics*. 2009 Nov;11(11):790-6.

Wang RY, Lelis A, Mirocha J, Wilcox WR. Heterozygous Fabry women are not just carriers, but have a significant burden of disease and impaired quality of life. *Genetics in medicine : official journal of the American College of Medical Genetics*. 2007 Jan;9(1):34-45.

Whitley CB, Tsai MY, Heger JJ, Prystowsky EN, Zipes DP. Amiodarone phenocopy of Fabry's keratopathy. *JAMA : the journal of the American Medical Association*. 1983 Apr 22-29;249(16):2177-8.

Whybra C, Kampmann C, Willers I, Davies J, Winchester B, Kriegsman J, Bruhl K, Gal A, Bunge S, Beck M. Anderson-Fabry disease: clinical manifestations of disease in female heterozygotes. *Journal of inherited metabolic disease*. 2001 Dec;24(7):715-24.

Wilcox WR, Oliveira JP, Hopkin RJ, Ortiz A, Banikazemi M, Feldt-Rasmussen U, Sims K, Waldek S, Pastores GM, Lee P, Eng CM, Marodi L, Stanford KE, Breunig F, Wanner C, Warnock DG, Lemay RM, Germain DP. Females with Fabry disease frequently have major organ involvement: lessons from the Fabry Registry. *Molecular genetics and metabolism*. 2008 Feb;93(2):112-28.

Wraith JE, Tylki-Szymanska A, Guffon N, Lien YH, Tsimaratos M, Vellodi A, Germain DP. Safety and efficacy of enzyme replacement therapy with agalsidase beta: an international, open-label study in pediatric patients with Fabry disease. *The Journal of pediatrics*. 2008 Apr;152(4):563-70, 70 e1.

Zampetti A, Orteu CH, Antuzzi D, Bongiorno MR, Manco S, Gnarra M, Morrone A, Cardinali G, Kovacs D, Aspite N, Linder D, Parini R, Feliciani C. Angiokeratoma: decision-making aid for the diagnosis of Fabry disease. *The British journal of dermatology*. 2012 Apr;166(4):712-20.

Zampetti A, Orteu CH, Antuzzi D, Bongiorno MR, Manco S, Gnarra M, Morrone A, Cardinali G, Kovacs D, Aspite N, Linder D, Parini R, Feliciani C. Angiokeratoma: Decision Making Methodology for the Diagnosis of Fabry Disease. *The British journal of dermatology*. 2011 Nov 19.

Zarate YA, Hopkin RJ. Fabry's disease. *Lancet*. 2008 Oct 18;372(9647):1427-35.