



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ  
ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ**

**ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΟΣ ΤΟΜΕΑΣ  
ΝΕΦΡΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ**

## **«Διαχείριση της Νόσου Fabry στην Ελλάδα»**

**Ανδρίκος Αιμίλιος  
Νεφρολόγος**

**ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ**

**Ιωάννινα 2009**





**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ  
ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ**

**ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΟΣ ΤΟΜΕΑΣ  
ΝΕΦΡΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ**

## **«Διαχείριση της Νόσου Fabry στην Ελλάδα»**

**Ανδρίκος Αιμίλιος  
Νεφρολόγος**

**ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ**

**Ιωάννινα 2009**





ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ  
ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ  
ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΟΣ ΤΟΜΕΑΣ  
ΝΕΦΡΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ

« Διαχείριση της Νόσου Fabry στην Ελλάδα »

Ανδρίκος Αιμίλιος  
Νεφρολόγος

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ



Ιωάννινα 2009



Η έγκριση της διδακτορικής διατριβής από την Ιατρική Σχολή του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων δεν υποδηλώνει αποδοχή των γνώμων του συγγραφέα [N. 5343/32, άρθρο 202, παράγραφος 2 (νομική κατοχύρωση του Ιατρικού Τμήματος)].



Ημερομηνία αίτησης του κ. Ανδρικού Αιμίλιου: 8-10-2002

Ημερομηνία ορισμού Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής: 497<sup>α</sup>/1-4-2003

**Μέλη Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής:**

Επιβλέπων

Σιαμόπουλος Κωνσταντίνος Καθηγητής Παθολογίας -Νεφρολογίας Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Μέλη

Ελισάφ Μωυσή Καθηγητή Παθολογίας Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Τσατσούλη Αγαθοκλή Καθηγητή Παθολογίας -Ενδοκρινολογίας Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Ημερομηνία ορισμού θέματος: 15-5-2003

«Διαχείριση της νόσου Fabry στην Ελλάδα»

**ΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΕΠΤΑΜΕΛΟΥΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ** : 653<sup>α</sup>/3-2-2009

Γεωργίου Ιωάννη	Καθηγητή Ιατρικής Γενετικής και Υποβοηθούμενης Αναπαραγωγής της Μαιευτικής -Γυναικολογίας Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
Γουδέβενο Ιωάννη	Καθηγητή Παθολογίας -Καρδιολογίας Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
Ελισάφ Μωυσή	Καθηγητή Παθολογίας Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
Σιαμόπουλο Κωνσταντίνο	Καθηγητή Παθολογίας -Νεφρολογίας Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
Τσατσούλη Αγαθοκλή	Καθηγητή Παθολογίας -Ενδοκρινολογίας Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
Τζαβάρια Θεόδωρο	Επίκουρο Καθηγητή Γενικής Βιολογίας Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
Τζούφη Μερόπη	Επίκουρη Καθηγήτρια Παιδιατρικής Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Έγκριση Διδακτορικής Διατριβής με βαθμό «ΑΡΙΣΤΑ» στις 18-2-2009

**ΠΡΟΕΔΡΟΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΣΧΟΛΗΣ**

Ιωάννης Γουδέβενος

Καθηγητής Παθολογίας-Καρδιολογίας



Η Γραμματέας της Σχολής

*[Handwritten signature]*

ΖΩΗ ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΣΒΕΝΤΖΟΥΡΗ -ΖΩΗ



*στη σύζυγο  
και τα παιδιά μου*



## ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η νόσος Fabry αποτελεί μια σπάνια, κληρονομική, φυλοσύνδετη με το χρωμόσωμα X, διαταραχή του μεταβολισμού των γλυκοσφιγγολιπιδίων (GSLs). Οφείλεται σε ανεπαρκή δραστικότητα του λυσοσωμιακού ενζύμου α-γαλακτοζιδάση A, η οποία προκαλεί νεφρική και καρδιακή ανεπάρκεια και οδηγεί στον θάνατο, λόγω σταδιακής συσσώρευσης αδιάσπαστων GSLs, με κύριο εκπρόσωπο το Gb3, στους ιστούς και το πλάσμα των ασθενών.

Η παρούσα διδακτορική διατριβή έχει ως κύριο στόχο την καταγραφή των περιστατικών με νόσο Fabry στην Ελλάδα και την περιγραφή των υπεύθυνων γονιδιακών μεταλλάξεων, την κλινική έκφραση της νόσου στον Ελληνικό πληθυσμό καθώς επίσης και την μακροχρόνια παρακολούθηση των ασθενών έτσι ώστε να εκτιμηθεί η πορεία τους αλλά κυρίως τα αποτελέσματα της ενζυμικής θεραπείας υποκατάστασης. Στην μελέτη περιλαμβάνονται όλοι οι γνωστοί έως σήμερα ασθενείς στη χώρα μας (15 άνδρες και 5 γυναίκες από 10 ανεξάρτητες οικογένειες).

Η ενασχόληση πολλαπλών ειδικοτήτων σε διαφορετικά νοσηλευτικά ιδρύματα με αυτούς τους ασθενείς και η ανακοίνωση των αποτελεσμάτων της μελέτης μας, πιστεύουμε ότι θα βοηθήσει στην πληρέστερη ενημέρωση της Ελληνικής Ιατρικής Κοινότητας για μια σπάνια νοσολογική οντότητα ενώ παράλληλα θα οδηγήσει στην διάγνωση νέων περιστατικών και γενικότερα στην αρτιότερη αντιμετώπιση των ασθενών στην χώρα μας.

Η ολοκλήρωση αυτής της πολυκεντρικής μελέτης θα ήταν αδύνατη χωρίς την μόνιμη και συνεχή επίβλεψη του Καθηγητή Παθολογίας/Νεφρολογίας Κων/νου Χ. Σιαμόπουλου τον οποίο και ευχαριστώ. Η επιστημονική του υποστήριξη, η καθοδήγησή του και η ενεργός συμμετοχή του σε όλα τα στάδια καθόρισαν την



πορεία της μελέτης. Παρότι δεν εργαζόμαστε στον ίδιο χώρο, η διαρκής ηθική και επιστημονική υποστήριξη του συμβάλλει ουσιαστικά στην εκπαίδευση μας, παρέχοντάς μας πάντοτε ίσες ευκαιρίες.

Απαραίτητη προϋπόθεση για την έναρξη και ολοκλήρωση της προσπάθειας αυτής ήταν η αμέριστη βοήθεια από την πλευρά συναδέλφων οι οποίοι έχουν διαγνώσει και παρακολουθούν τους ασθενείς. Αρχικά θα ήθελα να ευχαριστήσω τους κκ. Ιατρού Χρήστο, Διευθυντή Νεφρολογικού Τμήματος ΓΚΝ Νίκαιας, Μπολέτη Ιωάννη, Διευθυντή Νεφρολογικού Τμήματος ΓΝ «Λαϊκό» Αθηνών, Διαμαντόπουλο Αθανάσιο, Διευθυντή Νεφρολογικού Τμήματος ΓΝ «Άγιος Ανδρέας» Πατρών, οι οποίοι αποδέχτηκαν το κοινό πρωτόκολλο παρακολούθησης των ασθενών και στήριξαν την προσπάθεια μου από την πρώτη στιγμή. Στη συνέχεια ευχαριστώ τους κκ. Κατσίνα Χρήστο, Διευθυντή Νεφρολογικού Τμήματος ΓΝ Πτολεμαΐδας, Καλαϊτζίδη Κλεόνικο, Διευθυντή Νεφρολογικού Τμήματος ΓΝ Καβάλας, Γαλήνα Αναστάσιο, Διευθυντή Νεφρολογικού Τμήματος ΓΝ Αεροπορίας και την κα Ξαϊδάρα Αθηνά, Αναπληρώτρια Διευθύντρια ΓΝ Παιδών «Αγία Σοφία» Αθηνών, για την διάθεση των δεδομένων και την ολοκλήρωση της στρατολόγησης των ασθενών που περιλαμβάνονται στην μελέτη.

Θα ήθελα επίσης να ευχαριστήσω τους συναδέλφους που με βοήθησαν στην χρόνια παρακολούθηση των ασθενών και την συλλογή και καταγραφή των απαιτούμενων κλινικών και εργαστηριακών παραμέτρων στα διάφορα στάδια της μελέτης κ.κ. Κατοπώδη Κων/νο, Επίκουρο Καθηγητή, Νεφρολόγο ΓΠΝ Ιωαννίνων, Κολιούση Έλλη, Νεφρολόγο, Μπαλάφα Όλγα, Νεφρολόγο ΓΠΝ Ιωαννίνων, Τσίντα Αφροδίτη, Νεφρολόγο ΓΝ Ιωαννίνων «Γ. Χατζηκώστα», Σφαιρόπουλο Γεώργιο, Νεφρολόγο ΓΝ Ιωαννίνων «Γ. Χατζηκώστα», Δρακουλόγκοι Ουρανία, Νεφρολόγο ΓΝ Πατρών, «Άγιος Ανδρέας», Τέγου Ζωή, Νεφρολόγο, Ρέβελα Ιωάννα, Νεφρολόγο





ΓΚΝ Νίκαιας, Ζορμπά Σωτήρη, Νεφρολόγο, Φιλίοπουλο Βασίλειο, Νεφρολόγο, Δημήτρουλα Βασιλική, Νεφρολόγο ΓΝ Αθηνών «Λαϊκό», Ουζούνη Αλεξάνδρα, Νεφρολόγο ΓΝ Καβάλας και Παππά Κων/νο Καρδιολόγο ΓΠΝ Ιωαννίνων.

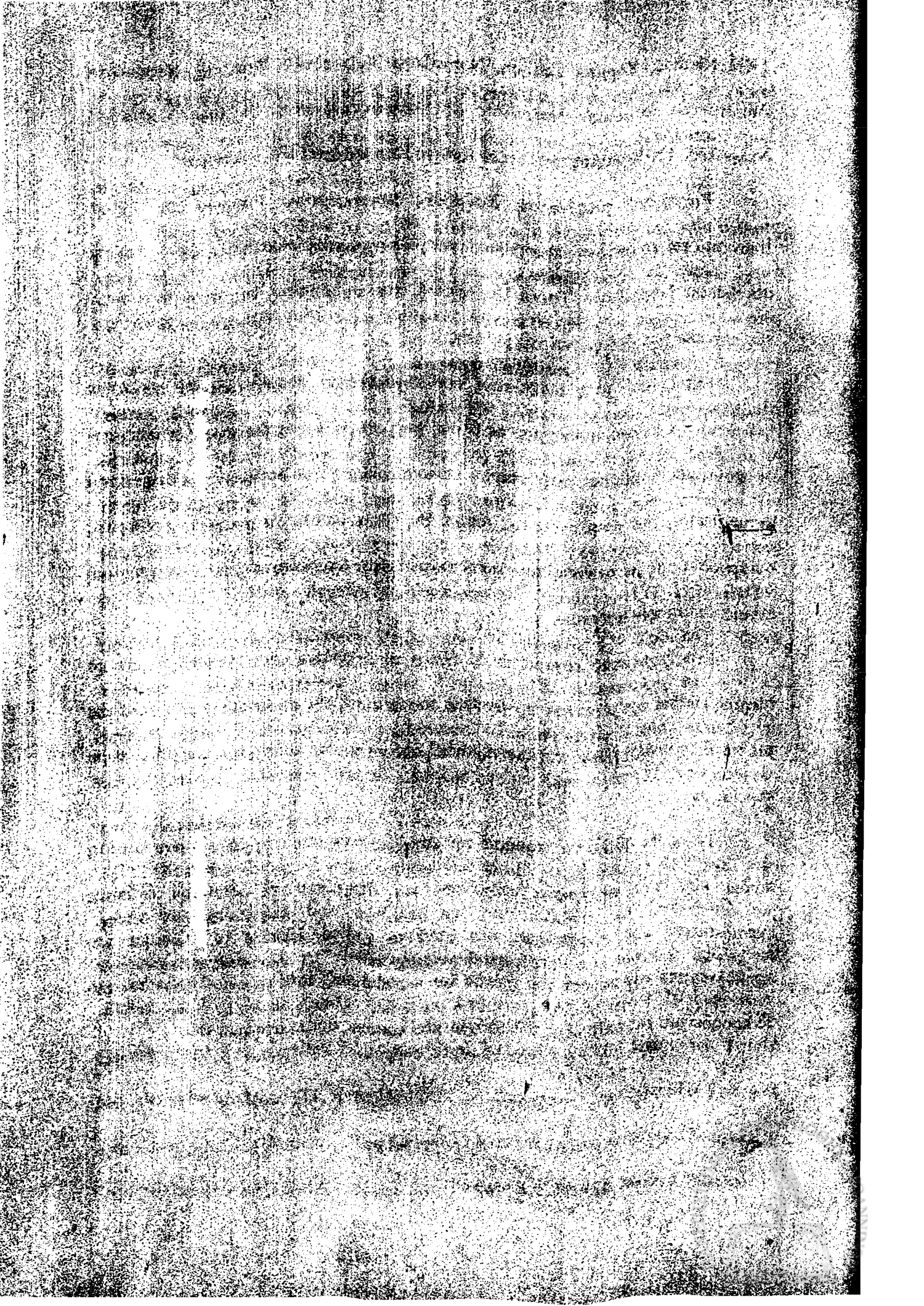
Ευχαριστώ τους φίλους Βιολόγους Διαμαντόπουλο Γεώργιο και Ντούμα Δημήτριο για τη συνεχή επιστημονική και βιβλιογραφική υποστήριξη καθώς και την συνάδελφο Νεφρολόγο Τσεκέ Παρασκευή, για τη βοήθειά της στην στατιστική επεξεργασία των δεδομένων της μελέτης.

Εκτός από τους ανθρώπους που ευχαρίστησα ονομαστικά θα ήθελα να εκφράσω την ευγνωμοσύνη μου σε όλους τους συναδέλφους διαφόρων ειδικοτήτων οι οποίοι μας βοήθησαν στην επαρκή παρακολούθηση των ασθενών και στην άρτια αντιμετώπιση των επιπλοκών της νόσου. Θα ήθελα επίσης να αναφέρω την άψογη συνεργασία μας με το νοσηλευτικό προσωπικό στην απαραίτητη χρόνια θεραπευτική αντιμετώπιση των ασθενών.

Ένα ξεχωριστό ευχαριστώ θα ήθελα να εκφράσω στον Διευθυντή μου κο Μιχάλη Παππά όχι μόνο για την βοήθεια του σε αυτή την προσπάθεια μου αλλά και για την διαχρονική ηθική και επιστημονική αρωγή του σε κάθε βήμα της μέχρι τώρα πορείας μου.

Τέλος θα ήθελα να εκφράσω την ευγνωμοσύνη μου στη σύζυγο μου και στα παιδιά μου που αγόγγυστα υπομένουν και στηρίζουν τις ιδιαίτερα επίπονες εκπαιδευτικές μου προσπάθειες όλα αυτά τα χρόνια. Ελπίζω το έλλειμμα που προκύπτει από την μείωση του χρόνου που περνάω μαζί τους να αναπληρώνεται από το παράδειγμα της επίτευξης των στόχων που κάποιος ορίζει στη ζωή του.





# Πίνακας περιεχομένων

Σελίδα

## ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

3

### 1.Εισαγωγή

5

#### 1.1. Ιστορική αναδρομή

5

#### 1.2. Επιδημιολογία

7

#### 1.3. Μεταβολική διαταραχή της νόσου του Fabry

9

##### 1.3.1. Δομή και βιοσύνθεση των γλυκοσφιγγολιπιδίων.

9

##### 1.3.2. Καταβολισμός των γλυκοσφιγγολιπιδίων.

19

##### 1.3.3. Λειτουργίες των γλυκοσφιγγολιπιδίων.

22

##### 1.3.4. Ανεπάρκεια του ενζύμου α-γαλακτοζιδάση Α.

25

#### 1.4. Δεδομένα Γενετικής

30

##### 1.4.1. Το γονίδιο της α-γαλακτοζιδάσης Α.

30

##### 1.4.2. Μεταλλάξεις του γονιδίου της α-γαλακτοζιδάσης Α.

32

##### 1.4.3. Συσχέτιση γονότυπου-φαινοτύπου.

34

#### 1.5. Φυσιοπαθολογία και Παθολογική Ανατομία.

38

##### 1.5.1. Νεφροί

40

##### 1.5.2. Καρδιά

48

##### 1.5.3. Δέρμα

51

##### 1.5.4. Νευρικό Σύστημα

53

##### 1.5.5. Οφθαλμοί

58

##### 1.5.6. Πεπτικό Σύστημα

60

##### 1.5.7. Προσβολή άλλων οργάνων και συστημάτων

62

#### 1.6. Κλινικές εκδηλώσεις

64

##### 1.6.1. Κλασσική μορφή (ημιζυγώτες)

64

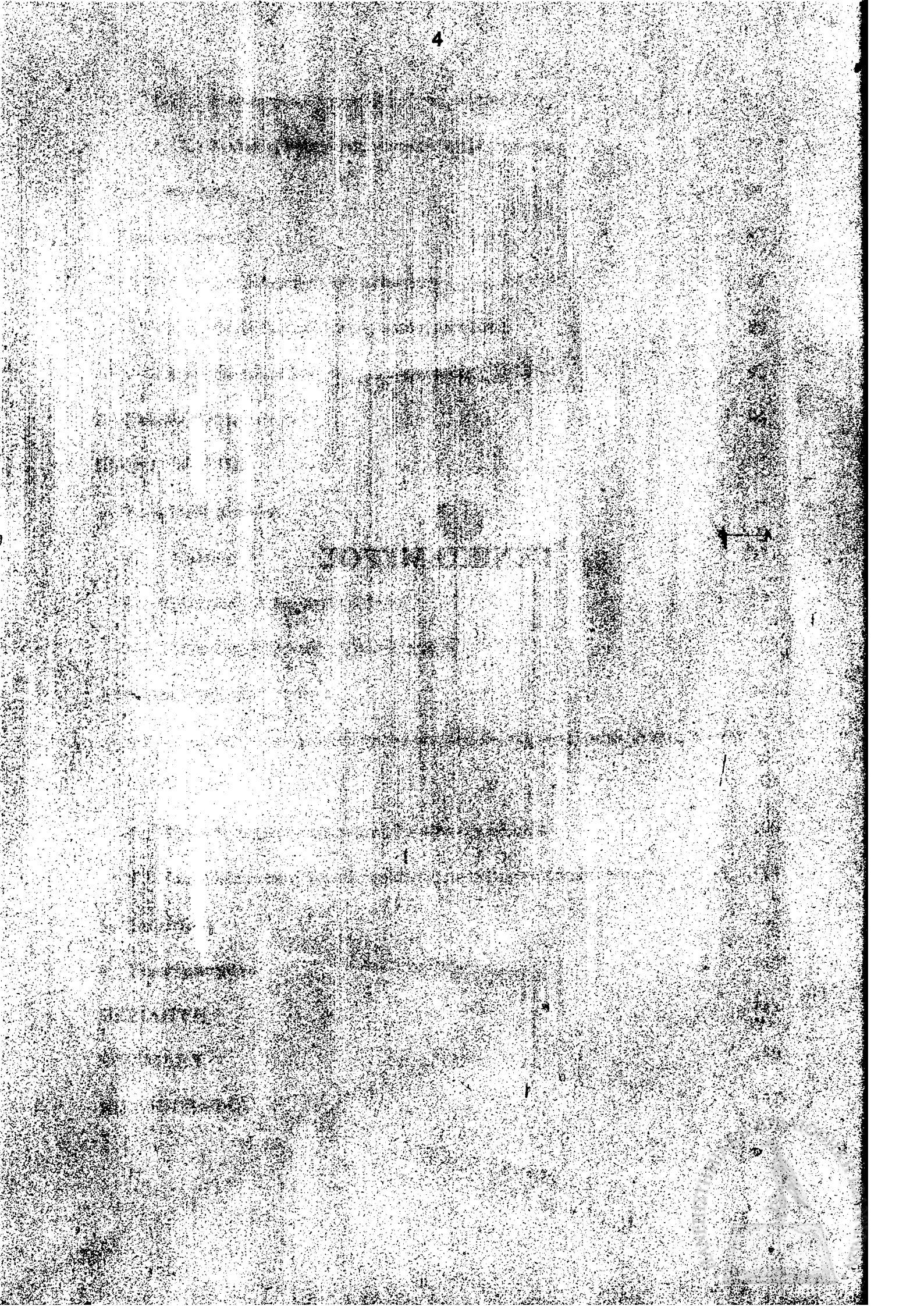


1.6.2. Φαινοτυπικές παραλλαγές της νόσου Fabry	75
1.6.3. Η νόσος Fabry στις γυναίκες ετεροζυγώτες	78
1.7. Διάγνωση	84
1.8. Θεραπεία	87
1.8.1. Συμπτωματική αντιμετώπιση	87
1.8.2. Θεραπεία ενζυμικής αποκατάστασης	89
1.8.3. Εναλλακτικές μορφές θεραπείας	92
2. Σκοπός της μελέτης	94
<b>ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ</b>	95
3. Υλικό και μέθοδοι	97
3.1. Ασθενείς	97
3.2. Πρωτόκολλο παρακολούθησης	99
3.3. Θεραπεία ενζυμικής αποκατάστασης	103
4. Αποτελέσματα	105
4.1. Περιγραφή των μεταλλάξεων του γονιδίου της α-γαλακτοζιδάσης Α στην Ελλάδα.	105
4.2. Κλινική έκφραση της νόσου Fabry στην Ελλάδα	106
4.3. Αποτελέσματα τριετούς θεραπείας με ενζυμική υποκατάσταση.	114
5. Συζήτηση	122
6. Συμπεράσματα	140
<b>ΠΕΡΙΛΗΨΗ</b>	143
<b>SUMMARY</b>	145
<b>ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ</b>	147



## ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ





## 1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

### 1.1. ΙΣΤΟΡΙΚΗ ΑΝΑΔΡΟΜΗ

Το 1898, δύο δερματολόγοι, ο W. Anderson (1) στην Αγγλία και ο J. Fabry (2) στη Γερμανία, περιέγραψαν ανεξάρτητα ο ένας από τον άλλο, τους πρώτους ασθενείς με χαρακτηριστικές δερματικές αλλοιώσεις με τον όρο *angiokeratoma corporis diffusum*. Ο ασθενής που περιγράφηκε από τον Anderson ήταν ένας 39χρονος άνδρας που παρουσίαζε λευκωματουρία, παραμορφώσεις των δακτύλων, κισσούς κάτω άκρων και λεμφοίδημα. Ο Anderson παρατήρησε ότι οι δερματικές βλάβες που εμφάνιζε ο ασθενής ήταν αποτέλεσμα εκτασιών των δερματικών αγγείων και υπέθεσε ότι πρόκειται για συστηματική νόσο των αγγείων και εύστοχα συμπέρανε ότι και η νεφρική συμμετοχή είχε κοινό αιτιοπαθογενετικό μηχανισμό. Αντίθετα ο Fabry αρχικά θεώρησε ότι ο 13χρονος ασθενής του έπασχε από *purpura nodularis*. Στην πορεία ο ασθενής εμφάνισε λευκωματουρία και διαπιστώθηκε η ύπαρξη ανευρυσματικών διατάσεων των δερματικών αγγείων. Έτσι ο Fabry χρησιμοποίησε για πρώτη φορά τον όρο *angiokeratoma corporis diffusum* ο οποίος παραμένει ενεργός ως σήμερα ειδικότερα μεταξύ των δερματολόγων. Στη συνέχεια πολλαπλές ανακοινώσεις ολοκλήρωσαν την κλινική εικόνα της νόσου ενώ ο Pompen και συνεργάτες το 1947 σε ιστολογικά ευρήματα από νεκροψίες ανέδειξαν την μεταβολική φύση της νόσου, ότι δηλαδή επρόκειτο για νόσο εναποθέσεων (*Thesaurismosis*)(3).

Οι Swelly και Klionsky το 1963 απομονώσανε σε νεκροψίες ημιζυγωτών με νόσο του Fabry το συσσωρευμένο υπόστρωμα στα νεφρικά κύτταρα και περιγράψανε ότι πρόκειται για γλυκοσφιγγολιπίδια (GSLs). Έτσι η νόσος εντάχθηκε στην κατηγορία των σφιγγολιπιδώσεων (LSDs)(4). Οι ενδοκυττάρειες αυτές εναποθέσεις



αναγνωρίστηκαν σε πλειάδα άλλων ιστών ενώ παράλληλα διαπιστώθηκε η αύξηση των επιπέδων των αδιάσπαστων γλυκοσφιγγολιπιδίων σε διάφορα βιολογικά υγρά (αίμα, ούρα, δάκρυα) ασθενών με νόσο Fabry (5,6,7).

Αργότερα στα τέλη τις δεκαετίας του 1960 ο Brady και συνεργάτες αποδείξανε ότι η συσσώρευση των αδιάσπαστων γλυκοσφιγγολιπιδίων οφειλόταν σε ανεπάρκεια ενός λυσοσωμιακού ενζύμου (8), το οποίο λίγα χρόνια αργότερα ο Kint περιέγραψε επακριβώς ότι πρόκειται για μια γαλακτοζυλική υδρολάση, και ειδικότερα την α-γαλακτοζιδάση A (9). Η αναγνώριση του υπεύθυνου ενζύμου, η ανεπάρκεια του οποίου προκαλεί τη συσσώρευση των αδιάσπαστων γλυκοσφιγγολιπιδίων, κατέστησε δυνατή την άμεση και ακριβή διάγνωση της νόσου μέσω εκτίμησης της δραστικότητας του ενζύμου στο πλάσμα ή στα λευκά αιμοσφαίρια των ασθενών. Η επακόλουθη απομόνωση του υπεύθυνου γονιδίου για την σύνθεση της α-γαλακτοζιδάσης A και η ολοκλήρωση της περιγραφής της ακολουθίας του γονιδιόματος (full-length cDNA) (10,11) έδωσε την δυνατότητα της περιγραφής των υπεύθυνων μεταλλάξεων, της αναγνώρισης των υγιών φορέων και της προγενετικής διάγνωσης της νόσου. Παράλληλα έδωσε το έναυσμα στην έρευνα για την παραγωγή ανασυνδυασμένης ανθρώπινης α-γαλακτοζιδάσης A καθώς επίσης και στην προσπάθεια ανεύρεσης ειδικών γονιδιακών θεραπειών.

Το 2001 παρουσιάστηκαν τα πρώτα αποτελέσματα κλινικών μελετών με θεραπεία ενζυμικής υποκατάστασης τα οποία άλλαξαν ριζικά τον τρόπο αντιμετώπισης των ασθενών με νόσο Fabry (12,13).

Στην Ελλάδα η πρώτη βιβλιογραφική αναφορά περιστατικού με νόσο του Fabry έγινε το 1996 από τους Τσαμπάο και συνεργάτες (14). Εκτός από το εν λόγω περιστατικό το οποίο απεβίωσε, στην παρούσα μελέτη περιλαμβάνονται όλα τα διαγνωσμένα περιστατικά στον Ελληνικό χώρο.



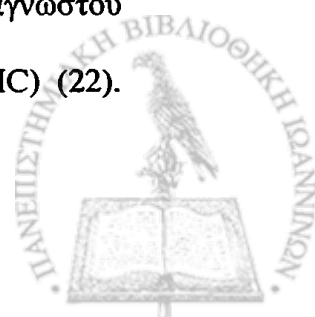


## 1.2. ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ

Μετά την νόσο του Gaucher, είναι η συχνότερη από τις 40 λυσοσωμιακές νόσους εναπόθεσης (LSDs) οι οποίες έχουν περιγραφεί μέχρι σήμερα. Η γεωγραφική κατανομή της νόσου δεν εμφανίζει ιδιαίτερα χαρακτηριστικά και έχουν περιγραφεί περιστατικά σε όλες τις εθνικότητες. Ο επιπολασμός της νόσου του Fabry στον γενικό πληθυσμό λόγω του περιορισμένου αριθμού των διαγνωσμένων περιστατικών δεν έχει καθοριστεί απόλυτα και υπολογίζεται ότι η συχνότητα εμφάνισης της είναι περίπου 1 περιστατικό σε 40-60.000 υγιείς άνδρες (15).

Στην Αυστραλία περιγράφεται ότι 1 στους 117.000 πάσχει από τη νόσο, ενώ στην Ολλανδία το ποσοστό είναι 1 στους 450.000, όμως σε ειδικές ομάδες πληθυσμού ο επιπολασμός της νόσου αυξάνεται δραματικά (16,17). Οι Τσακίρης και συνεργάτες διαπίστωσαν ότι το 1994 στην Ευρώπη (ERA-EDTA Registry), 83 ασθενείς (0.2%) σε εξωνεφρική κάθαρση έπασχαν από την νόσο Fabry (18). Στις ΗΠΑ το διάστημα 1995-1998 (US Renal Disease System database), το ποσοστό ήταν παρόμοιο, 42 ασθενείς με νόσο Fabry εντάχθηκαν σε πρόγραμμα χρόνιας εξωνεφρικής υποστήριξης ενώ 12% εξ αυτών ήταν γυναίκες (19). Παράλληλα στην Ιαπωνία, διερευνώντας την πιθανότητα ανεύρεσης περιστατικών στα οποία δεν είχε έγκαιρα τεκμηριωθεί η διάγνωση της νόσου, διαπιστώθηκε ότι 6 στους 514 άνδρες (1,2%) που υποβαλλόταν σε αιμοκάθαρση εμφάνιζαν εργαστηριακά και κλινικά ευρήματα συμβατά με τη νόσο Fabry (20) ενώ στην Ολλανδία μετρώντας την δραστικότητα του ενζύμου σε 508 άνδρες ασθενείς σε αιμοκάθαρση δεν διαγνώσθηκε κανένα νέο περιστατικό (21).

Μια ακόμη ομάδα στην οποία η πιθανότητα εμφάνισης της νόσου είναι ιδιαίτερα αυξημένη είναι οι ασθενείς με υπερτροφική μυοκαρδιοπάθεια αγνώστου αιτιολογίας και ειδικότερα σε αυτούς με όψιμη έναρξη (Late onset HMC) (22).



Πράγματι σε μια μελέτη 79 ανδρών με HMC διαπιστώθηκε ότι 5 εξ αυτών (6,3%) εμφάνιζαν χαμηλά επίπεδα δραστηκότητας του ενζύμου της α-γαλακτοζιδάσης A (23). Όμως και σε γυναίκες με HMC χωρίς οικογενειακό ιστορικό νόσου του Fabry η νόσος διαγνώσθηκε σε ποσοστό ιδιαίτερα υψηλό (4/34, 12%) και χαρακτηριστικά η καρδιακή προσβολή στη μελέτη αυτή αποτελούσε την μοναδική κλινική έκφραση της νόσου την στιγμή της διάγνωσης (24). Και σε νέους ασθενείς με αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο (ΑΕΕ) άγνωστης αιτιολογίας, η πιθανότητα ύπαρξης της νόσου Fabry δεν πρέπει να υποεκτιμάται. Σε μια μελέτη 721 Γερμανών (18 έως 55 ετών) με ΑΕΕ, σε 21 άνδρες (4,9%) αλλά και σε 7 γυναίκες (2,4%) διαγνώσθηκε για πρώτη φορά η νόσος ενώ χαρακτηριστικά στους περισσότερους εξ αυτών διαπιστώθηκε και νεφρική προσβολή (λευκωματουρία) (25).

Από τα επιδημιολογικά δεδομένα εγείρεται το ερώτημα της σκοπιμότητας της διερεύνησης της νόσου Fabry κατά τον περιγενετικό έλεγχο. Σε έναν εκτενή και λεπτομερή έλεγχο παιδιατρικού πληθυσμού στη Νέα Σκωτία το ποσοστό της νόσου ήταν 1 στα 15.000 παιδιά (26). Παράλληλα σε έλεγχο 37.104 συνεχόμενων νεογέννητων αγοριών στην περιοχή του Τορίνου στην Ιταλία διαπιστώθηκε μετάλλαξη του α-GAL γονιδίου σε 12 περιπτώσεις (0.03%). Είναι ιδιαίτερα σημαντικό να επισημανθεί ότι σε 4 περιστατικά η νόσος διαπιστώθηκε για πρώτη φορά και αυτό οδήγησε στην διάγνωση νέων οικογενειών φορέων της νόσου (27).

Στην Ελλάδα έχουν περιγραφεί μέχρι σήμερα 10 οικογένειες με νόσο του Fabry. Η καταγραφή των οικογενειακών δένδρων δεν έχει ολοκληρωθεί σε αρκετές περιπτώσεις με αποτέλεσμα να μην είναι δυνατός ο αξιόπιστος προσδιορισμός των ασθενών στη χώρα μας. Έως σήμερα, 15 ασθενείς έχουν ενταχθεί σε θεραπεία ενζυμικής υποκατάστασης, ενώ άλλοι 5 ασθενείς, κυρίως ετεροζυγώτες γυναίκες εμφανίζουν συμπτώματα της νόσου.



### 1.3. ΜΕΤΑΒΟΛΙΚΗ ΔΙΑΤΑΡΑΧΗ ΤΗΣ ΝΟΣΟΥ FABRY

Τα γλυκοσφιγγολιπίδια (GSLs) αποτελούν πρωτεύοντα συστατικά των πλασματικών μεμβρανών καθώς επίσης και ορισμένων ενδοκυττάρων μεμβρανών όπως αυτών των λυσοσωματίων και του Golgi. Στο πλάσμα συνδέονται με λιποπρωτεΐνες και ειδικότερα εμφανίζουν ιδιαίτερα αυξημένη συγκέντρωση στο κλάσμα των λιποπρωτεϊνών χαμηλής πυκνότητας (LDL). Τα γλυκοσφιγγολιπίδια διασπώνται στα λυσοσωμάτια, στο εσωτερικό των οποίων μεταφέρονται μέσω του μηχανισμού της ενδοκύτωσης. Για την έναρξη και την ολοκλήρωση του καταβολισμού των γλυκοσφιγγολιπιδίων απαιτείται η συνεργική δράση των λυσοσωμιακών υδρολυτικών ενζύμων με ενδοκυττάρους παράγοντες, όπως ειδικές πρωτεΐνες ενεργοποιητές των γλυκοσφιγγολιπιδίων (sphingolipid activator proteins, saposins, SAPs). Οι σφιγγολιπιδώσεις (LSDs) αποτελούν σπάνια νοσήματα και έχουν περιγραφεί πάνω από 40 γενετικά καθορισμένες διαφορετικές μορφές. Ανεπάρκεια ενζύμων ή παραγόντων αλλά και μηχανισμών μεταφοράς και παρουσίασης, απαραίτητων για τον καταβολισμό των σφιγγολιπιδίων, αποτελούν την βάση της παθογένειας των LSDs. Η ανεπαρκής δραστηριότητα του λυσοσωμιακού ενζύμου α-γαλακτοζιδάση Α, που παρατηρείται στους ασθενείς με νόσο Fabry, έχει ως αποτέλεσμα την ελλιπή διάσπαση των γλυκοσφιγγολιπιδίων, ειδικότερα αυτών με απόληξη α-D-γαλακτοζίδιο, γεγονός το οποίο οδηγεί στην σταδιακή συσσώρευσή τους σε πλειάδα κυττάρων σε διάφορους ιστούς.

#### 1.3.1. Δομή και βιοσύνθεση των γλυκοσφιγγολιπιδίων.

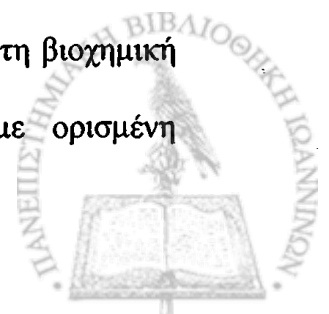
Τα γλυκοσφιγγολιπίδια ανήκουν στην ευρύτερη κατηγορία των φωσφολιπιδίων τα οποία μαζί με τη χοληστερόλη αποτελούν το 30-50% των δομικών συστατικών των βιολογικών μεμβρανών. Τα φωσφολιπίδια είναι αμφίφιλα μόρια



αποτελούνται δηλαδή από ένα τμήμα υδρόφιλο (το οποίο έλκει μόρια ύδατος ) και ένα υδρόφοβο (έλκει κύρια λιποειδείς ουσίες), χαρακτηριστικό το οποίο επιτρέπει τη δημιουργία της λιπιδιακής διπλοστοιβάδας που αποτελεί απαραίτητη προϋπόθεση για την δομή και την οργάνωση των κυτταρικών μεμβρανών. Τα φωσφολιπίδια χωρίζονται σε δύο κύριες κατηγορίες, τα φωσφογλυκερίδια και τα σφιγγολιπίδια. Στα φωσφογλυκερίδια, τα οποία αποτελούν και την πλειονότητα, η υδρόφιλη περιοχή αποτελείται από έναν εστέρα φωσφορικής ομάδας με το μόριο της γλυκερόλης, στο οποίο συνδέονται δυο λιποφιλικές αλυσίδες λιπαρών οξέων. Στα σφιγγολιπίδια, η γλυκερόλη αντικαθίσταται από την σφιγγοσίνη, μια αμινική αλκοόλη, στην οποία η προσθήκη μορίων υδατανθράκων οδηγεί στην σύνθεση των γλυκοσφιγγολιπιδίων (28).

Στα γλυκοσφιγγολιπίδια το υδρόφοβο λιποειδές τμήμα των αμφίφιλων μορίων τους ονομάζεται κεραμίδιο. Αποτελείται από μια μακρά αλειφατική αμινοαλκοολούχα αλυσίδα (σφιγγοσίνη) της οποίας η  $\text{NH}_2$ -ομάδα ακυλιώνεται με διάφορα λιπαρά ακυλο-CoA παράγωγα σχηματίζοντας τελικά την N-ακυλοσφιγγοσίνη ή κεραμίδιο. Η προσθήκη στα ελεύθερα υδροξύλια του κεραμιδίου ενός ή περισσότερων μορίων υδατανθράκων μέσω γλυκοζιτικού δεσμού οδηγεί στη τελική σύνθεση των γλυκοσφιγγολιπιδίων.

Τα σφιγγολιπίδια τα οποία συσσωρεύονται στη νόσο του Fabry είναι ουδέτερα μόρια σε αντίθεση με τα φορτισμένα αρνητικά γαγγλιοσίδια και τους θειικούς εστέρες αυτών, τα θειογλυκοσφιγγολιπίδια. Τα ουδέτερα γλυκοσφιγγολιπίδια και ειδικότερα αυτά τα οποία στη σύνθεση τους περιέχουν ολιγοσακχαρίτες, αποτελούν, ποσοτικά αλλά και όσον αφορά τη βιολογική τους δράση, τους κυριότερους εκπροσώπους αυτής της ειδικής κατηγορίας των λιπιδίων. Ανάλογα με τη βιοχημική τους σύσταση και την δομή τους κατατάσσονται σε ομάδες με ορισμένη



ονοματολογία (29). Ως βάση του ονόματος των χρησιμοποιείται το συνθετικό οζιλοκεραμίδιο ενώ σε αυτό προτίθεται ο αριθμός, το είδος και η θέση των σακχαριτών που εμπεριέχονται (π.χ. 2γαλακτο-οζιλοκεραμίδιο). Τα ουδέτερα γλυκοσφιγγολιπίδια, τα οποία περιέχουν α-D-γαλακτοζίδιο ως απόληξη και συσσωρεύονται στους ιστούς των ασθενών με νόσο Fabry περιγράφονται στον πίνακα 1.

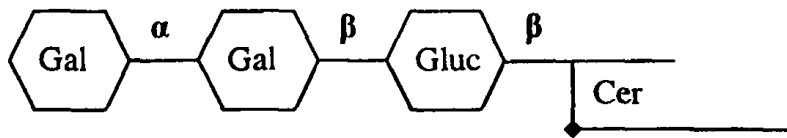
Το σφαιρο-τρι-οζιλοκεραμίδιο ή τρι-εξ-οζιλοκεραμίδιο (GL-3 ή Gb-3) [Gal(α1→4)Gal(β1→4)–Glc(β1→1')Cer] αποτελεί τον κυριότερο εκπρόσωπο των γλυκοσφιγγολιπιδίων που συσσωρεύονται σε διάφορους ιστούς στην πορεία της νόσου του Fabry. Η θέση των γλυκοζιτικών δεσμών καθώς και η διαμόρφωση των στερεοϊσομερών αλλά και το είδος και η περιεκτικότητα των λιπαρών οξέων στα GL-3 ασθενών με νόσο του Fabry είναι ταυτόσημα με αυτά των φυσιολογικών ιστών. Σε φυσιολογικά άτομα οι υψηλότερες συγκεντρώσεις GL-3 ανευρίσκονται στους νεφρούς, στην αορτή, στον σπλήνα και στο ήπαρ. Το κύριο φορτίο των παραγόμενων GL-3 στον οργανισμό προέρχεται από τους νεφρούς, το ήπαρ, τους πνεύμονες και τα ερυθρά αιμοσφαίρια δεδομένων των ιδιαίτερων μεταβολικών χαρακτηριστικών των εν λόγω ιστών. Η συσσώρευση των GL-3 σε ασθενείς με νόσο του Fabry είναι 30 έως 300 φορές πολλαπλάσια των υγιών μαρτύρων και έχει περιγραφεί σχεδόν σε όλους τους ανθρώπινους ιστούς με εξαίρεση τα ερυθροκύτταρα (30).

Το 2-γαλακτο-οζιλοκεραμίδιο [Gal(α1→4)Gal(β1→1')Cer] αποτελεί το δεύτερο πιο συχνό γλυκοσφιγγολιπίδιο το οποίο συσσωρεύεται σε ασθενείς Fabry. Η αυξημένη συγκέντρωση του ανευρίσκεται σε ορισμένους ιστούς και ειδικότερα στους

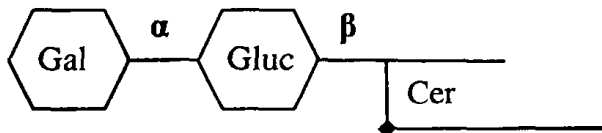


νεφρούς, το πάγκρεας, την καρδιά, τους πνεύμονες και στα συμπαθητικά γάγγλια

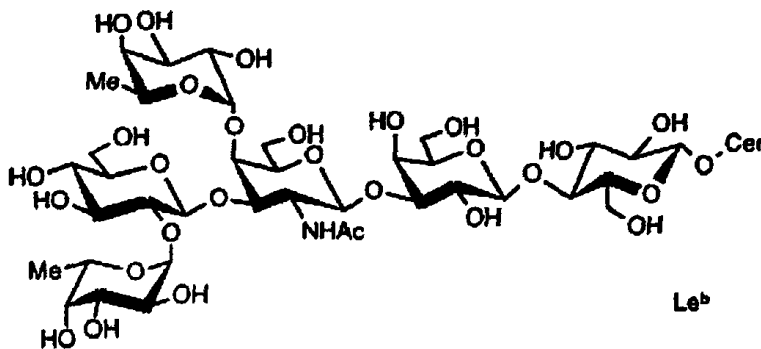
(31).



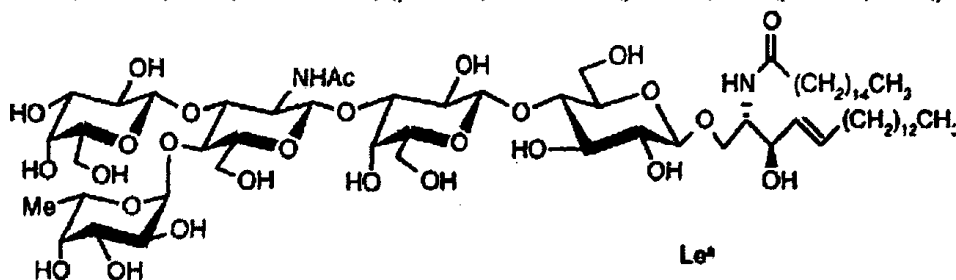
Σφαιρο-τρι-οξίλο-κεραμίδιο (Gb3 ή GL-3) [Gal(α1→4)Gal(β1→4)-Glc(β1→1')Cer]



Δι-γαλακτο-οξίλο-κεραμίδιο [Gal(α1→4)Gal(β1→1')Cer]



[Gal(α1→3)Gal(2←1αFuc)(β1→4)GlcNAc (β1→3)Gal(β1→4)Glc(β1→1')Cer]



[Gal(α1→3)Gal(2←1αFuc)(β1→3)GlcNAc (β1→3)Gal (β1→4)Glc(β1→1')Cer]

Πίνακας 1. Ουδέτερα Γλυκοσφιγγολιπίδια (GSLs) τα οποία συσσωρεύονται στα κύτταρα ασθενών με νόσο Fabry

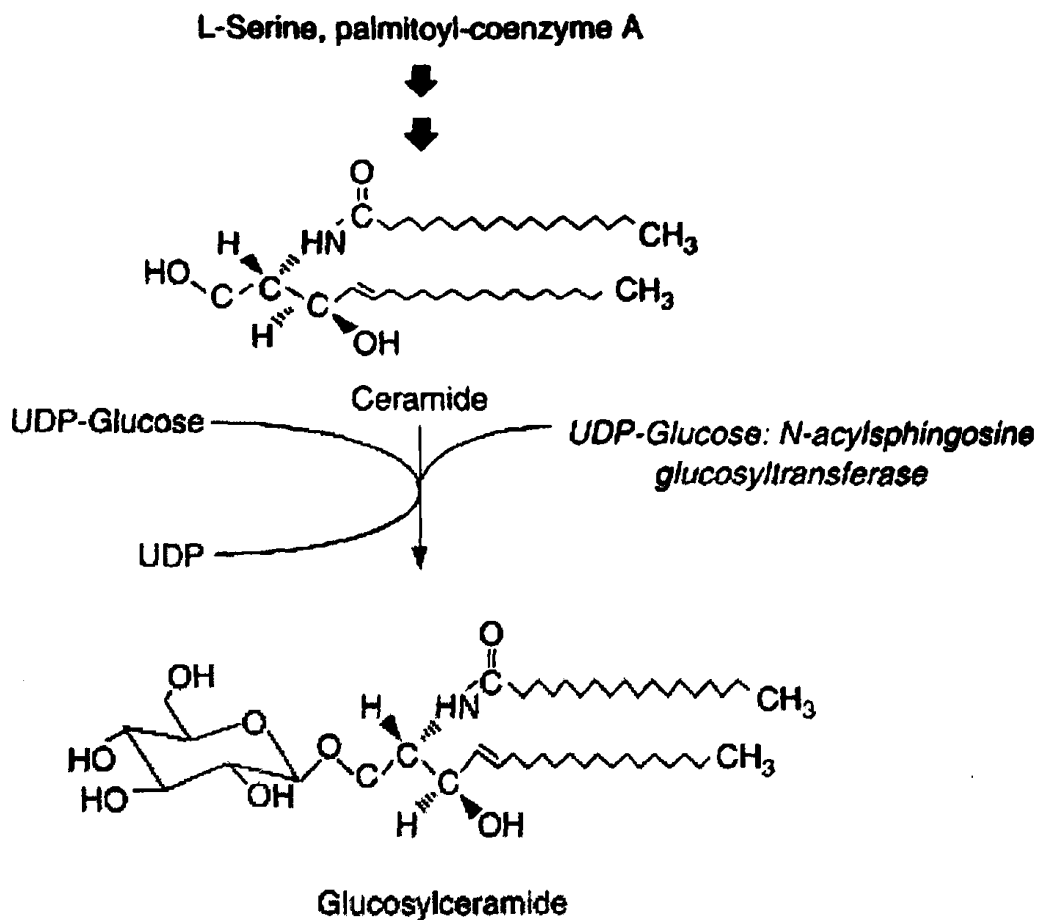
Εκτός από τα προαναφερθέντα αδιάσπαστα γλυκοσφιγγολιπίδια τα οποία συσσωρεύονται στους ασθενείς με νόσο Fabry έχει περιγραφεί μια ακόμη ομάδα τα



οποία αποτελούν ιδιαίτερα δομικά συστατικά των ερυθροκυττάρων. Υπάρχουν δύο γλυκοσφιγγολιπίδια με την χαρακτηριστική απόληξη α-D-γαλακτοζίδιου, το γλυκοσφιγγολιπίδιο της ομάδας αίματος B [ $\text{Gal}(\alpha 1 \rightarrow 3)\text{Gal}(2 \leftarrow 1\alpha\text{Fuc})(\beta 1 \rightarrow 3)\text{GlcNAc}(\beta 1 \rightarrow 3)\text{Gal}(\beta 1 \rightarrow 4)\text{Glc}(\beta 1 \rightarrow 1')\text{Cer}$ ] το οποίο αναστέλλει την ειδική αιμοσυγκόλληση της ομάδας B και το γλυκοσφιγγολιπίδιο της ομάδας αίματος B1 [ $\text{Gal}(\alpha 1 \rightarrow 3)\text{Gal}(2 \leftarrow 1\alpha\text{Fuc})(\beta 1 \rightarrow 4)\text{GlcNAc}(\beta 1 \rightarrow 3)\text{Gal}(\beta 1 \rightarrow 4)\text{Glc}(\beta 1 \rightarrow 1')\text{Cer}$ ]. Έχει περιγραφεί ιδιαίτερα αυξημένη συσσώρευση αυτών στο πάγκρεας ασθενών με νόσο Fabry ενώ τα χαρακτηριστικά και αυτών των λιπιδίων δεν διαφέρουν από αυτά των υγιών ατόμων. Έτσι ασθενείς Fabry με ομάδα αίματος B και AB συσσωρεύουν τέσσερα διαφορετικά είδη γλυκοσφιγγολιπιδίων (32). Ένα πέμπτο ουδέτερο γλυκοσφιγγολιπίδιο το οποίο πληροί όλα τα κριτήρια και θεωρητικά θα μπορούσε να αποτελέσει μέρος του συσσωρευμένου υποστρώματος στη νόσο είναι και το αντιγόνο της ομάδος αίματος P1. Πρόκειται για σφαιρο-τρι-οξιλοκεραμίδιο και σφαιρο-τετρα-οξιλοκεραμίδιο που συνθέτουν τα αντιγόνα  $p^k$  και  $p$ , του συστήματος ομάδων αίματος P, τα οποία ανευρίσκονται σπάνια στον γενικό πληθυσμό και πιθανά αυτός να είναι ο λόγος για τον οποίο δεν έχει περιγραφεί ως σήμερα (33).

Τα ουδέτερα γλυκοσφιγγολιπίδια συντίθενται μέσω μιας ακολουθίας ενζυματικών αντιδράσεων οι οποίες κύρια προσθέτουν μόρια μονοσακχαριτών σε προυπάρχοντα ή *de novo* παραγόμενα κοινά υποστρώματα (Εικόνα 1). Αυτή η διαδικασία, κατά την οποία νουκλεοτίδια δρουν ως δότες του μορίου του σακχάρου το οποίο φέρουν, απαιτεί την συνεργική δράση μιας ομάδας ειδικών ενζύμων, των γλυκοζυλτρασφερασών. Για να είναι δυνατή η δράση αυτών των ενζύμων είναι απαραίτητη η μεταξύ τους απόλυτη συνέργεια γεγονός το οποίο επιτυγχάνεται μέσω της σύνδεσης τους σε ενδοκυττάριας μεμβράνες και την δημιουργία ενός καθορισμένου πολυενζυμικού συστήματος.





Εικόνα 1. Αλληλουχία της *de novo* βιοσύνθεσης του γλυκοζο-κεραμιδίου.

Το μεγαλύτερο μέρος της σύνθεσης των GSLs σε μη ενεργά κύτταρα (*resting cells*) επιτελείται μέσω της ανακύκλωσης των ιδίων προϊόντων διάσπασης των (π.χ. σφιγγοσίνη) που λαμβάνει χώρα στα λυσοσωμάτια (34). Τα προϊόντα αυτά εξέρχονται μέσω αγνώστου μηχανισμού (πιθανά μέσω ειδικού μεταφορέα ή παθητικής διαπίδυσης) από το εσωτερικό των λυσοσωματίων και μεταφέρονται στο ενδοπλασματικό δίκτυο (ΕΔ) μέσω ειδικών πρωτεϊνικών μεταφορέων (35). Την μεταφορά της σφιγγοσίνης στο ΕΔ ακολουθεί η φωσφορυλίωση της και η παραγωγή της φωσφορικής-1-σφιγγοσίνης, ενός σημαντικού ενδοκυττάριου διαβιβαστή (36). Στη συνέχεια και μετά την αποφωσφορυλίωση της η σφιγγοσίνη υπόκειται σε





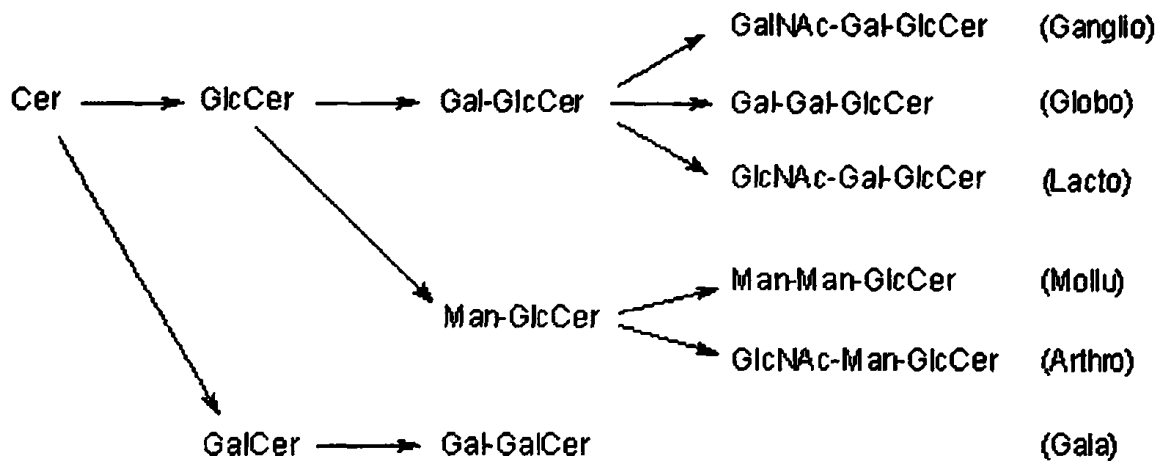
ακυλίωση της NH<sub>2</sub>-ομάδας της με λιπαρά ακυλο-CoA παράγωγα και παράγεται τελικά το κεραμίδιο που αποτελεί τη βάση για την σύνθεση των GSLs.

Αντίθετα στα ενεργά κύτταρα η *de novo* σύνθεση των GSLs αποτελεί την κύρια οδό παραγωγή τους. Το πρώτο βήμα συνίσταται στην δημιουργία μια βάσης σύνθεσης, η οποία σχηματίζεται μέσω της παραγωγής και στην συνέχεια καθήλωσης του κεραμιδίου στην κυτταροπλασματική πλευρά των μεμβρανών του ΕΔ. Η παραγωγή του κεραμιδίου επιτυγχάνεται αρχικά με την συγχώνευση της σερίνης και παλμιτολεϊκών συνενζύμων Α στην 3-κετοσφιγγανίνη μέσω της καταλυτικής δράσης του ενζύμου σερίνη-παλμιτολεϊκή τρανφεράση (37). Στην συνέχεια μέσω μιας NADPH-αντίδρασης η 3-κετοσφιγγανίνη ανάγεται σε D-ερυθρο-σφιγγανίνη από την 3-κετοσφιγγανίνη αναγωγήση. Ακολούθως ακυλιώνεται σε διυδροκεραμίδιο μέσω της προσθήκης στην NH<sub>2</sub>-ομάδα της λιπαρών ακυλο-CoA με την συνέργεια της N-ακυλοτρανσφεράσης. Το μεγαλύτερο μέρος του παραγόμενου διυδροκεραμιδίου υπόκειται σε αποκορεσμό δηλαδή μέσω NAD(P)H αντίδρασης εισάγεται ένας διπλός δεσμός μεταξύ των ατόμων άνθρακα του λιπαρού οξέος και μετατρέπεται σε κεραμίδιο (N-ακυλοσφιγγοσίνη) το οποίο αποτελεί την βάση για την περαιτέρω παραγωγή GSLs (38).

Σε ορισμένα εξειδικευμένα κύτταρα το κεραμίδιο μετατρέπεται σε γαλακτοζοκεραμίδιο (GalCer) αλλά συνηθέστερα αποτελεί τη βάση για την παραγωγή γλυκοζοκεραμιδίου(GlcCer). Από την κυτταροπλασματική πλευρά των μεμβρανών του ΕΔ το κεραμίδιο μεταφέρεται, είτε ακολουθώντας την οδό των μεταφορικών κυστιδίων, είτε με την αρωγή ενός πρωτεϊνικού μεταφορέα (CERT) στο σύμπλεγμα του Golgi (39). Μέσω της καταλυτικής δράσης, της UDP-γλυκόζη: N-ακυλοσφιγγοσίνη(κεραμίδιο)D-γλυκοζιλ-τρανσφεράση, ενός ενζύμου στην πλασματική πλευρά των μεμβρανών του συμπλέγματος του Golgi προστίθεται στο



κεραμίδιο ένα μόριο γλυκόζης με δότη την διφωσφορική ουριδίνη (UDP-γλυκόζη) με αποτέλεσμα την σύνθεση του γλυκοζοκεραμιδίου (35). Το GlcCer ανευρίσκεται στα περισσότερα ευκαρυωτικά κύτταρα και σε ορισμένα βακτήρια και αποτελεί τον σημαντικότερο πρόδρομο των υπόλοιπων, πλέον σύνθετων μορφών γλυκοσφιγγολιπιδίων (πίνακας 2).



Πίνακας 2. Αλληλουχία βιοσύνθεσης της σειράς των ουδέτερων GSLs.

Τα ουδέτερα GSLs τα οποία χαρακτηριστικά ανευρίσκονται συσσωρευμένα στους ασθενείς Fabry προέρχονται από το GlcCer ή από το GalCer στα οποία, μέσω γλυκοζυλίωσης, προστίθενται μόρια σακχαριτών, με αποτέλεσμα την δημιουργία μιας σακχαριδικής αλυσίδας. Στο πέρας αυτής της αλυσίδας, μέσω της μεσολάβησης διαφορετικών α-γαλακτόζης τρανσφερασών, προστίθενται μόρια γαλακτόζης, τα οποία παρέχονται στο κεραμίδιο από την UDP-γαλακτόζη (UDP-Gal). Το σύνολο των ενζύμων και κύρια η ομάδα των τρανσφερασών, ειδικότερα αυτών που εμπλέκονται στην δημιουργία της χαρακτηριστικής απόληξης α-D-γαλακτοζίδιο, διαδραματίζουν πρωτεύοντα ρόλο, στον καθορισμό της ποσότητας αλλά και του τύπου των συσσωρευμένων GSLs στα διάφορα κύτταρα και ιστούς των ασθενών



Fabry (36,43). Πράγματι εμφανίζουν απόλυτη ειδικότητα στη δράση τους ενώ έχει περιγραφεί χαρακτηριστική ιστική κατανομή τους καθώς επίσης και κυτταρικοί παράγοντες που ρυθμίζουν την παραγωγή και έκφραση τους. Χαρακτηριστικό είναι το παράδειγμα του λακτοζιλκεραμιδίου [Gal( $\beta$ 1 $\rightarrow$ 4)-Glc( $\beta$ 1 $\rightarrow$ 1')Cer ή LacCer] που ανευρίσκεται σε όλους τους ιστούς και αποτελεί τη βάση για την παραγωγή ορισμένων ουδέτερων GSLs και γαγγλιοσιδίων ενώ το Gal( $\beta$ 1 $\rightarrow$ 1')Cer (galactosylcerebroside) πρόδρομος του Gal( $\alpha$ 1 $\rightarrow$ 4)Gal( $\beta$ 1 $\rightarrow$ 1')Cer (galabiosylceramide), ανευρίσκεται στο ΚΝΣ και στους νεφρούς. Όμως λόγω του ότι η ειδική  $\alpha$ -γαλακτοζυλτρανσφεράση η οποία είναι υπεύθυνη για την προσθήκη γαλακτόζης στη θέση  $\alpha$ 1 $\rightarrow$ 4 του Gal( $\beta$ 1 $\rightarrow$ 1')Cer υπάρχει μόνο στους νεφρούς το Gal( $\alpha$ 1 $\rightarrow$ 4)Gal( $\beta$ 1 $\rightarrow$ 1')Cer δεν συντίθεται και άρα δεν συσσωρεύεται στο ΚΝΣ των ασθενών με νόσο του Fabry (39,43).

Η UDPGal:LacCer ( $\alpha$ 1 $\rightarrow$ 4) γαλακτοζυλτρανσφεράση (GalT-6) είναι το υπεύθυνο ένζυμο για την σύνθεση του σημαντικότερου συσσωρευμένου λιπιδίου στους ιστούς των ασθενών Fabry, του GL-3, μέσω της προσθήκης γαλακτόζης στη θέση  $\alpha$ 1 $\rightarrow$ 4 του Gal( $\beta$ 1 $\rightarrow$ 4)Glc( $\beta$ 1 $\rightarrow$ 1')Cer ή LacCer. Η δομή της τρανσφεράσης αυτής έχει καθορισθεί και αποτελείται από δύο ανόμοια τμήματα μοριακού βάρους 65 και 22 kDa αντίστοιχα και εμφανίζει υψηλή ειδικότητα συνθέτοντας αποκλειστικά GL-3 ενώ έχει απομονωθεί και το υπεύθυνο γονίδιο για την παραγωγή της (10,11).

Η UDPGal: Gal( $\beta$ 1 $\rightarrow$ 1')Cer ( $\alpha$ 1 $\rightarrow$ 4) γαλακτοζυλτρανσφεράση καταλύει την σύνθεση του Gal( $\alpha$ 1 $\rightarrow$ 4)Gal( $\beta$ 1 $\rightarrow$ 1')Cer (galabiosylceramide) του δεύτερου πιο συχνά παρατηρούμενου συσσωρευμένου λιπιδίου στους ασθενείς Fabry. Είναι περισσότερο ευαίσθητο στην αυξημένη θερμοκρασία από ότι η GalT-6 ιδιότητα η οποία επηρεάζει την δραστηριότητα του. Σημειώνεται ότι ανευρίσκεται στους νεφρούς αλλά όχι στο ΚΝΣ, στο ήπαρ, στον σπλήνα και στους πνεύμονες εξηγώντας την



διαφορετική κατανομή του 2-γαλακτοζη-οζιλκεραμιδίου στους ασθενείς Fabry (40,43).

Έχουν περιγραφεί ακόμη δύο ειδικά ένζυμα τα οποία είναι υπεύθυνα για την σύνθεση των γλυκοσφιγγολιπιδίων των ομάδων αίματος B και B1 οι UDPGal: Gal( $\beta$ 1 $\rightarrow$ 4)ClcNAc [( $\beta$ 1 $\rightarrow$ 3) ή ( $\beta$ 1 $\rightarrow$ 4)] LacCer( $\alpha$ 1 $\rightarrow$ 3) γαλακτοζιλτρανσφεράσες. Έχουν απομονωθεί δύο αλληλόμορφα γονίδια υπεύθυνα για την παραγωγή των, τα οποία παρουσιάζουν μια χαρακτηριστική φυλετική κατανομή. Το ένα αλληλόμορφο (B1) κωδικοποιεί την ευρέως περιγραφόμενη, κανονική, γαλακτοζιλτρανσφεράση η οποία συναντάται στους Καυκάσιους ενώ το δεύτερο (B2) παράγει ένα πλέον ενεργό ένζυμο και ανευρίσκεται μόνο σε μαύρους και Ασιάτες (40).

Τέλος η UDPGal: Gal( $\beta$ 1 $\rightarrow$ 4)ClcNAc( $\beta$ 1 $\rightarrow$ 3) LacCer( $\alpha$ 1 $\rightarrow$ 4) ή GalT-5 γαλακτοζιλτρανσφεράση καταλύει την σύνθεση των GSLs των ομάδων αίματος P1. Χαρακτηριστικά η GalT-5 παρότι παράγει λιπίδια της σειράς των σφαιρογλυκοσφιγγολιπιδίων εμφανίζει ειδικότητα μόνο για αυτά των P1 ομάδων αίματος και όχι για το GL-3 και σε αντίθεση με τις τρανσφεράσες των GSLs των ομάδων αίματος B και B1, ο γλυκοζιτικός δεσμός είναι ( $\alpha$ 1 $\rightarrow$ 4) και όχι ( $\alpha$ 1 $\rightarrow$ 3) (40).

Περισσότερα του 25% των GSLs του πλάσματος αντιπροσωπεύουν *de novo* καθημερινά παραγόμενα μόρια. Κυρίως συντίθενται στο ήπαρ και συγχωνεύονται σε μόρια λιποπρωτεϊνών (LDL) μέσω των οποίων μεταφέρονται στην συστηματική κυκλοφορία. Ο χρόνος ημίσειας ζωής των έχει υπολογιστεί στις 2-4 ημέρες ενώ ο ρυθμός απομάκρυνσης των από το πλάσμα είναι 1-6  $\mu$ mol την ημέρα. Σημαντικό μέρος των ουδέτερων GSLs του πλάσματος προέρχεται από την καταστροφή των γερασμένων ερυθροκυττάρων, ενώ άγνωστη παραμένει η κινητική των GSLs τα οποία αποτελούν δομικά στοιχεία των κυτταρικών μεμβρανών. Οι παρατηρήσεις αυτές είναι ιδιαίτερα σημαντικές ειδικότερα όταν η μείωση των επιπέδων των GSLs



του πλάσματος αποτελεί δείκτη εκτίμησης της πορείας ασθενών Fabry σε ενζυμική θεραπεία υποκατάστασης (28).

Ο τρόπος μέσω του οποίου ρυθμίζεται η ποσότητα και οι μορφές των GSLs τα οποία θα παραχθούν παραμένει άγνωστος. Οι παράμετροι της κινητικής των εμπλεκόμενων ενζύμων και ειδικότερα των τελικών γλυκοζυλτρανσφερασών αλλά και η τοπογραφική οργάνωση αυτών στο σύμπλεγμα του Golgi, καθώς επίσης τοπικοί φυσικοί και χημικοί παράγοντες (pH, φωσφορυλίωση) φαίνεται ότι επηρεάζουν την δραστηριότητα των ενζύμων, καθορίζοντας την παραγωγή των GSLs (34).

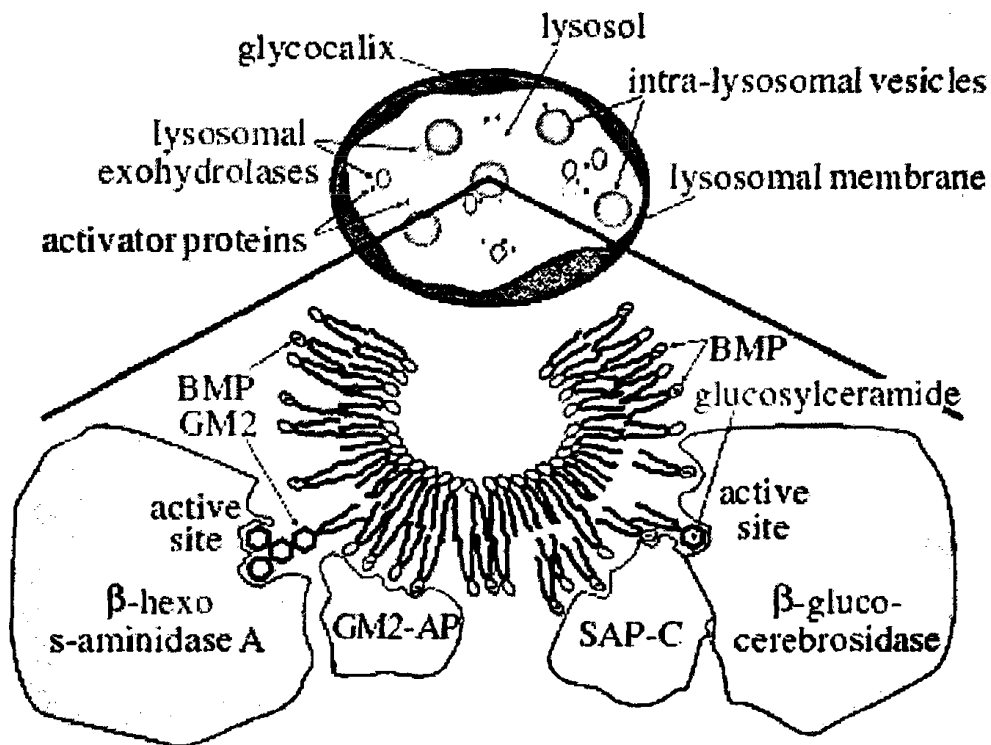
### 1.3.2. Καταβολισμός των γλυκοσφιγγολιπιδίων

Ο καταβολισμός των δομικών GSLs των κυτταρικών μεμβρανών καθώς επίσης και των κυκλοφορούντων ουδέτερων GSLs, συμβαίνει στο όξινο περιβάλλον των ενδοσωμάτων και λυσοσωμάτων του κυττάρου. Τα δομικά GSLs των κυτταρικών μεμβρανών μεταφέρονται στις θέσεις αποδόμησης των ακολουθώντας τον μηχανισμό της ενδοκύτωσης. Η δημιουργία των χαρακτηριστικών μεταφορικών ενδοκυττάρων κυστιδίων, μετά την εσωτερίκευση ενός υποστρώματος με τον αντίστοιχο κυτταρικό υποδοχέα, κατά την διαδικασία της ενδοκύτωσης και η περαιτέρω σύμπτυξη των κυστιδίων με τα ενδοσωμάτια, έχει ως αποτέλεσμα την είσοδο τμημάτων των μεμβρανών άρα και δομικών GSLs στο εσωτερικό των ενδοσωματίων (40). Η επίδραση του όξινου περιβάλλοντος της περιοχής είναι καταλυτική και οδηγεί στην απελευθέρωση μορίων GSLs τα οποία στην συνέχεια μεταφέρονται στα λυσοσωμάτια όπου ολοκληρώνεται ο καταβολισμός των. Τα κυκλοφορούντα GSLs αντίθετα, αναγνωρίζονται από ειδικούς κυτταρικούς υποδοχείς όπου συνδέονται και στη συνέχεια με τον ίδιο μηχανισμό των δομικών GSLs εισέρχονται στα λυσοσώματα(41). Στην συνέχεια ειδικές λυσοσωμιακές υδρολάσες,



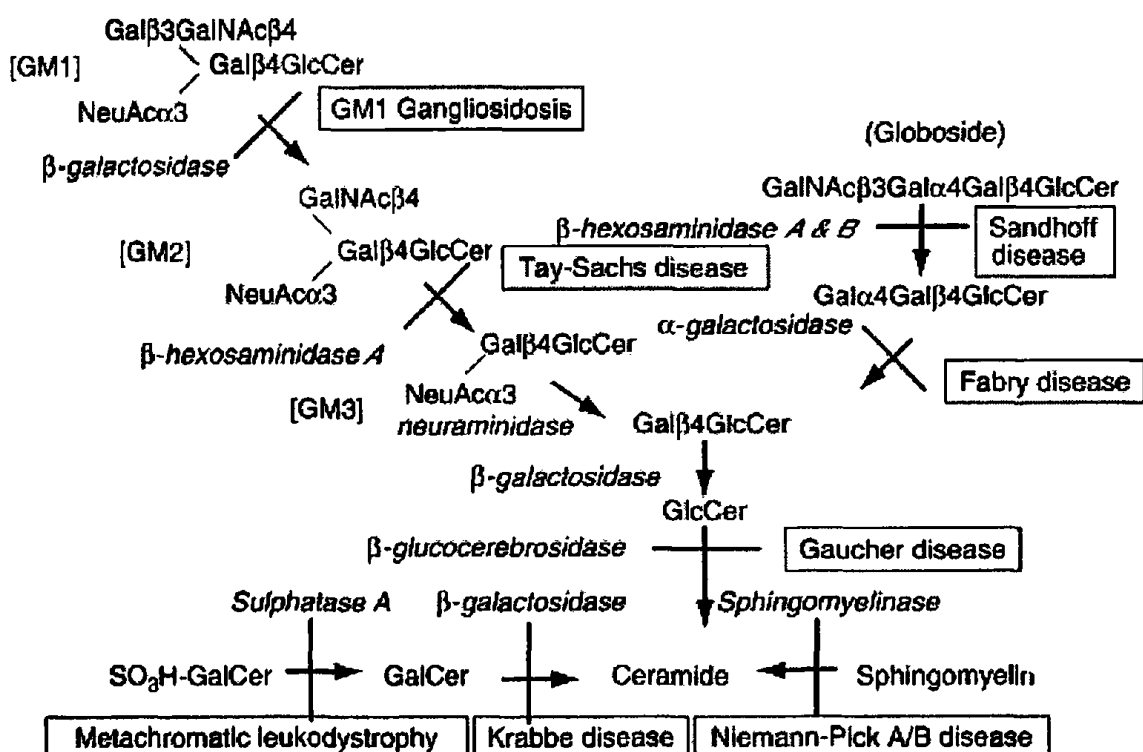
οι γλυκοσιδάσες, αποσπών τα ειδικά συνδεδεμένα μόρια σακχαριτών από τα GSLs και τα παραγόμενα ελεύθερα μόρια μονοσακχαριτών, λιπαρών και σιαλικών οξέων και των βάσεων σφινγγοσίνης είτε χρησιμοποιούνται για την σύνθεση νέων GSLs είτε διασπώνται περαιτέρω(42).

Η κινητική καθώς επίσης και οι ιδιαίτερες φυσικοχημικές ιδιότητες των υπεύθυνων ενζύμων για την διάσπαση των GSLs έχουν περιγραφεί λεπτομερώς ενώ για τα περισσότερα από αυτά είναι εφικτή η παραγωγή τους σε σχετικά καθαρές μορφές. Πρόκειται για γλυκοπρωτεΐνες με βέλτιστη δράση σε όξινο περιβάλλον. Η ύπαρξη πολλαπλών μορφών σε πολλά από αυτά τα ένζυμα, οφείλεται στην ειδικότητα την οποία εμφανίζουν. Αναγνωρίζουν ορισμένες χημικές μορφές GSLs ενώ είναι δραστικά επιλεκτικά σε ορισμένους τύπους χημικών δεσμών, ειδικότερα γλυκοζιτικών αλλά και πεπτιδικών(43).



Εικόνα 2. Προσομοίωση της διάσπασης των δομικών GSLs. Συνέργεια υδρολυτικής δράσης λυσοσωμιακών ενζύμων και πρωτεϊνικών ενεργοποιητών.

In vivo, για να είναι εφικτή η υδρολυτική δράση των λυσοσωμιακών ενζύμων, ορισμένα από τα υδρόφοβα μόρια των GSLs και ειδικότερα αυτά τα οποία εμπεριέχουν λιγότερα από τέσσερα μόρια σακχαριτών, πρέπει να συνδεθούν με ορισμένους πρωτεϊνικούς ενεργοποιητές, τις σαπωνίνες (SAPs). Πρόκειται για γλυκοπρωτεΐνες, με μοριακό βάρος 8-11kDa, οι οποίες λειτουργούν είτε ως διαμεσολαβητές επιτρέποντας τη σύνδεση των υδρόφοβων μορίων των GSLs στα υδατοδιαλυτά ένζυμα είτε μέσω άμεσης ενεργοποίησης του ενζύμου, λειτουργώντας ως συνένζυμο (Εικόνα 2). Η ανεπαρκής παραγωγή ή δράση των SAPs αποτελεί τον αιτιοπαθογενετικό μηχανισμό πρόκλησης μεταβολικών νοσημάτων εναπόθεσης όπως βέβαια και η ανεπάρκεια των λυσοσωμιακών ενζύμων (35,43) (Πίνακας 3).



Πίνακας 3. Νόσοι εναπόθεσης σφιγγολιπιδίων



### 1.3.3. Λειτουργίες των γλυκοσφιγγολιπιδίων

Τα GSLs εμφανίζουν έντονη δομική πολυμορφία και ταξινομούνται σε κατηγορίες οι οποίες είναι χαρακτηριστικές ομάδων οργανισμών ανάλογα με τον βαθμό εξέλιξης των. Στην κυτταρική επιφάνεια τα GSLs σχηματίζουν συμπλέγματα τα οποία χαρακτηρίζουν το είδος και τον τύπο των κυττάρων και τροποποιούνται με την ανάπτυξη και διαφοροποίηση του κυττάρου, την οντογένεση και την ογκογένεση. Αποτελούν κυρίαρχο δομικό συστατικό των πλασματικών μεμβρανών συνθέτοντας το μηχανικά σταθερό και χημικά ανθεκτικό εξωτερικό τμήμα της λιπιδιακής διπλοστοιβάδας και συμμετέχουν ενεργά στους μηχανισμούς που προσδιορίζουν την κυτταρική αυτοτέλεια. Αποτελούν απαραίτητα στοιχεία για την ανάπτυξη και επιβίωση των πολυκυττάρων οργανισμών. Κεντρικός είναι ο ρόλος τους στην έκφραση των φαινομένων κυτταρικής συγκόλλησης, της ρύθμισης των πρωτεϊνών των μεμβρανών και γενικότερα των σχέσεων των κυττάρων με τον περιβάλλοντα χώρο (Πίνακας 4).

Από την δεκαετία του 1970 τα γλυκοσφιγγολιπίδια και ειδικότερα εκείνα της σφαιρόμορφης σειράς (GL-3, GL-4), είναι γνωστό ότι αποτελούν αναγνωριστικά στοιχεία των ερυθροκυττάρων αποτελώντας αλλογονικά αντιγόνα των διάφορων ταξινομήσεων των ομάδων αίματος (ABO, Lewis, I/i, PP<sub>1</sub>P<sup>k</sup>) (44). Το σύνολο των εκφραζόμενων GSLs στις μεμβράνες των ανθρώπινων κυττάρων, διαφοροποιείται στην διάρκεια του κύκλου της ζωής. Η έκφραση των αντιγόνων που τα GSLs συνθέτουν μειώνεται με την ωρίμανση των κυττάρων και είναι ελάχιστη στους ενήλικες ιστούς. Τα αντιγόνα αυτά είναι δυνατόν να επανεκφραστούν σε διάφορους τύπους καρκίνων και πολλά εξ αυτών έχουν χαρακτηριστεί ως ειδικά καρκινικά αντιγόνα (45). Έχει αποδειχθεί ότι λειτουργούν ως προσκολλητικά μόρια ή ως αυξητικοί παράγοντες των καρκινικών κυττάρων με αποτέλεσμα να αποτελούν στόχο





για την διάγνωση και θεραπεία της νόσου συμπεριλαμβανομένων και της παραγωγής ειδικών αντικαρκινικών εμβολίων (46). Πολλαπλές βιβλιογραφικές αναφορές περιγράφουν την ικανότητα των GSLs να συνδέονται με μικροβιακές τοξίνες, ορμόνες (θυρεοτροπίνη, γοναδοτροπίνη) κυτταροκίνες, ιντερφερόνη και σεροτονίνη, προσδίδοντας τους μια ακόμη λειτουργία, αυτής των υποδοχέων. Η υπόθεση αυτή δεν έχει διευκρινισθεί απόλυτα και ειδικότερα αν τα γλυκοσφιγγολιπίδια λειτουργούν αυτοτελώς ως βοηθητικοί υποδοχείς ή αν αποτελούν ρυθμιστικούς παράγοντες κύριων ή βοηθητικών υποδοχέων (47). Τα GSLs αποτελώντας αναπόσπαστο τμήμα των δομικών συστατικών των πλασματικών μεμβρανών συμμετέχουν ενεργά στις σχέσεις των κυττάρων μεταξύ τους και με τον περιβάλλοντα χώρο. Ο κεντρικός ρόλος τους, ως μεσολαβητές της κυτταρικής προσκόλλησης έχει από χρόνια αποδειχθεί. Έχουν περιγραφεί δύο μηχανισμοί κυτταρικής προσκόλλησης στους οποίους τα GSLs εμπλέκονται άμεσα. Ο πρώτος πραγματώνεται με την μεσολάβηση ειδικών πρωτεϊνών συνδεδεμένων με υδατάνθρακες (λεκτίνες και η υποκατηγορία αυτών, σελεκτίνες). Στον δεύτερο έχει περιγραφεί η απαραίτητη διαμεσολάβηση συμπληρωματικών (complementary) μορίων υδατανθράκων τα οποία συνδέονται με υδατανθρακικές απολήξεις της κυτταρικής μεμβράνης σχηματίζοντας δεσμούς μεταξύ των. Και στις δυο περιπτώσεις το υπόστρωμα της κυτταρικής μεμβράνης για την δημιουργία των προαναφερθέντων δεσμών το αποτελούν δομές των γλυκοσφιγγολιπιδίων (48). Τέλος τα GSLs οργανωμένα σε δομικά ανεξάρτητες ομάδες (microdomains) αποτελούν αναπόσπαστο μέρος των μορίων τα οποία είναι υπεύθυνα για την ενδοκυττάρια μεταβίβαση διαφόρων ερεθισμάτων. Μέσω αυτής της μορφής της οργάνωσης τα GSLs δύνανται να τροποποιήσουν την ένταση μεταβίβασης ενός ερεθίσματος αλλά και την έκφραση ορισμένων υποδοχέων όπως αυτών του αυξητικού παράγοντα και των ιντεγκρινών (49).



<b>1. GSL antigens</b>
• Blood group ABH; Lewis (Le <sup>a</sup> , Le <sup>b</sup> , Le <sup>c</sup> , Le <sup>d</sup> , etc); I/i; P, P <sup>k</sup> and p antigens;
• Heterogenetic Forssman; Hanganutziu-Deicher (NeuGc epitope); Gal $\alpha$ 1 $\rightarrow$ 3Gal $\beta$ 1 $\rightarrow$ 3GlcNAc (di-Gal);
• Cell type specific antigens (CD15, CD76, CD75, CD71, CD57, CD65);
• Developmentally regulated [stage-specific embryonic antigen-1 (SSEA-1), Le <sup>x</sup> , SSEA-3, SSEA-4, etc];
• Tumor-associated antigens [Gb3, Gal-Gb4, Globo-H, GD3, GD2, fucosyl GM1, sialosyl-Le <sup>c</sup> , sialosyl-Le <sup>a</sup> , etc).
<b>2. GSL receptors for microbial infection and toxins, e.g.</b>
• Cholera toxin (GM1);
• Shigella or verotoxin (Gb3);
• Botulinum neurotoxin (GT1b, GD1a as co-factors of protein receptor);
• <i>E. coli</i> infection (globo-series GSL);
• <i>Staphylococcus</i> infection (Gg4; asialo-GM1).
<b>3. GSLs in cell adhesion/recognition</b>
3 (i). Mediated by GSL-binding protein, e.g.
• Neuronal cell adhesion to myelin sheath membrane mediated by gangliosides and myelin-associated glycoproteins;
• Myelogylican GSLs to selectin;
• GM1 mediating adhesion through galectin-1.
3 (ii). Mediated by GSL-GSL interaction, e.g.
• GM3-LacCer/Gg3 interaction mediating melanoma adhesion to endothelial cells (initiation of metastasis);
• Gb4-GalGb4/nLc <sub>4</sub> interaction mediating human teratocarcinoma cell interaction (model of human embryo compaction);
• Le <sup>x</sup> -Le <sup>x</sup> interaction mediating mouse embryogenesis.
• Glycan-to-glycan interaction mediating species-specific sponge cell aggregation in proteoglycan;
• GalCer/GalCer-sulfatide interaction in myelin membrane mediating signal transduction in oligodendrocytes;
• Sperm (KDN) GM3 interaction with Gg3-like epitope, expressed on micropyle of vitelline envelope in egg, mediating sperm-to-egg interaction in rainbow trout fertilization.
<b>4. GSLs controlling cell motility and signal transduction</b>
4 (i). GSL to TSP interaction, e.g.
• GM3/TSP CD9 complex.
• GM2/GM3/CD82 complex.
4 (ii). GSL to GSL interaction through cis-CCI

Πίνακας 4. Γενικές λειτουργίες των σφιγγολιπιδίων (48)

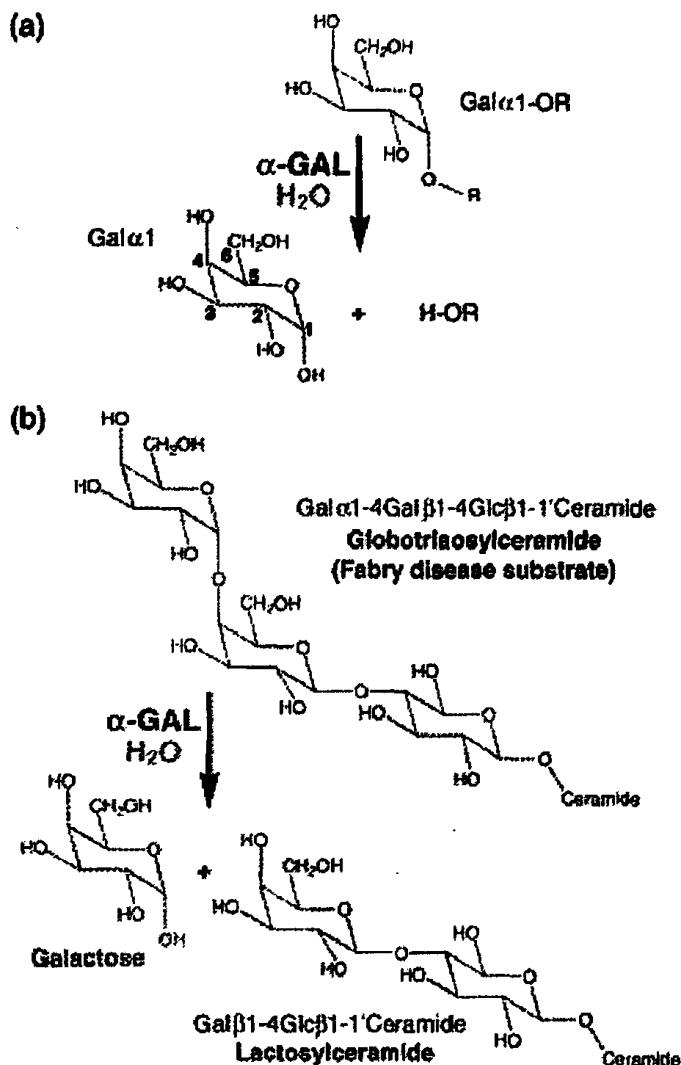


### 1.3.4. Ανεπάρκεια του ένζυμου α-γαλακτοζιδάση Α.

Η ανεπάρκεια του λυσοσωμιακού ενζύμου α-γαλακτοζιδάση Α (α-Gal A) αποτελεί την ενζυμική διαταραχή της νόσου του Fabry. Μετά την ταυτοποίηση των συσσωρευμένων γλυκοσφιγγολιπιδίων στους ασθενείς Fabry, ο Brady και συνεργάτες, κατάφεραν να συνθέσουν μόρια GL-3 με ραδιοσημασμένη γαλακτοζιλική απόληξη (8). Χρησιμοποιώντας αυτό το υπόστρωμα καταδείξανε την ύπαρξη της γαλακτοζιδάσης, σε εντερικό βιοψικό υλικό φυσιολογικών ατόμων, και συγχρόνως την ανεπάρκεια του εν λόγω ενζύμου σε ανάλογο βιοψικό υλικό από ημιζυγώτες με νόσο του Fabry. Στην πορεία το 1970 ο Kint εξειδίκευσε περαιτέρω το υπεύθυνο ένζυμο και απέδειξε ότι πρόκειται για την α-στερεοϊσομερή μορφή της γαλακτοζιδάσης (9). Η στερεοϊσομερική μορφή του δεσμού - στόχου του ενζύμου γαλακτοζιδάση - επιβεβαιώθηκε μέσω φασματομετρικών μελετών του ενζύμου και διαπιστώθηκε η εντοπισμένη δράση του στον α1→4 γλυκοζιτικό δεσμό ο οποίος συνδέει το τελικό μόριο γαλακτόζης στο υπόλοιπο λιπίδιο (50) (Εικόνα 3). Στις αρχικές μελέτες που ακολούθησαν την ανακάλυψη του υπεύθυνου ενζύμου, διαπιστώθηκε ότι ημιζυγώτες ασθενείς Fabry εμφάνιζαν ιδιαίτερα υψηλά επίπεδα υπολειπόμενης δραστηριότητας του ενζύμου (10-25%). Χαρακτηριστικά η υπολειπόμενη δραστική α-γαλακτοζιδάση παρουσίαζε ορισμένες διαφορές σε σχέση με το κλασσικό ένζυμο και ειδικότερα διαπιστώθηκε ότι εμφάνιζε θερμοσταθερότητα και αντοχή στην ανασταλτική δράση της μυοϊνοσιτόλης (51). Αυτό οδήγησε στην υπόθεση της ύπαρξης δυο ισοενζύμων, της α-γαλακτοζιδάση Α και Β, τα οποία λόγω της έντονης συγγένειας των, περιγράφηκε, ότι αποτελούσαν προϊόντα ίδιας γονιδιακής προέλευσης αλλά διαφορετικής γλυκοζυλίωσης (52). Όμως οι επακόλουθες μελέτες με πολυκλωνικά αντισώματα έναντι των δύο μορφών, Α και Β, απέδειξαν ότι επρόκειτο για δυο διαφορετικά ένζυμα. Τα υπεύθυνα γονίδια για την



παραγωγή τους βρίσκονταν σε διαφορετικά χρωμοσώματα (53) και μόνο η ανεπάρκεια της α-γαλακτοζιδάση Α αποδείχθηκε ικανή να οδηγήσει σε συσσώρευση των γνωστών GSLs στους ασθενείς Fabry (54). Τελικά το 1977 περιγράφηκε οριστικά ότι η αρχικά επονομαζόμενη α-γαλακτοζιδάση Β καταλύει εντελώς διαφορετικού τύπου χημικούς δεσμούς και ειδικότερα ότι πρόκειται για μια α-N-ακετυλ-γαλακτοζαμινιδάση (α-NAGAL)(55).



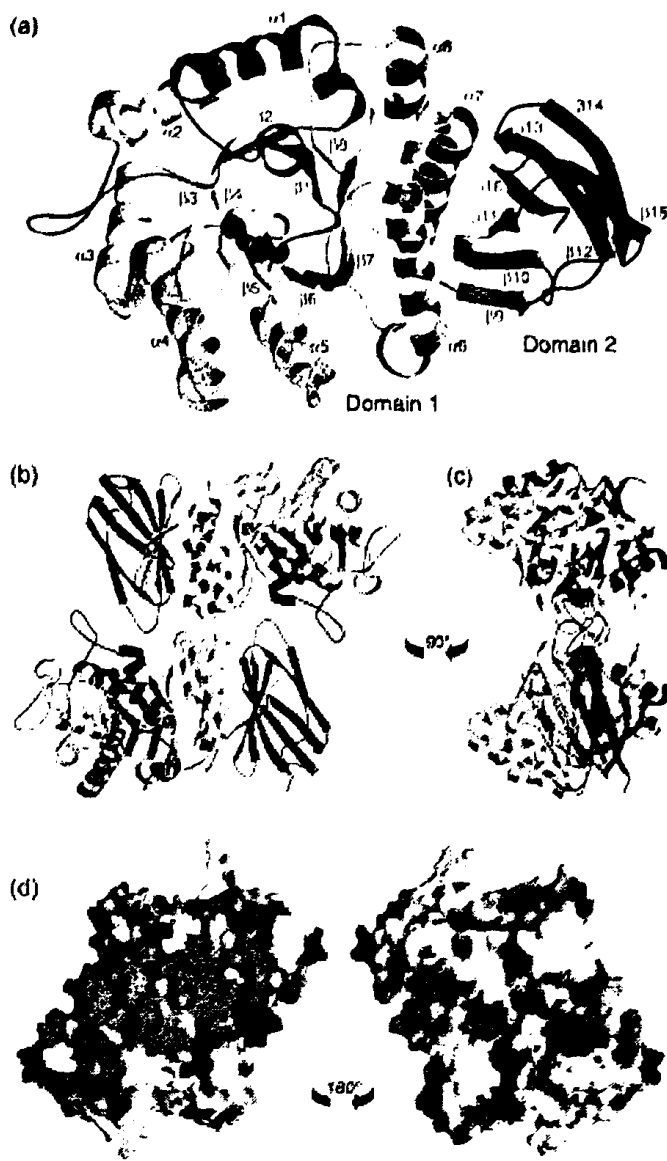
Εικόνα 3. Η χημική δράση της α-GAL. (a) Τερματικά α-ανωμερή γαλακτόζης αποσπώνται από ολιγοσακχαρίτες γλυκοπρωτεΐνες ή γλυκολιπίδια παράγοντας α-γαλακτόζη (Gal $\alpha$ 1) και αλκοόλη. (b) Η δράση της α-GAL στην νόσο Fabry.



Το φυσικό, ανθρώπινο ένζυμο α-Gal A είναι μια πρωτεΐνη μοριακού βάρους περίπου 101kDa, η οποία στην τελική της μορφή περιέχει 398 αμινοξέα (Εικόνα 4). Ειδικότερα πρόκειται για γλυκοπρωτεΐνη στη σύσταση της οποίας συμμετέχουν ενεργά συμπλέγματα περιέχοντα ασπαραγίνη (5 έως 15% ) και ολιγοσακχαρικές αλυσίδες με κυρίαρχο στοιχείο την μαννόζη. Το ισοηλεκτρικό σημείο (pI) των ιστικών μορφών της α-Gal A οριοθετείται μεταξύ 4.3 και 5.1 ενώ στο πλάσμα είναι 4.2 και οι διαφορές αυτές οφείλονται στην διαφορετική περιεκτικότητα των διαφόρων μορφών του ενζύμου σε σιαλικό οξύ (10). Η α-Gal A του πλάσματος περιέχει περισσότερα από 10 μόρια σιαλικού οξέως ενώ η μορφή που απομονώθηκε από τον πλακούντα μόλις 1-2 μόρια. Η προσθήκη των ηλεκτροαρνητικών αυτών μορίων είναι υπεύθυνη και για την παράταση της ημίσειας ζωής του χορηγούμενου ενδοφλεβίως ενζύμου στο πλάσμα των ασθενών Fabry καθώς επίσης της διαφορετικής ιστικής δραστηριότητας του (56). Η δομική ανάλυση με κρυσταλλογραφία ακτινών X ανέδειξε την ύπαρξη μιας αλληλουχίας 13 αμινοξέων η οποία θεωρείται άμεσα υπεύθυνη για την σύνδεση του ενζύμου στην α-γαλακτοζιλική απόληξη και την περαιτέρω απόσχιση του μορίου της γαλακτόζης από το υπόλοιπο λιπίδιο. Μεταλλάξεις οι οποίες αφορούν κάποιο από τα αμινοξέα της εν λόγω αλληλουχίας οδηγούν σε πλήρη, βαριάς μορφής έκφραση της νόσου του Fabry (57).

Η α-Gal A αποτελεί μια σχετικά θερμοευαίσθητη γλυκοπρωτεΐνη η οποία εμφανίζει μέγιστη δραστηριότητα για το υπόστρωμα GL-3 σε περιβάλλον με pH μεταξύ 3.8 και 4 ενώ η σταθερά  $K_m$  της αντίδρασης [έκφραση συγγένειας ενζύμου(α-Gal A)-υποστρώματος(GL-3)] κυμαίνεται μεταξύ 0.1-0.2 mM (58). Έχουν περιγραφεί διάφορα συνθετικά ανάλογα των φυσικών GSLs ενώ παράλληλα έχουν απομονωθεί ισχυροί αναστολείς της δράσης της και έχουν χρησιμοποιηθεί εκτενώς για την έρευνα των λειτουργικών ιδιοτεροτήτων της α-Gal A.





Εικόνα 4. Δομή της  $\alpha$ -γαλακτοσιδάσης A.

In vivo η υδρόλυση του GL-3 καθίσταται εφικτή μέσω της συνεργικής δράσης ειδικών ενεργοποιητών, των σαπωνινών (SAPs). Η SAP-B ή SAP-1 συνδέεται με το GL-3, μετατρέποντας το σε πλέον υδροδιαλυτό, και πρακτικά ευαίσθητο στην υδρολυτική δράση της  $\alpha$ -Gal A. Πρόκειται για γλυκοπρωτεΐνη μοριακού βάρους 22kDa, που το υπεύθυνο για την παραγωγή της γονίδιο βρίσκεται στο 10q22.1 χρωμόσωμα (59). Ασθενείς με κληρονομική διαταραχή στη σύνθεση της SAP-B εμφανίζουν ανεπαρκή δραστηριότητα της  $\alpha$ -Gal A και σύγχρονη αύξηση των επιπέδων των GSLs στο πλάσμα και στα ούρα παρόμοια με αυτή των ασθενών Fabry. Όμως επειδή η SAP-B δεν αναγνωρίζει και ενεργοποιεί αποκλειστικά το GL-3 η ανεπαρκής



παραγωγής της έχει σαν αποτέλεσμα την αναποτελεσματική διάσπαση και συσσώρευση και άλλων τύπων σφιγγολιπιδίων (60).



## 1.4. ΔΕΔΟΜΕΝΑ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ

Η απομόνωση του υπεύθυνου γονιδίου (GLA) για την σύνθεση του λυσοσωμιακού ενζύμου α-γαλακτοζιδάση Α οδήγησε στην πληρέστερη κατανόηση της νόσου Fabry. Η πλήρης χαρτογράφηση του γονιδίου κατέστησε δυνατή την περιγραφή της δομικής του οργάνωσης καθώς επίσης και των παραγόντων που ρυθμίζουν την έκφραση του ενώ παράλληλα έδωσε το έναυσμα για περαιτέρω μελέτες οι οποίες είχαν σαν αποτέλεσμα την εργαστηριακή παραγωγή ενζύμου και την έναρξη θεραπείας ενζυμικής υποκατάστασης. Το γονίδιο GLA αποτελείται από επτά εξόνια και βρίσκεται στη Xq22.1 περιοχή του χρωμοσώματος X. Ήδη από τις αρχικές μελέτες των μεταλλάξεων ασθενών από ανεξάρτητες οικογένειες, διαπιστώθηκε έντονη ποικιλομορφία αλλοιώσεων του εν λόγω γονιδίου, προσδίδοντας μοριακή και γενετική ετερογένεια στη νόσο. Η παρατηρούμενη γενετική ετερογένεια πιθανά να αποτελεί και την βάση για την ποικιλία των κλινικών εκφράσεων της νόσου Fabry.

### 1.4.1. Το γονίδιο της α-γαλακτοζιδάσης Α

Οι μελέτες οι οποίες αφορούν στον γενετικό τόπο (locus) του ανθρώπινου γονιδίου GLA αρχίζουν την δεκαετία του 1970 όταν ο Kint προσδιόρισε την ανεπάρκεια του ενζύμου α-γαλακτοζιδάση Α ως βάση της αιτιοπαθογένειας της νόσου Fabry και περιέγραψε ότι το υπεύθυνο γονίδιο για την σύνθεση του ενζύμου βρίσκεται στο χρωμόσωμα X (9). Ακολούθως το 1985 ο Bishop και συνεργάτες χρησιμοποιώντας μεθόδους *in situ* υβριδισμού περιγράφουν με ακρίβεια ότι ο γενετικός τόπος του γονιδίου GLA βρίσκεται στην περιοχή 22 στο μακρύ σκέλος του χρωμοσώματος X (Xq22) (10). Επιπρόσθετα όταν οι *in situ* μελέτες συμπληρώθηκαν με εκείνες στις οποίες χρησιμοποιήθηκε κατά Southern υβριδισμός και διαπιστώθηκε





απόλυτη ταύτιση των περιοριστικών τμημάτων του γονιδιωματικού DNA με εκείνα ειδικά κλωνοποιημένων για την α-γαλακτοζιδάση A, επιβεβαιώθηκε η ύπαρξη ενός μοναδικού γονιδίου στο χρωμόσωμα X, υπεύθυνου για την σύνθεση του ενζύμου α-γαλακτοζιδάση A (61). Η περιοχή Xq22 καλύπτει περίπου 10 έως 12 μεγαβάσεις (Mb) του γονιδιωματικού DNA, στο εγγύς μακρύ σκέλος του χρωμοσώματος X. Πρόσφατα σε τεχνητά χρωμοσώματα ζύμης (YACs) τα οποία εμπεριείχαν το γονίδιο GLA διαπιστώθηκε η ύπαρξη σημαντικού αριθμού CpG νησιδίων ενδεικτικά αυξημένης συγκέντρωσης λειτουργικών γονιδίων στην εν λόγω περιοχή. Πράγματι στην ίδια περιοχή αναγνωρίστηκαν πολλαπλά γονίδια που εμπλέκονται στην παθογένεια και άλλων γενετικά καθορισμένων παθήσεων (σύνδρομο Alport, νόσος του Pelizaeus-Merzbacher, αγαμασφαιριναιμία Bruton) (62).

Η πλήρης αλληλουχία του υπεύθυνου για την σύνθεση της α-γαλακτοζιδάσης A συμπληρωματικού DNA (Full-length cDNA) απομονώθηκε, αναλύθηκε και εκφράστηκε με επιτυχία στην κυτταρική σειρά COS-1 (νεφρικά κύτταρα πιθήκου μετασχηματισμένα από τον ιό SV40) (57). Το cDNA του ενζύμου της α-γαλακτοζιδάσης A περιέχει μια 5' αμετάφραστη περιοχή μήκους 60 bp η οποία αποτελεί το κωδικόνιο έναρξης και το ολοκληρωμένο ανοικτό πλαίσιο ανάγνωσης το οποίο κωδικοποιεί το πεπτίδιο σηματοδότησης, αποτελούμενο από 31 αμινοξέα και τα υπόλοιπα 398 αμινοξέα του πρόδρομου ενζύμου (10). Ένα ακόμη ιδιαίτερο χαρακτηριστικό του cDNA του ενζύμου αποτελεί η απουσία στην περιοχή 3', αμετάφραστης ακολουθίας (63). Η αλληλουχία σηματοδότησης (AATAAA) της πολυαδενυλίωσης ανευρίσκεται μόλις 12 νουκλεοτίδια πριν από το κωδικόνιο τερματισμού, TAA, της οποίας έπεται μια ακολουθία βάσεων αδενίνης (πολυA) εύρημα και αυτό ιδιαίτερα σπάνιο μεταξύ των ανθρώπινων πυρηνικών γονιδίων (11).



Η ταυτοποίηση του γονιδίου α-Gal A έχει ολοκληρωθεί (64). Αποτελείται από συνολικά 12.436 ζεύγη βάσεων DNA (bps) και περιέχει 7 εξόνια τα οποία συνδέονται με εκτεταμένες ρυθμιστικές αλληλουχίες (5') καθώς και ανάλογες πλευρικές (3'). Το εύρος του μεγέθους των εξονίων βρίσκεται μεταξύ των 92 και 291 bp ενώ αυτό των ιντρονίων ποικίλλει από 200 bp έως 3.7 Kb (11, 64). Το εξόνιο 1 κωδικοποιεί το πεπτίδιο σηματοδότησης και την σειρά των πρώτων 33 αμινοξέων του πρόδρομου ενζύμου. Τα ιντρόνια καθώς επίσης και η 3' αμετάφραστη περιοχή περιέχουν σημαντικό αριθμό επαναλαμβανόμενων όμοιων νουκλεοτιδικών αλληλουχιών (12 στοιχεία Alu) που καταλαμβάνουν το 30% του συνολικού μεγέθους του, καθιστώντας το γονίδιο GLA ένα από τα πλέον πλούσια ανθρώπινα γονίδια σε περιεκτικότητα αλληλουχιών Alu (65, 66).

#### 1.4.2. Μεταλλάξεις του γονιδίου της α-γαλακτοζιδάσης A

Η ταυτοποίηση του γονιδίου της ανθρώπινης α-γαλακτοζιδάσης A και η ολοκληρωμένη περιγραφή της πλήρους αλληλουχίας βάσεων του συμπληρωματικού DNA επέτρεψε την μελέτη της φύσης και της συχνότητας εμφάνισης των μεταλλάξεων οι οποίες προκαλούν την νόσο του Fabry (πίνακας 5). Μέχρι σήμερα έχουν περιγραφεί περίπου 500 μεταλλάξεις στην Human Gene Mutation Database ([www.hgmd.org](http://www.hgmd.org)) οι οποίες αφορούν ένα γονίδιο το οποίο επεξεργάζεται μια συνολική πληροφορία 1.45 kb, κωδικοποιώντας ένα 50-kDa πρόδρομο πολυπεπτίδιο, το οποίο περιέχει 429 αμινοξέα. Η πλειονότητα αυτών των μεταλλάξεων είναι «ιδιωτικές» δηλαδή αφορούν μόνο μια ορισμένη οικογένεια. Μεταλλάξεις κοινές σε περισσότερες της μιας οικογένειες συχνά αφορούν το CpG δινουκλεοτίδιο των Alu αλληλουχιών, περιοχή ιδιαίτερα ευαίσθητη στην εμφάνιση μεταλλάξεων (67).



Περισσότερες από το 70% των καταγεγραμμένων μεταλλάξεων είναι σημειακές. Όπως και για κάθε άλλο γονίδιο οι σημειακές μεταλλάξεις του GLA μπορεί να είναι είτε μια απώλεια ή προσθήκη ενός ζεύγους βάσεων είτε αντικατάσταση ενός ζεύγους βάσεων από ένα άλλο (15). Κατά την αντικατάσταση ενός ζεύγους βάσεων από ένα άλλο, προκύπτει ένα νέο κωδικόνιο στη θέση του παλιού. Το νέο αυτό κωδικόνιο μπορεί να κωδικοποιεί ένα άλλο αμινοξύ στη θέση του σωστού [παρερμηνεύσιμη μετάλλαξη, missense mutation (84% των ασθενών Fabry)] ή να μην κωδικοποιεί παντελώς [μη νοηματική μετάλλαξη, nonsense mutation (16%)]. Οι σημειακές μεταλλάξεις ανευρίσκονται σε όλα τα εξόνια αν και η συχνότητα εμφάνισης των στο 4 και 7 εξόνιο είναι ιδιαίτερα μικρή. Οι ασθενείς που φέρουν τις σημειακές αυτές μεταλλάξεις εμφανίζουν την κλασσική κλινική έκφραση της νόσου αν και παρερμηνεύσιμες σημειακές μεταλλάξεις έχουν περιγραφεί και σε ορισμένες οικογένειες ασθενών με μεμονωμένη έκφραση της νόσου την καρδιακή συμμετοχή (57, 68).

Σε ένα ποσοστό μεγαλύτερο του 20% των ασθενών οι μεταλλάξεις που είναι υπεύθυνες για την νόσο είναι μικρού ή μεγαλύτερου βαθμού γονιδιακές αναδιατάξεις. Οι απώλειες ή οι προσθήκες τμημάτων αλληλουχιών τα οποία περιέχουν λιγότερα από 21 ζεύγη βάσεων αποτελούν τις συχνότερα εμφανιζόμενες μεταλλάξεις αυτής της κατηγορίας. Το εξόνιο 7 και ειδικότερα η περιοχή μεταξύ των κωδικονίων 353 και 365, αντιπροσωπεύει την πλέον συχνή θέση εκδήλωσης αυτών των μεταλλάξεων. Αντίθετα εκτεταμένου βαθμού απώλειες αλληλουχιών βάσεων ή αναδιπλασιασμοί έχουν περιγραφεί σε μεμονωμένα περιστατικά και παρά την μεγάλη συγκέντρωση περιοχών Alu στο γονίδιο GLA μόνο σε ένα περιστατικό η μετάλλαξη προκλήθηκε από ανασυνδυασμό μεταξύ δύο Alu αλληλουχιών (69, 70).



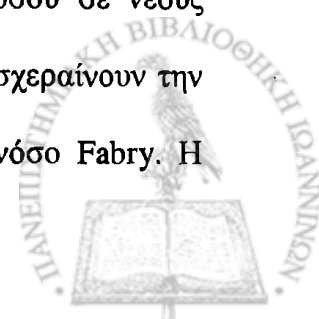
Τέλος ατέλειες κατά την επεξεργασία του RNA και μεμονωμένες πλέον σύνθετες γονιδιακές βλάβες συμπληρώνουν τις περιγραφείσες μεταλλάξεις του γονιδίου GLA οι οποίες είναι υπεύθυνες για την εμφάνιση της νόσου του Fabry (64).

Mutation type	Total number of mutation
Nucleotide substitutions (missense/nonsense)	284
Nucleotide substitutions (spicing)	20
Nucleotide substitutions (regulatory)	0
Small deletions	66
Small insertions	26
Small indels	7
Gross deletions	10
Gross insertions & duplications	1
Complex rearrangements (including inversions)	3
Repeat variations	0
<b>Total</b>	<b>417</b>

Πίνακας 5. Περιγραφή του τύπου των αναφερόμενων μεταλλάξεων έως το 2007 ([www.hgmd.org](http://www.hgmd.org).)

### 1.4.3. Συσχέτιση γονότυπου-φαινοτύπου.

Η κλινική έκφραση μιας γενετικά καθοριζόμενης νόσου επηρεάζεται από γενετικούς και μη γενετικούς παράγοντες. Η συσχέτιση μεταξύ γονότυπου και φαινοτύπου ορίζει τη δυνατότητα πρόβλεψης της κλινικής και εργαστηριακής έκφρασης μιας δεδομένης μετάλλαξης, μέσω της χρήσης ορισμένης βάσης στατιστικών δεδομένων. Όσο συχνότερη είναι η εμφάνιση και η καταγραφή ενός ορισμένου συνδυασμού γονότυπου-φαινοτύπου, τόσο πιο ισχυρή καθίσταται και η δυνατότητα στατιστικής πρόβλεψης της κλινικής έκφρασης της νόσου σε νέους ασθενείς που φέρουν την ίδια μετάλλαξη. Πολλαπλοί παράγοντες δυσχεραίνουν την ανάλυση της συσχέτισης μεταξύ γονότυπου και φαινοτύπου στην νόσο Fabry. Η



ύπαρξη μεταλλάξεων οι οποίες αφορούν μια και μοναδική οικογένεια και η συχνά παρατηρούμενη διαφορετική κλινική έκφραση της νόσου σε άτομα που ανήκουν στην ίδια οικογένεια αλλά και σε άτομα διαφορετικής οικογένειας που φέρουν την ίδια μετάλλαξη, καθιστά αυτή την προσπάθεια μια ιδιαίτερα δύσκολη διαδικασία (71). Το γεγονός επίσης ότι πολλαπλά από τα κλινικά ευρήματα της νόσου είναι κοινά (πόνος, πυρετός, διάρροια) και εμφανίζονται σε σωρεία άλλων παθήσεων καθώς επίσης και η εμφάνιση μη γενετικά εξαρτώμενων επιπλοκών στους ασθενείς Fabry, είναι δυνατόν να οδηγήσει σε αμφιλεγόμενα αποτελέσματα (72). Η ύπαρξη κάποιας μορφής συσχέτισης γονότυπου-φαινοτύπου θεωρείται πια δεδομένη σύμφωνα και με τα αποτελέσματα της πολυκεντρικής μελέτης FOS (Fabry Outcome Survey). Πράγματι διαπιστώθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ της ηλικίας έναρξης, της θεραπείας ενζυμικής υποκατάστασης και της σοβαρότητας της κλινικής έκφρασης της νόσου σε σχέση με τον τύπο της παρερμηνεύσιμης μετάλλαξης του γονιδίου GLA καθώς επίσης και μεταλλάξεων διαφορετικών μορφών. Επίσης περιγράφηκε θετική συσχέτιση και μεταξύ του αριθμού των προσβεβλημένων οργάνων από την νόσο και των εμφανιζόμενων δομικών αλλαγών στο παραγόμενο ένζυμο σε σχέση με τον τύπο της μετάλλαξης των ημιζυγωτών ανδρών φορέων που περιελήφθησαν στην εν λόγω μελέτη (76).

Το πρόσφατα προταθέν, με την βοήθεια της κρυσταλλογραφίας, τρισδιάστατο πρότυπο της α-γαλακτοζιδάσης A και η χαρτογράφηση των γνωστών μεταλλάξεων σε αυτό, οδήγησε στην καταγραφή ορισμένων νέων παρατηρήσεων που εμπλουτίζουν την γνώση σε όσον αφορά στη συσχέτιση γονότυπου-φαινοτύπου στη νόσο Fabry (64,69). Πράγματι φαίνεται ότι σημειακές παρερμηνεύσιμες μεταλλάξεις, οι οποίες συνδυάζονται με ήπιο φαινότυπο, αφορούν κωδικοποίηση αμινοξέων που βρίσκονται στην επιφάνεια ή στις στερεοσκοπικά πλησιέστερες σε αυτή περιοχές του ενζύμου.



Σε αντίθεση παρερμηνεύσιμες μεταλλάξεις ασθενών με σοβαρή κλινική έκφραση της νόσου φαίνεται να εντοπίζονται σε κωδικόνια τα οποία κωδικοποιούν αμινοξέα τα οποία πλαισιώνουν το ενεργό κέντρο ή διασπών τον υδρόφοβο πυρήνα του ενζύμου (64,73).

Μια εναλλακτική μορφή προσέγγισης της σχέσης του γονότυπου με την μορφή έκφρασης της νόσου είναι η χρήση του ποσοτικού προσδιορισμού της υπολειμματικής ενζυμικής δραστηριότητας ως φαινοτυπικό ανάλογο και η συσχέτιση του με την εμφανιζόμενη μετάλλαξη (15). Πράγματι εκτεταμένες γονιδιακές αναδιατάξεις ή μεταλλάξεις που κωδικοποιούν περιοχές του ενεργού κέντρου του ενζύμου οδηγούν, είτε σε παραγωγή απόλυτα ανενεργούς πρωτεΐνης, είτε σε πλήρη απουσία σύνθεσης του ενζύμου. Σε αντίθεση σημειακές παρερμηνεύσιμες μεταλλάξεις μπορεί να συνοδεύονται από διάφορου βαθμού διατήρηση της υπολειμματικής μεταβολικής ενζυμικής δραστηριότητας (64,73). Οι ασθενείς με υπολειμματική ενζυμική δραστηριότητα εμφανίζουν όψιμη νεφρική προσβολή και ηπιότερη έκφραση ορισμένων συμπτωμάτων της νόσου, όπως η ένταση του πόνου ή έκταση των δερματικών βλαβών και η συχνότητα εμφάνισης διαταραχών της ακοής. Σε ορισμένους ασθενείς με μόνη κλινική έκφραση την καρδιακή ή την νεφρική προσβολή είναι συχνή η ικανού βαθμού διατήρηση της υπολειμματικής ενζυμικής δραστηριότητας (73).

Η δυσκολία στην προσέγγιση της κλινικής έκφρασης της νόσου σε άνδρες ημιζυγώτες μετατρέπεται σχεδόν σε αδυναμία όταν γίνεται προσπάθεια πρόβλεψης του φαινοτύπου γυναικών φορέων μιας ορισμένης μετάλλαξης. Αν και σε ορισμένες μελέτες η διεισδυτικότητα της νόσου σε γυναίκες ετεροζυγώτες υπολογίζεται στο 70% δεν υπάρχουν ως σήμερα επιδημιολογικά δεδομένα συσχέτισης γονότυπου-φαινοτύπου σε αυτή την κατηγορία των ασθενών (74).



Η νόσος Fabry είναι δυνατόν να χαρακτηριστεί ως μια γενικευμένη, μεταβολικής αιτιολογίας, αγγειοπάθεια. Άρα οι κοινά αποδεκτοί παράγοντες κινδύνου εμφάνισης της καρδιαγγειακής νόσου όπως το κάπνισμα, η αρτηριακή υπέρταση, η παχυσαρκία και η δυσλιπιδαιμία επηρεάζουν την εξέλιξη και την κλινική έκφραση και της νόσου Fabry. Πρόσφατα περιγράφηκε ότι η συνύπαρξη πολυμορφισμών του DNA, γονιδίων που κωδικοποιούν φλεγμονώδεις ή πηκτικούς παράγοντες (IL-6, NOS, παράγων V) συνοδεύεται από αύξηση της καρδιαγγειακής νοσηρότητας στον υπό μελέτη πληθυσμό (75,263).

Περαιτέρω πολυπαραγοντική ανάλυση μελετών οι οποίες θα περιλαμβάνουν μεγάλο αριθμό ασθενών θα οδηγήσουν στην ακριβέστερη συσχέτιση γονότυπου-φαινοτύπου και την παρουσίαση ολοκληρωμένων προτάσεων για την ορθολογική αντιμετώπιση των ασθενών Fabry.



## 1.5. ΦΥΣΙΟΠΑΘΟΛΟΓΙΑ ΚΑΙ ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΗ ΑΝΑΤΟΜΙΑ

Η νόσος Fabry χαρακτηρίζεται από διάχυτες ιστικές εναποθέσεις αδιάσπαστων κρυσταλλόμορφων γλυκοσφιγγολιπιδίων οι οποίες αποκτούν, λόγω της διπλοδιαθλαστικότητας των, το χαρακτηριστικό σχήμα του σταυρού της Μάλτας στο μικροσκόπιο πόλωσης. Τα GSLs εναποτίθενται σε όλη την επιφάνεια του σώματος και ειδικότερα στα λυσοσώματα των ενδοθηλιακών, επιθηλιακών και λείων μυϊκών κυττάρων του τοιχώματος των αιμοφόρων αγγείων και σε μικρότερο βαθμό στα ιστιοκύτταρα και δικτυοκύτταρα του συνδετικού ιστού. Οι εναποθέσεις λιπιδίων παρατηρούνται επίσης στα επιθηλιακά κύτταρα του κερατοειδούς, στο σύνολο των κυττάρων των νεφρικών σπειραμάτων και σωληναρίων, στις καρδιακές μυϊκές ίνες και στα γαγγλιοκύτταρα του αυτόνομου νευρικού συστήματος (77).

Η γενετική διαταραχή - ανεπάρκεια της α-γαλακτοζιδάσης A - απαντάται σε όλους τους τύπους των ανθρώπινων κυττάρων, όμως η ποσότητα και ο τύπος των συσσωρευμένων GSLs, διαφέρει ανάλογα με τα ιδιαίτερα μεταβολικά χαρακτηριστικά των κυττάρων και των ιστών στους οποίους αυτά ανήκουν (79). Η προέλευση των αδιάσπαστων GSLs καθώς επίσης και η επιλεκτική τους εναπόθεση στα αγγειακά τοιχώματα, δεν έχει απόλυτα διευκρινισθεί. Σημαντικό μέρος των εναποθέσεων προέρχεται από την ενδογενή κυτταρική παραγωγή των GSLs και την επακόλουθη λυσοσωμιακή συσσώρευση τους, ειδικότερα αυτών που παρουσιάζουν την χαρακτηριστική απόληξη, α-D-γαλακτοζίδιο. Κατά την διαδικασία της ενδοκυττάρωσης και την συνοδό αποδόμηση των εμπλεκόμενων τμημάτων των κυτταρικών μεμβρανών στα λυσοσώματα, απελευθερώνονται ικανές ποσότητες ουδετέρων GSLs, τα οποία αποτελούν δομικά συστατικά των κυτταρικών μεμβρανών. Ο ενδογενής καταβολισμός αποτελεί την κύρια πηγή αδιάσπαστων GSLs στα νευρικά κύτταρα καθώς επίσης και στα επιθηλιακά κύτταρα του κερατοειδούς.





Στους νεφρούς και ειδικότερα στα νεφρικά σωληνάκια παρατηρείται μια ιδιαίτερα αυξημένη ανακύκλωση του Gb3 γεγονός το οποίο πιθανά να εξηγεί την ενδογενή προέλευση των GSLs τα οποία συσσωρεύονται στο νεφρικό παρέγχυμα.

Η χαρακτηριστική εναπόθεση του Gb3 στο ενδοθήλιο και στα λεία μυϊκά κύτταρα του τοιχώματος των αγγείων είναι ενδεικτικό ότι η κύρια πηγή προέλευσης του, πιθανά να είναι τα κυκλοφορούντα GSLs. Οι ασθενείς Fabry εμφανίζουν στο πλάσμα τους τρεις έως δέκα φορές υψηλότερα από τα φυσιολογικά επίπεδα GSLs, τα οποία είναι συνδεδεμένα κύρια με τις LDL λιποπρωτεΐνες (78). Κύρια πηγή σύνθεσης των κυκλοφορούντων ουδέτερων GSLs αποτελεί το ήπαρ. Το γεγονός ότι η εναπόθεση Gb3 στα ηπατοκύτταρα των ασθενών Fabry είναι ασήμαντη είναι ενδεικτικό ότι τα παραγόμενα στο ήπαρ GSLs, συνδέονται με λιποπρωτεΐνες και απεκκρίνονται ως σύμπλοκα αποκτώντας την μορφή που εμφανίζεται και στο πλάσμα των ασθενών (80). Πράγματι ασθενείς Fabry με υπερχοληστεριναιμία εμφανίζουν ανάλογη αύξηση των επιπέδων LDL και Gb3 στο πλάσμα τους. Τα κυκλοφορούντα GSLs εισέρχονται στο εσωτερικό των κυττάρων του αγγειακού τοιχώματος αφού συνδεθούν αρχικά με ειδικούς κυτταρικούς υποδοχείς πιθανά τους ίδιους μέσω των οποίων πραγματώνεται και η ενδοκυττάρωση των μορίων της LDL λιποπρωτεΐνης κατά την διαδικασία της αθηρωμάτωσης (81). Η ανεπαρκής δραστηριότητα της α-γαλακτοζιδάσης A έχει σαν αποτέλεσμα την διαρκή συσσώρευση GSLs με την μορφή, τουλάχιστον στα αρχικά στάδια, ενδοκυττάρων κυστικών σωματιδίων τα οποία στη πορεία δημιουργούν ελεύθερες ευμεγέθεις μάζες συσσωρευμένων λιπιδίων στο κυτταρόπλασμα, οι οποίες αναπόφευκτα θα οδηγήσουν το κύτταρο σε δυσλειτουργία και τέλος σε εκφυλισμό (82).

Εκτός από το ήπαρ τα ουδέτερα GSLs παράγονται σε σημαντικές ποσότητες και στον μυελό των οστών όπου αποτελούν συνθετικά συστατικά των κυτταρικών

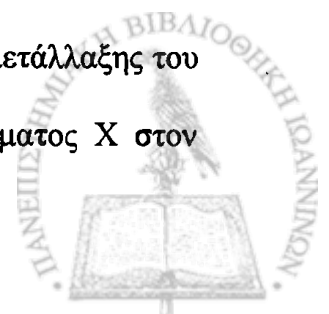


μεμβρανών των ερυθροκυττάρων (83). Η καταστροφή των ερυθρών αιμοσφαιρίων καθώς επίσης και των υπόλοιπων έμμορφων συστατικών του αίματος αλλά και άλλων ενεργών κυττάρων, αποτελούν μια ακόμη πηγή κυκλοφορούντων GSLs. Τέλος ασθενείς, με ομάδα αίματος Β ή ΑΒ, εμφανίζουν μια πρόσθετη πηγή κυκλοφορούντων GSLs, τα ειδικά γλυκοσφιγγολιπίδια τα οποία συνδέονται με την ομάδα Β, με αποτέλεσμα να παρουσιάζουν αυξημένη νοσηρότητα.

### 1.5.1. Νεφροί

Η νεφρική προσβολή περιγράφηκε ως επιλοκή της νόσου ήδη στις αρχικές αναφορές της από τους Anderson και Fabry στις αρχές του 19ου αιώνα. Η κλινική έκφραση της νεφρικής προσβολής αρχίζει τυπικά κατά την 2η-3η δεκαετία της ζωής των ασθενών και συνίσταται σε λευκωματουρία, λιπιδουρία, ενώ σπανιότερα εμφανίζεται και αιματουρία. Ενίοτε οι ασθενείς είναι δυνατόν να εκδηλώνουν νεφρογενή άποιο διαβήτη ή άπω νεφροσωληναριακή οξέωση σαν εκδήλωση σωληναριακής δυσλειτουργίας. Η νεφρική προσβολή αποτελεί μια από τις σπουδαιότερες αιτίες νοσηρότητας και θνησιμότητας των ασθενών. Η προοδευτική συσσώρευση των αδιάσπαστων GSLs στους νεφρούς οδηγεί σε σταδιακή επιδείνωση της νεφρικής λειτουργίας με αποτέλεσμα την εξέλιξη σε τελικό στάδιο χρόνιας νεφρικής νόσου στην ηλικία των 45-50 ετών και την αναγκαιότητα ένταξης των ασθενών σε εξωνεφρική κάθαρση (84).

Οι νεφρικές αλλοιώσεις ανευρίσκονται στους ημιζυγώτες άνδρες αλλά και σε ορισμένες γυναίκες ετεροζυγώτες. Η κλινική έκφραση της νεφρικής προσβολής εμφανίζει ιδιαίτερη ποικιλομορφία όσον αφορά την έκταση και την ένταση των συμπτωμάτων γεγονός το οποίο φαίνεται να οφείλεται στον τύπο της μετάλλαξης του ασθενούς αλλά κυρίως στον τρόπο απενεργοποίησης του χρωμοσώματος X στον

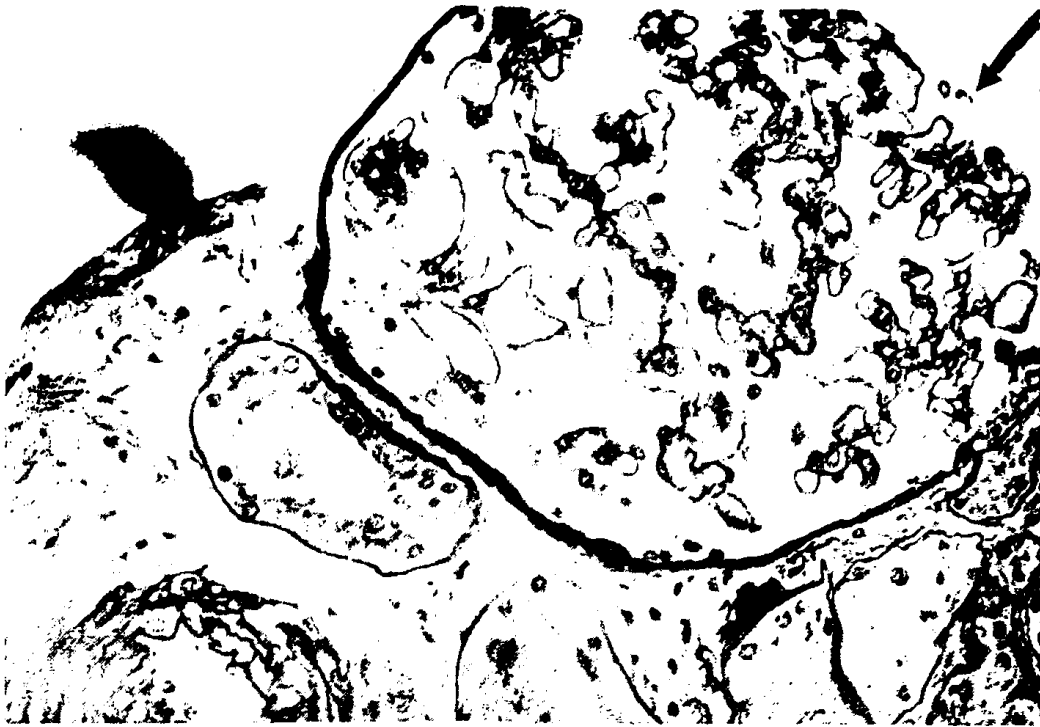


νεφρικό ιστό όπως και στους υπόλοιπους ιστούς του οργανισμού. Πράγματι η απενεργοποίηση του χρωμοσώματος X, δεν φαίνεται να ακολουθεί ορισμένους κανόνες αλλά αντίθετα πρόκειται για μια τυχαιοποιημένη διαδικασία η οποία όμως είναι ιδιαίτερα σημαντική, καθορίζοντας την ποσότητα της υπολλειματικής δραστικότητας του ενζύμου και συνεπώς την διαφοροποίηση της έκτασης των εναποθέσεων μεταξύ των διαφόρων ιστών αλλά και περιοχών του ίδιου οργάνου (85).

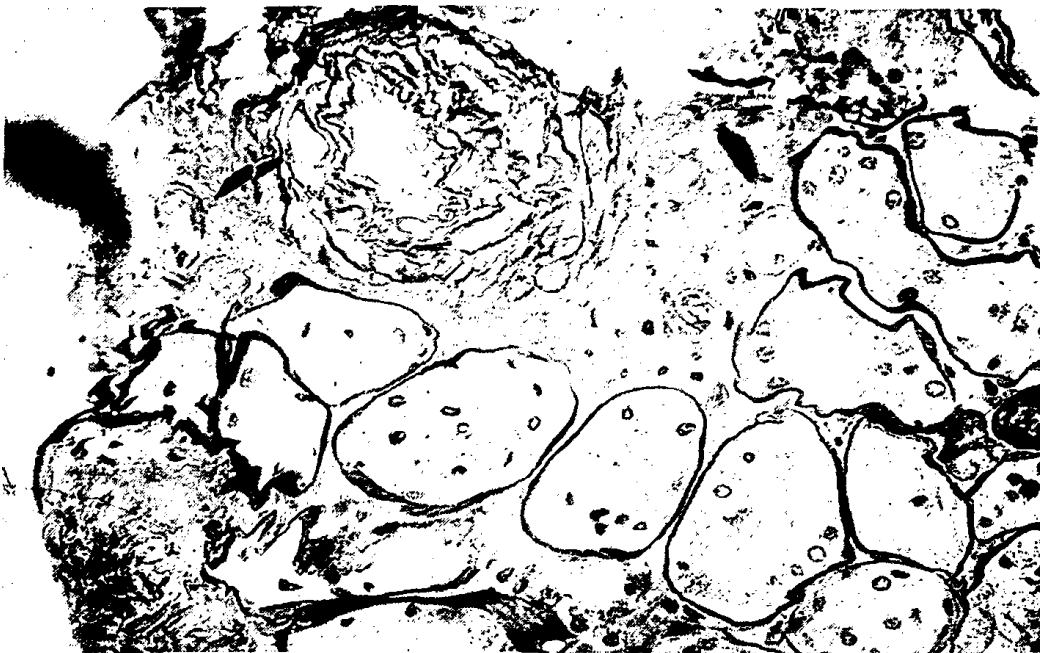
Οι πρώτες περιγραφές των χαρακτηριστικών ιστολογικών αλλοιώσεων του νεφρικού ιστού σε βιοψικό υλικό ασθενών με νόσο Fabry εμφανίζονται το 1950 (86). Στο οπτικό μικροσκόπιο τα σπειράματα εμφανίζουν υπερτροφία των ποδοκυττάρων τα οποία είναι διατεταμένα από ενδοκυττάρους αφρώδεις κενοτοπιώδεις σχηματισμούς, που αντιστοιχούν στις εναποθέσεις των αδιάσπαστων GSLs, με παράλληλη διεύρυνση του μεσάγγειου χώρου (Εικόνα 5). Τα ποδοκύτταρα, λόγω του χαμηλού ρυθμού αναγέννησης τους, εμφανίζουν τον μεγαλύτερο βαθμό συσσώρευσης GSLs σε σύγκριση με τα υπόλοιπα κύτταρα του σπειράματος, ακολουθούμενα από τα τοιχωματικά επιθηλιακά κύτταρα, τα μεσαγγειακά και τέλος τα ενδοθηλιακά κύτταρα των σπειραματικών τριχοειδών (87).

Με την εξέλιξη της νόσου η μεσαγγειακή υπερπλασία διευρύνεται ενώ αρχίζει παράλληλα να εμφανίζεται τμηματική σπειραματοσκλήρυνση η οποία αναπόφευκτα θα οδηγήσει σε καθολική σκλήρυνση των σπειραμάτων και απώλεια της νεφρικής λειτουργίας. Τα χαρακτηριστικά κενοτόπια εμφανίζονται επίσης στα ενδοθηλιακά και λεία μυϊκά κύτταρα των μεγαλύτερων νεφρικών αγγείων αλλά και στα επιθηλιακά κύτταρα των νεφρικών σωληναρίων. Η αγκύλη του Henle και τα αθροιστικά σωληνάρια αποτελούν την πλέον συχνή θέση συσσώρευσης των αδιάσπαστων GSLs στα νεφρικά σωληνάρια (Εικόνα 6).





Εικόνα 5. Σπειραματικές αλλοιώσεις σε ασθενή με νόσο Fabry. Χαρακτηριστικά κενोटόπια επιθηλιακών κυττάρων (εναποθέσεις γλυκοσφιγγολιπιδίων).



Εικόνα 6. Κενοδοπιώδεις αλλοιώσεις επιθηλιακών κυττάρων των νεφρικών σωληναρίων.

Έτσι σε προχωρημένα στάδια της νόσου εκτός από τις χαρακτηριστικές πειραματικές αλλοιώσεις στο βιοψικό υλικό είναι δυνατόν να συνυπάρχουν εστίες σωληναριακής ατροφίας καθώς επίσης και ίνωση του διάμεσου ιστού ενδεικτικά της σοβαρότητας της νεφρικής προσβολής (87).

Στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο παρατηρούνται χαρακτηριστικά έγκλειστα στο κυτταρόπλασμα όλων των τύπων των νεφρικών κυττάρων. Τα έγκλειστα αυτά είναι κοκκιώδη αλλά κυρίως μυελοειδή σωματίδια (myeloid or Zebra bodies) μεγέθους από 1 έως 3  $\mu\text{m}$ , τα οποία εμφανίζουν μια ιδιαίτερη εικόνα που οφείλεται στην παρουσία ομόκεντρων πεταλοειδών σχηματισμών σαν το σώμα κρεμμυδιού. Αρχικά οι εναποθέσεις αυτές εμφανίζονται στα ποδοκύτταρα και στη συνέχεια στους υπόλοιπους τύπους των νεφρικών κυττάρων. Με την εξέλιξη της νεφρικής βλάβης παρατηρείται σύμπτυξη των ποδοειδών προσεκβολών των ποδοκυττάρων η οποία συχνά συνδυάζεται με επιδείνωση της πρωτεϊνουρίας, πάχυνση των βασικών μεμβρανών τόσο των σπειραμάτων όσο και των σωληναρίων καθώς επίσης και εστιακή και τμηματική πειραματική σκλήρυνση και σωληναριακή νέκρωση (88).

Επιθηλιακά σωληναριακά κύτταρα με τα χαρακτηριστικά έγκλειστα συχνά ανευρίσκονται στα ούρα των ασθενών τα οποία είναι δυνατόν να ταυτοποιηθούν μέσω της χρώσης PAS ή με την εξέταση τους στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο. Συχνή είναι επίσης και η εμφάνιση ελεύθερων σχηματισμών συσσωρευμένων αδιάσπαστων γλυκοσφιγγολιπιδίων οι οποίοι αποκτούν, λόγω της διπλοδιαθλαστικότητας των, το χαρακτηριστικό κρυσταλλόμορφο σχήμα του σταυρού της Μάλτας στο μικροσκόπιο πόλωσης (89).

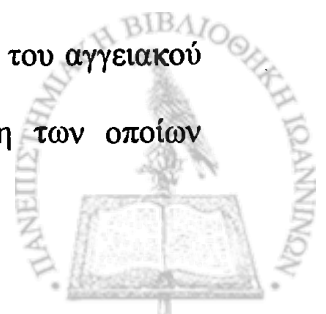
Οι αιτιοπαθογενετικοί μηχανισμοί πρόκλησης της νεφρικής βλάβης εξαρτώνται άμεσα από την υπολειμματική δραστηριότητα του ενζύμου  $\alpha\text{-Gal A}$  στα διάφορα κύτταρα του νεφρικού ιστού. Πράγματι έχει αποδειχθεί ότι η ποσότητα των



εναποθέσεων του Gb3 στο νεφρικό ιστό, η έκταση των ιστολογικών αλλοιώσεων αλλά και η νεφρική λειτουργία συνδυάζονται με την υπολειμματική δραστηριότητα της α-γαλακτοζιδάσης A στα λευκοκύτταρα των ασθενών Fabry (85). Οι παρατηρούμενες διαφορές στην δράση του ενζύμου οφείλονται εν μέρει στον τύπο της μετάλλαξης που φέρει ο ασθενής αλλά και στον τυχαιοποιημένο τρόπο απενεργοποίησης του χρωμοσώματος X στους διάφορους ιστούς.

Η τμηματική ή καθολική σπειραματοσκλήρυνση που χαρακτηρίζει τους ασθενείς με νόσο του Fabry μπορεί να οφείλεται στις βλάβες των ποδοκυττάρων, στην διάχυτη μικροαγγειοπάθεια και στις διαταραχές της δομής και λειτουργίας των νεφρικών σωληναρίων.

Ο Gubler και συνεργάτες αναλύοντας τα ιστολογικά ευρήματα σε βιοψίες νεφρών ασθενών με φυσιολογική νεφρική λειτουργία και διαφορετική ηλικία (από 25 έως 50 έτη) κατέληξαν ότι η εξέλιξη της νεφρική προσβολής είναι απότοκη της ανάπτυξης ισχαιμικών αλλοιώσεων στα νεφρικά αγγεία (90). Στους ημιζυγώτες ασθενείς ήδη σε νεαρή ηλικία διαπιστώθηκαν διάχυτες εναποθέσεις αδιάσπαστων GSLs, στην πλειονότητα των κυττάρων των σπειραμάτων, των σωληναρίων και των νεφρικών αγγείων αλλά δεν συνοδεύονταν από εκφυλιστικές αλλοιώσεις όπως σπειραματοσκλήρυνση, ατροφία σωληναρίων ή ίνωση του διάμεσου χώρου οι οποίες ήταν εμφανείς σε ασθενείς μεγαλύτερης ηλικίας. Η πλέον πρόιμη εκφυλιστική αλλοίωση του νεφρικού ιστού ήταν η εμφάνιση εναποθέσεων ινιδοειδούς στα νεφρικά αγγεία η οποία σύμφωνα με τους συγγραφείς οφειλόταν στην νέκρωση ή την σοβαρή δυσλειτουργία των λείων μυϊκών κυττάρων απότοκη της συσσώρευσης GSLs στο εσωτερικό τους. Σε ασθενείς μεγαλύτερης ηλικίας η ινιδοειδής νέκρωση ακολουθείται από πάχυνση του έσω τοιχώματος των αγγείων, μείωση του αγγειακού αυλού και ισχαιμία των δομών του νεφρικού ιστού, η αιμάτωση των οποίων



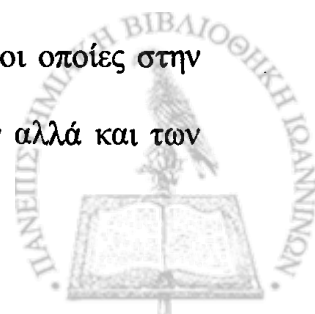
εξαρτάται από τα προσβληθέντα αγγεία, που αναπόφευκτα οδηγεί σε σπειραματοσκλήρυνση και ατροφία των νεφρικών σωληναρίων (90). Η αρτηριακή υπέρταση δεν αποτελεί πρώιμο σύμπτωμα των ασθενών Fabry και συνήθως εμφανίζεται με την πρόοδο της νεφρικής δυσλειτουργίας (84,97).

Η τοξική επίδραση των συσσωρευμένων GSLs στα ποδοκύτταρα και οι επακόλουθες δομικές και λειτουργικές διαταραχές αυτών των κυττάρων πιθανά να αποτελούν έναν ακόμη σημαντικό μηχανισμό πρόκλησης της σπειραματικής βλάβης στους ασθενείς Fabry (91). Τα ποδοκύτταρα είναι κύτταρα με ιδιαίτερα υψηλό βαθμό διαφοροποίησης τα οποία, με τις ποδοειδείς προσεκβολές τους και το θυριδωτό διάφραγμα, συμμετέχουν ενεργά στη δημιουργία του νεφρικού φραγμού διήθησης ο οποίος καθορίζει την ποιότητα και την ποσότητα των μακρομορίων τα οποία θα διέλθουν από τον αιματικό στον ουροφόρο χώρο του σπειράματος. Οι εναποθέσεις GSLs στα ποδοκύτταρα εμφανίζονται ήδη από τα πρώτα χρόνια της ζωής των ασθενών και λόγω του ιδιαίτερα χαμηλού ρυθμού αναπαραγωγής, που τα κύτταρα αυτά εμφανίζουν, η τοξική επίδραση των συσσωρευμένων λιπιδίων αποκτά αθροιστικό χαρακτήρα (92,93). Για τους ίδιους λόγους η δυνατότητα απομάκρυνσης του ενδοκυττάριου συσσωρευμένου υποστρώματος από τα ποδοκύτταρα, με τη χορήγηση θεραπείας ενζυμικής αποκατάστασης, είναι μια διαδικασία χρονοβόρα και με όχι απόλυτα ικανοποιητικά αποτελέσματα. Η αδυναμία αυτή των ποδοκυττάρων να αναπαράγονται με γοργούς ρυθμούς έχει σαν αποτέλεσμα την ελλιπή αντικατάστασή τους, μετά από την επίδραση ενός βλαπτικού μηχανισμού και την επακόλουθη νέκρωση-απόπτωση τους, που οδηγεί στην απώλεια της ακεραιότητας του λειτουργικού διηθητικού φραγμού (94). Παράλληλα η απώλεια των ποδοκυττάρων έχει σαν αποτέλεσμα την άμεση επαφή της απογυμνωμένης βασικής μεμβράνης του σπειράματος με τα τοιχωματικά επιθηλιακά κύτταρα, διαδικασία που



αποτελεί το έναυσμα για την δημιουργία τοπικών συμφύσεων. Άμεσο αποτέλεσμα της εγκατάστασης παρόμοιων διαδικασιών είναι η ενεργοποίηση και υπερπλασία κυττάρων του περιβάλλοντος χώρου, κυρίως των μεσαγγειακών κυττάρων, αλλά και κυττάρων του ανοσοποιητικού συστήματος και ειδικότερα των μακροφάγων καθώς επίσης και η τοπική παραγωγή και συσσώρευση εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας. Αυτή η προσπάθεια αποκατάστασης της αρχικής βλάβης συνιστά φλεγμονώδες ερέθισμα και είναι δυνατόν να επιφέρει την δίοδο μακρομορίων, κυτταροκινών και αυξητικών παραγόντων, από τον αιματικό χώρο στην περιοχή της βλάβης μέσω του, κατά τόπους, κατεστραμμένου φραγμού διήθησης. Η έκπτυξη της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας και η επακόλουθη ισχαιμική συμφόρηση των τριχοειδικών αγκυλών αποτελεί την απαρχή της δημιουργίας εστιών σκλήρυνσης (95). Η επίταση των εναποθέσεων GSLs στα ποδοκύτταρα έχει σαν αποτέλεσμα την επέκταση των σπειραματικών αλλοιώσεων και την εμφάνιση των χαρακτηριστικών εστιών τμηματικής σπειραματοσκλήρυνσης που αναπόφευκτα θα εξελιχτούν σε εστιακή και τέλος καθολική σκλήρυνση των σπειραμάτων και απώλεια της λειτουργικής τους επάρκειας.

Συσσώρευση μεγάλων ποσοτήτων αδιάσπαστων GSLs είναι εμφανής και στα επιθηλιακά σωληναριακά κύτταρα και είναι δυνατόν να επιφέρει σειρά δομικών και λειτουργικών διαταραχών αυτών των κυττάρων, με αποτέλεσμα την εμφάνιση εστιών σωληναριακής ατροφίας και ίνωσης του διάμεσου ιστού. Η εγκατάσταση μόνιμων, σοβαρού βαθμού αλλοιώσεων των σωληναρίων και του διάμεσου ιστού έχει αποδειχθεί ικανός μηχανισμός πρόκλησης συνοδού σπειραματικής βλάβης σε πολλαπλές νοσολογικές οντότητες. Πράγματι δυσλειτουργίες των σωληναρίων επιφέρουν διαταραχές στην λειτουργία των σύστοιχων σπειραμάτων οι οποίες στην εξέλιξη τους συνοδεύονται από δομικές αλλοιώσεις των σωληναρίων αλλά και των





σπειραμάτων. Παράλληλα τα ανέπαφα εναπομείναντα σπειράματα υπερλειτουργούν, προσπαθώντας να αντισταθμίσουν την εμφανισθείσα λειτουργική ανεπάρκεια, κύρια αυξάνοντας τον ρυθμό της σπειραματικής διήθησης (GFR), διαδικασία που έχει αποδειχθεί ότι αποτελεί μηχανισμό πρόκλησης, δευτεροπαθούς μορφής, εστιακής σπειραματοσκλήρυνσης. Αναφορές σε βιοψίες νεφρού όπου συνυπάρχουν, σε ιδιαίτερα πρώιμα στάδια της νόσου, αλλοιώσεις των σωληναρίων με διόγκωση των σπειραμάτων σαν μοναδική έκφραση ιστολογικής σπειραματικής βλάβης στηρίζουν την υπόθεση ότι οι διαταραχές του σωληναριοδιάμεσου χώρου συμμετέχουν ενεργά στην αιτιοπαθογένεια της νεφρικής προσβολής στη νόσο του Fabry (97).

Ο προσδιορισμός του κυρίαρχου μηχανισμού πρόκλησης της νεφρικής βλάβης αποτελεί σημαντικό παράγοντα εκτίμησης της πορείας της νόσου και ειδικότερα της ανταπόκρισης των θεραπευτικών παρεμβάσεων. Ο Eng και συνεργάτες επιλέξαν τις αλλαγές της έντασης των εναποθέσεων στα ενδοθηλιακά κύτταρα του τοιχώματος των αγγείων των νεφρών, της καρδιάς αλλά και του δέρματος σαν μέτρο σύγκρισης της απόδοσης της θεραπείας ενζυμικής υποκατάστασης (96). Αντίθετα ο Schiffmann, μελετώντας την έκβαση της νεφρικής προσβολής, κατά την θεραπευτική παρέμβαση μετά την χορήγηση ανασυνδυασμένης α-Gal A, περιέλαβε, εκτός από τις αγγειακές αλλοιώσεις, την έκταση της σπειραματοσκλήρυνσης και της ίνωσης του διάμεσου ιστού καθώς επίσης και την διεύρυνση του μεσαγγειακού χώρου στα κριτήρια εκτίμησης της εξέλιξης της νεφρικής νόσου (98). Το σύνολο αυτό των δεικτών έχουν χρησιμοποιηθεί επιτυχώς για την εκτίμηση της εξέλιξης της νεφρικής νόσου και σε άλλες νόσους όπου συνυπάρχουν αλλοιώσεις πολλαπλών δομών του νεφρικού ιστού όπως στην νεφρίτιδα του Συστηματικού Ερυθρηματώδους Λύκου (99). Η διεύρυνση του μεσαγγειακού χώρου συνδυάζεται με την πορεία του GFR στην διαβητική νεφροπάθεια, η εξέλιξη της οποίας κατά πολλούς ερευνητές εμφανίζει ιδιαίτερες



ομοιότητες με αυτή της νόσου του Fabry, ενώ η έκταση της ίνωσης του διάμεσου ιστού αποτελεί έναν κοινά αποδεκτό δείκτη εκτίμησης της νεφρικής προσβολής στην πλειονότητα των νεφρικών παθήσεων (100, 101).

Η νεφρική βιοψία είναι δυνατόν να βοηθήσει στην διαγνωστική προσπέλαση των ασθενών με νόσο του Fabry αλλά κυρίως αποτελεί έναν χρήσιμο δείκτη εκτίμησης της έκτασης της νεφρικής προσβολής και της εξέλιξης της νόσου καθώς επίσης και της ανταπόκρισης στην θεραπευτική αντιμετώπιση των ασθενών (92,96, 98).

### 1.5.2. Καρδιά

Η καρδιακή συμμετοχή αποτελεί μια από τις συχνότερες και σοβαρότερες επιπλοκές της νόσου του Fabry. Περίπου 30 έως 40% των ασθενών εμφανίζουν αρρυθμίες, στηθάγχη ή δύσπνοια προσπάθειας. Η προσβολή της καρδιάς επιδεινώνει περαιτέρω την ήδη επιβαρημένη νοσηρότητα και θνησιμότητα των ασθενών. Οι ιστολογικές αλλοιώσεις που χαρακτηρίζουν την καρδιακή προσβολή συνίστανται σε εναποθέσεις αδιάσπαστων GSLs στα καρδιακά μυοκύτταρα, στα ενδοθηλιακά και λεία μυϊκά κύτταρα του τοιχώματος των στεφανιαίων αγγείων καθώς επίσης και στους ινοβλάστες των βαλβίδων. Χαρακτηριστική είναι η εναπόθεση Gb3 κύρια στην αριστερή κοιλία, στη μιτροειδή βαλβίδα και στον αριστερό κόλπο ενώ αντίθετα το διγαλακτοζιλκεραμίδιο ανευρίσκεται μόνο στις δεξιές κοιλότητες και στους πνεύμονες. Αποτέλεσμα της συσσώρευσης των GSLs είναι η εμφάνιση υπερτροφίας της αριστεράς κοιλίας (ΥΑΚ), διαταραχών αγωγιμότητας, πάχυνσης των τοιχωμάτων των καρδιακών βαλβίδων και σπανιότερα ισχαιμικών αλλοιώσεων, καταστάσεις που συχνά οδηγούν σε καρδιακή ανεπάρκεια.

Η χρονική πορεία της καρδιοπάθειας δεν έχει απόλυτα διευκρινισθεί. Η πάχυνση του τοιχώματος της αριστεράς κοιλίας είναι εμφανής στον υπερηχογραφικό



ή έλεγχο με μαγνητική τομογραφία (MRI) ήδη από την ηλικία των 20-25 ετών σε πολλούς από τους ημιζυγώτες ασθενείς (102). Μελέτες επιδημιολογικών δεδομένων συσχετίζουν την παρουσία ΥΑΚ, με ή χωρίς συνοδό βαλβιδοπάθεια, με την έκβαση των ασθενών (103). Η ΥΑΚ μπορεί να εμφανίσει σημαντικό βαθμό διαστάσεις και να παρουσιάζεται σαν υπερτροφική μυοκαρδιοπάθεια. Συνήθως όμως η ΥΑΚ των ασθενών με νόσο Fabry και ειδικότερα στα πρώιμα στάδια, δεν συνοδεύεται από σημαντικό βαθμό συστολική ή περιοριστικού τύπου διαστολική δυσλειτουργία. Ο μηχανισμός πρόκλησης της καρδιακής υπερτροφίας διαφέρει σημαντικά από αυτούς των διηθητικών μυοκαρδιοπαθειών αλλά και της υπερτασικής μυοκαρδιοπάθειας. Ενώ για παράδειγμα, στην καρδιακή αμυλοείδωση παρατηρούνται διάχυτες διηθήσεις του διάμεσου ιστού, στη νόσο Fabry οι ενδοκυττάρια λυσοσωμιακές εναποθέσεις των αδιάσπαστων GSLs είναι υπεύθυνες μόνο για το 1% της παρατηρούμενης αύξησης της μάζας της αριστεράς κοιλίας (11 mg/g πραγματικής αύξησης της μάζας της ΑΚ) (104). Ενδεικτική είναι επίσης στο ηλεκτροκαρδιογράφημα ασθενών Fabry, η παρουσία υψηλών δυναμικών που συνοδεύουν την ΥΑΚ, σε αντίθεση με τους ασθενείς με διηθητικές μυοκαρδιοπάθειες όπου είναι χαρακτηριστική η καταγραφή χαμηλών δυναμικών. Είναι λοιπόν εμφανές ότι οι εναποθέσεις των GSLs καθώς επίσης και οι δομικές αλλοιώσεις των αγγείων από μόνες τους δεν είναι δυνατόν να εξηγήσουν την εγκατάσταση της καρδιακής υπερτροφίας. Πιθανά η συσσώρευση των GSLs στα μυοκύτταρα οδηγεί στην αποδιοργάνωση της αρχιτεκτονικής του μυοκαρδίου γεγονός που είναι δυνατόν να αποτελέσει το έναυσμα για μια σειρά αντιδράσεων όπως η αύξηση της ποσότητας των πρωτεϊνών που είναι υπεύθυνες για την μυϊκή συστολή καθώς επίσης και της μάζας των ίδιων των μυοκυττάρων (105). Νευροχυμικοί παράγοντες όπως η ενδοθηλίνη 1 πιθανά να συμμετέχουν σε αυτές τις διαδικασίες (106). Το ότι η ΥΑΚ οφείλεται σε απόλυτη αύξηση της μάζας και όχι σε



δήθηση του μυοκαρδίου εξηγεί την απουσία, περιοριστικού πρότυπου, στοιχείων καρδιακής ανεπάρκειας.

Στην πορεία της νόσου η καρδιακή υπερτροφία θα επιδεινωθεί και αναπόφευκτα θα οδηγήσει σε μείωση του τελοδιαστολικού όγκου πλήρωσης της αριστεράς κοιλίας με τελικό αποτέλεσμα την μείωση της καρδιακής παροχής και την εγκατάσταση καρδιακής ανεπάρκειας.

Οι εναποθέσεις GSLs και η επακόλουθη ίνωση προκαλούν συχνά δομικές και λειτουργικές διαταραχές και στις καρδιακές βαλβίδες. Συχνότερα περιγράφεται η πρόπτωση της μιτροειδούς, ειδικότερα στις νεώτερες ηλικίες, αν και παρόμοια φαίνεται να είναι η επίπτωση δομικών αλλοιώσεων και στην αορτική βαλβίδα (107). Οι καρδιακές βαλβίδες εμφανίζουν πάχυνση των θηλωδών μυών η οποία συνοδεύεται από μικρού βαθμού ανεπάρκεια η οποία με την εγκατάσταση της καρδιακής υπερτροφίας είναι δυνατόν να επιδεινωθεί. Δεν φαίνεται να υπάρχει διαφορά στην επίπτωση της βαλβιδοπάθειας μεταξύ των ετεροζυγωτών και των ημιζυγωτών ενώ συνήθως δεν προκαλούν σημαντικές αιμοδυναμικές διαταραχές.

Παράλληλα με τις εναποθέσεις στο μυοκάρδιο και στις βαλβίδες, αδιάσπαστα GSLs ανευρίσκονται και στο σύστημα αγωγιμότητας με αποτέλεσμα την συχνή εμφάνιση αρρυθμιών στους ασθενείς. Συχνό εύρημα στους νεώτερους ασθενείς αποτελεί η βράχυνση του PR-διαστήματος ενώ στις μεγαλύτερες ηλικίες το PR-διάστημα επιμηκύνεται και είναι δυνατόν να εμφανισθούν και κολποκοιλιακοί αποκλεισμοί (108). Σοβαρού βαθμού βραδυκαρδίες καθώς επίσης και κολπική μαρμαρυγή δεν είναι σπάνιες επιπλοκές και συντελούν στην καρδιακή νοσηρότητα επιδεινώνοντας την ήδη εγκατεστημένη καρδιακή ανεπάρκεια ενώ συγχρόνως αυξάνουν τον κίνδυνο εμφάνισης ΑΕΕ.



Περισσότεροι από το 50% των ασθενών παρουσιάζουν θωρακικό άλγος που εμφανίζει χαρακτηριστικά στηθάγχης. Σε ορισμένους από αυτούς είναι δυνατόν να συνυπάρχουν άτυπες αλλοιώσεις στο ΗΚΓ αλλά σπάνια είναι η εμφάνιση ενδείξεων οξέως εμφράγματος, διάχυτης ισχαιμίας ή νέκρωσης, ευρήματα τα οποία επιβεβαιώνονται και στις στεφανιογραφικές μελέτες των ασθενών (109). Από μελέτες βιοψιών έχει αποδειχθεί ότι οι εναποθέσεις των GSLs στο ενδοθήλιο των στεφανιαίων αγγείων μπορεί να είναι διάχυτες και συχνά σοβαρού βαθμού προκαλώντας στένωση του αγγειακού αυλού (110). Η ενδοθηλιακή δυσλειτουργία καθώς επίσης και οι αιμοδυναμικές διαταραχές των στεφανιαίων αγγείων, λόγω της εγκατεστημένης υπερτροφίας της αριστεράς κοιλίας, είναι δυνατόν να προκαλέσουν αγγειοσύσπαση, γεγονός που εξηγεί την αυξημένη συχνότητα εμφάνισης στηθάγχης σε αυτούς τους ασθενείς. Με την πρόοδο της νόσου και την εμφάνιση νεφρικής ανεπάρκειας, αρτηριακής υπέρτασης και δυσλιπιδαιμίας είναι ιδιαίτερα πιθανή η εξέλιξη της στεφανιαίας νόσου και η επιδείνωση της ήδη υπάρχουσας καρδιακής ανεπάρκειας.

### 1.5.3. Δέρμα

Οι δερματικές εκδηλώσεις της νόσου εμφανίζονται από τα πρώτα χρόνια της ζωής των ασθενών και αποτελούν χαρακτηριστικά κλινικά ευρήματα με ιδιαίτερα αυξημένη επίπτωση. Οι πλέον συνήθεις δερματικές βλάβες, οι οποίες έχουν χαρακτηρίσει την νόσο ήδη από τις πρώτες περιγραφές της, είναι τα αγγειοκερατώματα. Παρουσιάζονται στο 66% των ημιζυγωτών ανδρών και στο 36% των γυναικών φορέων, με μέση ηλικία εμφάνισης το 19<sup>ο</sup> και 28<sup>ο</sup> έτος αντίστοιχα (111). Πρόκειται για στικτές, ερυθρές ή μελανόχρωμες, διακριτές βλατίδες ή οζίδια με συνοδό επιδερμική πάχυνση οι οποίες δεν μεταβάλλονται κατά την πίεση και δεν προκαλούν κνησμό. Συνήθως έχουν διάμετρο μικρότερη των 5mm και μπορεί να



εμφανισθούν σαν μεμονωμένες βλάβες ή σε ομάδες, καλύπτοντας εκτεταμένες περιοχές του σώματος. Ανευρίσκονται κυρίως περιομφαλικά, στους γλουτούς, στα γεννητικά όργανα αλλά και στα άκρα. Δεν είναι σπάνια η εμφάνισή τους σε διάφορους βλεννογόνους όπως στην στοματική κοιλότητα στους αεραγωγούς ή στα έσω γεννητικά όργανα και τον επιπεφυκότα (112).

Η ιστολογική εξέταση των αγγειοκερατωμάτων αναδεικνύει την ύπαρξη εστιακών διατάσεων των επιφανειακών αγγείων του δέρματος τα οποία περιβάλλονται από διάχυτη υπερπλασία της ακανθωτής στοιβάδας και πάχυνση της επιδερμίδας. Στην περιοχή αυτών των αγγειακών διατάσεων είναι δυνατόν να δημιουργηθούν θρόμβοι με αποτέλεσμα την πρόκληση επιδερμικών εξελκώσεων. Η συσσώρευση αδιάσπαστων GSLs, στο ενδοθήλιο, στο επιθήλιο αλλά και στα λεία μυϊκά κύτταρα προκαλεί δομικές αλλοιώσεις του τοιχώματος των επιφανειακών αγγείων του δέρματος με αποτέλεσμα την ανευρυσματική διάτασή τους (113). Οι επακόλουθες τοπικές αιμοδυναμικές διαταραχές οδηγούν στην σύγχρονη εμφάνιση τροφικών αλλοιώσεων της επιδερμίδας και την ολοκλήρωση της διαδικασίας δημιουργίας των αγγειοκερατωμάτων. Οι εναποθέσεις των αδιάσπαστων GSLs στα τοιχώματα των αγγείων του δέρματος είναι εμφανείς από τα πρώτα χρόνια της ζωής των ασθενών, πολύ νωρίτερα από την εμφάνιση των χαρακτηριστικών δερματικών αλλοιώσεων.

Σε ένα μεγάλο ποσοστό ασθενών έχουν περιγραφεί δομικές και λειτουργικές διαταραχές των ιδρωτοποιών αδένων αλλά και ορισμένων άλλων εξωκρινών αδένων όπως των σιελογόνων και των δακρυϊκών. Μορφολογικές μελέτες των ιδρωτοποιών αδένων αναδεικνύουν την ύπαρξη εναποθέσεων αδιάσπαστων GSLs και την παρουσία των χαρακτηριστικών κενотоπιών κυρίως στα επιθηλιακά αλλά και στα υπόλοιπα δομικά και λειτουργικά κύτταρα των αδένων καθώς επίσης και στους



αμύελους άξονες των νευρικών κυττάρων που είναι υπεύθυνα για την νεύρωση των αδένων (114). Η κλινική έκφραση της προσβολής των ιδρωτοποιών αδένων είναι η εγκατάσταση, ποικίλης έντασης, μείωσης της παραγωγής ιδρώτα έως τα επίπεδα της ανιδρωσίας.

Σε ορισμένους ασθενείς είναι δυνατόν η κλινική έκφραση της νόσου να συνοδεύεται από την παρουσία λεμφοιδήματος των άκρων ή και του προσώπου ως επί μεγαλακρίας. Η συσσώρευση των GSLs σε αυτή την περίπτωση εντοπίζεται και στο τοίχωμα των λεμφαγγείων καθώς επίσης και στα λεμφικά γάγγλια (115).

Οι δερματικές βλάβες παρότι εμφανίζονται από τα πρώτα χρόνια της ζωής των ασθενών επειδή δεν προκαλούν πρόσθετα κλινικά συμπτώματα συνήθως διαφεύγουν της προσοχής των ασθενών αλλά και των θεράποντων ιατρών. Ιδιαίτερα στις γυναίκες ετεροζυγώτες η ένταση και η έκταση των δερματικών βλαβών είναι σημαντικά μικρότερη.

#### 1.5.4. Νευρικό Σύστημα

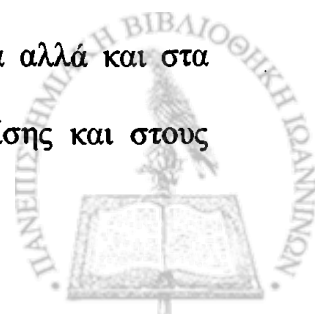
Η προσβολή του νευρικού συστήματος συνοδεύεται από τις πλέον εμφανείς και συχνά βασανιστικές κλινικές εκδηλώσεις της νόσου. Ο πόνος συχνά σηματοδοτεί την κλινική έναρξη της πάθησης και εμφανίζεται στο 80-90% των ημιζυγωτών κατά την παιδική και πρώιμη εφηβική ηλικία τους. Είναι δυνατόν να εμφανιστεί με τη μορφή έντονων παροδικών κρίσεων αλλά συνηθέστερα περιγράφεται σαν ήπιες ακροπαραισθησίες. Τα επώδυνα επεισόδια της νόσου εντοπίζονται κυρίως στα πέλματα και στις παλάμες των ασθενών και διαρκούν από λίγα λεπτά έως και αρκετές ώρες. Χαρακτηρίζονται από αίσθηση έντονης καυσαλγίας και συνήθως εμφανίζονται μετά από λοιμώξεις, επίπονη άσκηση, κλιματολογικές αλλαγές αλλά και συναισθηματικές διαταραχές και συχνά συνοδεύονται από ήπια πυρετική κίνηση. Αντίθετα οι ακροπαραισθησίες, εντοπίζονται κύρια στα δάκτυλα των άνω και κάτω



εμφανισθούν σαν μεμονωμένες βλάβες ή σε ομάδες, καλύπτοντας εκτεταμένες περιοχές του σώματος. Ανευρίσκονται κυρίως περιομφαλικά, στους γλουτούς, στα γεννητικά όργανα αλλά και στα άκρα. Δεν είναι σπάνια η εμφάνισή τους σε διάφορους βλεννογόνους όπως στην στοματική κοιλότητα στους αεραγωγούς ή στα έσω γεννητικά όργανα και τον επιπεφυκότα (112).

Η ιστολογική εξέταση των αγγειοκερατωμάτων αναδεικνύει την ύπαρξη εστιακών διατάσεων των επιφανειακών αγγείων του δέρματος τα οποία περιβάλλονται από διάχυτη υπερπλασία της ακανθωτής στοιβάδας και πάχυνση της επιδερμίδας. Στην περιοχή αυτών των αγγειακών διατάσεων είναι δυνατόν να δημιουργηθούν θρόμβοι με αποτέλεσμα την πρόκληση επιδερμικών εξελκώσεων. Η συσσώρευση αδιάσπαστων GSLs, στο ενδοθήλιο, στο επιθήλιο αλλά και στα λεία μυϊκά κύτταρα προκαλεί δομικές αλλοιώσεις του τοιχώματος των επιφανειακών αγγείων του δέρματος με αποτέλεσμα την ανευρυσματική διάτασή τους (113). Οι επακόλουθες τοπικές αιμοδυναμικές διαταραχές οδηγούν στην σύγχρονη εμφάνιση τροφικών αλλοιώσεων της επιδερμίδας και την ολοκλήρωση της διαδικασίας δημιουργίας των αγγειοκερατωμάτων. Οι εναποθέσεις των αδιάσπαστων GSLs στα τοιχώματα των αγγείων του δέρματος είναι εμφανείς από τα πρώτα χρόνια της ζωής των ασθενών, πολύ νωρίτερα από την εμφάνιση των χαρακτηριστικών δερματικών αλλοιώσεων.

Σε ένα μεγάλο ποσοστό ασθενών έχουν περιγραφεί δομικές και λειτουργικές διαταραχές των ιδρωτοποιών αδένων αλλά και ορισμένων άλλων εξωκρινών αδένων όπως των σιελογόνων και των δακρυϊκών. Μορφολογικές μελέτες των ιδρωτοποιών αδένων αναδεικνύουν την ύπαρξη εναποθέσεων αδιάσπαστων GSLs και την παρουσία των χαρακτηριστικών κενотоπιών κυρίως στα επιθηλιακά αλλά και στα υπόλοιπα δομικά και λειτουργικά κύτταρα των αδένων καθώς επίσης και στους





αμύελους άξονες των νευρικών κυττάρων που είναι υπεύθυνα για την νεύρωση των αδένων (114). Η κλινική έκφραση της προσβολής των ιδρωτοποιών αδένων είναι η εγκατάσταση, ποικίλης έντασης, μείωσης της παραγωγής ιδρώτα έως τα επίπεδα της ανιδρωσίας.

Σε ορισμένους ασθενείς είναι δυνατόν η κλινική έκφραση της νόσου να συνοδεύεται από την παρουσία λεμφοιδήματος των άκρων ή και του προσώπου ως επί μεγалаκρίας. Η συσσώρευση των GSLs σε αυτή την περίπτωση εντοπίζεται και στο τοίχωμα των λεμφαγγείων καθώς επίσης και στα λεμφικά γάγγλια (115).

Οι δερματικές βλάβες παρότι εμφανίζονται από τα πρώτα χρόνια της ζωής των ασθενών επειδή δεν προκαλούν πρόσθετα κλινικά συμπτώματα συνήθως διαφεύγουν της προσοχής των ασθενών αλλά και των θεράποντων ιατρών. Ιδιαίτερα στις γυναίκες ετεροζυγώτες η ένταση και η έκταση των δερματικών βλαβών είναι σημαντικά μικρότερη.

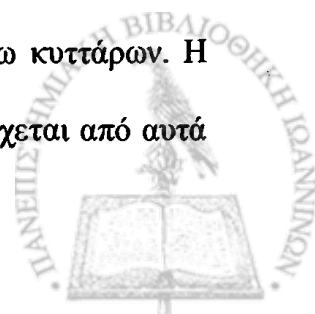
#### 1.5.4. Νευρικό Σύστημα

Η προσβολή του νευρικού συστήματος συνοδεύεται από τις πλέον εμφανείς και συχνά βασανιστικές κλινικές εκδηλώσεις της νόσου. Ο πόνος συχνά σηματοδοτεί την κλινική έναρξη της πάθησης και εμφανίζεται στο 80-90% των ημιζυγωτών κατά την παιδική και πρώιμη εφηβική ηλικία τους. Είναι δυνατόν να εμφανιστεί με τη μορφή έντονων παροδικών κρίσεων αλλά συνηθέστερα περιγράφεται σαν ήπιες ακροπαραισθησίες. Τα επώδυνα επεισόδια της νόσου εντοπίζονται κυρίως στα πέλματα και στις παλάμες των ασθενών και διαρκούν από λίγα λεπτά έως και αρκετές ώρες. Χαρακτηρίζονται από αίσθηση έντονης καυσαλγίας και συνήθως εμφανίζονται μετά από λοιμώξεις, επίπονη άσκηση, κλιματολογικές αλλαγές αλλά και συναισθηματικές διαταραχές και συχνά συνοδεύονται από ήπια πυρετική κίνηση. Αντίθετα οι ακροπαραισθησίες, εντοπίζονται κύρια στα δάκτυλα των άνω και κάτω



άκρων, μπορεί να είναι συνεχείς, με επίταση κατά τις βραδινές ώρες ενώ η συχνότητα και η έντασή τους εμφανίζουν αυξομειώσεις στη διάρκεια της ζωής των ασθενών. Εκτός από τον πόνο οι ασθενείς εμφανίζουν διαταραχές στην αίσθηση της αφής και της θερμότητας στα άκρα ενώ η συμμετοχή του αυτόνομου νευρικού συστήματος είναι δυνατόν να προκαλέσει υποϊδρωσία και ορθοστατική υπόταση. Προσβολή των αγγείων έχει σαν αποτέλεσμα την συχνή επίπτωση παροδικών αγγειακών εγκεφαλικών επεισοδίων ενώ δεν είναι σπάνια και η εμφάνιση νευροαισθητικού τύπου διαταραχών της ακοής.

Ο ακριβής μηχανισμός πρόκλησης των επώδυνων νευροπαθητικών εκδηλώσεων των ασθενών με νόσο Fabry δεν έχει απόλυτα διευκρινισθεί (116). Οι δομικές αλλοιώσεις των μικρών εμύελων και αμύελων νευρικών ινών, οι οποίες προκαλούνται από την συσσώρευση αδιάσπαστων GSLs στους νευράξονες αυτών των κυττάρων αλλά και στα νωτιαία γάγγλια των ραχιαίων αισθητικών ριζών καθώς επίσης και στα τοιχώματα των τροφικών νευρικών αγγείων, αποτελούν τα κύρια ιστολογικά ευρήματα τα οποία μάλλον συνθέτουν την βάση στην παθογένεια έκκλησης του πόνου (117). Μελέτες στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο ενδοδερμικών νευρικών ινών ανέδειξαν τα χαρακτηριστικά έγκλειστα ενδοκυττάρια σωματίδια (myeloid or Zebra bodies) ενδεικτικά των εναποθέσεων GSLs ενώ παράλληλα διαπιστώθηκαν στοιχεία εκφύλισης κυρίως των μικρών αμύελων νευρικών ινών. Οι νευρικοί άξονες εμφανίζονται οίδηματώδεις με απώλεια των ενδοκυττάρων οργανυλλίων με διάχυτες εναποθέσεις GSLs (118). Αντίθετα στα κύτταρα Schwann δεν παρατηρούνται εναποθέσεις αδιάσπαστων GSLs είτε λόγω της ύπαρξης διαφορετικών μεταβολικών διαδικασιών είτε λόγω της αδυναμίας των κυκλοφορούντων λιπιδίων να εισέλθουν στο εσωτερικό των εν λόγω κυττάρων. Η υπόθεση ότι τα κύτταρα Schwann και το έλυτρο μυελίνης που προέρχεται από αυτά



και περιβάλλει τους νευράξονες στο περιφερικό νευρικό σύστημα, αποτελούν φραγμό στην είσοδο των κυκλοφορούντων GSLs στο εσωτερικό των μεγαλύτερων εμμέλων νευρικών ιών, εξηγεί την εντόπιση της νευροπάθειας στις μικρές αμύελες νευρικές ίνες στους ασθενείς Fabry (119). Η μελέτη της έντασης της αγωγιμότητας του νευρικού ερεθίσματος αλλά και της πυκνότητας της νευρικής κατανομής στο δέρμα ασθενών με νόσο Fabry (βιοψίες γαστροκνημιαίου νεύρου) ανέδειξε σοβαρού βαθμού ένδεια μόνο των μικρών ενδοδερμικών νευρικών απολήξεων(120). Τα αποτελέσματα αυτά στηρίζουν την υπόθεση της ενεργού συμμετοχής στην πρόκληση του πόνου των αλλοιώσεων των εμμέλων και αμύελων επιφανειακών νευρικών ιών. Ειδικότερα η έκκληση πόνου στους ασθενείς μετά από την έκθεση στο κρύο είναι ενδεικτική της ενεργού συμμετοχής των κεντρομόλων αισθητικών ιών C και Ad οι οποίες εμπλέκονται στην μετατροπή του ερεθίσματος, που προκύπτει από τις αλλαγές της θερμοκρασίας, σε πόνο (121).

Οι λειτουργικές και δομικές αλλοιώσεις των αισθητικών γαγγλίων, λόγω της συσσώρευσης αδιάσπαστων GSLs, κατά την γνώμη ορισμένων συγγραφέων, καταλαμβάνουν κυρίαρχο ρόλο στην παθογένεια εμφάνισης του πόνου στους ασθενείς με νόσο Fabry. Η αδυναμία συσχέτισης της παρατηρούμενης σημαντικής μείωσης των μικρών εμμέλων επιφανειακών νευρικών ιών με την ένταση του πόνου στους ασθενείς, ισχυροποιεί την σημασία των περιγραφόμενων διαταραχών στα νωτιαία γάγγλια των ραχιαίων αισθητικών ριζών, στην πρόκληση του πόνου (122).

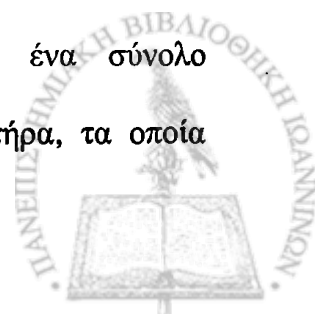
Εκτός από τις αμιγείς δομικές και λειτουργικές διαταραχές των κυττάρων του νευρικού ιστού, οι συνυπάρχουσες βλάβες των τροφικών αγγείων των περιφερικών νευρικών ιών (vasa nervorum) αποτελούν έναν ακόμη προτεινόμενο μηχανισμό πρόκλησης των επώδυνων κρίσεων (123). Οι εναποθέσεις αδιάσπαστων GSLs στο



ενδοθήλιο και στα λεία μυϊκά κύτταρα του τοιχώματος των *vasa nervorum* είναι δυνατόν να προκαλέσουν στένωση του αυλού με αποτέλεσμα την εμφάνιση ισχαιμικών αλλοιώσεων. Η έκκληση επώδυνων κρίσεων κατά την έκθεση σε έντονες αλλαγές της θερμοκρασίας, σύμφωνα με αυτή την θεωρία, οφείλεται στην επιδείνωση των ήδη εγκατεστημένων αιμοδυναμικών διαταραχών και την αδυναμία επαρκούς αντιρρόπησης της έντασης του ερεθίσματος από τις δυσλειτουργούσες Αδ- και C-νευρικές ίνες (118).

Συγχρόνως με τους επίμονους πόνους και τις ακροπαραισθησίες οι ασθενείς Fabry εμφανίζουν συχνά συμπτώματα τα οποία οφείλονται σε διαταραχές του αυτόνομου νευρικού συστήματος. Ορισμένα κέντρα όπως το υπεροπτικό τμήμα και οι παρακοιλιακοί πυρήνες του υποθαλάμου, η παραϊπποκάμπειος έλικας, ο πυρήνας του Opuf και οι πυρήνες του πνευμονογαστρικού καθώς επίσης και τα γαγγλιοκύτταρα του μεντερικού πλέγματος του Auerbach, αποτελούν τις δομές του αυτόνομου νευρικού συστήματος που συχνότερα εμφανίζονται εναποθέσεις αδιάσπαστων GSLs (124). Μειωμένη παραγωγή ιδρώτα, δακρύων και σιέλου, καρδιακές αρρυθμίες, περιφερικό οίδημα, διαταραχές της κινητικότητας του γαστρεντερικού καθώς επίσης και της αντίληψης του πόνου είναι ορισμένες από τις εκδηλώσεις της νόσου που αποδίδονται σε δυσλειτουργία του αυτόνομου νευρικού συστήματος (125,126).

Τέλος εναπόθεση αδιάσπαστων GSLs παρατηρείται και στα αγγεία του κεντρικού νευρικού συστήματος (ΚΝΣ) με αποτέλεσμα τη συχνή εμφάνιση εγκεφαλικών αγγειακών επιπλοκών (127). Οι αγγειακές εκδηλώσεις συνήθως αφορούν τις οπίσθιες αγγειακές δομές του εγκεφάλου και εμφανίζονται σαν ανευρισματικές διατάσεις των μεγάλων αγγείων καθώς επίσης και σαν ισχαιμικές αλλοιώσεις μικρών ή και μεγαλύτερων αγγείων. Προκαλούν ένα σύνολο ποικιλόμορφων νευρολογικών συμπτωμάτων, πολυεστιακού χαρακτήρα, τα οποία



είναι δυνατό να εκδηλωθούν με τη μορφή παροδικών ή μόνιμων ισχαιμικών διαταραχών, επιληπτικών κρίσεων, ημιπληγίας, διαταραχών του λαβυρίνθου, αφασίας και εγκεφαλικών αιμορραγιών (128). Η μέση ηλικία εμφάνισης συμπτωμάτων, τα οποία οφείλονται σε αγγειακές εγκεφαλικές επιπλοκές, είναι το 34<sup>ο</sup> έτος της ηλικίας στους άνδρες και το 40<sup>ο</sup> στις γυναίκες αν και ο MRI έλεγχος των ασθενών απέδειξε την ύπαρξη ισχαιμικών αλλοιώσεων του ΚΝΣ σε πολύ νεώτερη ηλικία και ειδικότερα σε ασυμπτωματικούς ασθενείς. Ο επιπολασμός των ισχαιμικών αλλοιώσεων του ΚΝΣ αγγίζει το 76% στους ημιζυγώτες άνδρες ενώ το αντίστοιχο ποσοστό στις γυναίκες ετεροζυγώτες είναι 55% (129). Πολλαπλές είναι οι εξηγήσεις για τα τόσο υψηλά ποσοστά εμφάνισης αγγειακών εγκεφαλικών επιπλοκών στους ασθενείς με νόσο Fabry. Η μείωση του εύρους του αγγειακού αυλού των εγκεφαλικών αγγείων μικρού διαμετρήματος, λόγω της συσσώρευσης αδιάσπαστων GSLs στα ενδοθηλιακά κύτταρα του τοιχώματος, προκαλεί αναπόφευκτα αιμοδυναμικές διαταραχές ενώ οι δομικές αλλοιώσεις των λείων μυϊκών κυττάρων ευοδώνουν την δημιουργία αγγειεκτασιών (130). Η υπερτροφική καρδιοπάθεια, οι αλλοιώσεις των βαλβίδων η αυξημένη συχνότητα αρρυθμιών καθώς επίσης και ο επηρεασμένος αγγειακός τόνος των εγκεφαλικών αγγείων, λόγω δυσλειτουργίας του αυτόνομου νευρικού συστήματος, είναι ορισμένοι από τους παράγοντες που συχνά συνυπάρχουν στους ασθενείς και αυξάνουν τον κίνδυνο εμφάνισης αγγειακών επιπλοκών. Παράλληλα έχει αποδειχθεί ότι οι ασθενείς με νόσο του Fabry εμφανίζουν αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης θρομβωτικών αγγειακών εγκεφαλικών επεισοδίων λόγω των τοπικών αιμοδυναμικών διαταραχών αλλά και λόγω των αυξημένων επιπέδων προθρομβωτικών ενδοθηλιακών παραγόντων και προσκολλητικών μορίων των λευκών αιμοσφαιρίων αλλά και της ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων (131,132).



Η μόνιμη εγκατάσταση των ιδιαίτερα ενοχλητικών ακροπαραισθησιών αλλά και η συχνή εμφάνιση επώδυνων κρίσεων οδηγεί τους ασθενείς σε αλλαγή του τρόπου ζωής. Περιορίζουν την φυσική άσκηση, αλλάζουν τις συνήθειες και τον τρόπο σίτισης, αποφεύγουν την έκθεση τους σε κλιματολογικές αλλαγές με αποτέλεσμα να καθίστανται αντικοινωνικοί. Παράλληλα η διαχείριση του πόνου με αυξανόμενες δόσεις αναλγητικών και η εμφάνιση επιπλοκών όπως η τελικού σταδίου χρόνια νεφρική νόσος και η καρδιακή ανεπάρκεια αλλά και η ισχαιμική νόσος του ΚΝΣ οδηγούν τον ασθενή σε χρόνια φαρμακευτική εξάρτηση και κατάθλιψη. Η αδυναμία των ασθενών αλλά και των ιατρικών παρεμβάσεων να αντιμετωπίσουν την εγκατάσταση των σοβαρών αυτών επιπλοκών οδηγεί τους ασθενείς σε σταδιακή άρση της εμπιστοσύνης τους απέναντι στις θεραπευτικές προτάσεις και σε απώλεια της αισιοδοξίας για την έκβαση της νόσου. Ο χρόνιος αλκοολισμός και η μόνιμη χρήση ναρκωτικών δεν είναι σπάνιες εκδηλώσεις μεταξύ των ασθενών με νόσο του Fabry ενώ συχνά οι ασθενείς εμφανίζουν τάσεις αυτοκτονίας. Τέλος οι αλλοιώσεις του ΚΝΣ και οι αγγειακές εγκεφαλικές επιπλοκές είναι δυνατόν να προκαλέσουν άνοια και σοβαρού βαθμού κινητικές αναπηρίες οι οποίες επιδεινώνουν περαιτέρω το νευροψυχιατρικό προφίλ αυτών των ασθενών.

### 1.5.5 Οφθαλμοί

Τα κλινικά ευρήματα από τους οφθαλμούς συγκαταλέγονται στα πλέον ειδικά διαγνωστικά κριτήρια της νόσου. Οι χαρακτηριστικές αλλοιώσεις των οφθαλμών παρατηρούνται σε ένα ιδιαίτερα μεγάλο ποσοστό των ασθενών και εμφανίζουν παρόμοια επίπτωση και στα δύο φύλα. Εμφανίζονται πρώιμα, συνήθως κατά την εφηβεία, αφορούν σχεδόν όλες τις δομές του οφθαλμού χωρίς όμως να προκαλούν διαταραχές της όρασης (133).



Στον κερατοειδή χιτώνα διαπιστώνεται αρχικά μια διάχυτη θολερότητα η οποία με την πάροδο του χρόνου αποκτά μια χαρακτηριστική σύσταση (cornea verticillata) όπου γραμμοειδείς σκιάσεις με την μορφή spiral φαίνεται να ξεκινούν από ένα κεντρικό σημείο και να διαχέονται προς την περιφέρεια (134). Η χαρακτηριστική αυτή αλλοίωση προκαλείται από την εναπόθεση αδιάσπαστων GSLs στην υποεπιθηλιακή στιβάδα του κερατοειδούς σε επαφή με την μεμβράνη του Bowman (135,136). Η δυστροφία αυτή είναι ορατή με τη βοήθεια της σχισμοειδούς λυχνίας και εμφανίζεται στο 77% των γυναικών ετεροζυγωτών και στο 73% των ανδρών, αποτελώντας ένα σημαντικό εύρημα για την στοιχειοθέτηση της διάγνωσης της νόσου (137). Όμως, η ιδιαίτερη αυτή αλλοίωση του κερατοειδούς, έχει περιγραφεί και σαν επιπλοκή της χρόνιας λήψης ορισμένων φαρμακευτικών σκευασμάτων όπως οι φαινοθειαζίδες, η χλωροκίνη, η αμιοδαρόνη, η ινδομεθακίνη και η χλωροπρομαζίνη (138).

Οι αλλοιώσεις του κρυσταλλοειδούς φακού είναι σπανιότερες αλλά όταν εμφανίζονται αποκτούν σχεδόν παθογνωμονικό χαρακτήρα. Πρόκειται για εναποθέσεις GSLs οι οποίες προκαλούν αδιαφανείς σκιάσεις του φακού και είναι δυνατόν να εμφανισθούν σε δύο διαφορετικές θέσεις. Η πλέον συχνή θολερότητα (35% των ημιζυγωτών και 12% των ετεροζυγωτών) εμφανίζεται στην πρόσθια επιφάνεια του φακού με την μορφή έλικας (spoke-like) της οποίας η κορυφές βρίσκονται στο κέντρο ενώ οι βάσεις των τριγωνικών ακτινών της χάνονται στην περιφέρεια (139). Αντίθετα στην περιοχή του περιφακίου έχει περιγραφεί σε ορισμένους ασθενείς, μια υπόλευκη ημιδιαφανής εναπόθεση κοκκιώδους υλικού, η οποία εκτείνεται από τον οπίσθιο πόλο του φακού και κατά μήκος της οπίσθιας κάψας του και θεωρείται από ορισμένους συγγραφείς παθογνωμονικό εύρημα της νόσου (“καταρράκτης Fabry”) (140). Ο καταρράκτης έχει περιγραφεί στο 21% των



ανδρών ασθενών και στο 10% των ετερόζυγων γυναικών, σε ορισμένες δε περιπτώσεις είναι το πρώτο οφθαλμολογικό εύρημα της νόσου (137).

Διαταραχές στο σχήμα και στη δομή των αγγείων του αμφιβληστροειδούς και του επιπεφυκότα είναι ιδιαίτερα συχνές στους ασθενείς με νόσο Fabry. Οι αλλοιώσεις οφείλονται στις εναποθέσεις αδιάσπαστων GSLs στο αγγειακό τοίχωμα με αποτέλεσμα την ανευρυσματική διάταση και την ελικοειδή παραμόρφωση της πορείας των ενώ το εύρος των αγγείων παραμένει αναλλοίωτο (141). Τα ευρήματα αυτά είναι ανάλογα με αυτά των διαβητικών ασθενών και των ασθενών με χρόνια αρτηριακή υπέρταση αλλά σπάνια παρατηρούνται επιπλοκές όπως στενώσεις, αιμορραγίες, εξιδρώματα ή οίδημα οπτικής θηλής (142). Τα ποσοστά εμφάνισης αγγειακών αλλοιώσεων διαφέρουν σημαντικά και δεν φαίνεται να είναι ιδιαίτερα υψηλά όπως είχαν καταγραφεί σε παλαιότερες μελέτες (50% των ανδρών και 20% των γυναικών) (137).

Παρά την πλούσια οφθαλμολογική σημειολογία που χαρακτηρίζει τη νόσο, οι διαταραχές της όρασης είναι ιδιαίτερα σπάνιες και μόνο περιστασιακά έχει αναφερθεί οξεία απώλεια της, ως αποτέλεσμα ολικής απόφραξης της κεντρικής αρτηρίας του αμφιβληστροειδούς (143).

#### 1.5.6. Πεπτικό Σύστημα

Οι κλινικές εκδηλώσεις που οφείλονται στην προσβολή του πεπτικού συστήματος είναι ιδιαίτερα συχνές. Υπολογίζεται ότι περισσότεροι από 50% των ασθενών εμφανίζουν διαταραχές της κινητικότητας του εντέρου με διάρροιες και διάχυτα κοιλιακά άλγη (144). Η προσβολή του γαστρεντερικού (ΓΕΣ) είναι το ίδιο συχνή και εξίσου σοβαρή και στις ετερόζυγες γυναίκες αν και η έναρξη εμφάνισης των συμπτωμάτων σε σχέση με τα υπόλοιπα κλινικά ευρήματα της νόσου φαίνεται να καθυστερεί. Η πλέον χαρακτηριστική κλινική εκδήλωση είναι η εμφάνιση διάχυτου





κοιλιακού άλγους που συχνά ακολουθεί τη λήψη τροφής ενώ ορισμένες φορές αποκτά τη μορφή επώδυνου μυϊκού σπασμού ενίοτε ιδιαίτερα έντονου. Εκτός από τον πόνο συχνή είναι και η εμφάνιση επεισοδίων διάρροιας τα οποία και αυτά συχνά συνδυάζονται με τη λήψη τροφής. Σπανιότερα έχουν περιγραφεί εκδηλώσεις όπως ναυτία, εμετοί, ανορεξία, παγκρεατική ανεπάρκεια, κίρσοι οισοφάγου, αχαλασία εντέρου και νηστιδιακή εκκολπωμάτωση με διάτρηση (145).

Η συσσώρευση αδιάσπαστων GSLs στις διάφορες δομές του πεπτικού σωλήνα φαίνεται ότι αποτελεί τον αιτιοπαθογενετικό μηχανισμό πρόκλησης των γαστρεντερικών συμπτωμάτων. Πράγματι έχει αποδειχθεί η ύπαρξη σημαντικού βαθμού εναποθέσεων Gb3 στις νευρικές ίνες του υποβλεννογόνιου πλέγματος του Meissner καθώς επίσης και στο μυεντερικό πλέγμα του Auerbach οι οποίες πιθανά να συμμετέχουν ενεργά στην πρόκληση των κινητικών διαταραχών του εντέρου (146). Παράλληλα οι εναποθέσεις των αδιάσπαστων GSLs στα λεία μυϊκά κύτταρα του εντερικού τοιχώματος είναι δυνατόν να επιδεινώνουν περαιτέρω την κινητικότητα του εντέρου (147). Ισχαιμικές αλλοιώσεις, λόγω των δομικών και λειτουργικών διαταραχών των μεσεντέριων αγγείων οι οποίες οφείλονται στη συσσώρευση των GSLs στα αγγειακά τοιχώματα, αποτελούν ένα επιπλέον παθολογοανατομικό εύρημα με σημαντική αξία σε όσον αφορά στους μηχανισμούς πρόκλησης ιστικής βλάβης των δομών του πεπτικού συστήματος (148). Οι επώδυνες μυϊκές συσπάσεις, που χαρακτηριστικά περιγράφεται από τους ασθενείς όταν ακολουθούν ένα πλούσιο γεύμα, πιθανά να οφείλονται σε αιμοδυναμικές διαταραχές οι οποίες είναι αποτέλεσμα των δομικών αλλοιώσεων των αγγείων της περιοχής. Τέλος οι εναποθέσεις GSLs στον βλεννογόνο του λεπτού εντέρου πιθανά να ευθύνονται για την εμφάνιση διάρροιών και φαινομένων δυσαπορρόφησης τα οποία παρουσιάζονται σε ορισμένους ασθενείς και είναι δυνατόν να προκαλέσουν σημαντικό βαθμό



υποθρεψία και διαταραχές στην ανάπτυξη ειδικότερα των νεώτερων ατόμων (144, 147).

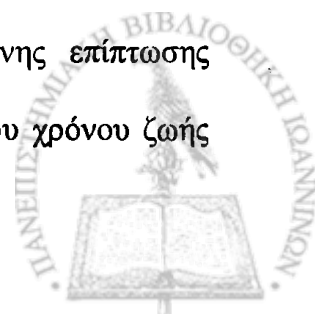
### 1.5.7. Προσβολή άλλων οργάνων και συστημάτων

Εναποθέσεις αδιάσπαστων GSLs έχουν περιγραφεί κατά καιρούς στη διεθνή βιβλιογραφία και σε διάφορους άλλους ιστούς προκαλώντας ασυνήθεις εκδηλώσεις οι οποίες συμπληρώνουν την κλασική κλινική έκφραση της νόσου.

Η πλέον συχνή εξ αυτών είναι η προσβολή των αεροφόρων οδών. Συσσώρευση αδιάσπαστων GSLs έχει αναδειχθεί στα επιθηλιακά κύτταρα των αεροφόρων αγωγών με αποτέλεσμα την εμφάνιση αποφρακτικής πνευμονοπάθειας (ΧΑΠ) (149). Στους ηλικιωμένους ασθενείς και ειδικότερα στους καπνιστές η κλινική έκφραση της αναπνευστικής προσβολής είναι ιδιαίτερα σοβαρή ενώ παράλληλα αυξημένη είναι και η επίπτωση τοπικών λοιμώξεων (150).

Η σωματική ανάπτυξη και το μυοσκελετικό σύστημα δεν φαίνεται να παραμένουν ανεπηρέαστα στη νόσο Fabry και ειδικότερα στα νέα αγόρια (151). Σημαντικός αριθμός νεαρών ημιζυγωτών εμφανίζουν επιβράδυνση της ανάπτυξης, καθυστερημένη έναρξη της ήβης και αραιή ανδρογενή τριχοφυΐα (152). Σε ορισμένες οικογένειες τα άρρενα μέλη παρουσιάζουν ιδιαίτερα χαρακτηριστικά προσώπου που θυμίζουν ασθενείς πάσχοντες από ακρομεγαλία (προσωπείο Fabry) (153). Ελάττωση της έκτασης των άπω φαλαγγο-φαλαγγικών αρθρώσεων των άνω άκρων, πολλαπλές οστεοποιοί ενθέσεις, ενδοαρθρικές και παρα-αρθρικές διαβρώσεις, άσηπτη νέκρωση της μηριαίας κεφαλής και του αστραγάλου και αντίστοιχες αλλοιώσεις μικρότερων αρθρώσεων αποτελούν ορισμένες από τις σκελετικές αλλοιώσεις οι οποίες εμφανίζονται συχνότερα στους ασθενείς με νόσο Fabry (154, 155).

Συχνές είναι επίσης οι βιβλιογραφικές αναφορές αυξημένης επίπτωσης αναμίας χωρίς ιδιαίτερα χαρακτηριστικά, πιθανόν λόγω μείωσης του χρόνου ζωής



των ερυθρών αιμοσφαιρίων αν και σε ορισμένους ασθενείς έχουν καταγραφεί μειωμένα επίπεδα σιδήρου και παράλληλη αύξηση των δικτυοερυθροκυττάρων (156). Τέλος υποθυρεοειδισμός, οστεοπενία και οδοντοφατνιακές αλλοιώσεις είναι ορισμένες ακόμη κλινικές εκδηλώσεις οι οποίες παρουσιάζουν αυξημένη συχνότητα εμφάνισης στους ασθενείς με νόσο του Fabry (157, 158, 159).

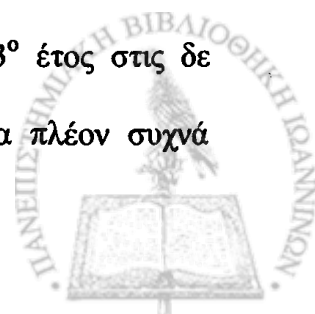


## 1.6. ΚΛΙΝΙΚΕΣ ΕΚΔΗΛΩΣΕΙΣ

### 1.6.1. Κλασσική μορφή (ημιζυγώτες)

Η νόσος Fabry αποτελεί μια απειλητική για τη ζωή, φυλοσύνδετη με το χρωμόσωμα X, κληρονομική διαταραχή του μεταβολισμού των GSLs, η οποία κύρια προσβάλλει άνδρες ημιζυγώτες αλλά είναι δυνατόν να προκαλέσει σημαντικές κλινικές εκδηλώσεις και στις γυναίκες φορείς της γονιδιακής μετάλλαξης. Η ανεπάρκεια του ενζύμου α GAL A, έχει σαν αποτέλεσμα την σταδιακή ενδοκυττάρια συσσώρευση αδιάσπαστων GSLs που αρχικά διαταράσσουν τις βασικές κυτταρικές μεταβολικές διεργασίες και δευτερευόντως ενεργοποιούν φλεγμονώδεις διαδικασίες που τελικά οδηγούν στον κυτταρικό θάνατο και την δυσλειτουργία και ανεπάρκεια ζωτικών οργάνων.

Τα συμπτώματα της νόσου παρουσιάζουν προοδευτική χρονική εξέλιξη, δεδομένου ότι η ενδοκυττάρια συσσώρευση των GSLs αρχίζει από τα πρώτα χρόνια της ζωής των ασθενών. Τα πρώτα συμπτώματα εμφανίζονται, συνήθως, κατά την παιδική ή πρώιμη εφηβική ηλικία και περιλαμβάνουν τις χαρακτηριστικές αλλοιώσεις του κερατοειδούς και του φακού, τα αγγειοκερατώματα, τις ακροπαραισθησίες και τις διαταραχές της εφίδρωσης (160). Παρότι οι κλινικές εκδηλώσεις της νόσου είναι ιδιαίτερα χαρακτηριστικές, στις περισσότερες περιπτώσεις η διάγνωση καθυστερεί σημαντικά. Σε πρόσφατη διεθνή καταγραφή των κλινικών χαρακτηριστικών 1765 ασθενών (54% άνδρες, εκ των οποίων το 16% ήταν ηλικίας κάτω των 20 ετών και 46% γυναίκες - 13% κάτω των 20 ετών) η μέση ηλικία έναρξης των συμπτωμάτων ήταν το 9<sup>ο</sup> έτος στους άνδρες ενώ αντίστοιχα το 13<sup>ο</sup> έτος, στις ετερόζυγες γυναίκες. Η διάγνωση της νόσου επιβεβαιώθηκε στους μεν άντρες κατά το 23<sup>ο</sup> έτος στις δε γυναίκες κατά το 32<sup>ο</sup> έτος της ηλικίας τους αντίστοιχα (161). Τα πλέον συχνά



συμπτώματα εμφάνισης της νόσου στους άνδρες ήταν ο πόνος (62%), οι δερματικές αλλοιώσεις (31%) και οι γαστρεντερικές διαταραχές (19%) ακολουθούμενα από ενδείξεις προσβολής των νεφρών (17%) και των οφθαλμών (11%). Αντίθετα στις γυναίκες ο πόνος εμφανιζόταν στο 41% των ασθενών ενώ συχνή ήταν και η προσβολή των οφθαλμών (12%), του πεπτικού (13%) και του δέρματος (12%) (161).

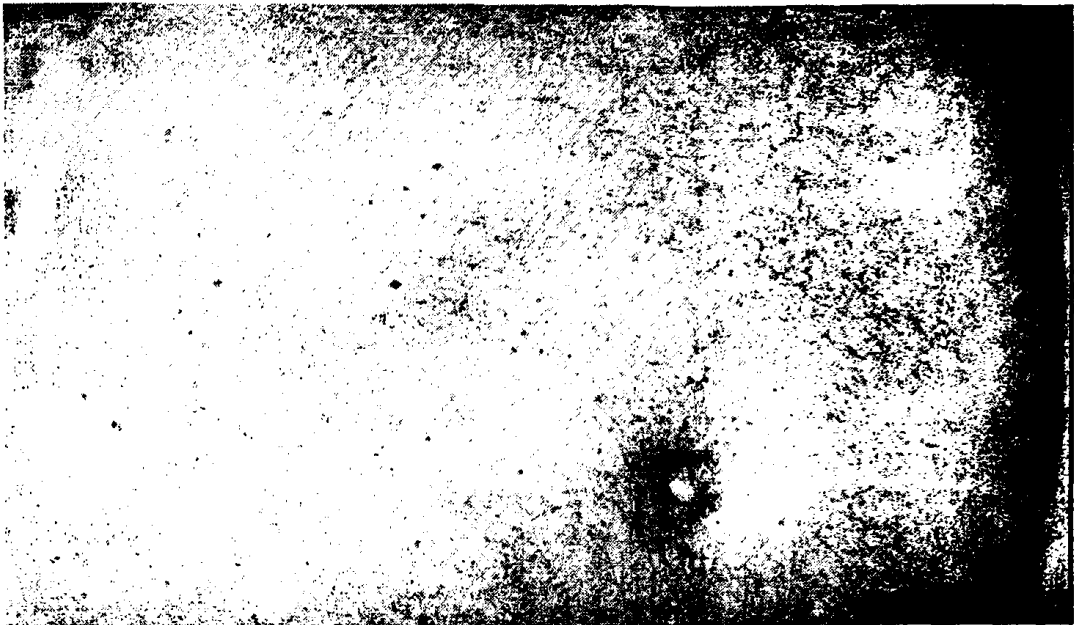
Ο πόνος, με τη μορφή ακροπαραισθησιών, αποτελεί το πλέον συχνό αρχικό σύμπτωμα εκδήλωσης της νόσου και περιγράφεται από την πλειονότητα των ασθενών (70-80% των ανδρών και 50-60% των γυναικών) (162). Οι ασθενείς τον περιγράφουν σαν περιοδικό αίσθημα καύσους, επώδυνου κνησμού ή αιμωδιών, με κύρια αρχική εντόπιση τις παλάμες και τα πέλματα. Συνήθως οι ασθενείς αναγνωρίζουν εκλυτικούς παράγοντες του πόνου και τον συνδυάζουν κύρια με τις απότομες κλιματολογικές αλλαγές αλλά και με την σωματική καταπόνηση, τις συναισθηματικές διαταραχές και τον πυρετό (163). Στην εξέλιξη της νόσου ο πόνος είναι δυνατόν να επεκταθεί πέρα από τα άκρα των ασθενών και να εντοπίζεται συγχρόνως και στον κορμό, τις αρθρώσεις και την κοιλιακή χώρα. Επίσης μπορεί να εμφανίζεται συχνότερα, να διαρκεί περισσότερο και να αυξάνει σταδιακά την έντασή του προσλαμβάνοντας χαρακτήρες χρονιότητας (129). Σε πολλούς ασθενείς ο πόνος αποτελεί την πλέον βασανιστική εκδήλωση της νόσου οδηγώντας τους σταδιακά σε μόνιμη χρήση αναλγητικών και σε περιορισμό των δραστηριοτήτων τους που έχουν σαν αποτέλεσμα την εγκατάσταση ψυχικών διαταραχών (165). Σε ορισμένους ασθενείς τα επώδυνα επεισόδια της νόσου συνίστανται σε κρίσεις διαξιφιστικού πόνου, αιφνίδιας έναρξης και μεταβαλλόμενης διάρκειας, που συχνά ακολουθούν συγκινησιακή ή σωματική φόρτιση ή αλλαγές της θερμοκρασίας (166). Στη διάρκεια αυτών των κρίσεων είναι δυνατόν να συνυπάρχει δεκατική πυρετική κίνηση, έντονη αδιαθεσία μυαλγίες και κόπωση ενώ συχνά συνοδεύονται από αύξηση της ταχύτητας καθίζησης



των αιμοσφαιρίων, εκδηλώσεις που είναι δυνατό να οδηγήσουν σε εσφαλμένη διάγνωση λοιμώδους ή ρευματικής νόσου (167,168).

Οι χαρακτηριστικές δερματικές αλλοιώσεις αποτελούν την πλέον συχνή εκδήλωση της νόσου. Η έναρξη της εμφάνισής τους κυμαίνεται μεταξύ του 5<sup>ου</sup> και του 10<sup>ου</sup> έτους της ηλικίας των αγοριών ενώ στα κορίτσια εκδηλώνονται, ηπιότερα, μερικά χρόνια αργότερα. Δεδομένα διεθνών καταγραφών ανέδειξαν ότι 78% των ανδρών και 50% των γυναικών εμφανίζουν μια ή περισσότερες δερματικές εκδηλώσεις της νόσου (111).

Οι συχνότερες δερματικές αλλοιώσεις είναι τα αγγειοκερατώματα (66% των ανδρών και 36% των γυναικών), διαταραχές της εφίδρωσης κυρίως με τη μορφή της υποϊδρωσίας (53% των ανδρών και 28% των γυναικών), οι τελαγγειεκτασίες (23% των ανδρών και 9% των γυναικών) και το λεμφοίδημα (16% και 6% αντίστοιχα).



Εικόνα 7. Αγγειοκερατώματα κοιλιακής χώρας

Τα αγγειοκερατώματα (Εικόνες 7 και 8), στικτές ερυθρές ή μελανόχρωμες, ήπια επαρμένες αγγειεκτασίες στις επιπολείς στοιβάδες του δέρματος, είναι δυνατόν να εμφανισθούν μεμονωμένα ή να συρρέουν σε ομάδες και να καλύπτουν σχετικά μεγάλη επιφάνεια του σώματος (112). Οι δερματικές αλλοιώσεις παρότι εμφανίζονται στους περισσότερους ασθενείς σε ιδιαίτερα νεαρή ηλικία λόγω της περιορισμένης συνοδού συμπτωματολογίας αποτελούν την αιτία διάγνωσης της νόσου μόνο στο 14% των ανδρών και μόλις στο 2% των ετερόζυγων γυναικών (113). Παρόλα αυτά η ύπαρξη των αγγειακών δερματικών εκδηλώσεων φαίνεται να συνδυάζεται με την βαρύτητα των συστηματικών εκδηλώσεων της νόσου και ειδικότερα με την εξέλιξη της νεφρικής νόσου, της καρδιακής ανεπάρκειας και της πρώιμης εμφάνισης ΑΕΕ (169).

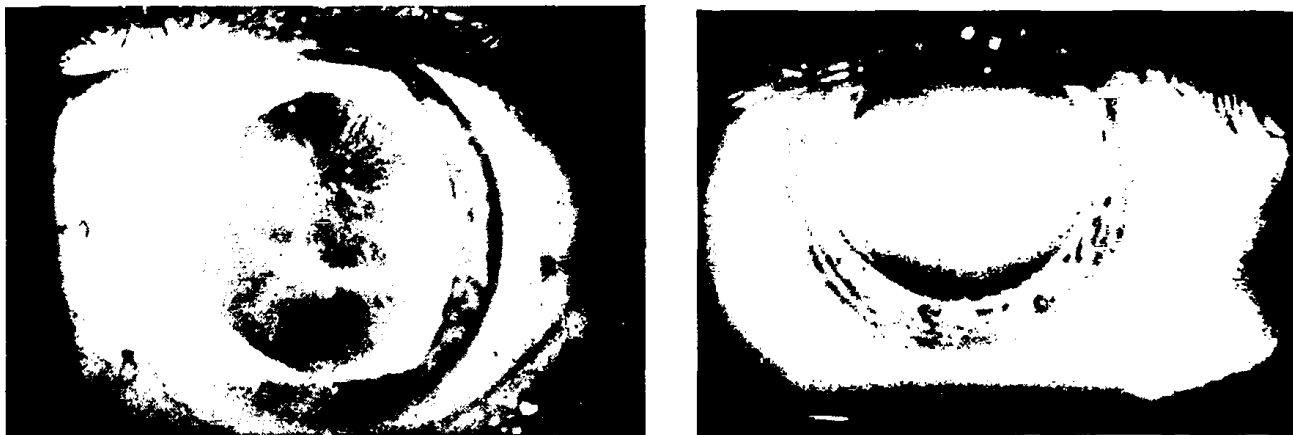


Εικόνα 8. Αγγειοκερατώματα βλεννογόνων της στοματικής κοιλότητας

Τα κλινικά ευρήματα προσβολής των οφθαλμών αποτελούν μια ακόμη συχνή εκδήλωση της νόσου. Αφορούν συνήθως δυστροφίες του κερατοειδούς με την χαρακτηριστική σπειροειδή μορφή (*cornea verticillata*), αδιαφάνειες του πρόσθιου



και οπίσθιου τμήματος του κρυσταλλοειδούς φακού (καταρράκτης Fabry) (Εικόνα 9) καθώς επίσης και ελικοειδείς παραμορφώσεις των αγγείων στον επιπεφυκότα και τον αμφιβληστροειδή. Η εμφάνιση της cornea verticillata είναι η συχνότερη κλινική εκδήλωση της νόσου στις γυναίκες ετεροζυγώτες (76,9%) ενώ στους άνδρες το ποσοστό είναι 73%. Ιδιαίτερα συχνή είναι και η παρουσία αγγειακών αλλοιώσεων (48,7% στους άνδρες και 22% στις γυναίκες) ενώ ο καταρράκτης Fabry αν και για ορισμένους συγγραφείς αποτελεί το πλέον χαρακτηριστικό εύρημα της νόσου εμφανίζεται σπανιότερα (23% στους άνδρες και 9,8% στις γυναίκες) (137). Η προσβολή των οφθαλμικών αγγείων εμφανίζεται συχνότερα στους ασθενείς με σοβαρότερη νεφρική και καρδιακή προσβολή (170).



Εικόνα 9. Cornea verticillata και καταρράκτης “Fabry”

Η προσβολή των οφθαλμών παρότι είναι συχνή και περιλαμβάνει μια πλειάδα κλινικών εκδηλώσεων σχεδόν ποτέ δεν επηρεάζει την όραση των ασθενών (171). Σπάνια περιλαμβάνεται στις αιτίες που οδηγούν στην αρχική διάγνωση αλλά η συμμετοχή της στην επιβεβαίωση της νόσου είναι ιδιαίτερα σημαντική. Η εξέταση με σχισμοειδή λυχνία, η οποία αναδεικνύει τις χαρακτηριστικές αλλοιώσεις των οφθαλμών, αποτελεί μια εύχρηστη, μη επεμβατική, χαμηλού κόστους, μέθοδο



ελέγχου εκτενών ομάδων πληθυσμού με ιδιαίτερα υψηλό βαθμό ευαισθησίας και ειδικότητας (172, 173).

Διάχυτα κοιλιακά άλγη και περιοδικά επεισόδια διαρροιών αποτελούν τις συνήθεις κλινικές εκδηλώσεις της προσβολής του πεπτικού συστήματος. Οι Mac Dermot και συνεργάτες αναφέρουν ότι σε 98 άνδρες ασθενείς, η συχνότητα εμφάνισης των γαστρεντερικών συμπτωμάτων πλησίαζε το 70% (160). Δεδομένα από την καταγραφή FOS σε 11 Ευρωπαϊκές χώρες [ 714 ασθενείς (369 γυναίκες και 345 άνδρες) εκ των οποίων 127 ασθενείς ηλικίας κάτω των 18 ετών (70 κορίτσια και 57 αγόρια)] αναδεικνύουν ότι ο επιπολασμός της πεπτικής προσβολής ανέρχεται στο 52% (N=178) (169). Ενδιαφέρον παρουσιάζει επίσης η συχνότερη εμφάνιση των γαστρεντερικών συμπτωμάτων στις γυναίκες ετεροζυγώτες σε σχέση με τους ημιζυγώτες άνδρες (54,2% vs 48,9%) και στα παιδιά σε σχέση με τους ενήλικες ασθενείς (60,8% vs 48,9%). Το κοιλιακό άλγος αποτελεί την πλέον συχνή κλινική εκδήλωση της νόσου από το πεπτικό σύστημα και η επίπτωση του ήταν παρόμοια και στα δύο φύλα, με μέση ηλικία έναρξης το 14<sup>ο</sup> έτος της ηλικίας των ασθενών (169). Διαπιστωμένα πολλαπλά επεισόδια διαρροιών αναφέρονται στο 20,5% των ασθενών και συχνότερα εμφανίζονται στους άνδρες (26% vs 17%) και στα παιδιά (25.4% vs 19.2%) με μέση ηλικία έναρξης το 15<sup>ο</sup> έτος της ηλικίας (145). Δυσκοιλιότητα (13,5%), ναυτία (12,3%) και συχνοί εμετοί (6,7%) ολοκληρώνουν την κλινική εικόνα της προσβολής του πεπτικού συστήματος στη νόσο Fabry. Αιμορροϊδοπάθεια (8,5%), γαστρίτιδα και πεπτικό έλκος (4,4%) καθώς επίσης και επεισόδια παγκρεατίτιδας (0,9%) αποτελούν σπανιότερες εκδηλώσεις της νόσου (144).

Οι δομικές και λειτουργικές διαταραχές της καρδιάς, εμφανίζονται με ευρεία συμπτωματολογία η οποία αυξάνει σημαντικά τη νοσηρότητα και την θνησιμότητα των ασθενών. Στηθάγχη, αρρυθμίες, δύσπνοια αποτελούν τα συχνότερα συμπτώματα



που συνοδεύουν την καρδιακή υπερτροφία, τις αλλοιώσεις των στεφανιαίων αγγείων και των βαλβίδων καθώς επίσης και τις διαταραχές της αγωγιμότητας, που προκαλούν οι εναποθέσεις των αδιάσπαστων GSLs στα διάφορα καρδιακά κύτταρα.

Η υπερτροφία της αριστεράς κοιλίας αποτελεί την πλέον συχνή εκδήλωση της καρδιακής συμμετοχής. Είναι χαρακτηριστικό ότι 6% των ανδρών και 12% των γυναικών με ανεξήγητη ΥΑΚ και ειδικότερα σε αυτούς με όψιμη έναρξη, η υπερτροφία οφείλεται στη νόσο Fabry (103). Σε σύνολο 480 ασθενών της μελέτης καταγραφής FOS, οι οποίοι υπεβλήθησαν σε καρδιολογικό υπερηχογραφικό έλεγχο, ΥΑΚ διαπιστώθηκε στο 53% των ανδρών και στο 33% των γυναικών. Η μέση ηλικία των ασθενών με ΥΑΚ ήταν  $54 \pm 13$  έτη. Η εμφάνιση της ΥΑΚ συσχετιζόταν με συχνότερη επίπτωση καρδιακών αρρυθμιών και βαλβιδοπάθειας στους υπό μελέτη ασθενείς (174). Δομικές αλλοιώσεις των καρδιακών βαλβίδων διαπιστώθηκε στο 14,6% των ασθενών, με συχνότερη την πρόπτωση της μιτροειδούς, οι οποίες όμως στο σύνολο τους σπάνια δημιουργούσαν σοβαρού βαθμού αιμοδυναμικές διαταραχές και μόνο σε μεμονωμένα περιστατικά κρίθηκε αναγκαία η χειρουργική παρέμβαση (175). Αντίθετα οι διαταραχές της αγωγιμότητας συχνά ήταν σοβαρές και διαγνώστηκαν στο 6,7% των γυναικών και στο 12,1% των ανδρών ενώ η τοποθέτηση βηματοδότη πραγματοποιήθηκε σε 2 και 5% των ασθενών αντίστοιχα (176).

Το προκάρδιο άλγος που συχνά εμφανίζει τους κλασικούς χαρακτήρες της στηθάγχης αποτελεί την πλέον συχνή κλινική εκδήλωση της καρδιακής νόσου στους ασθενείς Fabry. Περιγράφεται στο 20% των ασθενών με μέση ηλικία εμφάνισης το 15<sup>ο</sup> έτος και συχνά συνοδεύεται από άτυπες ηλεκτροκαρδιογραφικές αλλοιώσεις αλλά σπάνια οφείλεται σε σοβαρού βαθμού απόφραξη των στεφανιαίων αγγείων και ισχαιμικές αλλοιώσεις του μυοκαρδίου (177). Πράγματι η επίπτωση οξέως εμφράγματος του μυοκαρδίου είναι μικρότερη του 1% ενώ και αγγειογραφικές



μελέτες των στεφανιαίων αγγείων στους ασθενείς με νόσο Fabry δεν ανέδειξαν την ύπαρξη σημαντικού βαθμού στεφανιαίας νόσου (178).

Η καρδιακή δυσλειτουργία είναι δυνατόν να εκδηλωθεί και με δύσπνοια η οποία συνήθως εμφανίζεται μετά από κόπωση ή στη διάρκεια των επώδυνων κρίσεων και περιγράφεται από το 20% των ασθενών και στις περισσότερες των περιπτώσεων αποτελεί ένδειξη καρδιακής ανεπάρκειας. Τέλος αίσθημα παλμών ή διαπιστωμένη αρρυθμία αναφέρεται στο 21,3% των ετερόζυγων γυναικών και στο 15,3% των πασχόντων ανδρών (174).

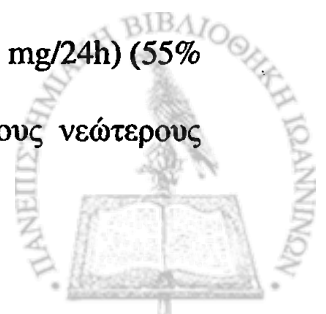
Οι κλινικές εκδηλώσεις της καρδιακής νόσου και ειδικότερα η ΥΑΚ εμφανίζουν προοδευτική επιδείνωση (179) και η σύγχρονη εμφάνιση επιβαρυντικών παραγόντων όπως η υπέρταση, το κάπνισμα και η δυσλιπιδαιμία είναι δυνατόν να οδηγήσουν σε ολική καρδιακή ανεπάρκεια αλλά και στον θάνατο των ασθενών (180).

Η νεφρική προσβολή αποτελεί την σοβαρότερη επιπλοκή της νόσου. Εκδηλώνεται συνήθως στην παιδική ή πρώιμη εφηβική ηλικία με αυξημένη αποβολή GSLS στα ούρα των ασθενών και μικροαλβουμινουρία. Οι Branton και συνεργάτες σε μια μελέτη 105 πασχόντων ανδρών, οι οποίοι καταγράφηκαν από το NIH τη χρονική περίοδο 1970 - 2000, διαπίστωσε ότι σε ποσοστό 75% εμφάνιζαν λευκωματουρία με ηλικία έναρξης  $34 \pm 10$  έτη. Στην ηλικία των 35 ετών το 50% του συνόλου των ασθενών παρουσίαζε λευκωματουρία ενώ γινόταν κοινό εύρημα σε όλους τους εν ζωή ασθενείς στην ηλικία των 52 ετών. Λευκωματουρία τύπου νεφρωσικού συνδρόμου στη μελέτη αυτή αναφέρεται στο 18% των ασθενών, με ηλικία έναρξης  $40 \pm 7$  έτη. Χρόνια νεφρική νόσος (κρεατινίνη ορού  $>1,5$  mg/dl) διαπιστώθηκε σε 40% των ασθενών με μέση ηλικία εμφάνισης το 42<sup>ο</sup> έτος (εύρος 19–54 έτη). Τελικό στάδιο ΧΝΝ παρουσιάστηκε σε 24 από τους 105 ασθενείς της μελέτης, με μέση ηλικία έναρξης το 47<sup>ο</sup> έτος (εύρος 21–56 έτη). Σε 11 ασθενείς με ΧΝΝ, των οποίων ήταν



διαθέσιμα επαρκή δεδομένα, ο χρόνος που απαιτήθηκε για την εξέλιξη της νεφρικής νόσου, από την στιγμή της διάγνωσής της, σε τελικό στάδιο και ένταξη σε εξωνεφρική κάθαρση, ήταν  $4 \pm 3$  έτη (εύρος 1–13 έτη). Η εμφάνιση λευκωματουρίας τύπου νεφρωσικού συνδρόμου προηγήθηκε της έναρξης της ΧΝΝ μόνο στο 18% των περιστατικών ενώ 23% των ασθενών με ΧΝΝ δεν παρουσίασε ποτέ σημαντικού βαθμού λευκωματουρία οδηγώντας τους συγγραφείς στο συμπέρασμα ότι η εμφάνιση λευκωματουρίας στους ασθενείς με νόσο Fabry είναι ανεξάρτητη της ανάπτυξης ΧΝΝ. Στην ίδια μελέτη, 30% των ασθενών εμφάνιζαν παράλληλα με την νεφρική νόσο, αρτηριακή υπέρταση με ηλικία έναρξης το 38<sup>ο</sup> έτος (εύρος 14–54 έτη) (85).

Σε πρόσφατη μελέτη των δεδομένων 1262 Ευρωπαίων ασθενών της FOS όπου περιλαμβανόταν και 677 γυναίκες, ΧΝΝ ( $GFR < 60 \text{ ml/min/1.73m}^2$ ) περιγράφηκε στο 28% των ανδρών (ηλικία: από 20 έως 79 έτη) και στο 13% των γυναικών (20-82 έτη). Από αυτούς οι περισσότεροι ασθενείς παρουσίαζαν ΧΝΝ σταδίου I-II (72% των ανδρών και 87% των γυναικών) ενώ σοβαρού βαθμού ΧΝΝ (σταδίου IV-V) εμφάνιζαν 13% των ανδρών (ηλικία: από 21 έως 79 έτη) και 3% των γυναικών (20-74 έτη) (181). Λευκωματουρία μεγαλύτερη των 300 mg/24h διαπιστώθηκε σε 43% των ανδρών και 26% των γυναικών με ΧΝΝ σταδίου I και τα ποσοστά αυτά αυξανόταν στους ασθενείς με σοβαρότερη νεφρική δυσλειτουργία. Το 11% των ανδρών και 28% των γυναικών με ΧΝΝ που συμμετείχαν στην μελέτη, παρουσίαζαν μικρότερου βαθμού λευκωματουρία ( $< 300 \text{ mg/24h}$ ). Λευκωματουρία τύπου νεφρωσικού συνδρόμου ( $> 3,5 \text{ gm/24h}$ ) διαπιστώθηκε σε ποσοστά 7,3% και 3,6% αντίστοιχα στα δυο φύλλα και ήταν συχνότερη μεταξύ των ασθενών με σοβαρού βαθμού ΧΝΝ. Παράλληλα, μεταξύ των ασθενών με φυσιολογική νεφρική λειτουργία ( $GFR > 60 \text{ ml/min/1.73m}^2$ ), σε 93 περιστατικά διαπιστώθηκε αλβουμινουρία ( $> 30 \text{ mg/24h}$ ) (55% των ανδρών και 35% των γυναικών) η οποία ήταν συχνότερη στους νεότερους



ασθενείς. Εκτός της λευκωματουρίας, οι ασθενείς με ΧΝΝ, συχνά παρουσίαζαν και αρτηριακή υπέρταση. Πράγματι 67% των ασθενών με ΧΝΝ εμφάνιζε τιμές αρτηριακής πίεσης  $\geq 130/80$  mmHg, χωρίς να παρατηρούνται διαφορές μεταξύ των δύο φύλων, ενώ αντίθετα το ποσοστό της υπέρτασης στους ασθενείς με  $GFR \geq 60$  ml/min/1.73m<sup>2</sup> ήταν 48%. Χαρακτηριστικά ο βαθμός της λευκωματουρίας εμφάνισε στατιστικά σημαντική συσχέτιση με τις τιμές της συστολικής πίεσης των ασθενών στη μελέτη. Επίσης ο επιπολασμός της λευκωματουρίας καθώς επίσης και η έντασή της, αποδείχθηκε ότι αυξάνει ανάλογα με την μείωση του GFR και στα δύο φύλα των ασθενών της μελέτης. Για αυτούς τους λόγους οι συγγραφείς συμπεραίνουν ότι όπως και για τις υπόλοιπες νεφροπάθειες, η λευκωματουρία, αποτελεί ανεξάρτητο παράγοντα επιδείνωσης της νεφρικής λειτουργίας και για τους πάσχοντες ασθενείς από τη νόσο Fabry (181). Παράλληλα σε μελέτες ασθενών με σοβαρή ΧΝΝ, υπό θεραπεία ενζυμικής υποκατάστασης, η μείωση της λευκωματουρίας με αναστολείς του μετατρεπτικού ενζύμου ή ανταγωνιστές των υποδοχέων της αγγειοτασίνης II οδήγησε σε σταθεροποίηση της νεφρικής λειτουργίας για μια χρονική περίοδο παρακολούθησης 30 μηνών (182, 183).

Μεταξύ των εκδηλώσεων της νεφρικής προσβολής περιλαμβάνονται επίσης η μικροσκοπική αιματουρία και η λιπιδιουρία. Σε ιδιαίτερα πρώιμα στάδια ανιχνεύονται στα ούρα των ασθενών νεφρικά επιθηλιακά κύτταρα με χαρακτηριστική άθροιση σχηματισμών αδιάσπαστων GSLs που αποκτούν την εικόνα του σταυρού της Μάλτας στο μικροσκόπιο πολωμένου φωτός. Το εύρημα αυτό αποτελεί σημαντικό βοήθημα στη διαγνωστική προσπέλαση των ασθενών και ειδικότερα κατά τη διερεύνηση της νεφρικής προσβολής στα μέλη οικογενειών με νόσο Fabry (184). Η προσβολή των νεφρικών σωληναρίων είναι δυνατόν να προκαλέσει συμπτώματα όπως αδυναμία συμπύκνωσης των ούρων, νεφρογενή άπαιο διαβήτη αλλά και άπαιο



νεφροσωληναριακή οξέωση συμπληρώνοντας την κλινική εικόνα της νεφρικής προσβολής (87).

Ο μέσος ετήσιος ρυθμός επιδείνωσης του GFR στους ασθενείς με νόσο Fabry και ΧΝΝ έχει υπολογιστεί σε 12.2 mL/min/έτος, όπως περίπου συμβαίνει και στη διαβητική νεφροπάθεια (85). Στις ΗΠΑ αλλά και στην Ευρώπη το ποσοστό των ασθενών με νόσο του Fabry σε εξωνεφρική κάθαρση πλησιάζει το 0,02% εκ των οποίων 12% είναι γυναίκες (18, 19). Ο μέσος χρόνος επιβίωσης των πασχόντων ασθενών σε εξωνεφρική κάθαρση υπολογίζεται περίπου στα 5 έτη ενώ η νεφρική μεταμόσχευση εμφανίζει ποσοστά επιβίωσης του νεφρικού μοσχεύματος και των ασθενών, συγκρίσιμα με τον υπόλοιπο πληθυσμό. Σε παλαιότερες βιβλιογραφικές αναφορές και όταν δεν ήταν διαθέσιμες οι μέθοδοι εξωνεφρικής κάθαρσης και της νεφρικής μεταμόσχευσης οι ασθενείς απεβίωναν, κύρια λόγω της ουραιμίας περίπου στην ηλικία των 40 ετών (85).

Ετερόπλευρες ή αμφοτερόπλευρες εμβοές ώτων καθώς και απώλεια της ακοής αναφέρονται συχνά ως επιπλοκές της νόσου (185). Τλιγγος, διπλωπία, δυσαρθρία, νυσταγμός, αταξία, κεφαλαλγία καθώς επίσης γνωσιακές διαταραχές, απώλεια μνήμης αλλά και αδυναμία συγκέντρωσης αποτελούν συμπτώματα ανεπαρκούς κυκλοφορίας κυρίως των αυχενικών αγγείων (186). Παράλληλα η προσβολή των αγγείων του εγκεφάλου είναι δυνατόν να προκαλέσει θρομβωτικά ή αιμορραγικά επεισόδια με αποτέλεσμα την εμφάνιση ανάλογης νευρολογικής συμπτωματολογίας. Η παρουσία ισχαιμικών συμπτωμάτων των εγκεφαλικών αγγείων είναι ιδιαίτερα συχνή (67% των ανδρών και 60% των γυναικών) και η έναρξη τους εμφανίζεται σε αρκετά μικρή ηλικία ( 34<sup>ο</sup> έτος στους άνδρες και 40<sup>ο</sup> έτος στις γυναίκες) (130). Η εμφάνιση αγγειακών εγκεφαλικών επιπλοκών αποτελεί επιβαρυντικό προγνωστικό



δείκτη της πορείας της νόσου, αυξάνοντας σημαντικά το ποσοστό θανάτων μεταξύ των ασθενών (55% στους άνδρες και 40% στις γυναίκες) (187).

Τέλος χρόνια αποφρακτική πνευμονοπάθεια (149, 150), αναιμία (156), ενδοκρινικές διαταραχές (158) και μυοσκελετικές αλλοιώσεις (157) αποτελούν σπανιότερες κλινικές εκδηλώσεις οι οποίες ολοκληρώνουν την κλινική εικόνα της νόσου.

### 1.6.2. Φαινοτυπικές παραλλαγές της νόσου του Fabry.

Στην πλειονότητα των ασθενών η νόσος εκφράζεται κλινικά με μια σειρά ποικίλων εκδηλώσεων οι οποίες εμφανίζουν μια ορισμένη χρονική αλληλουχία. Σε ορισμένα όμως περιστατικά η κλινική συμπτωματολογία περιορίζεται σε μεμονωμένα όργανα ή ιστούς με αποτέλεσμα την καταγραφή στη διεθνή βιβλιογραφία, αναφορών, για την ύπαρξη άτυπων φαινοτυπικών παραλλαγών της νόσου. Αυτοί οι ασθενείς συνήθως παρουσιάζουν σχετικά υψηλά επίπεδα υπολειμματικής δραστηριότητας του ενζύμου α-γαλακτοζιδάση Α ενώ δεν είναι σπάνιες οι περιπτώσεις στις οποίες η άτυπη κλινική έκφραση της νόσου έχει συνδυαστεί με μια ορισμένη μετάλλαξη (188). Οι πλέον συχνές άτυπες παραλλαγές της νόσου αφορούν εκδηλώσεις οι οποίες περιορίζονται στην εμφάνιση συμπτωμάτων από την καρδιά ή από τους νεφρούς.

Ο Von Scheidt και συνεργάτες, περιγράφει για πρώτη φορά το 1991, ασθενή με την καρδιακή μορφή της νόσου Fabry (104). Έκτοτε συχνές είναι οι αναφορές ασθενών χωρίς τις κλασσικές κλινικές εκδηλώσεις της νόσου (δερματικές βλάβες, νευρολογικά συμπτώματα ή προσβολή των οφθαλμών) στους οποίους η διάγνωση τέθηκε λόγω καρδιακών δυσλειτουργιών και ειδικότερα κατά την διερεύνηση ανεξήγητης LVH. Η καρδιακή παραλλαγή συχνά συνοδεύεται από μικρού βαθμού λευκωματουρία η οποία πιθανά να οφείλεται σε περιορισμένη προσβολή των



ποδοκυττάρων (190). Σε μελέτες ελέγχου, ασυμπτωματικών για τη νόσο Fabry, ασθενών με άγνωστη αιτιολογίας υπερτροφική μυοκαρδιοπάθεια, η διάγνωση της νόσου δεν ήταν σπάνια. Οι Nagao και συνεργάτες διέγνωσαν 7 ασθενείς ελέγχοντας μια ομάδα 230 ανδρών με ΥΑΚ(191). Οι Sachdev και συνεργάτες αντίθετα σε 153 άνδρες με όψιμης έναρξης υπερτροφική μυοκαρδιοπάθεια διαπίστωσαν ότι οι 6 έπασχαν από τη νόσο Fabry ενώ οι 3 εμφάνιζαν τον ίδιο τύπο μετάλλαξης (192). Οι Climenti και συνεργάτες σε 34 γυναίκες με παρόμοια χαρακτηριστικά διέγνωσαν τη νόσο σε 4 ασθενείς (12%) (193). Τέλος σε μια Ισπανική πολυκεντρική μελέτη 328 ανδρών και 180 γυναικών, μέσης ηλικίας  $58 \pm 15$  έτη, με υπερτροφική μυοκαρδιοπάθεια η διάγνωση της νόσου επιβεβαιώθηκε στο 0,9% των ανδρών και στο 1,1% των γυναικών αν και 15 ασθενείς (3%) εμφάνιζαν επίπεδα ενζύμου χαμηλότερα του φυσιολογικού (194, 195).

Η υπολειμματική δραστηριότητα του ενζύμου α-γαλακτοζιδάση Α στην καρδιακή παραλλαγή της νόσου κυμαίνεται από 5 έως 35% σε σχέση με εκείνη που καταγράφεται στα φυσιολογικά άτομα. Σχεδόν όλοι οι ασθενείς οι οποίοι έχουν περιγραφεί με την άτυπη καρδιακή φαινοτυπική έκφραση φέρουν σημειακές μεταλλάξεις συμβατές με τη σύνθεση ενζυμικής πρωτεΐνης. Έχουν περιγραφεί ορισμένες μεταλλάξεις που πιστεύεται ότι συνδυάζονται συχνότερα με την καρδιακή παραλλαγή παρά με την κλασική κλινική έκφραση της νόσου (208). Οι Yoshitama και συνεργάτες σε μια μελέτη των μελών 3 οικογενειών με την καρδιακή φαινοτυπική μορφή της νόσου, διαπίστωσαν ότι βιοχημικά η νόσος επιβεβαιώθηκε μόνο στους ημιζυγώτες άρρενες ενώ οι γυναίκες φορείς δεν εμφάνιζαν κανένα στοιχείο προσβολής της καρδιάς και συγχρόνως τα επίπεδα της α-γαλακτοζιδάσης Α ήταν φυσιολογικά (196).





Μεμονωμένη νεφρική προσβολή έχει διαπιστωθεί σε ορισμένες περιπτώσεις ασθενών με αποτέλεσμα να έχει καταχωρηθεί στη διεθνή βιβλιογραφία σαν μια ξεχωριστή κλινική έκφραση της νόσου. Όπως και στην καρδιακή έτσι και στη νεφρική παραλλαγή δεν είναι εμφανείς οι κλασικές κλινικές εκδηλώσεις της νόσου, ενώ τα επίπεδα υπολειμματικής δραστηριότητας του ενζύμου α-γαλακτοζιδάση Α είναι συνήθως υψηλότερα από εκείνα των ασθενών με τους κλασικούς φαινοτύπους (189). Η πρώτη περιγραφή της νεφρικής παραλλαγής έγινε από τον Nakao και συνεργάτες, το 2003, οι οποίοι διαπίστωσαν χαμηλά επίπεδα α-γαλακτοζιδάση Α (< 7% έως 28.6% του φυσιολογικού) σε 6 από τους 514 ασθενείς σε αιμοκάθαρση που μελέτησαν, εκ των οποίων οι 5 δεν εμφάνιζαν κάποιο από τα κλασικά συμπτώματα της νόσου. Και οι έξι ασθενείς εμφάνιζαν σημειακές μεταλλάξεις εκ των οποίων η μία περιγράφηκε για πρώτη φορά. Σε όλους τους ασθενείς η διάγνωση της πρωτοπαθούς νεφρικής νόσου, βασισμένη εσφαλμένα, αποκλειστικά στο ιστορικό της λευκωματουρίας, ήταν χρόνια σπειραματονεφρίτιδα. Παρόλο που οι συγγραφείς θεώρησαν ότι επρόκειτο για ιδιαίτερη κλινική έκφραση της νόσου, την οποία περιέγραψαν σαν νεφρική παραλλαγή, οι 5 από τους 6 ασθενείς της μελέτης εμφάνιζαν παράλληλα και ΥΑΚ(197). Οι παρατηρήσεις αυτές οδήγησαν ορισμένους συγγραφείς στην, εκ νέου, διερεύνηση της νόσου, στους ασθενείς σε χρόνια εξωνεφρική κάθαρση και ειδικότερα σε αυτούς στους οποίους η διάγνωση της πρωτοπαθούς νεφρικής νόσου δεν ήταν απόλυτα επιβεβαιωμένη. Τα αποτελέσματα των νεώτερων μελετών δεν επιβεβαίωσαν αυτά των Makao και συνεργατών και μόνο σποραδικά νέα περιστατικά διαγνώστηκαν μεταξύ των ασθενών σε εξωνεφρική κάθαρση (198, 199).

Ο έλεγχος των ασθενών σε τελικό στάδιο χρόνιας νεφρικής νόσου, ειδικότερα όταν συνυπάρχει ανεξήγητη ΥΑΚ ή κάποιο άλλο σύμπτωμα ενδεικτικό της νόσου



Fabry κρίνεται απαραίτητος για την πιθανή διάγνωση της νόσου και σε άλλα μέλη της οικογενείας τους (189). Εκτός αυτού έχει αποδειχθεί ότι οι ασθενείς σε εξωνεφρική κάθαρση μετά από την εφαρμογή της θεραπείας ενζυμικής υποκατάστασης είναι δυνατόν να παρουσιάσουν βελτίωση των καρδιαγγειακών τους επιπλοκών και της συνολικής νοσηρότητας και θνησιμότητας τους (199).

Τέλος έχουν περιγραφεί μεμονωμένα περιστατικά ασθενών στα οποία η κλινική έκφραση της νόσου περιορίζεται στις νευρολογικές εκδηλώσεις όπως ακροπαραισθησίες, επώδυνους μυϊκούς σπασμούς αποκτώντας χαρακτηριστικά αμιγώς νευρολογικής νόσου (200).

### 1.6.3. Η νόσος Fabry στις Γυναίκες ετεροζυγώτες

Η νόσος Fabry αποτελεί μια κληρονομούμενη, φυλοσύνδετη με το χρωμόσωμα X, μεταβολική διαταραχή η οποία μεταδίδεται ακολουθώντας τους βασικούς κανόνες των X φυλοσύνδετων νοσημάτων. Οι ημιζυγώτες άνδρες, φορείς του ελαττωματικού γονιδίου, νοσούν στο σύνολο τους αν και είναι δυνατόν να εμφανίζουν μια ποικιλία φαινοτυπικών εκδηλώσεων. Οι πάσχοντες άνδρες δεν θα μεταδώσουν τη νόσο στα άρρενα τέκνα τους αλλά αντίθετα σε όλες τις γυναίκες που θα γεννηθούν από αυτούς, οι οποίες θα είναι ετερόζυγες φορείς της μετάλλαξης, λόγω του ότι θα κληρονομήσουν από τον πατέρα τους το X χρωμόσωμα που θα φέρει το ελαττωματικό γονίδιο. Με τη σειρά τους οι ετερόζυγες κόρες του πάσχοντος πατέρα, εμφανίζουν 50% πιθανότητα να μεταδώσουν τη νόσο σε καθένα από τα παιδιά τους.

Για πολλά χρόνια η νόσος θεωρείτο υπολειπόμενη φυλοσύνδετη διαταραχή, αλλά πρόσφατες μελέτες απέδειξαν ότι συχνά η κλινική έκφραση της νόσου στις γυναίκες ετεροζυγώτες είναι ιδιαίτερα σοβαρή, με αποτέλεσμα ορισμένοι συγγραφείς να τείνουν να την κατατάξουν στις κληρονομούμενες νόσους με επικρατούντα



χαρακτήρα τουλάχιστον σε όσον αφορά τις κλινικές της εκδηλώσεις (201). Οι γυναίκες φορείς εμφανίζουν σημαντική ποικιλομορφία ως προς τη σοβαρότητα της έκφρασης της νόσου αλλά και της πορείας των κλινικών εκδηλώσεων στη διάρκεια της ζωής των ασθενών. Συνήθως τα συμπτώματα στις γυναίκες είναι λιγότερο σοβαρά σε σχέση με τους άνδρες ημιζυγώτες αλλά δεν είναι σπάνια η πλήρης εμφάνιση της κλασικής κλινικής έκφρασης της νόσου με σημαντική καρδιακή, νεφρική και νευρολογική νοσηρότητα (201).

Η έντονη ποικιλομορφία των κλινικών εκδηλώσεων στις γυναίκες φορείς συχνά συνδυάζεται με τον τύπο της εμφανιζόμενης μετάλλαξης όπως και στους άνδρες ημιζυγώτες αλλά κύρια πιστεύεται ότι οφείλεται στο φαινόμενο της αδρανοποίησης του χρωμοσώματος X. Η αδρανοποίηση του χρωμοσώματος X έχει μία ιστορία 40 χρόνων εντατικής επιστημονικής έρευνας αλλά ο μοριακός μηχανισμός του φαινομένου αποσαφηνίστηκε μόλις τα τελευταία δέκα χρόνια (202). Με τον όρο αδρανοποίηση αναφερόμαστε στη διατήρηση, σε μεταγραφικά ενεργό μορφή, ενός μόνου αντιγράφου του χρωμοσώματος X σε κάθε κύτταρο του ανθρώπινου οργανισμού, με παράλληλη μεταγραφική καταστολή/σιγή της πλειοψηφίας των γονιδίων των υπολοίπων X χρωμοσωμάτων του γονιδιώματος. Η παρουσία δυο X χρωμοσωμάτων στα φυσιολογικά θηλυκά άτομα και ενός μόνο X χρωμοσώματος στα φυσιολογικά αρσενικά άτομα είναι μοναδική σε σύγκριση με τους ίσους αριθμούς αυτοσωμάτων παρόντων στους πυρήνες των κυττάρων και των δυο φύλων. Θεωρητικά και μόνο, θα μπορούσαμε να υποθέσουμε ότι αυτή η διαφορά θα μπορούσε να δημιουργήσει ένα πρόβλημα «γενετικής δόσης» μεταξύ των αρσενικών και θηλυκών ατόμων όσον αφορά στα γονίδια που εδράζονται στο X χρωμόσωμα, από τη στιγμή που τα θηλυκά άτομα έχουν δυο αντίγραφα για κάθε γονίδιο ενώ τα αρσενικά μόνο ένα. Συνεπώς, υπάρχει δυνατότητα παραγωγής

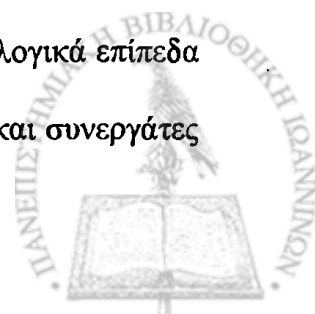


διπλάσιας ποσότητας από το γονιδιακό προϊόν καθενός γονιδίου του X χρωμοσώματος. Η διατήρηση σε ενεργό μορφή ενός μόνο X χρωμοσώματος είναι απόλυτα απαραίτητη για την παραγωγή ίσων ποσοτήτων πρωτεϊνών από το ένα X χρωμόσωμα των αρσενικών και τα δύο X των θηλυκών ατόμων (203).

Στον άνθρωπο κατά κανόνα η αδρανοποίηση του χρωμοσώματος X είναι τυχαία, με την έννοια ότι τόσο το πατρικό όσο και το μητρικό χρωμόσωμα έχουν την ίδια πιθανότητα να αδρανοποιηθούν (50%). Επίσης είναι γνωστό ότι οι χρωμοσωμικές ανωμαλίες εντοπίζονται από τον μηχανισμό της αδρανοποίησης με αποτέλεσμα να αδρανοποιείται επιλεκτικά το χρωμόσωμα που φέρει τις βλάβες αυτές (204). Παρόλα αυτά σε ορισμένες περιπτώσεις, όπως και στη νόσο του Fabry, η αδρανοποίηση του X χρωμοσώματος δεν ακολουθεί τον κανόνα της τυχαίας αδρανοποίησης με αποτέλεσμα την εκδήλωση μιας παραδοσιακά «ανδρικής» νόσου του X χρωμοσώματος και στις γυναίκες.

Η συχνότητα της μη τυχαίας αδρανοποίησης ή της εμφάνισης σοβαρού βαθμού ασυμμετρίας είναι αρκετά συχνή στις γυναίκες φορείς μεταλλάξεων υπεύθυνων για τη νόσο Fabry (205). Τα χαρακτηριστικά της αδρανοποίησης δεν είναι όμοια σε όλους τους κυτταρικούς πληθυσμούς του ανθρώπινου οργανισμού με αποτέλεσμα την ετερογενή εμφάνιση κλινικών εκδηλώσεων της νόσου στους διάφορους ιστούς και όργανα των ετερόζυγων γυναικών. Όπως φαίνεται από πολλαπλές κλινικές μελέτες ο τρόπος αδρανοποίησης του χρωμοσώματος X αποτελεί καθοριστικό παράγοντα στην κλινική έκφραση αλλά και στην εξέλιξη της νόσου του στις ετερόζυγες γυναίκες (206, 207).

Οι κλινικές εκδηλώσεις της νόσου Fabry στις γυναίκες φορείς εμφανίζουν μεγάλη ετερογένεια και συχνά είναι ιδιαίτερα σοβαρές παρά τα φυσιολογικά επίπεδα της α-γαλακτοζιδάσης Α στο αίμα των ασθενών (208, 210). Οι Gurta και συνεργάτες



διαπιστώσανε ότι 91% των 57 ετερόζυγων γυναικών Fabry που μελετήσανε, εμφάνιζε σημαντικές καρδιακές, νεφρικές και νευρολογικές εκδηλώσεις παρότι τα επίπεδα Gb3 στο πλάσμα των ασθενών ήταν φυσιολογικά (209).

Στην μεγαλύτερη παγκόσμια καταγραφή ασθενών Fabry, η οποία δημιουργήθηκε το 2001 ([www.fabryregistry.com](http://www.fabryregistry.com)), από τις 1077 γυναίκες φορείς οι οποίες έχουν αρχικά καταχωρηθεί, το 69,4% εμφάνιζε εκδηλώσεις της νόσου (211). Η μέση ηλικία έναρξης των συμπτωμάτων ήταν το 13<sup>ο</sup> έτος (σε αντίθεση με το 9<sup>ο</sup> έτος στους άνδρες της μελέτης) και στο 84,1% των ασθενών παρότι υπήρχε θετικό οικογενειακό ιστορικό για τη νόσο, η διάγνωση επιβεβαιώθηκε μόλις στο 31<sup>ο</sup> έτος της ηλικίας τους. Ακροπαραισθησίες καταγράφηκαν στο 43,3% των γυναικών (N=457) με ηλικία έναρξης  $14.2 \pm 11.8$  έτη σε σχέση με το 63.3% των ανδρών (N=716) και τα  $10.4 \pm 7.8$  έτη αντίστοιχα ( $p < 0.0001$ ). Χαρακτηριστικές εκδηλώσεις προσβολής των οφθαλμών ήταν εμφανείς σε 12,5% (N=132) των γυναικών και σε 10,1% των ανδρών ενώ δερματικές αλλοιώσεις εμφάνιζε το 31% των ανδρών και το 11.2% των γυναικών (N=118). Συμπτώματα από το πεπτικό σύστημα αντίθετα παρουσιάστηκαν σε 11,9% των γυναικών και σε 18,5% των ανδρών με μέση ηλικία έναρξης  $10.8 \pm 9.6$  έτη στους άνδρες και  $18.7 \pm 13.4$  έτη στις γυναίκες (211).

Σε 20% των ασθενών διαπιστώθηκε η εμφάνιση μείζονος καρδιακού, νεφρικού ή αγγειακού εγκεφαλικού συμβάματος στη μέση ηλικία των 46 ετών. Μεταξύ των ενήλικων γυναικών της μελέτης με καταγραφή του eGFR (N=638), 62,5% εμφάνιζαν GFR  $< 90$  ml/min/1.73m<sup>2</sup> ενώ 19% παρουσίαζαν eGFR  $< 60$  ml/min/1.73 m<sup>2</sup>. Λευκωματουρία  $\geq 300$  mg/24h εμφάνιζε το 39% των γυναικών ενώ 22.2% παρουσίαζε περισσότερο από 1 gram/24h (211).

Συνολικά 44 γυναίκες (4,2%) παρουσίασαν αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο με μέση ηλικία εμφάνισης τα 43,8 έτη ενώ και στους άνδρες η επίπτωση δεν εμφάνιζε



μεγάλες διαφορές [76 περιστατικά ΑΕΕ (6,7%) σε ηλικία 39,5 έτη]. Εκτός αυτών παροδικά ΑΕΕ εμφάνισαν 41 γυναίκες (3,9%) και 19 άνδρες (211).

Η καρδιαγγειακή προσβολή των ασθενών στην καταγραφή παρουσίαζε τα ίδια ποσοστά εμφάνισης και στα δύο φύλα αν και η έναρξη των συμπτωμάτων στους άνδρες ήταν πλέον πρώιμη. Η LVH που αποτελεί την πιο συχνή καρδιακή κλινική εκδήλωση της νόσου, διαπιστώθηκε στο 18,2% των γυναικών με μέση ηλικία έναρξης τα  $49.81 \pm 12.4$  έτη ενώ στους άνδρες το ποσοστό ανερχόταν στο 21,6% ενώ η αντίστοιχη ηλικία ήταν εμφανώς μικρότερη  $41.6 \pm 10.9$  έτη ( $p < 0.0001$ )(211).

Η εγκατάσταση όλων αυτών των κλινικών εκδηλώσεων της νόσου στις ετερόζυγες γυναίκες εκτός της ιδιαίτερα αυξημένης νοσηρότητας επιδρά αρνητικά και στην ποιότητα ζωής των ασθενών. Ειδικότερα οι πάσχουσες γυναίκες, ηλικίας μεταξύ 25 και 35 ετών, όταν τα συμπτώματα της νόσου εκδηλώνονται στο σύνολο τους και σε πλήρη έκφραση, εμφανίζουν δείκτες εκτίμησης της ποιότητας ζωής, όπως ο SF-36<sup>®</sup>, ιδιαίτερα επιδεινωμένους σε σχέση με αυτούς που καταγράφονται στο γενικό πληθυσμό και σε πολλές μελέτες είναι παρόμοιοι με εκείνους των πασχόντων ανδρών (212). Αντίθετα σε νεώτερες ηλικίες (<25 έτη) αλλά και στις ηλικιωμένες γυναίκες οι δείκτες της ποιότητας ζωής (QoL) σε σχέση με τους πάσχοντες άνδρες αντίστοιχων ηλικιών είναι καλύτεροι γεγονός το οποίο αναδεικνύει την όψιμη έναρξη των συμπτωμάτων της νόσου στις γυναίκες ετεροζυγώτες αλλά και την ηπιότερη εξέλιξη των κλινικών εκδηλώσεων στις περισσότερες από αυτές (213).

Οι ετερόζυγες γυναίκες συχνά εμφανίζουν τα κλασικά συμπτώματα της νόσου ενώ σημαντικός παραμένει και σε αυτές ο κίνδυνος ανάπτυξης σοβαρότερων κλινικών εκδηλώσεων της νόσου όπως η καρδιακή και νεφρική προσβολή και τα ΑΕΕ. Η ποιότητα ζωής και των γυναικών φορέων της νόσου είναι επηρεασμένη ενώ παράλληλα παρουσιάζουν αυξημένη νοσηρότητα και θνησιμότητα σε σχέση με τον



γενικό πληθυσμό. Παρόλα αυτά ο συνολικός αριθμός των γυναικών ο οποίος έχει ενταχθεί σε θεραπεία ενζυμικής υποκατάστασης παραμένει σχετικά χαμηλός ( 53.1% των γυναικών με LVH και 46.7% με σοβαρού βαθμού ΧΝΝ ) (199). Η διερεύνηση των γενεαλογικών δένδρων γνωστών οικογενειών με νόσο Fabry πρέπει απαραίτητα να συμπεριλαμβάνει και τις πιθανές γυναίκες φορείς οι οποίες προτείνεται να παρακολουθούνται συστηματικά και όταν εμφανίζουν εκδηλώσεις της νόσου θα πρέπει να αντιμετωπίζονται όπως οι πάσχοντες άνδρες.



## 1.7. ΔΙΑΓΝΩΣΗ

Οι αρχικές κλινικές εκδηλώσεις της νόσου στις περισσότερες περιπτώσεις εμφανίζουν ιδιαίτερη ετερογένεια και συχνά διαφεύγουν της προσοχής των θεράποντων ιατρών ή οδηγούν σε λανθασμένη διάγνωση. Η σχετικά χαμηλή επίπτωση της νόσου στο γενικό πληθυσμό καθώς επίσης η ηπιότητα και ο συχνά άτυπος χαρακτήρας των εναρκτήριων συμπτωμάτων έχει σαν αποτέλεσμα την δραματική καθυστέρηση της επιβεβαίωσης της διάγνωσης (188). Η μέση ηλικία έναρξης της κλινικής έκφρασης της νόσου όπως προκύπτει από τις διεθνείς καταγραφές είναι το 9<sup>ο</sup> έτος για τους άνδρες και το 13<sup>ο</sup> για τις ετερόζυγες γυναίκες ενώ η επιβεβαίωση της διάγνωσης πραγματοποιείται στο 23<sup>ο</sup> έτος στους άνδρες και κατά το 32<sup>ο</sup> έτος αντίστοιχα στις γυναίκες (161, 187). Οι συστηματικές εκδηλώσεις της νόσου και η ύπαρξη κοινών συμπτωμάτων τα οποία εμφανίζονται και σε πολλά άλλα νοσήματα όπως ο πόνος και ο πυρετός ή οι γαστρεντερικές διαταραχές επιπλέκει περαιτέρω την διαγνωστική προσπέλαση των ασθενών. Πράγματι συχνά οι ασθενείς με νόσο Fabry αρχικά είχαν διαγνωσθεί σαν πάσχοντες από ρευματικά νοσήματα ή νευρολογικές και ψυχιατρικές παθήσεις (167).

Η διάγνωση της νόσου κύρια βασίζεται στον ενδελεχή έλεγχο του οικογενειακού και ατομικού ιστορικού αλλά και στην ορθή εκτίμηση των συμπτωμάτων που εμφανίζουν οι ασθενείς. Το οικογενειακό ιστορικό και η ανεύρεση μελών της οικογένειας οι οποίοι πάσχουν από τη νόσο συχνά επιβεβαιώνει τη διάγνωση (214). Η διάγνωση ενός νέου ασθενούς πρέπει απαραίτητα να συνοδεύεται από ενδελεχή έλεγχο όλων των ανδρών της οικογένειας που σύμφωνα με τον τρόπο μετάδοσης της νόσου πιθανά να νοσούν ενώ παράλληλα ο έλεγχος θα πρέπει να εκτείνεται και στις γυναίκες της οικογένειας για την ανάδειξη πιθανών ετερόζυγων φορέων. Η νόσος θα πρέπει να πιθανολογείται σε παιδιά τα οποία εμφανίζουν





αγγειοκερατώματα ή ακροπαραισθησίες, που συχνά συνοδεύονται από δυσανεξία στο κρύο ή τη ζέστη αλλά και ανεξήγητες συχνές γαστρεντερικές διαταραχές καθώς επίσης και σε νέους ενήλικες με ανεξήγητη πρωτεϊνουρία ή έκπτωση της νεφρικής λειτουργίας, με αρρυθμίες ή LVH αλλά και σε αυτούς που έχουν υποστεί ΑΕΕ σε σχετικά νεαρή ηλικία (215). Σε αρκετά εθνικά συστήματα υγείας έχουν ορισθεί κατευθυντήριες οδηγίες για την ορθολογική αντιμετώπιση της νόσου. Ορισμένα δε εξ αυτών έχουν θεσπίσει κριτήρια για τη διαγνωστική προσπέλαση αλλά και τον τρόπο παρακολούθησης των ασθενών. Στα μείζονα κριτήρια περιλαμβάνονται το θετικό οικογενειακό ιστορικό, τα αγγειοκερατώματα, η νεφρική προσβολή, οι ακροπαραισθησίες, οι χαρακτηριστικές αλλοιώσεις των οφθαλμών, τα ΑΕΕ και η LVH. Αντίθετα στα ελάσσονα κριτήρια κατατάσσονται οι χρόνιες γαστρεντερικές διαταραχές, η υποϊδρωσία, η δυσανεξία στη ζέστη, οι διαταραχές της ακοής και ο ίλιγγος, η ορθοστατική υπόταση, το λεμφοίδημα, οι αρρυθμίες και η βαλβιδοπάθεια, αρθραλίες και αρθρίτιδες καθώς επίσης και ευρήματα ισχαιμικής νόσου του ΚΝΣ στον έλεγχο με MRI. Στους ενήλικες η LVH από μόνη της ή η εμφάνιση ενός μείζονος και ενός ελάσσονος κριτηρίου ή τέλος η ύπαρξη τριών ελασσόνων κριτηρίων πρέπει να οδηγήσει τον ασθενή σε περαιτέρω έλεγχο για την επιβεβαίωση της νόσου Fabry. Αντίθετα σε νέους, ηλικίας κάτω των 16 ετών, είναι αρκετή η ύπαρξη ενός μείζονος ή τριών ελασσόνων κριτηρίων για την ολοκλήρωση του ειδικού ελέγχου τεκμηρίωσης της νόσου (216, 217, 218).

Η εργαστηριακή επιβεβαίωση της διάγνωσης της νόσου πραγματοποιείται με τη μέτρηση της δραστηριότητας του ενζύμου α-γαλακτοζιδάσης Α στο πλάσμα ή στα λευκά αιμοσφαίρια του αίματος των ασθενών (219, 220). Οι πάσχοντες από την κλασική μορφή της νόσου εμφανίζουν συνήθως μηδενική δραστηριότητα του ενζύμου ενώ στις άτυπες παραλλαγές είναι δυνατόν να ανιχνευθεί ικανού βαθμού



υπολειμματική δραστηριότητα (5 έως 35% του φυσιολογικού) η οποία είναι υπεύθυνη για την ηπιότερη κλινική έκφραση της νόσου. Αντίθετα για την τεκμηρίωση της νόσου στις γυναίκες ετεροζυγώτες δεν επαρκεί ο βιοχημικός προσδιορισμός των επιπέδων της α-γαλακτοζιδάσης A γιατί συχνά η δραστηριότητα του ενζύμου στο πλάσμα των ασθενών είναι φυσιολογική (220, 221). Η εμφάνιση στις ετερόζυγες γυναίκες των απαραίτητων κριτηρίων της νόσου πρέπει να συνοδεύεται από την ανίχνευση της υπεύθυνης οικογενειακής μετάλλαξης για να τεκμηριωθεί η διάγνωση (223). Ο προγεννητικός έλεγχος της νόσου σε εγκυμονούσες υψηλού κινδύνου είναι εφικτός και ασφαλής μέσω της εκτίμησης της δραστηριότητας του ενζύμου αλλά και με την ανίχνευση της μετάλλαξης ήδη από το 1ο τρίμηνο της κύησης σε δείγματα χοριακών λαχνών ή σε καλλιέργειες αμνιακών κυττάρων (222).

Ο βιοχημικός προσδιορισμός των επιπέδων των αδιάσπαστων GSLs και ειδικότερα του Gb3 στο αίμα αλλά και σε διάφορους ιστούς των ασθενών είναι δυνατόν να βοηθήσει στη διάγνωση της νόσου αλλά κυρίως είναι ένας ασφαλής δείκτης της εκτίμησης της αποτελεσματικότητας της θεραπευτικής παρέμβασης με ενζυμική υποκατάσταση (218). Η παρακολούθηση των ασθενών πρέπει να είναι συνεχής και να πραγματοποιείται με τη συνεργασία πολλαπλών ιατρικών ειδικοτήτων με απαραίτητη προϋπόθεση την επαρκή γνώση των ειδικών προβλημάτων και πιθανών επιπλοκών τις οποίες μπορεί να εμφανίσει ο ασθενής στην πορεία της νόσου. Ο έλεγχος της νεφρικής νόσου, της εξέλιξης της καρδιακής συμμετοχής αλλά και των ισχαιμικών αγγειακών αλλοιώσεων του ΚΝΣ πρέπει να ακολουθεί τις ειδικές κατευθυντήριες οδηγίες, οι οποίες έχουν θεσπιστεί από τις αντίστοιχες επιστημονικές εταιρίες για την μελέτη και παρακολούθηση ασθενών με ανάλογα προβλήματα που αφορούν την κάθε ιατρική ειδικότητα χωριστά (219).



## 1.8. ΘΕΡΑΠΕΙΑ

Η επιβεβαίωση της διάγνωσης απαιτεί τη δημιουργία μιας ιατρικής ομάδας η οποία θα είναι σε θέση να αντιμετωπίσει τα πολλαπλά προβλήματα υγείας που θα προκύπτουν στον ασθενή από αυτή τη τόσο σπάνια κληρονομική νόσο. Πρωταρχικός στόχος είναι η άμεση διερεύνηση του γενεαλογικού δένδρου του ασθενούς και η ενημέρωση των μελών της οικογένειας για τη φύση της νόσου ενώ συγχρόνως επιτυγχάνεται η πρόωμη διάγνωση και άλλων ασθενών ή φορέων του ελαττωματικού γονιδίου και η ένταξή τους σε χρόνια παρακολούθηση. Η αντιμετώπιση των ποικίλων κλινικών εκδηλώσεων της νόσου πρέπει να βασίζεται στην αρμονική συνεργασία πολλαπλών ιατρικών ειδικοτήτων με απαραίτητη την συμμετοχή των νεφρολόγων, των καρδιολόγων και των νευρολόγων λόγω της ιδιαίτερα συχνής και στις περισσότερες των περιπτώσεων, σοβαρής προσβολής των αντίστοιχων οργάνων. Η αντιμετώπιση των πασχόντων ασθενών περιλαμβάνει κυρίως την πρόληψη εμφάνισης των κλινικών εκδηλώσεων της νόσου και τη συμπτωματική θεραπεία αυτών. Η εξωγενής χορήγηση του ελλειμματικού ενζύμου και η επακόλουθη επαρκής υποκατάσταση της ενζυμικής δραστηριότητας αποτελούν την πλέον ορθολογική και συγχρόνως αποτελεσματική διαθέσιμη μορφή θεραπευτικής παρέμβασης (188).

### 1.8.1. Συμπτωματική αντιμετώπιση

Ο πόνος και ειδικότερα η εμφάνιση του στην παιδική και εφηβική ηλικία, αποτελεί τη συχνότερη και πλέον βασανιστική εκδήλωση της νόσου. Η αναγνώριση και η αποφυγή των ερεθισμάτων που είναι δυνατόν να τον προκαλέσουν αποτελεί τον σημαντικότερο παράγοντα πρόληψης και την αρτιότερη μορφή αντιμετώπισής του. Η αποφυγή της σωματικής και συναισθηματικής καταπόνησης καθώς επίσης και της έκθεσης σε έντονες αλλαγές της θερμοκρασίας είναι δυνατόν να μειώσουν σημαντικά



τη συχνότητα αλλά και τη σοβαρότητα εμφάνισης των επώδυνων συμπτωμάτων στους ασθενείς. Η χορήγηση αναλγητικών είναι στις περισσότερες των περιπτώσεων αναποτελεσματική και πρέπει να αποφεύγεται γιατί μπορεί να οδηγήσει σε κατάχρηση και συχνά σε φαρμακευτική εξάρτηση. Τα μη στεροειδή αντιφλεγμονώδη, αν και σε ορισμένους ασθενείς προκαλούν μερική ύφεση του πόνου, πρέπει να αποφεύγονται λόγω της νεφροτοξικής τους δράσης. Σύμφωνα με τις οδηγίες της WHO (Παγκόσμιας Οργάνωσης Υγείας) για την αντιμετώπιση ασθενών με χρόνια, νευροπαθητικού τύπου, άλγος προτείνεται η προληπτική χορήγηση αντιεπιληπτικών σκευασμάτων, σταθεροποιητών της μεμβράνης, όπως η φαινιτοΐνη, η καρμπαζεπίνη και η γκαμπαπεντίνη (224, 225).

Η αντιμετώπιση των εκδηλώσεων από τα αγγεία, την καρδιά και τους νεφρούς συνίσταται στην πιστή εφαρμογή των κατευθυντήριων οδηγιών που έχουν θεσπίσει οι αντίστοιχες επιστημονικές εταιρείες για την άρτια παρακολούθηση όλων των ασθενών με παρόμοια προβλήματα. Η επαρκής ρύθμιση της αρτηριακής πίεσης, η αποφυγή του καπνίσματος, η διαιτητική και φαρμακευτική διόρθωση διαταραχών των λιπιδίων και η προληπτική χορήγηση αντιπηκτικών αλλά και φαρμακευτικών σκευασμάτων (αναστολείς του ACE ή ανταγωνιστές των ATII υποδοχέων) τα οποία βελτιώνουν τη λευκωματουρία, επιβραδύνουν την εξέλιξη της νεφρικής νόσου και επιδρούν ευεργετικά στην LVH πρέπει να συμπεριλαμβάνονται στην υπόλοιπη συμπτωματική αγωγή των ασθενών (226). Η νεφρική μεταμόσχευση αποτελεί απόλυτη ένδειξη στους ασθενείς με ΤΣΧΝΝ και έχει σαν αποτέλεσμα, εκτός από την αποκατάσταση της νεφρικής λειτουργίας και την μακρόχρονη αποφυγή εναπόθεσης αδιάσπαστων GSLs στο νεφρικό μόσχευμα, ειδικότερα αν ο ασθενής ενταχθεί σε θεραπεία ενζυμικής υποκατάστασης (244).



### 1.8.2. Θεραπεία ενζυμικής υποκατάστασης

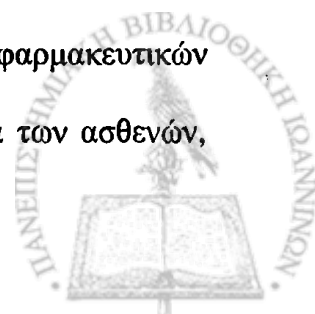
Η νόσος Fabry οφείλεται στην μερική ή ολική ανεπάρκεια του λυσοσωμιακού ενζύμου α-γαλακτοζιδάση A. Η ταυτοποίηση του υπεύθυνου ανθρώπινου γονιδίου για τη σύνθεση του εν λόγω ενζύμου και η εξέλιξη των τεχνικών του ανασυνδυασμένου DNA, επέτρεψαν την εργαστηριακή παραγωγή ικανών ποσοτήτων ενζύμου που έδωσαν το έναυσμα για την μελέτη της αποτελεσματικότητας της εξωγενούς χορήγησης του ενζύμου σαν μορφή θεραπευτικής αντιμετώπισης της νόσου. Δύο παρόμοια προϊόντα, με ορισμένες βιοτεχνολογικές διαφορές στον τρόπο παραγωγής τους, έχουν ολοκληρώσει με επιτυχία τις απαιτούμενες μελέτες και προτείνονται για την θεραπεία ενζυμικής υποκατάστασης της νόσου (11,12). Πρόκειται για δύο διαφορετικές ανασυνδυασμένες μορφές του ανθρώπινου ενζύμου α-γαλακτοζιδάση A, οι οποίες είναι η agalsidase alpha (Replagal®, Shire Human Genetic Therapies, Inc.) η οποία παράγεται από ανθρώπινη κυτταρική σειρά και η agalsidase beta (Fabrazyme®, Genzyme Corp.) η οποία παράγεται σε CHO (Chinese Hamster Ovary) κύτταρα.

Η θεραπεία ενζυμικής υποκατάστασης έχει εγκριθεί από το σύνολο των συστημάτων της δημόσιας υγείας σε όλον τον πλανήτη. Ήδη από τις πρώτες κλινικές μελέτες είχε αποδειχθεί η αποτελεσματικότητα και η ασφάλεια της εξωγενούς χορήγησης της ανασυνδυασμένης α-GAL A (228). Πράγματι παρατηρήθηκε μείωση των επιπέδων των αδιάσπαστων GSLs στο πλάσμα αλλά και στους ιστούς των ασθενών που μελετήθηκαν με παράλληλη αύξηση της ιστικής δραστηριότητας του ενζύμου. Οι παρενέργειες κατά την έγχυση δεν ήταν σημαντικές, αντιμετωπιζόταν με ευκολία και σε μακροχρόνιες παρατηρήσεις, παρά την εμφανιζόμενη ορομετατροπή, δηλαδή την ανάπτυξη ειδικών αντισωμάτων έναντι του εξωγενώς χορηγούμενου ενζύμου, οι ανεπιθύμητες αντιδράσεις ήταν περιορισμένες και μικρής έντασης (255).



Η νοσηρότητα, η ποιότητα ζωής και τέλος η θνησιμότητα των ασθενών επηρεάζονται κύρια λόγω των νευρολογικών, καρδιαγγειακών και νεφρικών κλινικών εκδηλώσεων της νόσου. Η θεραπεία ενζυμικής υποκατάστασης μείωσε την συχνότητα εμφάνισης των επώδυνων κρίσεων στους ασθενείς που μελετήθηκαν ενώ βελτίωσε σημαντικά την ένταση και την διάρκεια των ακροπαραισθησιών (229). Συγχρόνως διαπιστώθηκε βελτίωση των διαταραχών της εφίδρωσης των ασθενών ενδεικτικό της θετικής επίδρασης της θεραπείας στη λειτουργία του αυτόνομου νευρικού συστήματος (230). Σε μεμονωμένες μελέτες διαπιστώθηκε, στους ασθενείς που λάμβαναν θεραπεία ενζυμικής υποκατάστασης, ομαλοποίηση του μεταβολισμού του NO και βελτίωση ορισμένων αιμοδυναμικών παραμέτρων του ΚΝΣ (231, 232).

Η εξωγενής χορήγηση ανασυνδυασμένης α-γαλακτοζιδάσης Α ήδη από τις αρχικές μελέτες απέδειξε την ευεργετική της δράση και στη νεφρική προσβολή από τη νόσο (228). Οι ενδοκυττάριας εναποθέσεις των αδιάσπαστων GSLs μειώθηκαν αισθητά, έως το σημείο της πλήρους απομάκρυνσης, σχεδόν στο σύνολο των νεφρικών κυττάρων με μόνη ίσως εξαίρεση τα ποδοκύτταρα όπου η επίδραση της θεραπείας δεν είναι το ίδιο αποτελεσματική (233,234,235). Η νεφρική λειτουργία των ασθενών σταθεροποιείται μακροχρόνια και το αποτέλεσμα αυτό είναι ιδιαίτερα εμφανές στους ασθενείς στα αρχικά στάδια της νεφρικής προσβολής (236,238,242, 243). Αλλά ακόμη και οι ασθενείς με μεγάλο ποσοστό σκληρωσμένων σπειραμάτων κατά την έναρξη της θεραπείας (>50%), παρουσιάζουν σημαντική βελτίωση στο ρυθμό απώλειας της νεφρικής λειτουργίας, με αποτέλεσμα την έντονη καθυστέρηση της εξέλιξης της νεφρικής νόσου (240). Η λευκωματουρία των ασθενών σε ορισμένες μελέτες διαφαίνεται ότι βελτιώνεται και στις περισσότερες παραμένει σταθερή και σχεδόν σε όλες δεν επιδεινώνεται (237,239). Η συνχορήγηση φαρμακευτικών σκευασμάτων, που έχει αποδειχθεί ότι βελτιώνουν την πρωτεϊνουρία των ασθενών,



καθώς επίσης η επαρκής ρύθμιση της αρτηριακής πίεσης κρίνεται απαραίτητη (182, 241). Η θεραπεία ενζυμικής υποκατάστασης έχει αποδειχθεί ασφαλής και για τους ασθενείς οι οποίοι βρίσκονται σε εξωνεφρική κάθαρση και κρίνεται απαραίτητη για την αντιμετώπιση των υπολοίπων επιπλοκών της νόσου (245). Τέλος η μεταμόσχευση νεφρού όχι μόνο δεν αντενδείκνυται αλλά έχει αποδειχθεί ότι βελτιώνει την επιβίωση των ασθενών σε ΤΣΧΝΝ (244).

Οι αρχικές κλινικές μελέτες της θεραπείας ενζυμικής υποκατάστασης εκτός των άλλων θετικών αποτελεσμάτων ανέδειξαν την βελτίωση και ορισμένων παραμέτρων της επηρεασμένης καρδιακής λειτουργίας (246). Οι Schiffmann και συνεργάτες διαπίστωσαν σημαντική μείωση του συμπλέγματος QRS στο ΗΚΓ των ασθενών υπό θεραπεία σε σχέση με αυτούς που λαμβάνανε εικονικό φάρμακο, ενδεικτικό της βελτίωσης της καρδιακής αγωγιμότητας (13). Στην πορεία η χορήγηση του ενζύμου από κλινικές μελέτες περιγράφηκε ότι οδήγησε στη βελτίωση και άλλων παραμέτρων της καρδιακής νόσου, όπως στη ελάττωση της μάζας της αριστεράς κοιλίας, στην μείωση του εύρους του μεσοκοιλιακού διαφράγματος καθώς επίσης και στη βελτίωση εγκατεστημένων αιμοδυναμικών διαταραχών (246, 247, 248). Σε μια πρόσφατη, ιδιαίτερα προσεκτικά σχεδιασμένη, αξιόπιστη μελέτη διαπιστώθηκε η ιστολογική βελτίωση των αλλοιώσεων των καρδιακών μυοκυττάρων (μείωση των εναποθέσεων Gb3) μετά την εξάμηνη χορήγηση του ενζύμου σε σχέση με τους ασθενείς που έλαβαν εικονικό φάρμακο. Τα θετικά αυτά ιστολογικά αποτελέσματα ακολουθήθηκαν από στατιστικά σημαντική βελτίωση και της LVH (με MRI μετρήσεις) των ασθενών, έξι μήνες μετά την έναρξη της θεραπείας με αγαλσιδάση άλφα (249).

Η θεραπεία ενζυμικής υποκατάστασης, εκτός από την βελτίωση των σοβαρότερων επιπλοκών της νόσου όπως είναι οι καρδιαγγειακές και οι νεφρικές



επιπλοκές, παρουσίασε θετικά αποτελέσματα και σε ορισμένες επιπλέον κλινικές εκδηλώσεις της νόσου. Κλινικές μελέτες ανέδειξαν την βελτίωση των γαστρεντερικών συμπτωμάτων των ασθενών (252), της αποφρακτικής πνευμονοπάθειας (253), την επιβράδυνση της εξέλιξης των διαταραχών ακοής που ορισμένοι ασθενείς παρουσίαζαν (251) καθώς επίσης και στην ένταση και την έκταση των δερματικών αλλοιώσεων (250). Η προκαλούμενη μείωση των εναποθέσεων των αδιάσπαστων GSLs σε μια πλειάδα κυττάρων και ειδικότερα στο τοίχωμα των αγγείων και η παρατηρούμενη αυξημένη ενζυμική δραστηριότητα στα εν λόγω κύτταρα είναι ενδεικτική των μακροχρόνιων ευεργετικών αποτελεσμάτων της θεραπείας στην λειτουργία τους (233). Τα θετικά αποτελέσματα της θεραπείας ενζυμικής υποκατάστασης ολοκληρώνονται με την περιγραφόμενη σε αρκετές μελέτες βελτίωση της ποιότητας ζωής των ασθενών. Το αποτέλεσμα αυτό είναι αναμενόμενο λόγω της θετικής επίδρασης της θεραπείας σε συμπτώματα τα οποία επηρεάζουν την κοινωνική ζωή των ασθενών (πόνος, δυσανεξία στις κλιματολογικές αλλαγές, χρόνια νεφρική νόσος) και της παράλληλης βελτίωσης της συνολικής νοσηρότητας και θνησιμότητας των ασθενών (12, 13, 254).

### 1.8.3 Εναλλακτικές μορφές θεραπείας

Συγχρόνως η έρευνα προωθεί την ανάπτυξη και άλλων μορφών εξειδικευμένων θεραπευτικών προσεγγίσεων της νόσου όπως η παραγωγή ουσιών που θα αναστέλλουν τη σύνθεση των γλυκοσφιγγολιπιδίων ή θα αυξάνουν την δραστηριότητα της υπολειμματικής α-γαλακτοζιδάσης A και θα μπορούν να δράσουν συμπληρωματικά στην ενζυμική υποκατάσταση είτε ως μονοθεραπεία (257,258,259, 260). Κύρια όμως οι προσπάθειες επικεντρώνονται στην γονιδιακή θεραπεία της νόσου και την ενδογενή παραγωγή α-γαλακτοζιδάσης A, εφοδιάζοντας τον ασθενή με





λειτουργικό γονίδιο για το ένζυμο η οποία θα οδηγούσε και στην οριστική επίλυση του προβλήματος (261,267).



## 2. ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Η παρούσα μελέτη έχει ως κύριο στόχο την καταγραφή των περιστατικών με νόσο Fabry στην Ελλάδα και την περιγραφή των υπεύθυνων γονιδιακών μεταλλάξεων, την κλινική έκφραση της νόσου στον Ελληνικό πληθυσμό καθώς επίσης και την μακροχρόνια παρακολούθηση των ασθενών έτσι ώστε να εκτιμηθεί η πορεία τους αλλά κυρίως τα αποτελέσματα της ενζυμικής θεραπείας υποκατάστασης. Παράλληλα η ενασχόληση πολλαπλών ειδικοτήτων σε διαφορετικά νοσηλευτικά ιδρύματα με αυτούς τους ασθενείς και η ανακοίνωση των αποτελεσμάτων της μελέτης μας σε Ιατρικά Περιοδικά και Συνέδρια πιστεύουμε ότι θα βοηθήσει στην πληρέστερη ενημέρωση της Ελληνικής Ιατρικής Κοινότητας για μια σπάνια νοσολογική οντότητα ενώ παράλληλα θα οδηγήσει στην διάγνωση νέων περιστατικών και γενικότερα στην αρτιότερη αντιμετώπιση των ασθενών στην χώρα μας.

Εκτός από τους ασθενείς οι οποίοι εντάχθηκαν σε θεραπεία ενζυμικής υποκατάστασης και ολοκλήρωσαν την τριετή παρακολούθηση, στην μελέτη περιελήφθησαν και οι ασθενείς οι οποίοι διαγνώστηκαν στην πορεία της μελέτης και οι οποίοι αντιπροσωπεύουν σχεδόν το σύνολο των διαγνωσμένων περιστατικών με νόσο Fabry στον Ελλαδικό χώρο.



## ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ



CONTENTS

### 3. ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

#### 3.1. Ασθενείς.

Η νόσος Fabry δεν παρουσιάζει ιδιαίτερη γεωγραφική κατανομή και η εμφάνιση της είναι παρόμοια σχεδόν σε όλες τις φυλές και εθνότητες. Στην χώρα μας έως σήμερα έχει διαγνωσθεί η νόσος σε 10 διαφορετικές οικογένειες. Το 1996 οι Μοναστιρλή και συνεργάτες περιγράφουν την εμφάνιση της νόσου σε μια οικογένεια η οποία διαγνώσθηκε στο Πανεπιστημιακό Νοσοκομείο της Πάτρας και αργότερα την πορεία ενός μέλους της οικογένειας ο οποίος εντάχθηκε σε θεραπεία ενζυμικής υποκατάστασης ενώ εμφάνιζε ΤΣΧΝΝ και αντιμετωπιζονταν με αιμοκάθαρση. Ο ασθενής μετά από έναν χρόνο θεραπείας εμφάνισε σημεία σημαντικής βελτίωσης των δερματικών, γαστρεντερικών και νευρολογικών εκδηλώσεων της νόσου αλλά στην πορεία παρουσίασε κακοήθη νόσο και απεβίωσε. Η νόσος ήταν γνωστή σε μια ακόμη οικογένεια των Αθηνών και ένα μέλος της, ένα νεαρό αγόρι, εντάχθηκε σε θεραπεία ενζυμικής υποκατάστασης αλλά παρακολουθείται περιοδικά σε κέντρο της Ελλάδας με αποτέλεσμα την μη ένταξή του στην εν λόγω πολυκεντρική μελέτη. Το χρονικό διάστημα 2000-02 διαγνώσθηκε η νόσος Fabry σε άλλες 5 οικογένειες, μία στα Ιωάννινα, μία στην Πάτρα και τρεις στην Αθήνα και 8 ασθενείς σχεδόν συγχρόνως εντάχθηκαν σε θεραπεία ενζυμικής υποκατάστασης γεγονός που μας έδωσε την δυνατότητα της συνεχούς παρακολούθησης των αποτελεσμάτων της νέας αυτής μορφής αντιμετώπισης της νόσου στον Ελληνικό χώρο. Στην διάρκεια της τελευταίας τριετίας τρεις νέες οικογένειες με νόσο Fabry διαγνώσθηκαν αυτή τη φορά στην Βόρεια Ελλάδα και συγκεκριμένα στην Κοζάνη στην Καβάλα και στην Θεσσαλονίκη.

Το σύνολο των ασθενών που εμφάνιζαν κλινικές ή/και εργαστηριακές εκδηλώσεις της νόσου ήταν περίπου 20 εκ των οποίων 15 άρρενες και 5 γυναίκες. Η μέση ηλικία των ασθενών στον χρόνο της διάγνωσης ήταν για μεν τους άνδρες



37,6±15,07 για δε τις γυναίκες 38,6±15,07 έτη. Αν και στο σύνολο των γυναικών η διάγνωση της νόσου ήταν αποτέλεσμα της διερεύνησης των γενεαλογικών δένδρων των ήδη γνωστών οικογενειών με νόσο Fabry στην χώρα μας, δεν εμφανίζεται στατιστικά σημαντική διαφορά στην ηλικία μεταξύ ανδρών και γυναικών ( $p=0.89$ , Mann-Whitney test). Σε θεραπεία ενζυμικής υποκατάστασης εντάχθηκαν 16 ασθενείς, εκ των οποίων οι 3 είναι γυναίκες ετεροζυγώτες. Από το σύνολο των ασθενών οι 6 άρχισαν την θεραπεία την τελευταία διετία ενώ ακόμη 2 είναι στο στάδιο της ένταξης. Οι πρώτοι οκτώ ασθενείς έχουν ολοκληρώσει τρία χρόνια παρακολούθησης και τα αποτελέσματα της θεραπείας έχουν καταγραφεί βάσει ενός κοινά αποδεκτού πρωτοκόλλου παρακολούθησης και μας έχει δοθεί η δυνατότητα να αναλύσουμε ορισμένες παραμέτρους που αφορούν την αποτελεσματικότητα και ασφάλεια της θεραπείας ενζυμικής υποκατάστασης.

Εκτός από την τριετή παρακολούθηση και εκτίμηση των οκτώ ασθενών οι οποίοι έλαβαν εξ αρχής κοινή θεραπεία ενζυμικής υποκατάστασης καταγράφηκε σχεδόν το σύνολο των ασθενών που έχουν διαγνωστεί έως σήμερα στον Ελλαδικό χώρο. Στο σύνολο των ασθενών πραγματοποιήθηκε γονιδιακός έλεγχος και πιστοποιήθηκε η υπεύθυνη μετάλλαξη ενώ καταγράφηκαν τα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά της διαγνωστικής προσέγγισης, τα συμπτώματα έναρξης, η κλινική έκφραση της νόσου και η εξέλιξη των κλινικών εκδηλώσεων έως την στιγμή της διάγνωσης των ασθενών και παράλληλα προσδιορίστηκε η δραστηριότητα του ενζύμου κατά την διάγνωση. Τα ιδιαίτερα κλινικά χαρακτηριστικά των ασθενών και οι πλέον σημαντικές κλινικές εκδηλώσεις της νόσου συνοψίζονται στους Πίνακες 6 και 7. Η λεπτομερειακή ανάλυση των κλινικών χαρακτηριστικών των ασθενών έδωσε την δυνατότητα της πληρέστερης κατανόησης της ετερογένειας της κλινικής



έκφρασης της νόσου και παράλληλα ανέδειξε την σημαντικότητα του ενδεδειγμένου ελέγχου των γενεαλογικών δένδρων για την ανάδειξη νέων περιστατικών.

α	Αγγειο-Κερατώματα	Διαταραχές Εφίδρωσης	Πόνος	ΑΕΕ (MRI)	Διαταραχές ΓΕΣ	ΧΑΠ	Οφθαλμικές Εκδηλώσεις	Ακουστικές Διαταραχές
	Μέτριας Έκτασης	Ανιδρωσία	Ακροπαραισθησίες	Όχι MRI-	Κοιλιακά άλγη	Ναι	Cornea Vericillata	Εμβοές
	Μέτριας Έκτασης	Ανιδρωσία	Ακροπαραισθησίες Κρίσεις πόνου	Όχι MRI-	Όχι	Ναι	Cornea Vericillata	Εμβοές
	Μέτριας Έκτασης	Όχι	Ακροπαραισθησίες	Ναι MRI+	Κοιλιακά άλγη	Ναι	Όχι	Εμβοές
	Όχι	Υποιδρωσία	Ακροπαραισθησίες Κρίσεις πόνου	Όχι MRI-	Όχι	Όχι	Cornea Vericillata	Όχι
	Εκτεταμένα	Όχι	Όχι	Ναι MRI+	Όχι	Όχι	Όχι	Όχι
	Εκτεταμένα	Υποιδρωσία	Ακροπαραισθησίες	Όχι MRI-	Διάρροιες	Όχι	Όχι	Υποακουσία
	Εκτεταμένα	Υποιδρωσία	Ακροπαραισθησίες	Όχι MRI-	Διάρροιες	Όχι	Όχι	Υποακουσία
	Μέτριας Έκτασης	Όχι	Ατυπες αρθραλγίες	Ναι MRI+	Όχι	Ναι	Όχι	Υποακουσία Εμβοές

Πίνακας 6: Κλινικές εκδηλώσεις της νόσου Fabry στους ασθενείς που εντάχθηκαν στο πρωτόκολλο της τριετούς παρακολούθησης κατά την ένταξή τους σε θεραπεία ενζυμικής υποκατάστασης.

### 3.2. Πρωτόκολλο παρακολούθησης

Η παρακολούθηση των ασθενών στην μελέτη βασίστηκε σε δύο κύριους άξονες: α) στην καταγραφή της κλινικής έκφρασης της νόσου και β) στην παρακολούθηση για 3 συνεχή έτη της πορείας των ασθενών μετά την ένταξή τους σε θεραπεία ενζυμικής υποκατάστασης μέσω ενός κοινά αποδεκτού πρωτοκόλλου παρακολούθησης. Κατ' αρχάς, εκτός από τα δημογραφικά στοιχεία του ασθενούς

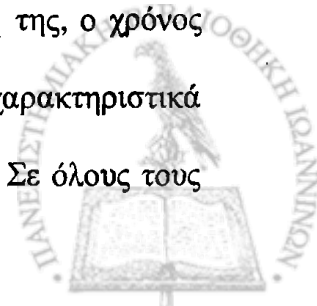


έγινε προσπάθεια λεπτομερούς καταγραφής του γενεαλογικού δένδρου της οικογενείας, έτσι ώστε να αναγνωρισθούν νέοι ασθενείς και να καταγραφούν οι ετεροζυγώτες φορείς της νόσου οι οποίοι χρήζουν ιδιαίτερης παρακολούθησης και ενημέρωσης για την έγκαιρη επιβεβαίωση της εμφάνισης κλινικών εκδηλώσεων που θα οριοθετήσουν την ένταξη και αυτών των ασθενών σε θεραπεία ενζυμικής υποκατάστασης.

A/a	Λευκωματουρία (mg/24h)	GFR / Κρεατινίνη ορού	Αρτηριακή Υπέρταση	ΥΑΚ	Βαλβιδοπάθεια	Αρρυθμία	Στεφανιαί Νόσος
1	450	82	Όχι	Ναι	Όχι	Όχι	Όχι
2	750	Περιτοναϊκή Κάθαρση	Ναι	Ναι	Όχι	Βραδυκαρδία	Όχι
3	200	45	Ναι	Ναι	Όχι	Βραδυκαρδία/ Βηματοδότης	Ναί
4	1000	90	Όχι	Όχι	Πρόπτωση Μιτροειδούς	Όχι	Όχι
5	450	40	Ναι	Ναι	Πρόπτωση Μιτροειδούς	Όχι	Όχι
6	150	110	Όχι	Ναι	MVR 1+/4+ TVR 1+/4+	Όχι	Όχι
7	320	125	Όχι	Ναι	MVR 1+/4+ TVR 1+/4+	Βραδυκαρδία/ Βηματοδότης	Όχι
8	820	Αιμοκάθαρση	Ναι	Ναι	Όχι	Κολπική Μαρμαρυγή	Ναί

Πίνακας 7: Καρδιακή και νεφρική προσβολή των ασθενών με νόσο Fabry που εντάχθηκαν στο πρωτόκολλο της τριετούς παρακολούθησης κατά την ένταξή τους σε θεραπεία ενζυμικής υποκατάστασης.

Παράλληλα έγινε ενδελεχής έλεγχος του ιστορικού των ασθενών και καταγράφηκαν οι κλινικές εκδηλώσεις της νόσου πριν την διάγνωσή της, ο χρόνος εμφάνισής τους και η εξέλιξή τους, καθώς επίσης και τα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά που οδήγησαν στην διάγνωση και ο τρόπος επιβεβαίωσης της νόσου. Σε όλους τους





ασθενείς πραγματοποιήθηκε γονιδιακός έλεγχος και πιστοποιήθηκε η υπεύθυνη μετάλλαξη ενώ συγχρόνως εκτιμήθηκαν τα επίπεδα Gb3 πλάσματος, ως κύριος εκπρόσωπος των αδιάσπαστων GSLs, και η δραστικότητα του ενζύμου α-GAL A. Πριν την έναρξη της θεραπείας ενζυμικής υποκατάστασης οι ασθενείς υποβλήθηκαν σε ολοκληρωμένο κλινικο-εργαστηριακό έλεγχο. Ο εργαστηριακός έλεγχος περιελάμβανε πλήρη αιματολογικό και βιοχημικό έλεγχο και ειδικότερα εξέταση δείγματος ούρων και συλλογής ούρων 24ώρου για τον ποσοτικό προσδιορισμό της λευκωματουρίας και της μικροαλβουμιουρίας καθώς επίσης και της κάθαρσης κρεατινίνης.

Η καρδιολογική εκτίμηση εκτός από την κλινική εξέταση και το ιστορικό περιελάμβανε ΗΚΓράφημα 12 απαγωγών και υπερηχοκαρδιογράφημα-Triplex ενώ ασθενείς που εμφάνιζαν αρρυθμίες ελέγχθηκαν με Holter ρυθμού και αυτοί οι οποίοι ανέφεραν στηθάγχη υποβλήθηκαν σε δοκιμασία κοπώσεως.

Η διερεύνηση της νεφρικής προσβολής και η παρακολούθηση της εξέλιξής της εκτός από τον εργαστηριακό έλεγχο (μικροαλβουμίνη ούρων, λεύκωμα ούρων 24ώρου και κάθαρση κρεατινίνης), την κλινική εξέταση και το ιστορικό περιελάμβανε και υπερηχογραφικό έλεγχο των νεφρών ενώ σε ορισμένους ασθενείς στη διάρκεια της διαγνωστικής προσπέλασης πραγματοποιήθηκε και βιοψία νεφρού.

Σε όλους τους ασθενείς καταγράφηκε το ιστορικό ύπαρξης πόνου και τα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά του (διάρκεια, έκταση, ένταση, εκλυτικοί παράγοντες, χρήση αναλγητικών) έτσι ώστε να διερευνηθεί η εξέλιξή του και να καταγραφεί η πιθανή επίδραση της θεραπείας στην διάρκεια της παρακολούθησης. Το σύνολο των ασθενών υποβλήθηκε σε MRI έλεγχο των δομών του ΚΝΣ ανεξάρτητα της ύπαρξης ιστορικού ΑΕΕ.



Κατά την διάγνωση διερευνήθηκε επίσης η ύπαρξη δερματικών εκδηλώσεων (αγγειοκερατώματα) και καταγράφηκε στο σύνολο των ασθενών η χρονική περίοδος εμφάνιση τους καθώς επίσης και τα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά τους (σημεία εμφάνισής τους, έκταση, ένταση). Παράλληλα καταγράφηκε η ύπαρξη διαταραχών της εφίδρωσης και μελετήθηκε η εξέλιξή τους στην διάρκεια της παρακολούθησης.

Η προσβολή των οφθαλμών εξετάσθηκε και καταγράφηκε η επίπτωση και τα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά των αλλοιώσεων που παρατηρήθηκαν ενώ συγχρόνως εκτιμήθηκε και η ύπαρξη διαταραχών της ακοής στο σύνολο των ασθενών της μελέτης. Τέλος μελετήθηκε η επίπτωση και η εξέλιξη και των γαστρεντερικών διαταραχών (πόνου, διαρροιών) καθώς επίσης και η εμφάνιση κλινικών εκδηλώσεων πνευμονικής συμμετοχής.

Εκτός από τα ιδιαίτερα συμπτώματα που χαρακτηρίζουν τη νόσο Fabry στην παρούσα μελέτη καταγράφηκαν και παρουσιάζονται όλες οι κλινικές εκδηλώσεις της νόσου που διαπιστώθηκαν στους Έλληνες ασθενείς συνθέτοντας μια ολοκληρωμένη εικόνα της κλινικής έκφρασης της νόσου στη χώρα μας. Η πορεία των ασθενών σε θεραπεία ενζυμικής υποκατάστασης στη διάρκεια της μελέτης και ειδικότερα της καρδιακής και νεφρικής συμμετοχής ελεγχόταν ανά εξάμηνο ενώ ο βασικός κλινικο-εργαστηριακός έλεγχος πραγματοποιούταν κάθε μήνα. Παράλληλα ελεγχόταν τα επίπεδα του Gb3 πλάσματος, ως δείκτης αποτελεσματικότητας της θεραπείας καθώς επίσης και η ανάπτυξη αντισωμάτων ενώ μόνιμα και με κάθε λεπτομέρεια καταγράφονταν οι εμφανιζόμενες επιπλοκές είτε αυτές αφορούσαν την θεραπεία είτε την εξέλιξη της νόσου.



### 3.3. Θεραπεία ενζυμικής υποκατάστασης

Η θεραπεία ενζυμικής υποκατάστασης για την αντιμετώπιση της νόσου Fabry εγκρίθηκε στην Ευρωπαϊκή Ένωση το 2001. Όπως προαναφέρθηκε στο χρονικό διάστημα 2000-2003 στην Ελλάδα είχαν διαγνωσθεί 10 περιστατικά με νόσο Fabry. Ένας από τους ασθενείς απεβίωσε μετά από μερικούς μήνες από την έναρξη θεραπείας ενζυμικής υποκατάστασης λόγω κακοήθους νοσήματος. Ένας ακόμη ασθενής ο οποίος πρόσφατα είχε ενταχθεί σε θεραπεία, το μεγαλύτερο χρονικό διάστημα παρακολουθούνταν σε Ιατρικό Κέντρο του εξωτερικού. Οι υπόλοιποι οκτώ ασθενείς εντάχθηκαν σε θεραπεία με εξωγενή χορήγηση ανασυνδυασμένης α-γαλακτοζιδάσης παρέχοντάς μας την δυνατότητα να προτείνουμε μια κοινή παρακολούθηση όλων των ασθενών. Επιπλέον το σύνολο των ασθενών εντάχθηκε στην ίδια μορφή θεραπείας, με κοινό φαρμακευτικό σκεύασμα γεγονός το οποίο ήδη αυτοβούλως είχαν αποφασίσει οι θεράποντες Ιατροί του κάθε ασθενή χωριστά. Η υπεύθυνη Φαρμακευτική Εταιρεία για την παραγωγή και διάθεση της εν λόγω ουσίας στη χώρα μας ουδεμία συμμετοχή είχε στην οργάνωση και διεξαγωγή της παρούσας μελέτης.

Και στους οκτώ ασθενείς, οι οποίοι ολοκλήρωσαν τρία χρόνια παρακολούθησης, το φαρμακευτικό σκεύασμα το οποίο χορηγήθηκε ως θεραπεία ενζυμικής υποκατάστασης σε όλη τη διάρκεια της μελέτης ήταν η αλασιδάση βήτα (Fabrazyme®, Genzyme Corp.). Το Fabrazyme περιέχει το ενεργό συστατικό αλασιδάση βήτα, το οποίο παρασκευάζεται στο κυτταρικό σύστημα ωοθήκης κινέζικου κρίκητου (CHO). Η μέθοδος παρασκευής του Fabrazyme αρχίζει με γενετική τροποποίηση του κυττάρου ξενιστή δίνοντάς του την δυνατότητα να παράγει ανθρώπινη α-GAL. Αυτό συνεπάγεται την απομόνωση του ανθρώπινου γονιδίου που κωδικοποιεί για την α-GAL και την ενσωμάτωσή του σε βακτηριδιακό πλασμίδιο



(μικρού μεγέθους αυτοδιπλασιαζόμενα κυκλικά τμήματα DNA) χρησιμοποιώντας ειδικά ένζυμα τα οποία διασπών και επανενώνουν τα τμήματα του DNA. Στη συνέχεια το ανασυνδυασμένο πλέον πλασμίδιο εισάγεται σε ένα επιλεγμένο κύτταρο ξενιστή, το οποίο λειτουργεί ως κατάλληλο περιβάλλον για την παρασκευή της πρωτεΐνης. Τέλος η παραγόμενη πρωτεΐνη εμπλουτίζεται με σιαλικό οξύ και στο τελικό του άκρο εκφράζει το μόριο της 6-φωσφορικής μαννόζης προκειμένου να εξασφαλιστεί η πρόσληψή του από τα λυσοσώματα.

Το Fabrazyme είναι μια στείρα, λυοφιλισμένη σκόνη για παρασκευή διαλύματος προς έγχυση που παρέχεται σε γυάλινα φιαλίδια των 20ml τα οποία περιέχουν ποσότητα 35mg αλασιδάσης βήτα. Το φάρμακο πρέπει να ανασυσταθεί και να αραιωθεί και στη συνέχεια να χορηγηθεί ενδοφλεβίως. Η συνιστώμενη δόση είναι 1mg/kg βάρους σώματος κάθε 2 εβδομάδες. Ο αρχικός ρυθμός έγχυσης δεν θα πρέπει να είναι μεγαλύτερος από 0,25mg/λεπτό (15mg/ώρα). Αφού αποκατασταθεί πλήρως η ανοχή του ασθενούς, ο ρυθμός έγχυσης μπορεί να αυξηθεί σταδιακά με όριο ασφαλείας συνολικού χρόνου χορήγησης του φαρμάκου τις 2 ώρες, έτσι ώστε να ελαχιστοποιείται η πιθανότητα εμφάνισης αντιδράσεων υπερευαισθησίας.

Η χορήγηση ενζυμικής θεραπείας υποκατάστασης στο σύνολο των ασθενών στην μελέτη πραγματοποιήθηκε σύμφωνα με τις παρεχόμενες οδηγίες και ακολουθώντας τα διεθνή δεδομένα τα οποία προέκυψαν από προηγούμενες κλινικές μελέτες. Η δοσολογία και ο ρυθμός χορήγησης του φαρμάκου ήταν απόλυτη ευθύνη των θεραπόντων Ιατρών και δεν ορίστηκε από την μελέτη. Ανά εξάμηνο ελέγχονταν τα επίπεδα του Gb3 πλάσματος, ως δείκτης αποτελεσματικότητας της θεραπείας καθώς επίσης και η ανάπτυξη αντισωμάτων ενώ μόνιμα και με κάθε λεπτομέρεια καταγράφονταν οι εμφανιζόμενες επιπλοκές οι οποίες αφορούσαν την θεραπεία.



## 4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

### 4.1. Περιγραφή των μεταλλάξεων του γονιδίου της α-γαλακτοζιδάσης A στην Ελλάδα.

Μέχρι σήμερα έχουν καταγραφεί περίπου 500 μεταλλάξεις στην Human Gene Mutation Database ([www.hgmd.org](http://www.hgmd.org)) οι οποίες αφορούν το GLA γονίδιο. Η πλειονότητα αυτών των μεταλλάξεων είναι κοινές σε ιδιαίτερα περιορισμένο αριθμό οικογενειών και συχνά έχουν περιγραφεί μεταλλάξεις που αφορούν αποκλειστικά μια ορισμένη οικογένεια. Κάθε περιγραφή των ιδιαίτερων χαρακτηριστικών μιας ορισμένης μετάλλαξης και ο συνδυασμός της με την κλινική έκφραση και την πορεία της νόσου αποτελεί μια σημαντική βοήθεια στην προσπάθεια προσέγγισης της συσχέτισης γονότυπου-φαινοτύπου και της πληρέστερης κατανόησης των υπεύθυνων αιτιοπαθογενετικών μηχανισμών της νόσου Fabry.

Οι μεταλλάξεις των ασθενών οι οποίες έχουν διαπιστωθεί στην Ελλάδα περιγράφονται στον πίνακα 8. Δύο από αυτές είναι σημειακές ανερμηνεύσιμες μεταλλάξεις (nonsense mutations) (Y151X και W262X) με αποτέλεσμα την μηδενική παραγωγή ενζύμου ενώ άλλες τέσσερις είναι μεν σημειακές αλλά παρερμηνεύσιμες (missense mutations) (G132E, T384P, V164G, T280A ) και οι ασθενείς είναι δυνατόν να εμφανίζουν υπολειμματική δραστητικότητα του ενζύμου. Δύο ακόμη μεταλλάξεις στους ασθενείς μας οφείλονταν σε μικρής έκτασης απώλεια ακολουθιών νουκλεοτιδίων (1145delGCTTC, 11024-6del) οι οποίες δεν επηρεάζουν το πλαίσιο ανάγνωσης.



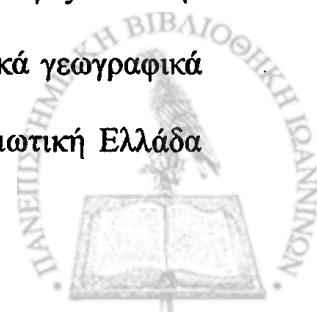
Ασθενής	Ηλικία	Φύλο	Μετάλλαξη	Δραστικότητα α-GAL (ΦΤ<4nmol/ml/hr)	Gb3 πλάσματος (ΦΤ.3.5±1.3μg/ml)
1	38	A	T384P	0,9	7,6
2	49	A	T384P	0,7	10,9
3	51	A	T384P	0,8	9,1
4	19	Γ	T384P		
5	24	A	11024-6del	<0,05	10,3
6	42	A	-	<0,05	9,5
7	22	A	W262X	<0,05	8,5
8	31	A	W262X	<0,05	10,8
9	36	Γ	W262X		
10	60	A	G132E	1,2	5,4
11	15	A	G132E	11,7	2,1
12	40	A	Y151X	0,06	
13	65	Γ	Y151X	2,7	
14	32	Γ	Y151X	6	
15	21	A	T280A	0,05	7,6
16	45	Γ	cDNA 280>a	2	
17	18	A	W95S	0,8	6,2
18	52	A	1145delGCTTC	1,63	
19	38	A	V164G	0,1	
20	58	A	V164G	0	

Πίνακας 8: Δημογραφικά δεδομένα των ασθενών Fabry στην Ελλάδα.

Οι ασθενείς 1,2,3,5,6,7,8 και 10 ολοκλήρωσαν τρία χρόνια παρακολούθησης σε θεραπεία ενζυμικής υποκατάστασης.

#### 4.2. Κλινική έκφραση της νόσου του Fabry στην Ελλάδα.

Συνολικά η νόσος στην Ελλάδα διαπιστώθηκε μέχρι σήμερα σε 10 διαφορετικές οικογένειες. Οι τρεις οικογένειες προέρχονται από την Βόρεια Ελλάδα, η μία από την Ήπειρο, δύο από την Αχαΐα και οι υπόλοιπες τέσσερις από την ευρύτερη περιοχή της Αττικής. Είναι χαρακτηριστικό ότι σε σημαντικά γεωγραφικά διαμερίσματα όπως στην Θεσσαλία, στην Θράκη αλλά και στη νησιωτική Ελλάδα



καθώς επίσης και στην Κύπρο δεν έχουν περιγραφεί περιστατικά της νόσου έως σήμερα. Το σύνολο των ασθενών που εμφάνιζαν κλινικές ή/και εργαστηριακές εκδηλώσεις της νόσου ήταν 20 εκ των οποίων 15 άρρενες και 5 γυναίκες. Η μέση ηλικία των ασθενών στον χρόνο της διάγνωσης ήταν για μεν τους άνδρες  $37,6 \pm 15,07$  για δε τις γυναίκες  $38,6 \pm 15,07$  έτη. Όπως και στις διεθνείς καταγραφές των ασθενών με νόσο Fabry έτσι και στην χώρα μας παρατηρήθηκε σημαντική χρονική υστέρηση στην διαγνωστική επιβεβαίωση της νόσου σχεδόν στο σύνολο των ασθενών. Ο χρόνος που παρήλθε από την εμφάνιση των αρχικών κλινικών εκδηλώσεων έως την στιγμή της τεκμηρίωσης της διάγνωσης της νόσου ήταν 17,8 έτη για τους άνδρες και 19,2 έτη αντίστοιχα για τις γυναίκες.

Η διάγνωση των περιστατικών στη χώρα μας σπάνια τεκμηριώθηκε διερευνώντας τις πρώιμες κλινικές εκδηλώσεις της νόσου στα αρχικά της στάδια, ενώ στην πλειονότητα των ασθενών, πραγματοποιήθηκε σε σχετικά προχωρημένες ηλικίες και μέσω της αιτιολογικής διερεύνησης ήδη εγκατεστημένων, σημαντικών επιπλοκών της νόσου. Πράγματι μόνο σε δύο περιπτώσεις η αρχική διάγνωση της νόσου, σε μέλος μιας άγνωστης έως τότε οικογένειας Fabry, ήταν αποτέλεσμα της διερεύνησης της κλασσικής αρχικής κλινικής έκφρασης της νόσου όπως ακροπαραισθησίες ή αγγειοκερατώματα. Παρόλα αυτά ακόμη και σε αυτούς τους δύο ασθενείς διαπιστώθηκε η συνύπαρξη νεφρικής ή καρδιακής προσβολής ενδεικτικό της χρονικής υστέρησης στην ολοκλήρωση της διάγνωσης της νόσου. Στα υπόλοιπα πρωτοεμφανισθέντα περιστατικά της νόσου στις Ελληνικές οικογένειες η διάγνωση της νόσου επιβεβαιώθηκε από Νεφρολόγους κατά την διερεύνηση νεφρικών κλινικών εκδηλώσεων της νόσου. Ειδικότερα τρεις από αυτούς παρουσίαζαν ΤΣΧΝΝ κατά την διάγνωση η οποία ολοκληρώθηκε κατά το 45<sup>ο</sup>, 49<sup>ο</sup> και 58<sup>ο</sup> έτος της ηλικίας τους αντίστοιχα. Στους υπόλοιπους έξι ασθενείς η νόσος επιβεβαιώθηκε κατά την



διαγνωστική προσπέλαση ασθενών με λευκωματουρία, οιδήματα ή/και χρόνια νεφρική νόσο και στις περιπτώσεις αυτές σημαντικό ρόλο διαδραμάτισαν τα ενδεικτικά αποτελέσματα της νεφρικής βιοψίας. Τέλος το 50% των περιστατικών στη χώρα μας διαγνώσθηκε μέσω της διερεύνησης των γενεαλογικών δένδρων των ασθενών. Το ποσοστό αυτό αν και φαντάζει ιδιαίτερα σημαντικό υστερεί όταν συγκριθεί με τα αντίστοιχα των διεθνών καταγραφών (>75%), ενδεικτικό ενδεχομένως της ανεπαρκούς μελέτης των οικογενειών φορέων της νόσου στην Ελλάδα.

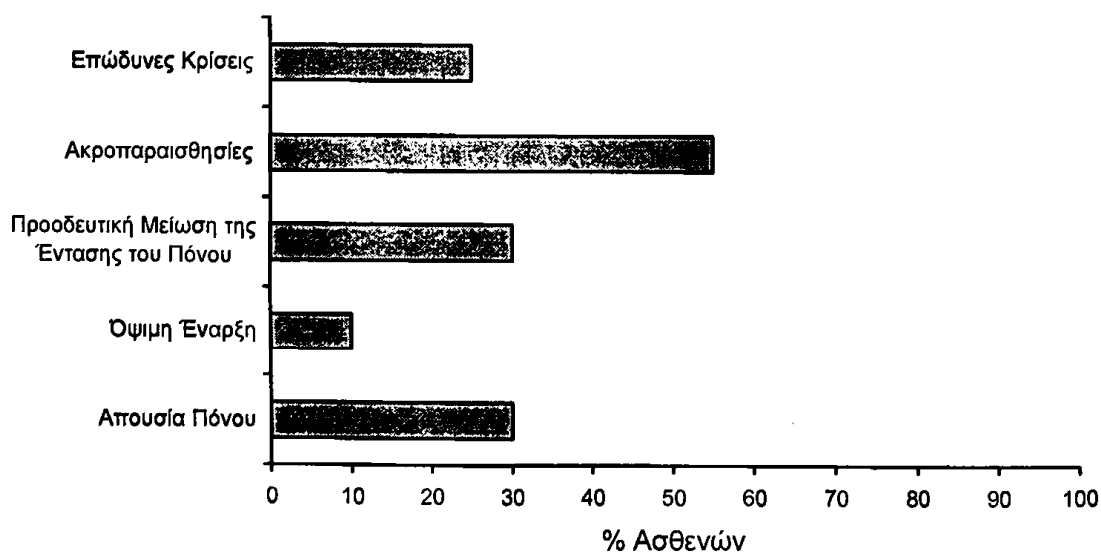
Οι κλινικές εκδηλώσεις της νόσου στους Έλληνες ασθενείς, όπως και διεθνώς έχει περιγραφεί, εμφανίζουν σημαντική ετερογένεια. Τα συμπτώματα της νόσου παρουσιάζουν χρονική εξέλιξη δεδομένου ότι η ενδοκυττάρια συσσώρευση των αδιάσπαστων GSLs αρχίζει από τα πρώτα χρόνια της ζωής των ασθενών και προοδευτικά, οι προκαλούμενες δομικές διαταραχές, επηρεάζουν σε διαφορετικό βαθμό τη λειτουργικότητα των οργάνων στόχων.

Η συμπτωματολογία από το περιφερικό νευρικό σύστημα αποτελεί μια πρώιμη και ιδιαίτερα συχνή εκδήλωση της νόσου. Πράγματι και στη χώρα μας, οι περισσότεροι ασθενείς παρουσίαζαν κάποια από τις χαρακτηριστικές μορφές των επώδυνων εκδηλώσεων της νόσου (Σχήμα 1). Μόνο 30% των ασθενών δεν περιέγραφε ιστορικό πόνων το οποίο να αποδιδόταν στη νόσο. Κυρίως αυτοί οι ασθενείς ήταν ετερόζυγες γυναίκες (4 από τις 5) που πρέπει να σημειωθεί ότι στον Ελληνικό πληθυσμό παρουσιάζονται γενικά με ήπια συμπτωματολογία. Οι ακροπαραιθησίες ήταν η πλέον κοινή κλινική εκδήλωση και περιγράφηκαν στο 55% των ασθενών. Συχνά οι ασθενείς αναγνώριζαν κάποιο εκλυτικό παράγοντα όπως οι αλλαγές της θερμοκρασίας του περιβάλλοντος καθώς επίσης και η σωματική ή συναισθηματική καταπόνηση. Η συνύπαρξη επώδυνων κρίσεων ήταν συχνότερη





στους νεώτερους ασθενείς και συνολικά περιγράφηκε στο 25% των ασθενών. Σε δύο από αυτούς η ένταση και η συχνότητα εμφάνισης των επώδυνων κρίσεων, παρά τη λήψη διαφόρων αναλγητικών, ήταν ιδιαίτερα σημαντική σε βαθμό να επηρεάζει την ποιότητα της ζωής των. Σε άλλους δύο ασθενείς εκτός από τις χαρακτηριστικές ακροπαραισθησίες ήταν εμφανείς σημαντικές αρθραλγίες και ειδικότερα στον έναν από αυτούς είχαν την μορφή αρθρίτιδας των μικρών αρθρώσεων των άνω άκρων και αποτελούσε το προεξάρχον σύμπτωμα του ασθενούς που τελικά οδήγησε και στη διάγνωση της νόσου. Η μελέτη της κλινικής έκφρασης της νόσου στη χώρα μας ανέδειξε ότι σχεδόν στο σύνολο των ασθενών η έναρξη των επώδυνων συμπτωμάτων παρουσιάζεται στην παιδική-εφηβική ηλικία (μεταξύ 9 και 15 ετών) και μόνο σε 10% των ασθενών η εμφάνιση ήταν όψιμη (>20 έτη). Επίσης από το ιστορικό των ασθενών προκύπτει ότι συχνά (30%) και πριν την ένταξη σε θεραπεία ενζυμικής υποκατάστασης, οι νευροπαθητικές εκδηλώσεις των ασθενών εμφανίζουν μια προοδευτική μείωση της έντασης καθώς επίσης και της συχνότητας εμφάνισής των.



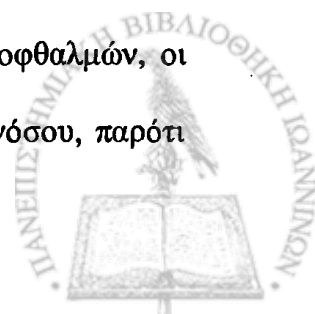
Σχήμα 1: Χαρακτηριστικά του Πόνου στους ασθενείς Fabry στην Ελλάδα.



Διαταραχές της εφίδρωσης, οι οποίες είναι ενδεικτικές της προσβολής του αυτόνομου νευρικού συστήματος, περιγράφηκαν στο 40% των ασθενών μας εκ των οποίων μόνο μία γυναίκα παρουσίαζε ήπια υποϊδρωσία. Σε τέσσερις ασθενείς ήταν εμφανής η απόλυτη αδυναμία παραγωγής ιδρώτα (ανιδρωσία) ενώ οι υπόλοιποι εμφάνιζαν κάποιου βαθμού υποϊδρωσία. Το σύνολο των ασθενών εντάσσει την έναρξη των διαταραχών της εφίδρωσης στην εφηβική ηλικία ενώ στους περισσότερους από αυτούς αποτελούσε σύμπτωμα ελάσσονος σημασίας και συνεπώς σπάνια αναφέρθηκε στους θεράποντες Ιατρούς τους.

Οι χαρακτηριστικές δερματικές αλλοιώσεις, τα αγγειοκερατώματα, αποτελούν μια από τις πλέον κοινές κλινικές εκδηλώσεις της νόσου γεγονός το οποίο εξηγεί και το αρχικό όνομά της *angiokeratoma corporis diffusum*. Αγγειοκερατώματα παρουσίαζε το 60% των ασθενών στη χώρα μας. Οι θέσεις εμφάνισής τους ήταν οι γλουτοί, η κοιλιακή χώρα κυρίως περιομφαλικά αλλά και τα έξω γεννητικά όργανα, τα άκρα ενώ σε τέσσερις ασθενείς διαπιστώθηκε η ύπαρξή τους και στον βλεννογόνο της στοματικής κοιλότητας. Μόνο σε μια ετερόζυγο ασθενή από το σύνολο των γυναικών στη μελέτη μας διαπιστώθηκε η ύπαρξη εντοπισμένων αγγειοκερατωμάτων στην κοιλιακή χώρα ενώ αντίθετα σε τρεις άνδρες ασθενείς οι δερματικές βλάβες ήταν γενικευμένες, σημαντικής έντασης και έκτασης. Τέλος δύο ασθενείς, στους οποίους η διάγνωση της νόσου ετέθη στην ηλικία των 35 και 48 ετών αντίστοιχα, παρουσίαζαν σημαντικό βαθμού λεμφοίδημα των κάτω άκρων το οποίο εμφάνιζε προοδευτική επιδείνωση ενώ η έναρξή του υπολογίστηκε τουλάχιστον 8 έως 10 χρόνια νωρίτερα.

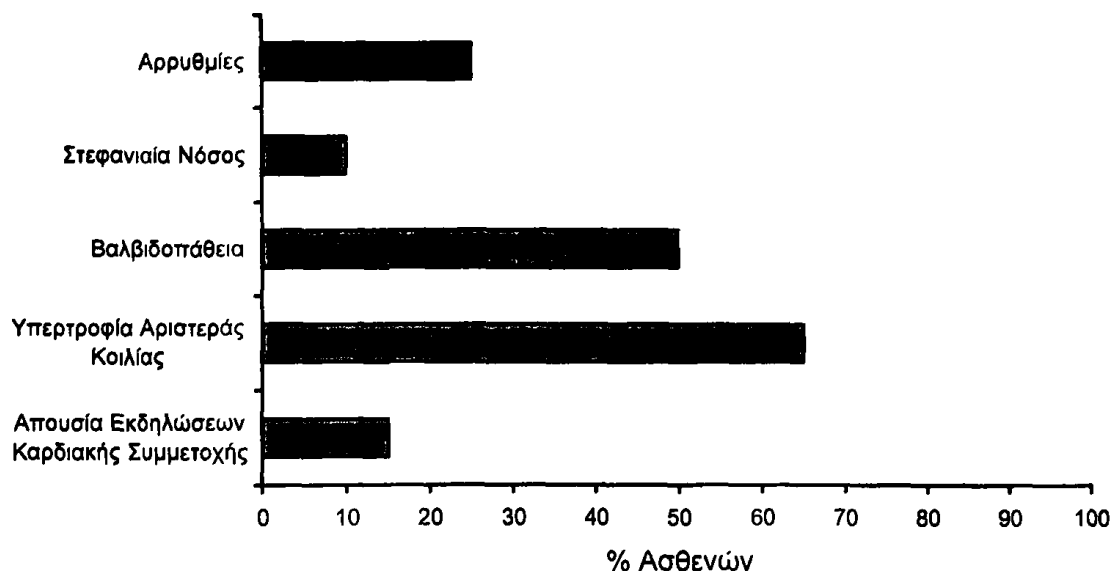
Οι χαρακτηριστικές αλλοιώσεις των ανατομικών δομών των οφθαλμών, οι οποίες συγκαταλέγονται στα πλέον ειδικά διαγνωστικά κριτήρια της νόσου, παρότι



ήταν εμφανείς σε σημαντικό ποσοστό των ασθενών της μελέτης, δεν αποτέλεσαν την κλινική εκδήλωση που οδήγησε στη διάγνωση της νόσου σε κανένα από τα περιστατικά στην χώρα μας. Πράγματι 35% των ασθενών στην Ελλάδα παρουσιάζει οφθαλμικές αλλοιώσεις. Σε επτά ασθενείς είναι εμφανείς οι στροβιλοειδείς εναποθέσεις του κερατοειδούς (cornea verticillata) ενώ σε τρεις ασθενείς παρουσιάζονται παράλληλα αλλοιώσεις και του φακού (οπίσθιος καταρράκτης). Ενώ στις περισσότερες διεθνείς αναφορές, η συμμετοχή των οφθαλμών υπολογίζεται στο 75% των περιστατικών, στην χώρα μας οι χαρακτηριστικές αλλοιώσεις των οφθαλμών διαπιστώθηκαν σε μέλη μόνο τεσσάρων από τις δέκα συνολικά οικογένειες, παρότι όλοι οι ασθενείς υποβλήθηκαν σε ενδελεχή οφθαλμιατρικό έλεγχο.

Η καρδιακή συμμετοχή αποτελεί μια από τις πλέον συχνές και σημαντικά σοβαρές επιπλοκές της νόσου Fabry. Το ποσοστό των Ελλήνων ασθενών που εμφανίζει κάποια από τις χαρακτηριστικές κλινικές εκδηλώσεις καρδιακής συμμετοχής που αποδίδονται στη νόσο είναι ιδιαίτερα υψηλό (85%) (Σχήμα 2). Η υπερτροφία της αριστεράς κοιλίας αποτελεί την πλέον συχνή κλινική εκδήλωση (67,5%). Δομικές και λειτουργικές διαταραχές των καρδιακών βαλβίδων διαπιστώθηκαν στο 50% των Ελλήνων ασθενών Fabry με προεξάρχουσα την πρόπτωση της μιτροειδούς βαλβίδος (30%). Η ύπαρξη καρδιακών αρρυθμιών, ως επί το πλείστον με τη μορφή βραδυκαρδιών, επιβεβαιώθηκε στο 30% των ασθενών και ειδικότερα σε τρεις ασθενείς, για την επαρκή αντιμετώπισή τους, κρίθηκε αναγκαία η τοποθέτηση μόνιμου βηματοδότη. Τέλος μόνο σε δύο, πιο ηλικιωμένους ασθενείς επιβεβαιώθηκε η ύπαρξη στεφανιαίας νόσου και καρδιακής ανεπάρκειας.



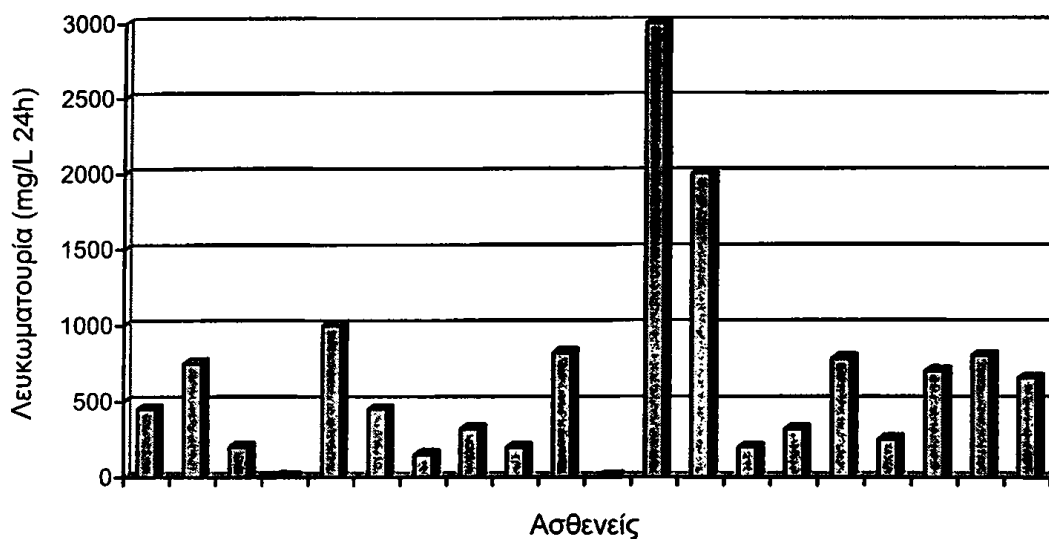


Σχήμα 2. Κλινικές εκδηλώσεις της καρδιακής συμμετοχής στους ασθενείς Fabry στην Ελλάδα.

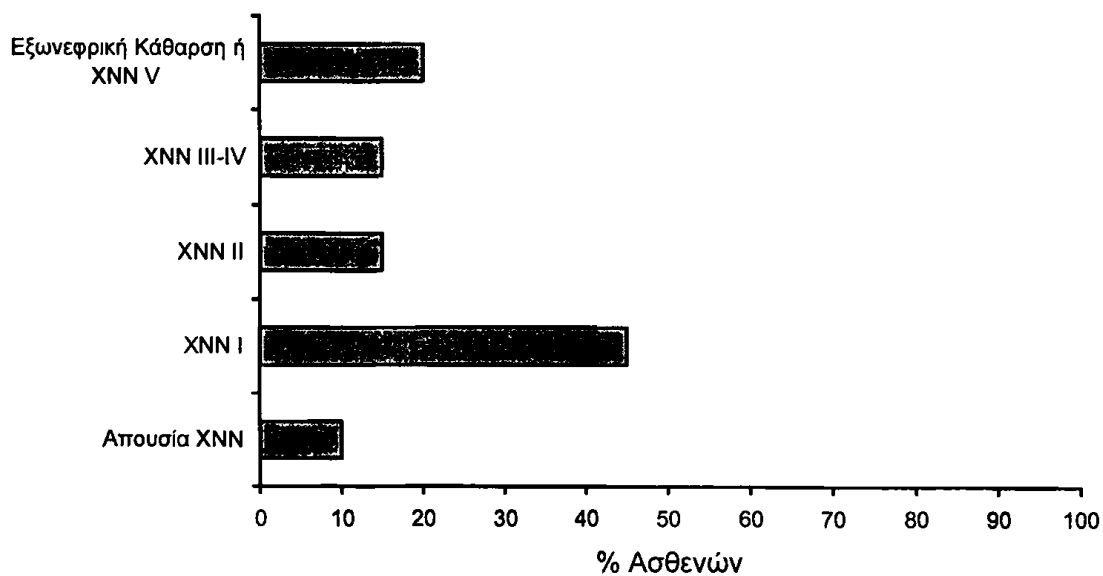
Στην πλειονότητα των περιστατικών στον Ελλαδικό χώρο η νόσος Fabry διαγνώστηκε με αφορμή την διερεύνηση νεφρικών εκδηλώσεων. Εκτός από δύο έφηβους, ένα αγόρι και ένα κορίτσι, στους οποίους η νόσος διαγνώστηκε κατά τη διερεύνηση των αντίστοιχων γενεαλογικών δένδρων των οικογενειών τους, οι υπόλοιποι 18 ασθενείς εμφάνιζαν κάποιου βαθμού κλινικές και εργαστηριακές εκδηλώσεις ενδεικτικές της προσβολής των νεφρών από τη νόσο. Το πλέον συχνό εύρημα ήταν η λευκωματουρία (90%) η οποία συνήθως δεν υπερέβαινε το 1gr/24ωρο (Σχήμα 3). Μόνο ένας ασθενής παρουσίαζε κατά την περίοδο της διαγνωστικής επιβεβαίωσης της νόσου νεφρωσικό σύνδρομο.

Παράλληλα το 50% των ασθενών ήδη την χρονική περίοδο της διάγνωσης της νόσου εμφάνιζε μειωμένη νεφρική λειτουργία σε σχετικά νεαρή ηλικία ( $39 \pm 9$  έτη). Τρεις από αυτούς παρουσίαζον ΧΝΝ σταδίου II ενώ σε άλλους τρεις ασθενείς η νεφρική νόσος έχει ήδη εξελιχθεί σημαντικά (στάδιο III-IV). Τέλος τέσσερις άνδρες παρουσίασαν ΤΣΧΝΝ και αντιμετωπίστηκαν με εξωνεφρική κάθαρση (Σχήμα 4).

Τρεις από αυτούς εντάχθηκαν σε χρόνιο πρόγραμμα Αιμοκάθαρσης εκ των οποίων ο ένας υποβλήθηκε σε επιτυχή νεφρική μεταμόσχευση ενώ ο τελευταίος σε Περιτοναϊκή Κάθαρση.



Σχήμα 3. Επίπεδα λευκωματουρίας των Ελλήνων ασθενών κατά τον χρόνο της διαγνωστικής επιβεβαίωσης της νόσου Fabry.



Σχήμα 4: Επίπτωση της XNN στους ασθενείς κατά τον χρόνο της διαγνωστικής επιβεβαίωσης της νόσου Fabry στην Ελλάδα.



Συχνή ήταν επίσης και η παρουσία γαστρεντερικών διαταραχών στους ασθενείς στην μελέτη μας. Αναφορές για χρόνια διαρροϊκό σύνδρομο ή/και διάχυτο κοιλιακό άλγος διάφορης έντασης, καταγράφηκε στο ιστορικό του 45% του συνόλου των ασθενών στην χώρα μας. Όσον αφορά τις λιγότερο συχνά εμφανιζόμενες κλινικές εκδηλώσεις της νόσου, επισημαίνεται η σχετικά συχνή παρουσία στους Έλληνες ασθενείς, συμπτωμάτων ενδεικτικών της εκδήλωσης της νόσου και στο αναπνευστικό σύστημα. Πράγματι στο 30% των ασθενών μας επιβεβαιώθηκε η ύπαρξη χρόνιας αποφρακτικής πνευμονοπάθειας (ΧΑΠ) και χαρακτηριστικά σε τρεις ασθενείς η έναρξη των συμπτωμάτων παρουσιάστηκε σε ιδιαίτερα νεαρή ηλικία (μεταξύ του 20<sup>ου</sup> και 25<sup>ου</sup> έτους) και για την αντιμετώπισή τους κρίθηκε αναγκαία η μόνιμη χορήγηση ανάλογης φαρμακευτικής αγωγής. Τέλος η μείωση της ακουστικής οξύτητας αλλά και σημαντικής έντασης εμβοές αποτελούσαν κοινό εύρημα μεταξύ των μελών δυο οικογενειών με νόσο Fabry στην χώρα μας (20% του συνόλου των ασθενών).

#### **4.3. Αποτελέσματα τριετούς θεραπείας με ενζυμική υποκατάσταση.**

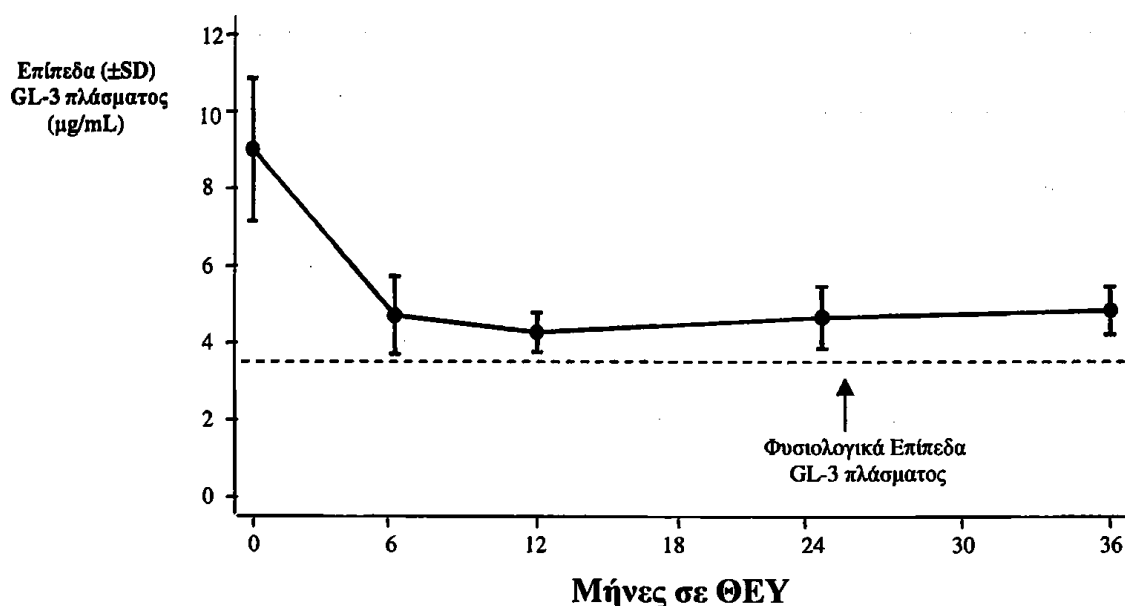
Παρακολουθήσαμε, για τρία χρόνια, την πορεία οκτώ ανδρών με νόσο Fabry, σε θεραπεία ενζυμικής υποκατάστασης μέσω της εξωγενούς χορήγησης ανασυνδυασμένης α-γαλακτοζιδάσης. Στο σύνολο των ασθενών η παρακολούθηση άρχισε κατά την χρονική στιγμή της έναρξης της θεραπείας και πραγματοποιήθηκε με τη βοήθεια ενός κοινά αποδεκτού πρωτοκόλλου παρακολούθησης. Τα δημογραφικά δεδομένα, τα ιδιαίτερα κλινικά χαρακτηριστικά των ασθενών, καθώς επίσης οι υπεύθυνες μεταλλάξεις και τα αρχικά επίπεδα της δραστηρότητας του ενζύμου περιγράφονται στους πίνακες 6, 7 και 8.



Η χορήγηση του ενζύμου ήταν συνεχής σε όλη την διάρκεια της μελέτης και η παρακολούθηση των ασθενών ολοκληρώθηκε σύμφωνα με το προταθέν πρωτόκολλο. Κανείς ασθενής δεν διέκοψε την θεραπεία ή την προταθείσα παρακολούθηση. Ήδη από το πρώτο εξάμηνο χορήγησης της ανασυνδυασμένης α-γαλακτοζιδάσης A διαπιστώθηκε σημαντική μείωση των επιπέδων του GL-3 στο πλάσμα του συνόλου των ασθενών στην μελέτη και τα επίπεδα αυτά παραμείναν σταθερά χαμηλά στη διάρκεια των τριών χρόνων παρακολούθησης, ενδεικτικό της αποτελεσματικότητας της θεραπευτικής παρέμβασης (Σχήμα 5)

### Επίπεδα GL-3 κατά την Θεραπεία Ενζυμικής Υποκατάστασης (ΘΕΥ)

#### 3 Έτη Παρακολούθησης



Σχήμα 5: Μέσες τιμές (±SD) συγκεντρώσεων GL-3 πλάσματος (μg/ml), μετρούμενες με φασματομετρία μάζας στην αρχή και στον 6<sup>ο</sup>, 12<sup>ο</sup>, 24<sup>ο</sup>, and 36<sup>ο</sup> μήνα μετά την θεραπεία ενζυμικής υποκατάστασης. Οι μέσες τιμές των επιπέδων GL-3 πλάσματος υγιών εθελοντών είναι 3.5 (±1.3) με ανώτερο όριο 7.03 μg/ml.



Η νευρολογική συμπτωματολογία των ασθενών οι οποίοι συμπεριλήφθηκαν στην μελέτη ήδη από την αρχική εκτίμησή τους δεν παρουσίαζε σημαντικά ευρήματα έτσι ώστε να είναι εφικτή η στατιστική εκτίμηση της πορείας των εκδηλώσεων μετά την θεραπεία ενζυμικής υποκατάστασης. Μόνο δυο ασθενείς παρουσίαζαν εξ αρχής σημαντικές νευρολογικές εκδηλώσεις όπως κρίσεις πόνου και από αυτούς μόνο ο ένας ελάμβανε μόνιμα αναλγητικά για την αντιμετώπιση αυτών των συμπτωμάτων. Ο ασθενής αυτός δυο χρόνια μετά την έναρξη της θεραπείας παρουσίασε σημαντική βελτίωση των επώδυνων κρίσεων μειώνοντας παράλληλα και την λήψη των αναλγητικών. Στους υπόλοιπους ασθενείς περιγράφεται μια υποκειμενική μείωση της έντασης καθώς επίσης και της έκτασης των παραισθησιών που εμφάνιζαν πριν την έναρξη της θεραπείας η οποία συνδυάστηκε με βελτίωση της γενικής ψυχοσωματικής τους κατάστασης η οποία δεν είναι δυνατόν να καταγραφεί στατιστικά.

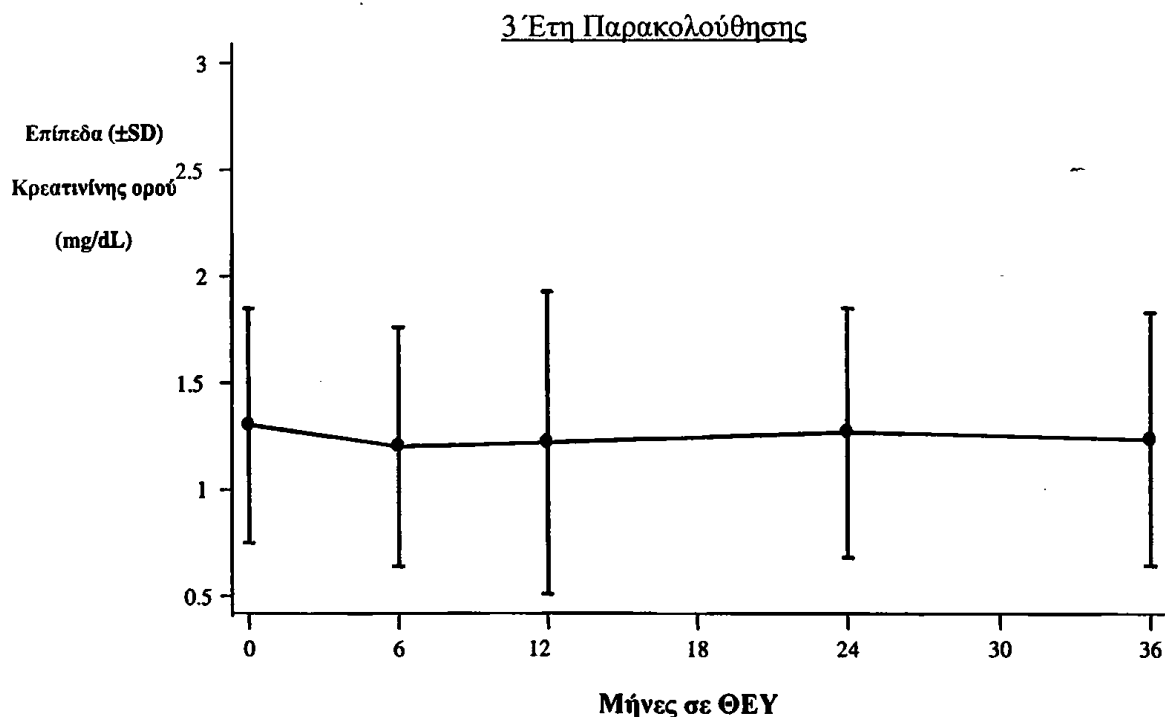
Οι τυπικές δερματικές αλλοιώσεις καθώς επίσης και οι περιγραφείσες οφθαλμικές εκδηλώσεις της νόσου δεν παρουσίασαν σημαντικές διαφοροποιήσεις ενδεικτικό της αναστολής της εξέλιξής τους. Ειδικότερα σε δυο ασθενείς στους οποίους η ένταση των αγγειοκερατωμάτων σε ορισμένες περιοχές (βουβώνες) ήταν ιδιαίτερα σημαντική προκαλώντας έντονο αισθητικό πρόβλημα καθώς επίσης και προβλήματα προσωπικής υγιεινής, μειώθηκε σημαντικά. Παράλληλα στους 4 από τους πέντε ασθενείς οι οποίοι εμφάνιζαν διαταραχές της εφίδρωσης παρατηρήθηκε σημαντική βελτίωση. Είναι χαρακτηριστικό ότι ασθενείς οι οποίοι ανέφεραν απόλυτη και καθολική απουσία παραγωγής ιδρώτα παρουσίασαν μια σταδιακή επανάκτηση της ικανότητας εφίδρωσης με *ιδιάζοντες* χαρακτήρες (έντονη δυσσομία, αυξημένη ρευστότητα).





Μετά από τρία χρόνια θεραπείας ενζυμικής υποκατάστασης στους ασθενείς μας διαπιστώθηκαν σημαντικές ενδείξεις αναστολής της εξέλιξης και παράλληλης βελτίωσης των καρδιακών εκδηλώσεων της νόσου. Το σύνολο των ασθενών παρουσίασε ενδείξεις βελτίωσης της υπερτροφίας της αριστεράς κοιλίας παρότι η παρακολούθηση των ασθενών πραγματοποιήθηκε από διαφορετικούς Καρδιολόγους. Ένας ασθενής και ενώ βρίσκονταν στα αρχικά στάδια της θεραπείας εμφάνισε σημαντικό βαθμό βραδυκαρδία για την αντιμετώπιση της οποίας κρίθηκε αναγκαία η τοποθέτηση μόνιμου βηματοδότη. Στα τρία χρόνια παρακολούθησης δεν καταγράφηκε καμία άλλη επιπλοκή στους ασθενείς μας η οποία να αποδόθηκε στην καρδιακή συμμετοχή της νόσου Fabry.

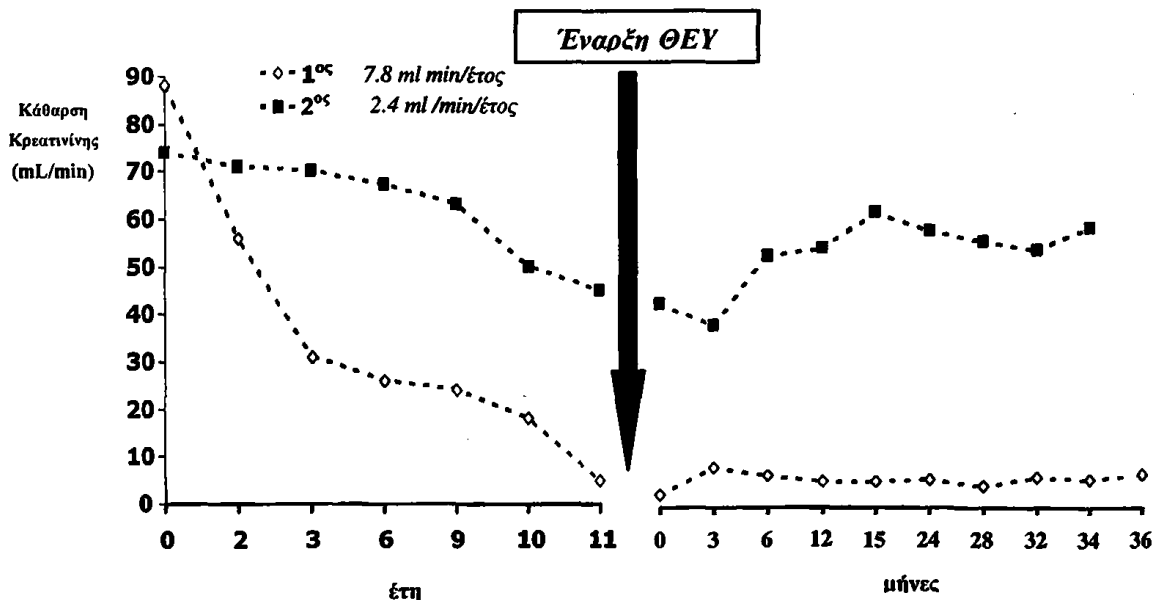
#### Επίπεδα Κρεατινίνης ορού κατά την Θεραπεία Ενζυμικής Υποκατάστασης (ΘΕΥ)



Σχήμα 6: Σταθεροποίηση της νεφρικής λειτουργίας (κρεατινίνη ορού) στα τρία χρόνια παρακολούθησης των ασθενών σε ενζυμική θεραπεία υποκατάστασης.



Ιδιαίτερα ενθαρρυντικά ήταν και τα αποτελέσματα της θεραπείας ενζυμικής υποκατάστασης και στην εξέλιξη της οφειλόμενης στη νόσο Fabry, νεφρικής νόσου στους ασθενείς μας. Διαπιστώθηκε σταθεροποίηση της νεφρικής λειτουργίας στους ασθενείς μας, μετά από τρία χρόνια παρακολούθησης, ενδεικτικό της αναστολής της εξέλιξης της νεφρικής νόσου (Σχήμα 6). Ενδεικτική της αποτελεσματικότητας της θεραπείας είναι η πορεία δύο αδερφών οι οποίοι παρουσίαζαν σοβαρή νεφρική προσβολή κατά τη διάγνωση της νόσου. Ο ένας από αυτούς, παρότι εντάχθηκε σε Περιτοναϊκή Κάθαρση λόγω ΤΣΧΝΝ, διατήρησε για μεγάλο χρονικό διάστημα την υπολειμματική νεφρική του λειτουργία αναλλοίωτη ενώ ο άλλος παρουσίασε συνεχή σταδιακή βελτίωση της νεφρικής του λειτουργίας στα τρία χρόνια παρακολούθησης (262) (Σχήμα 7).

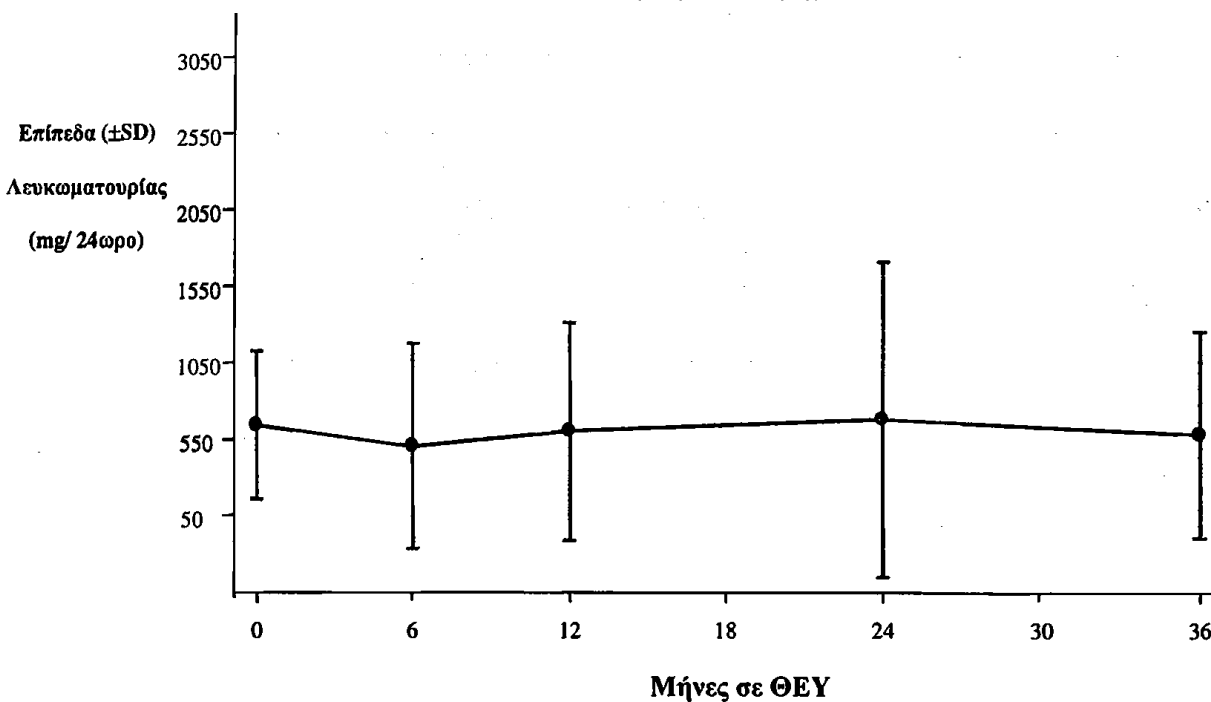


Σχήμα 7: Πορεία της νεφρικής λειτουργίας (κάθαρση κρεατινίνης) σε δυο αδέρφια με νόσο Fabry πριν και μετά την ένταξή τους σε ενζυμική θεραπεία υποκατάστασης.

Παράλληλα και η λευκοματουρία στους ασθενείς μας στη μελέτη παρέμεινε σταθερή στα τρία χρόνια παρακολούθησης χωρίς ενδείξεις επιδείνωσης σε κανέναν από αυτούς (Σχήμα 8).

### Επίπεδα Λευκοματουρίας κατά την Θεραπεία Ενζυμικής Υποκατάστασης(ΘΕΥ)

3 Έτη Παρακολούθησης



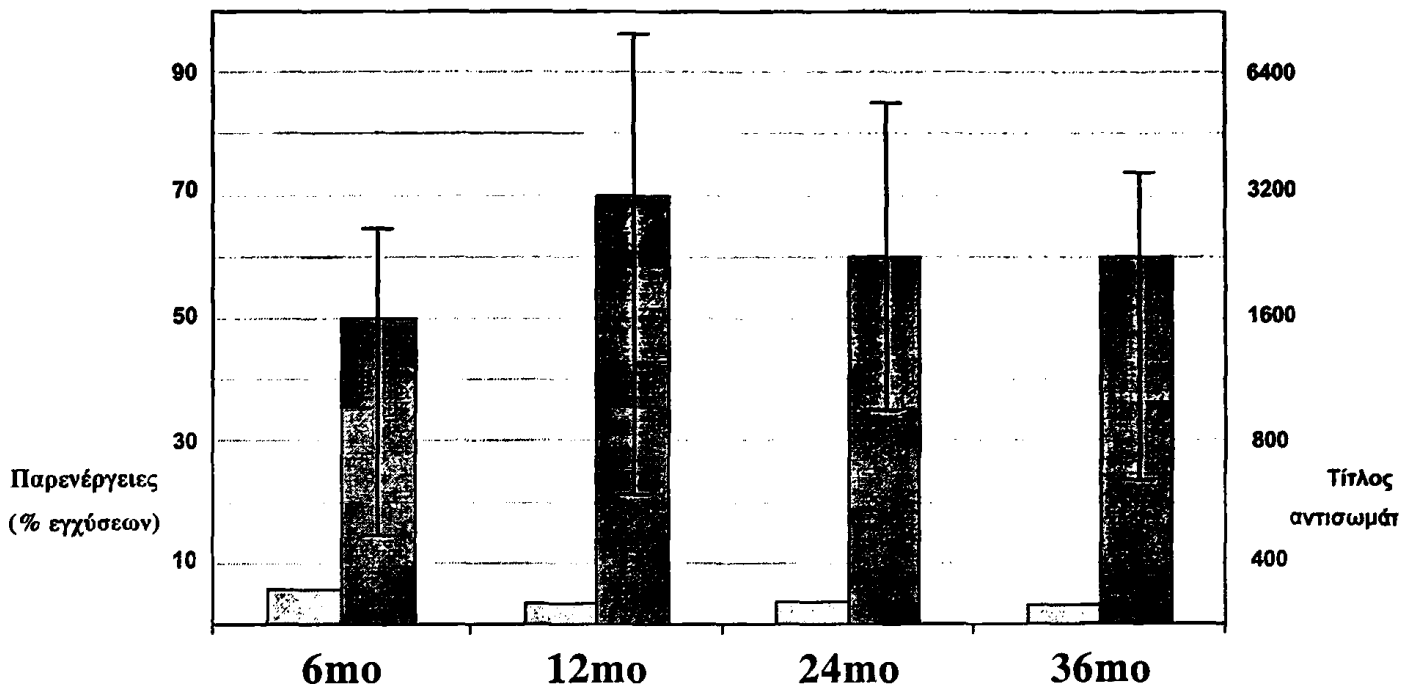
Σχήμα 8: Σταθεροποίηση της λευκοματουρίας (λευκόμα ούρων 24ώρου) στα τρία χρόνια παρακολούθησης των ασθενών σε ενζυμική θεραπεία υποκατάστασης

Παράλληλα με την εκτίμηση της αποτελεσματικότητας της θεραπείας ενζυμικής υποκατάστασης, καταγράφηκαν επίσης με ιδιαίτερη προσοχή, όλες οι παρενέργειες που εμφανίστηκαν στη διάρκεια των τριών χρόνων παρακολούθησης και συνδυάζονταν με την χορήγηση του φαρμακευτικού σκευάσματος στο σύνολο των ασθενών μας. Συγχρόνως υπολογίσθηκαν τα επίπεδα των ειδικών αντισωμάτων έναντι του χορηγούμενου ενζύμου που αναπτύχθηκαν στη διάρκεια των τριών χρόνων



παρακολούθησης και έγινε προσπάθεια συσχετίσής τους με τις καταγραφείσες παρενέργειες στους ασθενείς μας στη μελέτη.

Οι εγχύσεις του ενζύμου ήταν καλά ανεκτές. Οι συνηθέστερες ανεπιθύμητες ενέργειες ήταν ήπιες (πυρετός φρίκια) και παρατηρήθηκαν κατά την έγχυση του φαρμάκου αλλά αντιμετωπίστηκαν χωρίς ιδιαίτερα προβλήματα κυρίως μειώνοντας τον ρυθμό χορήγησης.



Σχήμα 9. Η ανάπτυξη ειδικών IgG αντισωμάτων έναντι της αγαλσιδάσης β (σκουρόχρωμες στήλες) εμφανίσθηκε σε 7 από τους 8 ασθενείς αλλά δεν διαφοροποίησε το ποσοστό παρενεργειών κατά την χορήγηση του ενζύμου (ανοιχτόχρωμες στήλες).

Η ανάπτυξη ειδικών IgG αντισωμάτων (ορομετατροπή) έναντι της αγαλσιδάσης β όπως ήταν αναμενόμενο μιας και πρόκειται για ενδοφλέβια χορήγηση πρωτεΐνης σε πληθυσμό που στερείται ενδογενούς αντιγόνου εμφανίσθηκε σε 7 από τους 8 ασθενείς ήδη από το πρώτο εξάμηνο αλλά δεν διαφοροποίησε το ποσοστό παρενεργειών κατά την χορήγηση του ενζύμου (Σχήμα 9). Μόνο σε έναν ασθενή καταγράφηκε σημαντική αλλεργική αντίδραση η οποία οδήγησε σε ειδική



αντιμετώπιση. Πρόκειται για έναν 37χρονο άνδρα χωρίς ιδιαίτερο ιστορικό αλλεργιών ο οποίος κατά την 6<sup>η</sup> έγχυση του ενζύμου παρουσίασε γενικευμένη αλλεργική αντίδραση ιδιαίτερα σοβαρού βαθμού. Μετά την επιτυχή αντιμετώπιση της επιπλοκής και παρά την χορήγηση αντισταμινικών και κορτιζόνης την προηγούμενη ημέρα της έγχυσης, σύμφωνα με τις διεθνείς οδηγίες, ο ασθενής επανεμφάνισε μικρότερης έντασης αλλά σημαντική αλλεργική αντίδραση και στις επόμενες εγχύσεις. Αποφασίστηκε η αλλαγή του τρόπου χορήγησης του ενζύμου και για τους επόμενους έξι μήνες ο ασθενής ελάμβανε την θεραπεία κάθε εβδομάδα αντί για κάθε 15 ημέρες και με ιδιαίτερα βραδύ ρυθμό έγχυσης (περίπου 12 ώρες). Ο τρόπος αντιμετώπισης του προβλήματος ήταν απόλυτα αποτελεσματικός και έξι μήνες αργότερα ο ασθενής επανήλθε στην αρχική μορφή θεραπείας χωρίς έκτοτε να εμφανίσει κάποια άλλη επιπλοκή.



## 5. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η νόσος Fabry αποτελεί μια σπάνια κληρονομική μεταβολική διαταραχή η οποία αν δεν αντιμετωπισθεί εγκαίρως επιφέρει συχνά ανεπάρκεια πολλαπλών οργάνων και συνήθως οδηγεί στον θάνατο κατά την 4<sup>η</sup>-5<sup>η</sup> δεκαετία της ζωής των ασθενών. Ο επιπολασμός της νόσου υπολογίζεται από αναφορές στη διεθνή βιβλιογραφία περίπου στο 1 περιστατικό ανά 117 000 κατοίκους αν και από πολλούς επιδημιολόγους θεωρείται ότι υπάρχει μια υποεκτίμηση της πραγματικής συχνότητας εμφάνισης της νόσου (15). Οι αιτίες της αδυναμίας προσέγγισης των πραγματικών επιδημιολογικών δεδομένων της νόσου προέρχονται κυρίως από την σπανιότητα της εμφάνισής της καθώς επίσης και από την έως πρόσφατα ελλιπή καταγραφή των περιστατικών ακόμη και σε χώρες με ανεπτυγμένο σύστημα αναφοράς και καταγραφής των σπάνιων νοσημάτων. Ένας ακόμη σημαντικός λόγος υποεκτίμησης της πραγματικής επίπτωσης της νόσου αποτελεί και η δυσχέρεια στην διαγνωστική προσπέλαση των ασθενών λόγω της συχνά, μη ειδικής κλινικής έκφρασης της νόσου και ειδικότερα της αρχικής εκδήλωσής της με συμπτώματα που συνήθως είτε διαφεύγουν της προσοχής των θεραπόντων Ιατρών είτε οδηγούν σε εσφαλμένη διάγνωση (215). Παράλληλα και για πολλά χρόνια η Ιατρική κοινότητα ήταν πεπεισμένη ότι πρόκειται για μια μεταβολική διαταραχή η οποία, λόγω του τρόπου μετάδοσής της (X-φυλοσύνδετη), αφορά αποκλειστικά τα άρρενα μέλη της οικογενείας που φέρουν την γενετική ανωμαλία (202). Τέλος η μη ύπαρξη έως τις αρχές του 2000 ειδικής μορφής θεραπευτικής αντιμετώπισης της νόσου περιόριζε περαιτέρω το ενδιαφέρον των Εθνικών Συστημάτων Υγείας για την διαχείριση των ασθενών αυτών. Η αδυναμία επαρκούς αντιμετώπισης της νόσου και των σοβαρών επιπλοκών της είχε ως αποτέλεσμα την ελλιπή ενημέρωση και την περιθωριοποίηση των ασθενών καθώς επίσης και τον ελλιπή έλεγχο των γενεαλογικών δένδρων και την



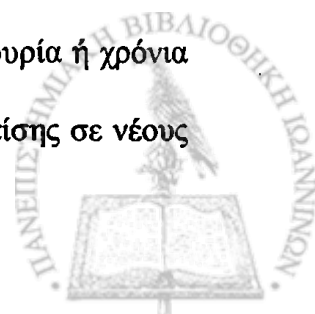
ανεύρεση των ετερόζυγων φορέων οι οποίοι έχει σήμερα αποδειχθεί ότι εμφανίζουν ιδιαίτερα αυξημένα ποσοστά σοβαρών κλινικών εκδηλώσεων της νόσου.

Οι ιδιαιτερότητες στην επιδημιολογική προσέγγιση της νόσου είναι εμφανείς και στον Ελλαδικό χώρο. Είναι χαρακτηριστικό ότι πριν το 2000 μόλις 2 ή 3 περιστατικά με νόσο Fabry έχουν αναφερθεί στη χώρα μας. Η δυνατότητα ειδικής μορφής αντιμετώπισης της νόσου και η έγκριση της διάθεσης, όπως και στις υπόλοιπες χώρες μέλη της Ευρωπαϊκής Ένωσης, της θεραπείας ενζυμικής υποκατάστασης είχε ως αποτέλεσμα την ευαισθητοποίηση πολλών Ιατρικών ειδικοτήτων και την πληρέστερη ενημέρωση σχεδόν του συνόλου των Ιατρών στην χώρα μας. Τα αποτελέσματα είναι θεαματικά αφού στα επόμενα 6-7 χρόνια διαγνώστηκαν στην Ελλάδα 20 περίπου νέα περιστατικά δηλαδή κάθε χρόνο μια νέα οικογένεια με νόσο Fabry προστίθεται στις ήδη υπάρχουσες. Υπολογίζοντας την συχνότητα εμφάνισης της νόσου με τα σημερινά δεδομένα αυτή είναι περίπου 1 περιστατικό ανά 500.000 κατοίκους της χώρας μας, το οποίο είναι σημαντικά μεγαλύτερο από αυτό των αρχών του 2000 αλλά πολύ μικρότερο από τα διεθνή δεδομένα. Διαπιστώνοντας τον σημαντικό ρυθμό αύξησης στη διάγνωση νέων περιστατικών και βασιζόμενοι στην παρατηρούμενη βελτίωση στην επάρκεια της ενημέρωσης θεωρούμε ότι σε μικρό χρονικό διάστημα θα έχει ολοκληρωθεί η διάγνωση του συνόλου των ασθενών και στην χώρα μας. Ένα ακόμη ιδιαίτερο χαρακτηριστικό το οποίο διαπιστώθηκε κατά την διάρκεια της μελέτης, σχεδόν από το σύνολο των κέντρων τα οποία αντιμετωπίζουν ασθενείς με νόσο Fabry, είναι η ελλιπής καταγραφή των γενεαλογικών δένδρων των ήδη διαγνωσμένων οικογενειών. Το γεγονός αυτό οφείλεται συνήθως στην αδυναμία συνεργασίας των θεραπόντων ιατρών με τα μέλη της οικογένειας, κυρίως λόγω των ιδιαιτεροτήτων της Ελληνικής κοινωνίας. Ένας σημαντικός αριθμός των μελών οικογενειών όπου έχει διαγνωσθεί η



νόσος αρνείται κάθε έλεγχο, ειδικότερα όταν οι κλινικές εκδηλώσεις της νόσου δεν προκαλούν σοβαρές επιπλοκές. Στις περισσότερες περιπτώσεις επικρατεί η άποψη της μη αποδοχής της ύπαρξης μιας κληρονομικής πάθησης η οποία θεωρούν ότι πιθανά θα επηρεάσει την κοινωνική και οικογενειακή εξέλιξη κάποιου μέλους της οικογένειας τους. Πράγματι όπως διαφαίνεται από την καταγραφή των περιστατικών στην μελέτη, σε ορισμένες οικογένειες η νόσος έχει διαγνωσθεί αποκλειστικά σε έναν ασθενή ενώ και ο αριθμός των γυναικών στις οποίες έχει διαγνωσθεί η νόσος Fabry στην Ελλάδα είναι ιδιαίτερα περιορισμένος.

Εκτός από την δυσχέρεια στην αναγνώριση και την επαρκή καταγραφή του συνόλου των ασθενών με νόσο του Fabry σε μια ορισμένη γεωγραφική περιοχή, όλες οι υπάρχουσες επιδημιολογικές μελέτες έχουν καταδείξει την ιδιαίτερα σημαντική χρονική υστέρηση όσον αφορά την έγκαιρη διάγνωση της νόσου ειδικότερα στα μέλη μιας οικογένειας όπου διαγιγνώσκεται για πρώτη φορά η νόσος. Γνωρίζοντας την μεταβολική φύση της νόσου είναι προφανές ότι η εμφάνιση των απότοκων της ανεπαρκούς δραστηριότητας του υπεύθυνου ενζύμου, α-γαλακτοζιδάση Α, αρχίζει από τα πρώτα στάδια της ζωής των πασχόντων ατόμων (222). Πράγματι οι ενδοκυττάρειες εναποθέσεις των αδιάσπαστων GSLs καθώς επίσης και οι κλινικές εκδηλώσεις οι οποίες οφείλονται στην εγκατάσταση σημαντικού βαθμού ιστικών αλλοιώσεων χαρακτηρίζονται από προοδευτική χρονική εξέλιξη (79). Είναι αυτονόητο ότι η έγκαιρη διάγνωση και η αντιμετώπιση των ασθενών στα αρχικά στάδια είναι δυνατόν να οδηγήσει ακόμη και στην μη έκφραση της κλασσικής κλινικής εικόνας της νόσου ή τουλάχιστον στην αποφυγή των σοβαρών επιπλοκών της (264,265,266). Σε ορισμένες ειδικές ομάδες ασθενών η συχνότητα εμφάνισης της νόσου είναι σημαντικά πιο αυξημένη. Πράγματι ασθενείς με ανεξήγητη λευκοματουρία ή χρόνια νεφρική νόσο αλλά και σε ασθενείς σε εξωνεφρική κάθαρση καθώς επίσης σε νέους





που εμφανίζουν ΑΕΕ ή ασθενείς με ΥΑΚ χωρίς εμφανή εξήγηση η νόσος Fabry πιθανά να είναι η αιτία πρόκλησης των κλινικών αυτών εκδηλώσεων. Και σε αυτές τις κατηγορίες των ασθενών η έγκαιρη έναρξη θεραπείας ενζυμικής υποκατάστασης είναι δυνατόν να υποστρέψει ή να επιβραδύνει ορισμένες κλινικές επιπτώσεις της νόσου βελτιώνοντας τη νοσηρότητα αλλά και το προσδόκιμο επιβίωσης των ασθενών (245,249).

Το χρονικό διάστημα που μεσολαβεί μεταξύ της εμφάνισης των αρχικών συμπτωμάτων της νόσου και της τελικής διάγνωσης, δυστυχώς, είναι ιδιαίτερα μεγάλο: 14 χρόνια για τους άνδρες με νόσο Fabry και αντίστοιχα 19 χρόνια για τις ετερόζυγες γυναίκες. Αυτή η σημαντική καθυστέρηση είναι ενδεικτική της μη ειδικότητας της πλειονότητας των κλινικών εκδηλώσεων της νόσου ειδικά στα αρχικά της στάδια αλλά συγχρόνως και της αδυναμίας των θεράποντων Ιατρών να αναγνωρίσουν έγκαιρα τα συμπτώματα και να ολοκληρώσουν την διάγνωση. Το γεγονός αυτό οφείλεται στην σπανιότητα εμφάνισης της νόσου αλλά και στην ελλιπή ενημέρωση της Ιατρικής κοινότητας. Από τις διεθνείς πολυκεντρικές επιδημιολογικές μελέτες είναι χαρακτηριστικό ότι οι πρώτες κλινικές εκδηλώσεις της νόσου εμφανίζονται σε ιδιαίτερα νεαρή ηλικία (9<sup>ο</sup> έτος για τα αγόρια και 13<sup>ο</sup> έτος για τα κορίτσια) (161,187). Τα κυρίαρχα συμπτώματα που οδηγούν συνηθέστερα στη διάγνωση της νόσου σε νέους ή έφηβους είναι η εμφάνιση του χαρακτηριστικού νευροπαθητικού άλγους και ειδικότερα των κρίσεων πόνου. Όμως κατά τη διάγνωση της νόσου συνυπάρχουν πολλαπλές κλινικές εκδηλώσεις της νόσου οι οποίες λόγω της μη δημιουργίας ειδικών συμπτωμάτων συχνά διαφεύγουν της προσοχής ακόμη και των ίδιων των ασθενών. Αγγειοκερατώματα, υποϊδρωσία, εκφυλιστικές αλλοιώσεις των οφθαλμών, πυρετός, γαστρεντερικές διαταραχές και λευκωματουρία συμπληρώνουν την κλινική εικόνα των ασθενών.



Στους άνδρες ασθενείς στη χώρα μας, το αντίστοιχο χρονικό διάστημα κατά το οποίο η νόσος διέλαθε της προσοχής των θεραπόντων Ιατρών ανέρχεται στα 17,8 έτη, ενώ χαρακτηριστικά σε όλες τις γυναίκες ετεροζυγώτες η νόσος διαγνώσθηκε μέσω της διερεύνησης των ήδη γνωστών γενεαλογικών δένδρων παρότι ορισμένες εξ αυτών εμφάνιζαν από καιρό συμπτώματα της νόσου. Ιδιαίτερη όμως αξία έχει η μελέτη των κλινικών χαρακτηριστικών των ασθενών στους οποίους διαγνώσθηκε η νόσος για πρώτη φορά σε μια συγκεκριμένη οικογένεια. Σχεδόν το σύνολο των πρωτοεμφανισθέντων περιστατικών στις οικογένειες ασθενών Fabry στη χώρα μας εμφάνιζε ήδη σοβαρού βαθμού επιπλοκές από τα όργανα στόχους της νόσου. Πράγματι σε 9 από τους 11 ασθενείς η διάγνωση επιβεβαιώθηκε κατά την διερεύνηση νεφρικών κλινικών εκδηλώσεων της νόσου. Ειδικότερα τρεις από αυτούς παρουσίαζαν ΤΣΧΝΝ κατά την διάγνωση η οποία ολοκληρώθηκε κατά το 45<sup>ο</sup>, 49<sup>ο</sup> και 58<sup>ο</sup> έτος της ηλικίας τους αντίστοιχα. Σε έναν ακόμη ασθενή η νόσος διαγνώσθηκε ενώ υποβάλλονταν ήδη σε εξωνεφρική κάθαρση λόγω της διαπίστωσης της νόσου στο άμεσο οικογενειακό του περιβάλλον. Στους υπόλοιπους έξι ασθενείς η νόσος επιβεβαιώθηκε κατά την διαγνωστική προσπέλαση ασθενών με λευκωματουρία, οιδήματα ή/και χρόνια νεφρική νόσο και στις περιπτώσεις αυτές σημαντικό ρόλο διαδραμάτισαν τα ενδεικτικά αποτελέσματα της νεφρικής βιοψίας. Μόνο σε δύο περιπτώσεις η διάγνωση της νόσου ήταν αποτέλεσμα των κλασσικών αρχικών κλινικών εκφράσεων της όπως ακροπαραισθησίες ή αγγειοκερατώματα αλλά ακόμη και σε αυτούς τους ασθενείς συνυπήρχε νεφρική ή καρδιακή συμμετοχή ενδεικτικό της χρονικής υστέρησης στην ολοκλήρωση της διάγνωσης.

Ένα ακόμη χαρακτηριστικό εύρημα το οποίο προέκυψε κατά την μελέτη των ιδιαιτεροτήτων της αρχικής κλινικής έκφρασης της νόσου στη χώρα μας ήταν το γεγονός ότι συχνά και παρά την ύπαρξη των κλασσικών κλινικών εκδηλώσεων της



νόσου η διάγνωση στην οποία είχαν αποδοθεί τα συμπτώματα των ασθενών ήταν εσφαλμένη. Σε δύο νέους άνδρες λόγω της εμφάνισης αρθρίτιδων είχε υποτεθεί η ύπαρξη νόσου του συνδετικού ιστού και ειδικότερα σε έναν εξ αυτών η νόσος Fabry δεν επιβεβαιώθηκε ούτε μετά από νεφρική βιοψία στην οποία ο ασθενής υποβλήθηκε λόγω της συνύπαρξης λευκωματουρίας και ΧΝΝ σταδίου II. Τέλος ενδεικτικό της ετερογένειας των κλινικών εκδηλώσεων της νόσου είναι το γεγονός ότι όχι σπάνια τα συμπτώματα που οδηγούν τον ασθενή στον θεράποντα Ιατρό είναι ιδιαίτερα άτυπα όπως διαφαίνεται και από το παράδειγμα δύο ασθενών της μελέτης. Πράγματι ο ένας εξ αυτών προσήλθε σε νεφρολογική κλινική για την διερεύνηση οιδημάτων κάτω άκρων τα οποία είχαν αποδοθεί αρχικά σε λευκωματουρία αλλά στην πραγματικότητα οφείλονταν σε λεμφοίδημα ως πρώτη κλινική εκδήλωση της νόσου Fabry. Ο δεύτερος αντίθετα εμφάνιζε αρθρίτιδα των μικρών αρθρώσεων και ειδικότερα των δακτύλων των άνω άκρων με στοιχεία φλεγμονής που υποχώρησαν με την έναρξη της θεραπείας ενζυμικής υποκατάστασης. Τέλος σε 9 ασθενείς στη χώρα μας η διάγνωση πραγματοποιήθηκε διερευνώντας το γενεαλογικό δένδρο των ασθενών. Η διάγνωση της νόσου σε αυτούς τους ασθενείς έγινε με βάση την ύπαρξη των κλινικών εκδηλώσεων της νόσου και την εκτίμηση της δραστηριότητας της α-γαλακτοζιδάσης ενώ στις γυναίκες ετεροζυγώτες έγινε παράλληλα και γονιδιακός έλεγχος επιβεβαίωσης φορείας της οικογενειακής μετάλλαξης.

Οι κλινικές εκδηλώσεις της νόσου όπως φαίνεται και στη μελέτη μας παρουσιάζουν σημαντική ετερογένεια. Συχνά παρατηρείται διαφορετική κλινική εικόνα της νόσου ακόμη και μεταξύ των μελών της ίδιας οικογένειας. Μελετώντας τα ιδιαίτερα κλινικά χαρακτηριστικά τριών ενήλικων πασχόντων ανδρών (δύο αδελφών και του ανιψιού τους ηλικίας 49, 51 και 37 ετών αντίστοιχα) διαπιστώσαμε σημαντικές διαφορές στην κλινική έκφραση της νόσου παρότι η μετάλλαξη (T384P)



αλλά και η υπολειμματική ενζυμική δραστηριότητα ήταν η ίδια σε όλους τους ασθενείς. Και οι τρεις ασθενείς εμφάνιζαν αγγειοκερατώματα αλλά τόσο η έκταση όσο και η θέση των δερματικών βλαβών διέφεραν σημαντικά. Συγχρόνως μόνο δύο από αυτούς παρουσίαζαν διαταραχές της εφίδρωσης ενώ παράλληλα και η ένταση, η εντόπιση και η χρονική εξέλιξη των ακροπαραισθησιών, οι οποίες ήταν εμφανείς και στους τρεις ασθενείς, δεν είχαν κοινά χαρακτηριστικά. Ο νεότερος ασθενής από σχετικά νεαρή ηλικία εμφάνιζε προοδευτική ανάπτυξη λεμφοειδήματος των κάτω άκρων το οποίο απουσίαζε από τους θείους του ενώ ο ένας από τους δύο αδελφούς δεν εμφάνιζε καμιά από τις χαρακτηριστικές οφθαλμικές αλλοιώσεις της νόσου οι οποίες αντίθετα ήταν εμφανείς και εκτεταμένες στους υπόλοιπους δυο ασθενείς. Αλλά και η εξέλιξη της νεφρικής νόσου εμφάνιζε σημαντικές διαφορές. Στην ηλικία των 35 ετών ο ένας από τους αδελφούς παρουσίαζε σοβαρή λευκωματουρία (2,5gr/24h) και νεφρική ανεπάρκεια ενώ οι άλλοι δύο μόνο μικροαλβουμιουρία. Ο ασθενής αυτός 12 χρόνια αργότερα και πριν την έναρξη θεραπείας ενζυμικής υποκατάστασης εντάχθηκε σε εξωνεφρική κάθαρση ενώ ο αδελφός του αν και δυο χρόνια μεγαλύτερος παραμένει, μετά την ένταξή του σε θεραπεία, με ήπια λευκωματουρία και κάθαρση κρεατινίνης περίπου 60mL/min. Αντίθετα ο ανιψιός τους διατήρησε τη νεφρική του λειτουργία ενώ η λευκωματουρία του παραμένει σταθερή αν και αυτός εντάχθηκε σε ενζυμική θεραπεία υποκατάστασης πολύ νωρίτερα, στην ηλικία των 38 ετών. Τέλος, οι δύο πιο ηλικιωμένοι ασθενείς παρουσίαζαν συγχρόνως και αποφρακτική πνευμονοπάθεια η οποία δεν σχετιζόταν με την ηλικία τους, μιας και η έναρξη των συμπτωμάτων εμφανίστηκε στο 20<sup>ο</sup> και 32<sup>ο</sup> έτος της ηλικίας των αντίστοιχα.

Η κλινική έκφραση της νόσου Fabry όπως και κάθε γενετικά καθοριζόμενης νόσου επηρεάζεται από γενετικούς καθώς επίσης και περιβαλλοντολογικούς



παράγοντες. Πολλαπλά είναι τα αίτια τα οποία δυσχεραίνουν την ανάλυση της συσχέτισης μεταξύ γονότυπου και φαινοτύπου στην νόσο του Fabry. Η ύπαρξη πολύ μεγάλου αριθμού μεταλλάξεων υπεύθυνων για την εμφάνιση της νόσου, οι οποίες συχνά αφορούν έναν μικρό αριθμό οικογενειών και η συχνότατα παρατηρούμενη διαφορετική κλινική έκφραση της νόσου σε άτομα που ανήκουν στην ίδια οικογένεια αλλά και σε άτομα διαφορετικής οικογένειας που φέρουν την ίδια μετάλλαξη καθιστά αυτή την προσπάθεια μια ιδιαίτερα δύσκολη διαδικασία (71). Παράλληλα πολλά από τα κλινικά ευρήματα της νόσου είναι κοινά (πόνος, πυρετός, διάρροια) και εμφανίζονται σε μια σειρά παθήσεων ενώ ορισμένες από τις επιπλοκές των ασθενών δεν έχουν άμεση σχέση με την αιτιοπαθογένεια της νόσου με αποτέλεσμα να οδηγούν συχνά σε αμφιλεγόμενα αποτελέσματα (161,187). Παρόλα αυτά η συσχέτιση γονότυπου-φαινοτύπου στη νόσο Fabry θεωρείται πια δεδομένη σύμφωνα και με τα αποτελέσματα της πολυκεντρικής μελέτης FOS (Fabry Outcome Survey) (76). Πράγματι διαπιστώθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ της ηλικίας έναρξης της θεραπείας ενζυμικής υποκατάστασης και της σοβαρότητας της κλινικής έκφρασης της νόσου σε σχέση με τον τύπο της παρερμηνεύσιμης μετάλλαξης του γονιδίου GLA καθώς επίσης και μεταλλάξεων διαφορετικών μορφών. Επίσης περιγράφηκε θετική συσχέτιση και μεταξύ του αριθμού των προσβεβλημένων οργάνων από την νόσο και των εμφανιζόμενων δομικών αλλαγών στο παραγόμενο ένζυμο σε σχέση με τον τύπο της μετάλλαξης των ημιζυγωτών ανδρών φορέων που περιελήφθησαν στην εν λόγω μελέτη (169). Παράλληλα με τη βοήθεια της κρυσταλλογραφίας διαπιστώθηκε ότι σημειακές παρερμηνεύσιμες μεταλλάξεις οι οποίες συνδυάζονται με ήπια κλινική έκφραση της νόσου αφορούν κωδικοποίηση αμινοξέων που βρίσκονται στην επιφάνεια ή στις στερεοσκοπικά πλησιέστερες σε αυτή περιοχές του ενζύμου. Αντίθετα παρερμηνεύσιμες μεταλλάξεις ασθενών με



σοβαρότερες κλινικές εκδηλώσεις εντοπίζονται σε κωδικόνια τα οποία κωδικοποιούν αμινοξέα τα οποία πλαισιώνουν το ενεργό κέντρο ή διασπύουν τον υδρόφοβο πυρήνα του ένζυμου (64).

Στις περισσότερες περιπτώσεις η σοβαρότητα της κλινικής έκφρασης της νόσου συνδυάζεται άμεσα με την υπολειμματική δραστικότητα του υπεύθυνου ενζύμου, της α-γαλακτοζιδάσης Α. Οι ασθενείς Fabry με υπολειμματική ενζυμική δραστικότητα εμφανίζουν όψιμη νεφρική προσβολή και ηπιότερη έκφραση ορισμένων συμπτωμάτων της νόσου όπως η ένταση του πόνου ή έκταση των δερματικών βλαβών και η συχνότητα εμφάνισης διαταραχών της ακοής (161,187). Συγχρόνως ορισμένοι ασθενείς, οι οποίοι εμφανίζουν σαν μόνη κλινική έκφραση καρδιακή ή νεφρική συμμετοχή και χαρακτηρίζονται συχνά στη διεθνή βιβλιογραφία και ως φαινοτυπικές παραλλαγές της νόσου Fabry, παρουσιάζουν συνήθως ικανού βαθμού διατήρηση της υπολειμματικής ενζυμικής δραστικότητας (195). Η υπολειμματική ενζυμική δραστικότητα παράλληλα φαίνεται να σχετίζεται άμεσα με τον τύπο της υπεύθυνης μετάλλαξης. Πράγματι εκτεταμένες γονιδιακές αναδιατάξεις ή μεταλλάξεις που κωδικοποιούν περιοχές του ενεργού κέντρου του ενζύμου οδηγούν είτε σε παραγωγή απόλυτα ανενεργούς πρωτεΐνης είτε σε πλήρη απουσία σύνθεσης του ενζύμου. Σε αντίθεση σημειακές παρερμηνεύσιμες μεταλλάξεις μπορεί να συνοδεύονται από διάφορου βαθμού διατήρηση της υπολειμματικής μεταβολικής ενζυμικής δραστικότητας (15,267).

Παράλληλα η νόσος Fabry είναι δυνατόν να χαρακτηριστεί και ως μια γενικευμένη, μεταβολικής αιτιολογίας, αγγειοπάθεια (263). Άρα οι κοινά αποδεκτοί παράγοντες κινδύνου εμφάνισης της καρδιαγγειακής νόσου όπως το κάπνισμα, η αρτηριακή υπέρταση, η παχυσαρκία και η δυσλιπιδαιμία επηρεάζουν την εξέλιξη και την κλινική έκφραση και της νόσου του Fabry. Πρόσφατα περιγράφηκε ότι η



συνύπαρξη πολυμορφισμών του DNA γονιδίων που αποκωδικοπούν φλεγμονώδεις ή πηκτικούς παράγοντες (IL-6, NOS, παράγων V) σε ασθενείς Fabry συνοδεύονταν από αύξηση της καρδιαγγειακής νοσηρότητας στον υπό μελέτη πληθυσμό (75,106).

Για την ακριβέστερη συσχέτιση γονότυπου-φαινοτύπου και την παρουσίαση ολοκληρωμένων προτάσεων για την πλέον ορθολογική αντιμετώπιση των ασθενών με νόσο Fabry είναι απαραίτητη η πραγματοποίηση πολυκεντρικών μελετών οι οποίες θα περιλαμβάνουν μεγαλύτερο αριθμό ασθενών. Η ανάλυση των κλινικών χαρακτηριστικών μεγάλου αριθμού ασθενών οι οποίοι φέρουν την ίδια μετάλλαξη καθώς επίσης και η συσχέτιση ορισμένων μεταλλάξεων με τον βαθμό της υπολειμματικής ενζυμικής δραστηριότητας σε πολυάριθμες οικογένειες θα οδηγήσει σε ασφαλέστερα συμπεράσματα. Για τους λόγους αυτούς κρίνεται απαραίτητη η δημιουργία μιας βάσης δεδομένων μέσω της καταγραφή του συνόλου των περιστατικών σε εθνικό επίπεδο η οποία μέσω της αμεσότητας στην πρόσβαση, θα δίνει την δυνατότητα σε κάθε ενδιαφερόμενο, της χρήσης των στοιχείων για κάθε τύπου ανάλυση ενώ παράλληλα θα διευκολύνει την συμμετοχή της κάθε χώρας στις διεθνείς προσπάθειες μελέτης και καταγραφής των ασθενών Fabry. Η συμμετοχή στην παρούσα μελέτη του συνόλου, των έως σήμερα διαγνωσμένων, ασθενών στην Ελλάδα, θεωρούμε ότι αποτελεί μια σημαντική βάση εκκίνησης μιας ολοκληρωμένης προσπάθειας συνεχούς καταγραφής και μελέτης της νόσου στη χώρα μας.

Η δυσκολία στην προσέγγιση της κλινικής έκφρασης της νόσου σε άνδρες ημιζυγώτες μετατρέπεται σχεδόν σε αδυναμία όταν γίνεται προσπάθεια πρόβλεψης του φαινοτύπου γυναικών φορέων μιας ορισμένης μετάλλαξης. Αν και σε ορισμένες μελέτες η διεισδυτικότητα της νόσου σε γυναίκες ετεροζυγώτες υπολογίζεται στο 70% δεν υπάρχουν ως σήμερα επιδημιολογικά δεδομένα συσχέτισης γονότυπου-φαινοτύπου σε αυτή την κατηγορία των ασθενών (223). Συνήθως η κλινική έκφραση



της νόσου στις ετερόζυγες γυναίκες είναι ηπιότερη, συγκρινόμενη με την αντίστοιχη των ημιζυγωτών ανδρών, αλλά δεν είναι σπάνια η πλήρης εμφάνιση των κλασικών κλινικών εκδηλώσεων με σημαντική καρδιακή, νεφρική και νευρολογική νοσηρότητα (161,187). Η έντονη ποικιλομορφία των κλινικών εκδηλώσεων στις γυναίκες φορείς συχνά συνδυάζεται με τον τύπο της εμφανιζόμενης μετάλλαξης όπως και στους άνδρες ημιζυγώτες αλλά κύρια πιστεύεται ότι οφείλεται στο φαινόμενο της αδρανοποίησης του χρωμοσώματος X. Η συχνότητα της μη τυχαίας αδρανοποίησης ή της εμφάνισης σοβαρού βαθμού ασυμμετρίας είναι αρκετά συχνή στις γυναίκες φορείς μεταλλάξεων υπεύθυνων για τη νόσο Fabry(208). Τα χαρακτηριστικά της αδρανοποίησης δεν είναι όμοια σε όλους τους κυτταρικούς πληθυσμούς του ανθρώπινου οργανισμού με αποτέλεσμα την ετερογενή εμφάνιση κλινικών εκδηλώσεων της νόσου στους διάφορους ιστούς και όργανα των γυναικών Fabry. Όπως φαίνεται από πολλαπλές κλινικές μελέτες ο τρόπος αδρανοποίησης του χρωμοσώματος X αποτελεί καθοριστικό παράγοντα στην κλινική έκφραση αλλά και στην εξέλιξη της νόσου του Fabry στις ετερόζυγες γυναίκες (209,210).

Οι κλινικές εκδηλώσεις της νόσου Fabry στις γυναίκες φορείς εμφανίζουν μεγάλη ετερογένεια και συχνά είναι ιδιαίτερα σοβαρές παρά τα φυσιολογικά επίπεδα της α-γαλακτοζιδάσης Α στο αίμα των ασθενών (211,223). Άρα για την επαρκή στοιχειοθέτηση της διάγνωσης της νόσου Fabry σε μια ετερόζυγο γυναίκα κρίνεται απαραίτητη η γονιδιακή επιβεβαίωση της φορείας της οικογενειακής μετάλλαξης εκτός από την ανάδειξη των χαρακτηριστικών κλινικών εκδηλώσεων της νόσου. Παρά την αυξημένη νοσηρότητα και θνησιμότητα των ετερόζυγων φορέων της νόσου Fabry, ο συνολικός αριθμός των γυναικών ο οποίος έχει ενταχθεί σε θεραπεία ενζυμικής υποκατάστασης παραμένει σχετικά χαμηλός (53.1% των γυναικών με ΥΑΚ και 46.7% με σοβαρού βαθμού ΧΝΝ)(10). Στη χώρα μας μόνο τρεις γυναίκες





έχουν ενταχθεί σε θεραπεία ενζυμικής υποκατάστασης ενώ σε δύο ακόμη περιπτώσεις έχει επιβεβαιωθεί η φορεία της οικογενειακής μετάλλαξης. Τα περιστατικά αυτά διαγνώστηκαν από την διερεύνηση των γενεαλογικών δένδρων τεσσάρων γνωστών οικογενειών με νόσο Fabry στη χώρα μας αλλά παραμένει άγνωστος ο συνολικός αριθμός των γυναικών φορέων της νόσου.

Η θεραπεία ενζυμικής υποκατάστασης αποτελεί την πλέον ορθολογική και συγχρόνως αποτελεσματική και ασφαλή πρόταση αντιμετώπισης των ασθενών Fabry (261). Η ταυτοποίηση του ανθρώπινου γονιδίου, υπεύθυνου για την παραγωγή της α-γαλακτοζιδάσης A, και η εξέλιξη των τεχνικών του ανασυνδυασμένου DNA επέτρεψαν την εργαστηριακή παραγωγή ικανών ποσοτήτων ενζύμου που έδωσαν το έναυσμα για την μελέτη της αποτελεσματικότητας της εξωγενούς χορήγησής του ως ειδική μορφή θεραπευτικής αντιμετώπισης της νόσου Fabry. Δύο, φαρμακοτεχνικά, διαφορετικές ανασυνδυασμένες μορφές της ανθρώπινης α-γαλακτοζιδάσης A, η agalsidase alpha (Replagal®, Shire Human Genetic Therapies, Inc.) που παράγεται από ανθρώπινη κυτταρική σειρά και η agalsidase beta (Fabrazyme®, Genzyme Corp.) η οποία παράγεται σε CHO (Chinese Hamster Ovary) κύτταρα, ολοκλήρωσαν με επιτυχία τις απαιτούμενες κλινικές μελέτες και έχουν εγκριθεί από τα περισσότερα Εθνικά Συστήματα Υγείας ως η μοναδική ειδική θεραπεία για τη νόσο Fabry(12,13). Και τα δύο φαρμακευτικά σκευάσματα προτείνεται να χορηγούνται κάθε 15 ημέρες σε δόσεις 0,2mg/kg βάρους σώματος του ασθενούς όσον αφορά την αγαλσιδάση άλφα και 1mg/kg αντίστοιχα για την αγαλσιδάση βήτα. Μετά την ενδοφλέβια έγχυση το χορηγούμενο ένζυμο απομακρύνεται γρήγορα από την κυκλοφορία και μεταφέρεται στο εσωτερικό των ενδοθηλιακών κυττάρων του τοιχώματος των αγγείων καθώς επίσης και των παρεγχυματικών κυττάρων των διαφόρων ιστών. Η δραστηριότητα της παραγόμενης βιοτεχνολογικά γλυκοπρωτεΐνης εξαρτάται από την



ικανότητά της να προσομοιάζει όσο το δυνατόν περισσότερο με το αντίστοιχο ανθρώπινο ένζυμο. Τα δυο εγκεκριμένα φαρμακευτικά σκευάσματα αν και εμφανίζουν μικροδιαφορές στον βαθμό γλυκοζυλίωσης και το σύνολο των μορίων σιαλικού οξέως που εμπεριέχουν παρουσιάζουν αμφότερα, παρόμοια και ιδιαίτερα ικανοποιητική βιοδιαθεσιμότητα. Η ενδοκυττάρια μετακίνηση του χορηγούμενου ανασυνδυασμένου ενζύμου και η επακόλουθη μεταφορά του στα λυσοσώματα, τα οποία αποτελούν και τον χώρο δράσης του, εξαρτάται κυρίως από την ικανότητα σύνδεσής του με ειδικούς υποδοχείς της 6 φωσφορικής μαννόζης, των πλασματικών μεμβρανών ενώ η κάθαρση του συσσωρευμένου υποστρώματος των αδιάσπαστων GSLs από τους διάφορους ιστούς εξαρτάται από την ενεργότητα των εμπλεκόμενων κυττάρων (267,268). Κύτταρα με χαμηλό *turnover*, όπως είναι τα ποδοκύτταρα στους νεφρούς, αποδεικνύονται ιδιαίτερα ανθεκτικά στη δράση του εξωγενώς χορηγούμενου ενζύμου με αποτέλεσμα η κάθαρση των αδιάσπαστων GSLs από αυτά να καθυστερεί σημαντικά.

Η εξωγενής χορήγηση και των δύο ανασυνδυασμένων μορφών της ανθρώπινης α-γαλακτοζιδάσης A, είχε ως αποτέλεσμα την μείωση των επιπέδων των αδιάσπαστων GSLs στο πλάσμα αλλά και στους ιστούς των ασθενών που μελετήθηκαν με παράλληλη αύξηση της ιστικής δραστηριότητας του ενζύμου (233). Η εκτίμηση των επιπέδων του Gb3 στο πλάσμα των ασθενών αποτελεί έναν από τους πλέον αξιόπιστους εργαστηριακούς δείκτες ελέγχου της αποτελεσματικότητας της θεραπείας ενζυμικής υποκατάστασης. Τρεις έως έξι μήνες μετά τη έναρξη της εξωγενούς χορήγησης του ενζύμου στους ασθενείς μας διαπιστώθηκε σημαντική μείωση των επιπέδων του Gb3 πλάσματος όπως και στο σύνολο των κλινικών μελετών στη διεθνή βιβλιογραφία. Τα εν λόγω επίπεδα του Gb3, παρέμειναν σταθερά βελτιωμένα, χωρίς αποκλείσεις, σε όλη τη διάρκεια της τριχρονής παρακολούθησης

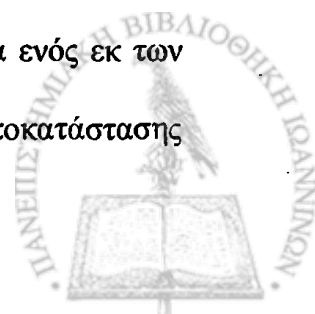


στο σύνολο των ασθενών μας ενδεικτικό της μακροχρόνιας αποτελεσματικότητας της θεραπείας. Η ικανότητα της ανασυνδυασμένης ανθρώπινης α-γαλακτοζιδάσης A να απομακρύνει τα συσσωρευμένα GSLs από το πλάσμα και τους διάφορους κυτταρικούς πληθυσμούς και παράλληλα να αποτρέπει την δημιουργία νέων εναποθέσεων έχει σαν αποτέλεσμα την αναστροφή των δομικών και λειτουργικών διαταραχών που αποτελούν τη βάση των αιτιοπαθογενετικών μηχανισμών πρόκλησης των επιπλοκών της νόσου. Η αποκατάσταση της ενζυμικής δραστηριότητας και η βελτίωση του μεταβολικού *profile* των διαφόρων κυττάρων οδηγεί συγχρόνως και σε σημαντική βελτίωση πολλαπλών παραμέτρων εκτίμησης της εξέλιξης των κλινικών εκδηλώσεων της νόσου.

Η θεραπεία ενζυμικής υποκατάστασης σε πολλές μελέτες μείωσε την συχνότητα εμφάνισης των επώδυνων κρίσεων ενώ βελτίωσε σημαντικά την ένταση και την διάρκεια των ακροπαραισθησιών (229,231). Η προσέγγιση της αποτελεσματικότητας της θεραπείας σε μια τόσο υποκειμενική κλινική εκδήλωση αποτελεί μια ιδιαίτερα δυσχερή διεργασία και συχνά βασίζεται σε έμμεσους δείκτες. Στη μελέτη των ασθενών στη χώρα μας παρότι σχεδόν στο σύνολό τους περιέγραφαν στο ιστορικό τους κάποιου βαθμού παραισθησίες μόνο δύο νεότεροι ασθενείς παρουσίαζαν σημαντική επώδυνη συμπτωματολογία και αυτοί εμφάνισαν σημαντική βελτίωση των συμπτωμάτων τους μετά την θεραπεία. Συγχρόνως διαπιστώθηκε βελτίωση των διαταραχών της εφίδρωσης των ασθενών ενδεικτικό της θετικής επίδρασης της θεραπείας στη λειτουργία του αυτόνομου νευρικού συστήματος. Επιπρόσθετα στη διεθνή βιβλιογραφία έχει περιγραφεί βελτίωση ορισμένων αιμοδυναμικών παραμέτρων του ΚΝΣ με παράλληλη ομαλοποίηση του μεταβολισμού του NO σε ασθενείς που λάμβαναν θεραπεία ενζυμικής υποκατάστασης (230,232).



Όσον αφορά την νεφρική προσβολή η εξωγενής χορήγηση ανασυνδυασμένης α-γαλακτοζιδάσης Α έχει σαν αποτέλεσμα την σημαντική μείωση των εναποθέσεων των αδιάσπαστων GSLs από το σύνολο των νεφρικών κυττάρων. Τα θετικά αποτελέσματα της εν λόγω θεραπείας ήταν εμφανή ήδη από τις πρώτες κλινικές μελέτες (233). Πράγματι η νεφρική λειτουργία των ασθενών Fabry σταθεροποιείται μακροχρόνια και ειδικότερα σε αυτούς που εντάσσονται στην θεραπεία στα αρχικά στάδια της νεφρικής νόσου (235,236,237). Αλλά ακόμη και ασθενείς με μεγάλο ποσοστό σκληρυσμένων σπειραμάτων(>50%) κατά την έναρξη της θεραπείας παρουσιάζουν σημαντική βελτίωση στο ρυθμό απώλειας της νεφρικής λειτουργίας τους με αποτέλεσμα την σημαντική βελτίωση της εξέλιξης της νεφρικής νόσου(240). Η πρωτεϊνουρία των ασθενών σε ορισμένες μελέτες διαφαίνεται ότι βελτιώνεται και στις περισσότερες παραμένει σταθερή και δεν επιδεινώνεται (239,242). Στην παρούσα μελέτη μετά από τρία χρόνια θεραπείας οι ασθενείς μας δεν επιδείνωσαν την αρχική τους λευκωματουρία ενώ παράλληλα διατήρησαν σταθερή την νεφρικής τους λειτουργία ανεξάρτητα των αρχικών επιπέδων του GFR. Ιδιαίτερα επισημαίνεται η περίπτωση του ασθενούς μας ο οποίος πριν την ένταξή του σε θεραπεία με agalsidase beta είχε κάθαρση κρεατινίνης 45 mL/min ενώ στη διάρκεια της θεραπείας παρουσίασε σταδιακή βελτίωση και μετά από τρία χρόνια η νεφρική του λειτουργία σταθεροποιήθηκε στα 60 mL/min. Η Η συνχορήγηση φαρμακευτικών σκευασμάτων που έχει αποδειχθεί ότι βελτιώνουν την πρωτεϊνουρία των ασθενών καθώς επίσης και η επαρκής ρύθμιση της αρτηριακής πίεσης κρίνεται απαραίτητη (97,189). Η θεραπεία ενζυμικής υποκατάστασης έχει αποδειχθεί ασφαλής και για τους ασθενείς οι οποίοι βρίσκονται σε εξωνεφρική κάθαρση και κρίνεται απαραίτητη για την αντιμετώπιση των υπολοίπων επιπλοκών της νόσου (245). Είναι ενδεικτική η πορεία ενός εκ των ασθενών στην μελέτη μας ο οποίος εντάχθηκε σε θεραπεία ενζυμικής υποκατάστασης



ενώ είχε πρόσφατα ενταχθεί σε Περιτοναϊκή Κάθαρση, ο οποίος μετά από τρία χρόνια παρακολούθησης διατήρησε στο ακέραιο την υπολειμματική νεφρική λειτουργία του. Τέλος η μεταμόσχευση νεφρού όχι μόνο δεν αντενδείκνυται αλλά έχει αποδειχθεί ότι βελτιώνει την επιβίωση των ασθενών Fabry με ΤΣΧΝΝ (244). Και στους μεταμοσχευμένους ασθενείς η θεραπεία πρέπει απαραίτητα να συνεχίζεται έτσι ώστε να μειώνεται ο κίνδυνος εμφάνισης των καρδιαγγειακών επιπλοκών της νόσου.

Η μείωση των ενδοκυττάρων εναποθέσεων του Gb3 από τα ενδοθηλιακά και λεία μυϊκά κύτταρα του τοιχώματος των αγγείων, μετά την χορήγηση του ενζύμου, είναι άμεση και έχει περιγραφεί σε πολλαπλές ιστολογικές μελέτες βιοψιών αγγειακών δομών οι οποίες προερχόταν από διαφορετικά σημεία του σώματος ασθενών Fabry. Παράλληλα πολλαπλές κλινικές μελέτες ανέδειξαν την βελτίωση σημαντικών παραμέτρων της καρδιακής νόσου στους ασθενείς Fabry, όπως βελτίωση της καρδιακής αγωγιμότητας, ελάττωση της μάζας της αριστεράς κοιλίας, μείωση του εύρους του μεσοκοιλιακού διαφράγματος καθώς επίσης και βελτίωση των ήδη εγκατεστημένων αιμοδυναμικών διαταραχών(246,247,248). Σε μια πρόσφατα δημοσιευμένη μελέτη αποδείχθηκε επιπρόσθετα και ιστολογική βελτίωση των αλλοιώσεων των καρδιακών μυοκυττάρων (μείωση των εναποθέσεων Gb3) μετά από την εξάμηνη χορήγηση του ενζύμου σε σχέση με τους ασθενείς που έλαβαν εικονικό φάρμακο. Τα θετικά αυτά ιστολογικά αποτελέσματα ακολουθήθηκαν από στατιστικά σημαντική βελτίωση και της ΥΑΚ (με MRI μετρήσεις) των ασθενών, έξι μήνες μετά την έναρξη της θεραπείας ενζυμικής υποκατάστασης (249).

Η θεραπεία ενζυμικής υποκατάστασης, εκτός από την βελτίωση των σοβαρότερων επιπλοκών της νόσου - καρδιαγγειακές, νευρολογικές και νεφρικές - είχε θετικά αποτελέσματα σχεδόν στο σύνολο των κλινικών εκδηλώσεων της νόσου. Κλινικές μελέτες ανέδειξαν την βελτίωση των γαστρεντερικών συμπτωμάτων των



ασθενών, της αποφρακτικής πνευμονοπάθειας και την επιβράδυνση της εξέλιξης των διαταραχών ακοής που ορισμένοι ασθενείς Fabry παρουσίαζαν καθώς επίσης και στην ένταση και την έκταση των δερματικών αλλοιώσεων(251,252,253). Η προκαλούμενη μείωση των εναποθέσεων των αδιάσπαστων GSLs σε μια πλειάδα κυττάρων και ειδικότερα στο τοίχωμα των αγγείων και η παρατηρούμενη αυξημένη ενζυματική δραστηριότητα στα εν λόγω κύτταρα είναι ενδεικτική των μακροχρόνιων ευεργετικών αποτελεσμάτων της θεραπείας στην λειτουργία αυτών(263). Τα θετικά αποτελέσματα της θεραπείας ενζυμικής υποκατάστασης ολοκληρώνονται με την περιγραφόμενη σε αρκετές μελέτες βελτίωση της ποιότητας ζωής των ασθενών Fabry(12,13,254). Το αποτέλεσμα αυτό είναι αναμενόμενο λόγω της θετικής επίδρασης της θεραπείας σε συμπτώματα τα οποία επηρεάζουν την κοινωνική ζωή των ασθενών (πόνος, δυσανεξία στις κλιματολογικές αλλαγές, χρόνια νεφρική νόσος) και της παράλληλης βελτίωσης της συνολικής νοσηρότητας και θνησιμότητας των ασθενών.

Η παραγωγή ουσιών που θα αναστέλλουν τη σύνθεση των γλυκοσφιγγολιπιδίων ή χημικών συνοδών (chaperones) τα οποία θα αυξάνουν την δραστηριότητα της υπολειμματικής α-γαλακτοζιδάσης A και θα μπορούν να δράσουν ως μονοθεραπεία είτε συμπληρωματικά στην ενζυμική υποκατάσταση βρίσκονται σε ερευνητικό επίπεδο (259). Κύρια όμως η έρευνα επικεντρώνεται στις προσπάθειες γονιδιακής θεραπείας της νόσου και την ενδογενή παραγωγή α-γαλακτοζιδάσης A, η οποία θα οδηγούσε και στην οριστική επίλυση του προβλήματος (15,261,267).

Η έγκαιρη διάγνωση της νόσου Fabry δεν αντιπροσωπεύει απλά μια υποχρέωση της Ιατρικής κοινότητας απέναντι στους πάσχοντες συνανθρώπους μας και τις οικογένειες τους αλλά αποτελεί απαραίτητη προϋπόθεση για την αποτελεσματική αντιμετώπιση των ασθενών. Πράγματι πρόσφατες μελέτες έχουν



αποδείξει την ασφάλεια και την αποτελεσματικότητα της εξωγενούς χορήγησης του ενζύμου και στα παιδιά (265,266,267). Πρόκειται για μια συστηματική νόσο με προοδευτική εξέλιξη η οποία αν δεν αντιμετωπισθεί εγκαίρως θα οδηγήσει αναπόφευκτα σε νεφρική και καρδιακή ανεπάρκεια, σε σημαντική νοσηρότητα από το ΚΝΣ και τελικά σε πρόωμο θάνατο. Η εμφάνιση άτυπων συμπτωμάτων όπως ακροπαραισθησίες, διαταραχές της εφίδρωσης, δυσανεξία στις κλιματολογικές αλλαγές, εύκολη κόπωση, δεκατική πυρετική κίνηση, εμμένουσες διάρροιες θα πρέπει να μας οδηγήσει στη διερεύνηση της νόσου. Εξάλλου ανεξήγητη λευκωματουρία ή υπερτροφία της αριστεράς κοιλίας ειδικότερα όταν πρόκειται για νέους ανθρώπους είναι δυνατόν να αποτελούν τις αρχικές κλινικές εκδηλώσεις της νόσου του Fabry. Η ανάδειξη των τυπικών αγγειοκερατωμάτων ή των χαρακτηριστικών αλλοιώσεων των οφθαλμικών δομών είναι δυνατόν να εδραιώσει την κλινική διάγνωση. Η ανάδειξη χαμηλών επιπέδων δραστηριότητας του λυσοσωμιακού ενζύμου α-γαλακτοζιδάση Α στο πλάσμα ή στα λεμφοκύτταρα των ασθενών, αρκεί για την τεκμηρίωση της διάγνωσης στους άνδρες ημιζυγώτες ενώ στις περισσότερες γυναίκες ετεροζυγώτες είναι απαραίτητη η γονιδιακή επιβεβαίωση της φορείας της οικογενειακής μετάλλαξης μιας και τα επίπεδα της δραστηριότητας του ενζύμου συχνά είναι φυσιολογικά.



## 6. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η παρούσα μελέτη περιλαμβάνει όλους τους γνωστούς έως σήμερα ασθενείς με νόσο Fabry στην Ελλάδα (15 άνδρες και 5 γυναίκες από 10 ανεξάρτητες οικογένειες). Υπολογίζοντας την συχνότητα εμφάνισης της νόσου με τα σημερινά δεδομένα αυτή είναι περίπου 1 περιστατικό ανά 500.000 κατοίκους της χώρας μας, το οποίο είναι σημαντικά μεγαλύτερο από αυτό των αρχών του 2000 αλλά πολύ μικρότερο από τα διεθνή δεδομένα (1 ανά 117.000 κατοίκους).

Όπως και στις διεθνείς καταγραφές των ασθενών με νόσο Fabry έτσι και στην χώρα μας παρατηρήθηκε σημαντική χρονική υστέρηση στην διαγνωστική επιβεβαίωση της νόσου σχεδόν στο σύνολο των ασθενών. Η μέση ηλικία των ασθενών στον χρόνο της διάγνωσης ήταν για μεν τους άνδρες 37,6( $\pm$ 15,07) για δε τις γυναίκες 38,6( $\pm$ 15,07) έτη. Ο χρόνος που παρήλθε από την εμφάνιση των αρχικών κλινικών εκδηλώσεων έως την στιγμή της τεκμηρίωσης της διάγνωσης της νόσου ήταν 17,8 έτη για τους άνδρες και 19,2 έτη αντίστοιχα για τις γυναίκες.

Η διάγνωση της νόσου στους ασθενείς μας συνήθως πραγματοποιήθηκε κατά την διερεύνηση ήδη εγκαταστημένων σοβαρών επιπλοκών της νόσου ενώ στο 50% των περιστατικών κατά τον έλεγχο των γενεαλογικών δένδρων των διαγνωσμένων οικογενειών. Δεκαοκτώ από τους είκοσι ασθενείς εμφάνιζαν νεφρική προσβολή (90% λευκωματουρία, 50% είχαν  $GFR < 60 \text{ mL/min}$  ενώ ήδη τέσσερις αντιμετωπιζόταν με εξωνεφρική κάθαρση). Καρδιακή συμμετοχή διαπιστώθηκε στο 85% των ασθενών στη μελέτη (67,5% ΥΑΚ, 50% βαλβιδοπάθεια, 30% αρρυθμίες). Δεκατέσσερις ασθενείς εμφάνιζαν νευρολογικά συμπτώματα (ακροπαραισθησίες, πόνο) και το 40% διαταραχές της εφίδρωσης. Αγγειοκερατώματα ήταν εμφανή στο 60% των ασθενών ενώ οφθαλμικές εκδηλώσεις διαγνώστηκαν σε οκτώ ασθενείς. Παρότι πρόκειται για μια X-φυλοσύνδετη κληρονομική νόσο στη μελέτη μας περιλαμβάνονται και πέντε





ετερόζυγες γυναίκες οι οποίες παρουσιάζουν εκδηλώσεις της νόσου με σχετικά ηπιότερη έκφραση.

Οι δεκαπέντε ασθενείς, 13 άνδρες και δύο γυναίκες, ηλικίας  $39 \pm 8$  (εύρος 22-60 έτη), έχουν ενταχθεί σε θεραπεία ενζυμικής υποκατάστασης και οι οκτώ από αυτούς έχουν συμπληρώσει τρία χρόνια παρακολούθησης. Η θεραπεία ενζυμικής υποκατάστασης επανέφερε και διατήρησε φυσιολογικά τα επίπεδα Gb3 στο πλάσμα των ασθενών. Η νεφρική λειτουργία και η λευκωματουρία των ασθενών δεν επιδεινώθηκαν στην διάρκεια της μακροχρόνιας παρακολούθησης. Η υπερτροφική καρδιοπάθεια εμφάνισε ενδείξεις βελτίωσης. Η ανάπτυξη ειδικών IgG αντισωμάτων (ορομετατροπή) έναντι του χορηγούμενου ενζύμου (agalactosidase beta) εμφανίστηκε σε 7 από τους 8 ασθενείς ήδη από το πρώτο εξάμηνο της θεραπείας, αλλά δεν διαφοροποίησε το ποσοστό παρενεργειών οι οποίες στο σύνολο τους ήταν ελάχιστες.

Η νόσος Fabry αποτελεί μια σπάνια, κληρονομική, φυλοσύνδετη με το χρωμόσωμα X, θανατηφόρο διαταραχή του μεταβολισμού των γλυκοσφιγγολιπιδίων. Η κλινικές εκδηλώσεις της νόσου παρότι εμφανίζονται στην παιδική ηλικία, λόγω της έντονης ετερογένειας και του άτυπου χαρακτήρα τους δεν οδηγούν άμεσα στη διάγνωση της νόσου. Η ανάδειξη χαμηλών επιπέδων δραστηριότητας του λυσοσωμιακού ενζύμου α-γαλακτοζιδάση A στο πλάσμα ή στα λεμφοκύτταρα των ασθενών, αρκεί για την τεκμηρίωση της διάγνωσης στους άνδρες ημιζυγώτες ενώ στις περισσότερες γυναίκες ετεροζυγώτες είναι απαραίτητη η γονιδιακή επιβεβαίωση της φορείας της οικογενειακής μετάλλαξης μιας και τα επίπεδα της δραστηριότητας του ενζύμου συχνά είναι φυσιολογικά.

Η έγκαιρη διάγνωση αποτελεί θεμέλιο λίθο στην ορθολογική αντιμετώπιση της νόσου. Η θεραπεία ενζυμικής υποκατάστασης, όπως φάνηκε και στη μελέτη μας,



αποτελεί αποτελεσματική και συγχρόνως ασφαλή θεραπευτική παρέμβαση η οποία μπορεί να προλάβει την εξέλιξη και να διαφοροποιήσει την πορεία της νόσου Fabry.



## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η νόσος Fabry αποτελεί μια σπάνια, κληρονομική, φυλοσύνδετη με το χρωμόσωμα X, διαταραχή του μεταβολισμού των γλυκοσφιγγολιπιδίων. Οφείλεται σε ανεπαρκή δραστικότητα του λυσοσωμιακού ενζύμου α-γαλακτοζιδάση A, η οποία προκαλεί νεφρική και καρδιακή ανεπάρκεια και οδηγεί στον θάνατο, λόγω σταδιακής συσσώρευσης αδιάσπαστων GSLs, με κύριο εκπρόσωπο το Gb3, στους ιστούς και το πλάσμα των ασθενών.

Η παρούσα μελέτη περιλαμβάνει σχεδόν όλους τους γνωστούς έως σήμερα ασθενείς με νόσο Fabry στην Ελλάδα (15 άνδρες και 5 γυναίκες από 10 ανεξάρτητες οικογένειες). Παρά την εμφάνιση των αρχικών συμπτωμάτων στην παιδική ηλικία (μέση ηλικία 15,6 έτη, εύρος 9-20) η ολοκλήρωση της διάγνωσης στους ασθενείς μας καθυστέρησε περίπου 18 έτη (μέση ηλικία διάγνωσης 36 έτη, εύρος 15-60).

Νεφρική προσβολή παρουσίαζαν 18 ασθενείς [90% λευκωματουρία (>150 mg/day), 50% μειωμένη GFR(<60mL/min) και 20%ΤΣΧΝΝ]. Καρδιακές εκδηλώσεις της νόσου αποδείχθηκαν στο 85% [ΥΑΚ(67,5%), βαλβιδοπάθεια(50%) και αρρυθμίες (30%)]. Νευροπαθητικός πόνος (75%), αγγειοκερατώματα (60%), υποϊδρωσία (40%) και δυστροφίες των δομών των οφθαλμών (40%) ολοκληρώνουν την κλινική εικόνα της νόσου στη μελέτη.

Οι δεκαπέντε ασθενείς, ηλικίας  $39\pm 8$  (εύρος 22-60), έχουν ενταχθεί σε θεραπεία ενζυμικής υποκατάστασης. Οκτώ από αυτούς έχουν συμπληρώσει τρία χρόνια παρακολούθησης και στο σύνολο των ασθενών χορηγήθηκε agalsidase beta (Fabrazyme<sup>TM</sup>) σε δόση 1mg/kg. Η θεραπεία ενζυμικής υποκατάστασης επανέφερε και διατήρησε φυσιολογικά τα επίπεδα Gb3 στο πλάσμα των ασθενών. Η νεφρική λειτουργία και η λευκωματουρία των ασθενών δεν επιδεινώθηκαν ενώ η υπερτροφική καρδιοπάθεια εμφάνισε ενδείξεις βελτίωσης σε ορισμένους ασθενείς. Η ανάπτυξη



ειδικών IgG αντισωμάτων έναντι του χορηγούμενου ενζύμου εμφανίσθηκε σε 7 από τους 8 ασθενείς ήδη από το πρώτο εξάμηνο της θεραπείας αλλά δεν διαφοροποίησε το ποσοστό παρενεργειών οι οποίες στο σύνολο τους ήταν ελάχιστες.

Η έγκαιρη διάγνωση της νόσου αποτελεί θεμέλιο λίθο στην ορθολογική αντιμετώπιση της νόσου. Η θεραπεία ενζυμικής υποκατάστασης αποτελεί αποτελεσματική και συγχρόνως ασφαλή θεραπευτική παρέμβαση η οποία μπορεί να προλάβει την εξέλιξη και να διαφοροποιήσει την πορεία της νόσου του Fabry.



## SUMMARY

Fabry disease is a progressive, life-threatening metabolic disorder resulting from a defect in the gene encoding the enzyme  $\alpha$ -galactosidase A and its clinical course is characterized by different phases and variety in the evolution of disease manifestations. First symptoms generally appear in childhood or early adolescence and are followed by signs of renal and cardiac involvement. Severe morbidity develops later in adulthood causing premature mortality.

We report the clinical and biochemical characteristics of 15 male and 5 female patients from 10 unrelated families who represent almost the entire cohort of known Fabry patients in Greece. Despite the presence of early symptoms in almost every patient (mean age at onset of symptoms 15,6 years, range 9-20), the diagnosis was delayed for a mean of about 18 years (mean age of diagnosis 36 years, range 15-60). Renal manifestations were present in 18 patients [90% proteinuria (>150 mg/day), 50% impaired GFR (<60mL/min) and 20% ESRD]. Cardiac involvement was found in 85% of patients and manifested as cardiac hypertrophy (67,5%), valvular abnormalities (50%) and arrhythmias (30%). Acroparesthesias (75%), angiokeratomas (60%), hypohidrosis (40%) and ocular dystrophy (40%) represent the most frequent, remains clinical findings in our cohort.

Enzyme Replacement Therapy (ERT) was initiated at different times in fifteen patients and eight of them (age  $39\pm 8$ ) completed 3 years of follow up. All patients are treated with agalsidase beta (Fabrazyme<sup>TM</sup>) at a dose of 1mg/kg. Treatment gave a constant reduction in plasma Gb3 levels. Thirty-six months of therapy did not change renal function and proteinuria. Cardiac hypertrophy was improved and enzyme infusions were well tolerated despite formation of antibodies.



In conclusion, our study has revealed that ERT clears Gb3 from plasma, stabilizes renal function and proteinuria and improves LVH. ERT is safe and should be started as early as possible to delay organ damage. The diagnostic delay, also demonstrated in our study, compromises the optimal and comprehensive treatment of this progressive disease.

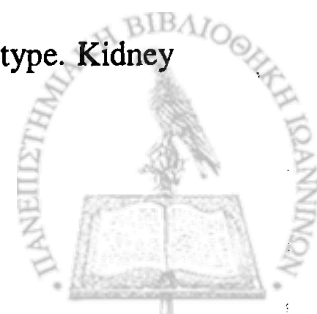


## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Anderson W. A case of "Angeio-keratoma". *Brit J Dermatol* 1898;10:113-7.
2. Fabry J. Ein Beitrag Zur Kenntnis der Purpura haemorrhagica nodularis (Purpura papulosa hemorrhagica Hebrae). *Arch Dermatol Syphilis* 1898; 43:187-200.
3. Pompen AWM, Ruiter M, Wyers HJG. Angiokeratoma corporis diffusum (universale) Fabry, as a sign of an unknown internal disease; two autopsy reports. *Acta Med Scand* 1947, 128: 234–55.
4. Sweeley C, Klionsky B. Fabry's disease: classification as a sphingolipidosis and partial characterization of a novel glycolipid. *J Biol Chem* 1963; 238: 3148–50.
5. Desnick RJ, Dawson G, Desnick SJ, et al. Diagnosis of glycosphingolipidoses by urinary-sediment analysis, *N Engl J Med* 1971; 284: 739–744.
6. Vance DE, Krivit W, Sweeley CC. Concentrations of glycosyl ceramides in plasma and red cells in Fabry's disease, a glycolipid lipidosis. *J Lipid Res* 1969; 10(2):188–192.
7. Schibanoff JM, Kamoshita S, O'Brien JS. Tissue distribution of glycosphingolipids in a case of Fabry's disease. *J Lipid Res.* 1969; 10(5):515–520.
8. Brady RO, Gal AE, Bradley R, et al. Enzymatic defect in Fabry's disease. Ceramidetrihexosidase deficiency. *N Engl J Med* 1967; 21: 1163–7.
9. J.A. Kint. Fabry's disease: alpha-galactosidase deficiency, *Science* 1970; 167: 1268–1269.
10. Bishop DF, Calhoun DH, Bernstein HS et al. Human  $\alpha$ -galactosidase A: Nucleotide sequence of a cDNA clone encoding the mature enzyme. *Proc Natl Acad Sci USA* 1986; 83: 4859-4863.



11. Kornreich R, Desnick RJ, Bishop DF. Nucleotide sequences of the human  $\alpha$ -galactosidase A gene. *Nucleic Acids Res* 1989; 17: 3301-3302.
12. Eng CM, Guffon N, Wilcox WR, et al. Safety and efficacy of recombinant human alpha-galactosidase A - replacement therapy in Fabry's disease. *N Engl J Med*. 2001; 345: 9-16.
13. Schiffmann R, Kopp JB, Austin HA, et al. Enzyme replacement therapy in Fabry disease: a randomized controlled trial. *JAMA* 2001; 285: 2743-9.
14. Tsambaos D, Chroni E, Manolis A et al. Enzyme replacement therapy in severe Fabry disease with renal failure: a 1-year follow-up. *Acta Derm Venereol*. 2004; 84 (5):389-92.
15. Desnick RJ, Ioannou YA, Eng CM.  $\alpha$ -Galactosidase A deficiency: Fabry disease. In: *The Metabolic Bases of Inherited Disease*. New York: McGraw Hill, 2001; 3733-74.
16. Poorthuis BJ, Wevers RA, Kleijer WJ, et al. The frequency of lysosomal storage diseases in the Netherlands. *Hum Genet* 1999; 105: 151-6.
17. Meikle PJ, Hopwood JJ, Clague AE, Carey WF. Prevalence of lysosomal storage disorders. *JAMA* 1999a; 281:249-54.
18. Tsakiris D, Simpson HK, Jones EH, et al. Report on management of renal failure in Europe, XXVI, 1995. Rare diseases in renal replacement therapy in the ERA-EDTA Registry. *Nephrol Dial Transplant*. 1996; 11(suppl 7):4-20.
19. Thadhani R, Wolf M, West ML, et al. Patients with Fabry disease on dialysis in the United States. *Kidney International* 2002; 61, 249–255
20. Nakao S, Kodama C, Takenaka T et al. Fabry disease: detection of undiagnosed hemodialysis patients and identification of a "renal variant" phenotype. *Kidney Int*. 2003; 64(3):801-7.





21. Linthorst GE, Hollak CEM, Korevaar JC, et al.  $\alpha$ -Galactosidase A deficiency in Dutch patients on dialysis: a critical appraisal of screening for Fabry disease. *Nephrol Dial Transplant* 2003; 18: 1581-1584
22. Ackerman MJ, Landstrom AP. Detection of subclinical fabry disease in patients presenting with hypertrophic cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol.* 2007 Dec 18;50(25):2404-5.
23. Sachdev B, Takenaka T, Teraguchi H et al. Prevalence of Anderson-Fabry disease in male patients with late onset hypertrophic cardiomyopathy. *Circulation* 2002; 105:1407-11.
24. Chimenti C, Pieroni M, Morgante E, et al. Prevalence of Fabry Disease in Female Patients with Late-Onset Hypertrophic Cardiomyopathy. *Circulation.* 2004; 110:1047-1053.
25. Rolfs A, Böttcher T, Zschesche M, et al. Prevalence of Fabry disease in patients with cryptogenic stroke: a prospective study. *Lancet* 2005;366 (9499), 1794 - 1796
26. West M, Dyack S, Riddell C, et al. Nova Scotia kindred with Fabry disease. *Acta Paed* 2002, 91:439S:116.
27. Spada M, Pagliardini S, Yasuda M, et al. High Incidence of Later-Onset Fabry Disease Revealed by Newborn Screening. *Am J Hum Genet.* 2006; 79(1): 31–40.
28. CC Sweeley. Glycosphingolipids: structure and function. *Pure & Appl. Chem.*, 1989: Vol. 61, No. 7, 1307-1312
29. IUPAC-IUB Joint Commission on Biochemical Nomenclature (JCBN). Nomenclature of glycolipids. *Recommandations* 1997. *Eur. J. Biochem.*; 1998:257, 293-298.



30. Shapiro D, Acher AJ. Total synthesis of ceramide trihexoside accumulating with Fabry's disease. *Chem. Phys. Lipids*. 1978 Oct; 22(3):197-206
31. Schibanoff JM, Kamoshita S and O'Brien JS. Tissue distribution of glycosphingolipids in a case of Fabry's disease. *J Lipid Res* 1969; 10: 515-520.
32. Wherrett JR, Hakomori SI. Characterization of a blood group B glycolipid, accumulating in the pancreas of a patient with Fabry's disease. *J Biol Chem* 1973; 248:3046-3051
33. Marcus D, Naiki M, Kundu S. Abnormalities in the glycosphingolipids content of human pk and p erythrocytes. *Proc Natl Acad Sci USA* 1976; 73: 3263-3271  
Προσοχή λείπει βιβλιογραφία
34. Levery SB. Glycosphingolipid structural analysis and glycosphingolipidomics. *Methods Enzymol*. 2005; 405: 300-369.
35. Sandhoff K, Kolter T, and Harzer K. Sphingolipid activator proteins. In: C.R. Scriver, A.L. Beaudet, W.S. Sly and D. Valle, Editors (8th ed.). *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease (Vol III)*, McGraw-Hill, New York (2001), 3371-3388.
36. K. Funato, R. Lombardi, B. Vallee and H. Riezman, Lcb4p is a key regulator of ceramide synthesis from exogenous long chain sphingoid base in *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Biol. Chem*. 2003; 278: 7325-7334.
37. Jeckel D, Karrenbauer A, Burger KNJ, et al. Glucosylceramide is synthesized at the cytosolic surface of various Golgi sub fractions. *J. Cell Biol*. 1992; 117: 259-267.
38. Merrill JAH. De novo sphingolipid biosynthesis: a necessary, but dangerous, pathway. *J. Biol. Chem*. 2002; 277(25): 843-846.



39. Dan J. Sillescu. New Insights into Glycosphingolipid Functions-Storage, Lipid Rafts, and Translocators *International Review of Cytology* 2007; 262: 151-189
40. Gillard BK, Clement RG and Marcus DM. Variations among cell lines in the synthesis of sphingolipids in de novo and recycling pathways. *Glycobiology* 1998; 8: 885–890
41. Holthuis JC and Levine TP. Lipid traffic: Floppy drives and a superhighway. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2005; 6: 209–220.
42. Hanada K, Kumagai K, Yasuda S, et al. Molecular machinery for non-vesicular trafficking of ceramide, *Nature* 2003; 426: 803–809.
43. Bierfreund U, Kolter T, Sandhoff K. Sphingolipid hydrolases and activator proteins. *Methods Enzymol.* 2000; 311:255–276
44. Hakomori S, Kobata A. Blood group antigens, in *The Antigens*, edited by Sela M, New York, Academic Press, 1974; 2: 79–140
45. Hakomori S. Cancer-associated glycosphingolipid antigens: their structure, organization, and function, *Acta Anat.* 1998; 161: 79–90.
46. Hakomori S. Glycosphingolipids in cellular interaction, differentiation, oncogenesis, *Annu. Rev. Biochem.* 1981; 50: 733–764
47. Rosenstein IJ. The use of lipid-linked oligosaccharides (neoglycolipids) in the identification of carbohydrate receptors for microbial pathogens. *Biomed Pharmacother.* 1994; 48(7): 319-26.
48. Todeschini AR and Hakomori S. Functional role of glycosphingolipids and gangliosides in control of cell adhesion, motility, and growth, through glycosynaptic microdomains. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA), General Subjects* 2007; 22: 614-27



49. Toledo MS, Suzuki E, Handa K and Hakomori S. Cell growth regulation through GM3-enriched microdomain (glycosynapse) in human lung embryonal fibroblast WI38 and its oncogenic transformant VA13, *J. Biol. Chem.* 2004; 279: 34655–34664.
50. Beutler E and Kuhl W. Biochemical and electrophoretic studies of  $\alpha$ -galactosidase in normal man, in patients with Fabry's disease, and in Equidae. *Am J Hum Genet.* 1972 May; 24(3): 237–249.
51. Crawhall JC, Banfalvi M. Fabry's disease: differentiation between two forms of  $\alpha$ -galactosidase by myoinositol. *Science* 1972 Aug 11; 177(48): 527-8.
52. Kint JA and Carton D. Fabry's disease. In: *Lysosomes and storage diseases*, H.G.Hers and F.Van Hoof, eds., New York-London: Academic Press 1973. pp 357–380.
53. Wang AM, Bishop DF and Desnick RJ. Human  $\alpha$ -N-acetylgalactosaminidase - molecular cloning, nucleotide sequence, and expression of a full-length cDNA. Homology with human  $\alpha$ -galactosidase A suggests evolution from a common ancestral gene. *J. Biol. Chem.* 1990; 265: 21859–21866.
54. Beutler E. and Kuhl W.: Absence of cross-reactive antigen in Fabry's disease. *New Eng. J. Med.* 1973; 289: 694–695
55. Desnick RJ and Schindler D.  $\alpha$ -N-Acetylgalactosaminidase deficiency: Schindler disease. In: C.R. Scriver, A.L. Beaudet, W.S. Sly and D. Valle, Editors, *the Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease* (8th ed.), McGraw-Hill, New York (2001), pp. 3483–3505.
56. Bishop DF and Desnick RJ. Affinity purification of  $\alpha$ -galactosidase A from human spleen, placenta, and plasma with elimination of pyrogen contamination.



- Properties of the purified splenic enzyme compared to other forms. *J. Biol. Chem.* 1981; 256: 1307–1316.
57. Garman SC and Garboczi DN. The molecular defect leading to Fabry disease: structure of human  $\alpha$ -galactosidase. *J. Mol. Biol.* 2004; 337: 319–335
58. Dean KJ and Sweeley CC. Studies on human liver alpha-galactosidases. I. Purification of alpha-galactosidase A and its enzymatic properties with glycolipid and oligosaccharide substrates *J. Biol. Chem.* 1979; 254: 9994-10000
59. Gartner S, Conzelmann E and Sandhoff K. Activator protein for the degradation of globotriaosylceramide by human alpha-galactosidase. *J. Biol. Chem.*, 1983; 258(20): 12378-12385.
60. Sandhoff K, Kolter T and van Echten-Deckert G: Sphingolipid activator proteins and the pathology of the cells. In: Robert W. Ledeen, Sen-Itoroh Hakamori, Allan J. Yates, Jay S. Schneider, Robert K. Yu, editors: *Sphingolipids as Signaling Modulators in the Nervous System*. New York Academy of Sciences, Annals. 1998; 845: 139-151.
61. Bernstein HS, Bishop DF, Astrin KH, et al. "Fabry disease: six gene rearrangements and an exonic point mutation in the alpha-galactosidase gene." *J. Clin. Invest.*:1989; 83 (4): 1390-9.
62. Kendall E, Evans W, Jin H, Holland J, Vetrie D: A complete YAC contig and cosmid interval map covering the entirety of human Xq21.3 to Xq22.3 from DXS3 to DXS287. *Genomics*: 1997; 43:171.
63. 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." *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*: 1988; 85 (11): 3903-7.



64. Lin WD, Hwu WL, Liu SC, Tsai FJ. Gene symbol: GLA. Disease: Fabry disease. *Hum Genet.* 2008 Feb; 123(1): 107.
65. Deng T, Li D, Jenh C-H, Johnson LF. Structure of the gene for mouse thymidylate synthase. Locations of introns and multiple transcriptional start sites. *J Biol Chem.* 1986; 261: 16000–5.
66. Kornreich R, Bishop DF, Desnick RJ. "Alpha-galactosidase A gene rearrangements causing Fabry disease. Identification of short direct repeats at breakpoints in an Alu-rich gene." *J. Biol. Chem.* 265 : 1990; (16): 9319-26.
67. Kornreich R, Bishop DF, Desnick RJ. The gene encoding alpha-galactosidase A and gene rearrangements causing Fabry disease. *Trans Assoc Am Physicians.* 1989; 102: 30-43.
68. Blaydon D, Hill JA, Winchester B. Fabry disease: 20 novel GLA mutations in 35 families. *Human Mutation Online* 2001; 18: 459.
69. Germain D, Biasotto M, Tosi M et al. Fluorescence-assisted mismatch analysis (FAMA) for exhaustive screening of the  $\alpha$ -galactosidase A gene and detection of carriers in Fabry disease. *Hum. Genet.* 1996: 98; 719–726.
70. Topaloglu AK, Ashley GA, Tong B, et al. Twenty novel mutations in the  $\alpha$ -galactosidase A gene causing Fabry disease. *Mol. Med.:* 1999;5: 806–811.
71. Ashton-Prolla P, Tong B, Astrin KH et al.: 22 novel mutations in the  $\alpha$ -galactosidaseA gene and genotype/phenotype correlations including mild hemizygotes and severely affected heterozygotes. *J. Invest. Med.* 2000; 48: 227–235.
72. Mehta A, Ricci R, Widmer U, et al. Fabry disease defined: baseline clinical manifestations of 366 patients in the Fabry Outcome Survey *Eur J Clin Invest* 2004. 34: 236-42.



73. Branton MH, Schiffmann R, Sabnis SG, et al. Natural history of Fabry renal disease: influence of  $\alpha$ -galactosidase A activity and genetic mutations on clinical course *Medicine (Baltimore)* 2002. 81: 122-38.
74. Dobyns WB, Filauro A, Tomson BN, et al. Inheritance of most X-linked traits is not dominant or recessive, just X-linked *Am J Med Genet A* 2004. 129: 136-43.
75. Altarescu G, Moore DF, and Schiffmann R. Effect of genetic modifiers on cerebral lesions in Fabry disease *Neurology* 2005. 64: 2148-50.
76. Schaefer E, Mehta A, Gal A. Genotype and phenotype in Fabry disease: analysis of the Fabry Outcome Survey. *Acta Paediatr Suppl* 2005 Mar; 94(447): 87-92.
77. Elleder M.: Sequelae of storage in Fabry disease-pathology and comparison with other lysosomal storage diseases. *Acta Paediatr Suppl* 2003 Dec; 92(443): 46-53
78. Skipski VP, Barclay M, Barclay RK et al.: Lipid composition of human serum lipoproteins. *Biochem J* 1967; 104: 340–352.
79. Elleder M. Cellular and tissue localization of globotriaosylceramide in Fabry disease. *Virchows Arch.* 2008 Jun;452(6):705; author reply 707-8.
80. Meuwissen SG, Dingemans KP, Strijland A, et al. Ultrastructural and biochemical liver analyses in Fabry's disease. *Hepatology* 1982; 2: 263–268.
81. Chatterjee S. Sphingolipids in atherosclerosis and vascular biology, *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1998; 18: 1523–1533
82. Mukhin DN, Chao FF and Kruth HS. Glycosphingolipid accumulation in the aortic wall is another feature of human atherosclerosis. *Atheroscler Thromb Vasc Biol* 1995; 15: 1607–1615.

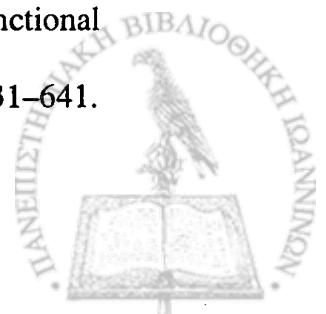


83. G. Dawson and C.C. Sweeley. In vivo studies on glycosphingolipid metabolism in porcine blood. *J Biol Chem* 1970; 245: 410–416.
84. Branton M, Schiffmann R and Kopp JB: Natural History and Treatment of Renal Involvement in Fabry Disease. *J Am Soc Nephrol* 2002; 13: S139-S143.
85. Branton M, Schiffmann R, Sabnis S, et al: Natural history of Fabry renal disease: Influence of  $\alpha$ -galactosidase activity and genetic mutations on clinical course. *Medicine* 2002; 81: 122–138.
86. Bethune JE, Landrigan PL, Chipman CD: Angiokeratoma corporis diffusum universalis (Fabry's disease) in two brothers. *N Engl J Med* 1961; 264: 1280–1285.
87. Alroy J, Sabnis S and Kopp JB: Renal Pathology in Fabry Disease. *J Am Soc Nephrol* 2002; 13: S134-S138.
88. Simon M, Frey H, Gruler H, Bultmann B: Glycolipid storage material in Fabry's disease: a study by electron microscopy, freeze-fracture, and digital image analysis. *J Struct Biol* 1990; 103: 40–47.
89. Chatterjee S, Gupta P, Pyeritz RE et al: Immunohistochemical localization of glycosphingolipid in urinary renal tubular cells in Fabry's disease. *Am J Clin Pathol* 1984; 82: 4–28.
90. Gubler MC, Lenoir G, Grunfeld JP, Ulmann A, Droz D, Habib R: Early renal changes in hemizygous and heterozygous patients with Fabry's disease. *Kidney Int* 1978; 13: 223–235.
91. Farge D, Nadler S, Wolfe LS, et al. Diagnostic value of kidney biopsy in heterozygous Fabry's disease. *Arch Pathol Lab Med* 1985; 109: 85–88.





92. Tøndel C, Bostad L, Hirth A, Svarstad E. Renal biopsy findings in children and adolescents with Fabry disease and minimal albuminuria. *Am J Kidney Dis.* 2008 May;51(5):767-76.
93. Tsutsumi O, Sato M, Sato K, et al. Early prenatal diagnosis of inborn error of metabolism: a case report of a fetus affected with Fabry's disease. *Asia Oceania J Obstet Gynaecol* 1985; 11: 39–45.
94. Pavenstadt H, Kriz W, Kretzler M. Cell biology of the glomerular podocyte. *Physiol Rev* 2003; 83: 253–307.
95. Kriz W, Lemley KV: The role of the podocyte in glomerulosclerosis. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 1999; 8: 489–497.
96. Eng CM, Guffon N, Wilcox WR, et al: Safety and efficacy of recombinant human alpha-galactosidase A–replacement therapy in Fabry's disease. *N Engl J Med* 2001; 345: 9–16.
97. Siamopoulos KC. Fabry Disease: Kidney involvement and enzyme replacement therapy. *Kidney Int* 2004; 65; 744-753.
98. Schiffmann R, Murray GJ, Treco D, et al.: Infusion of alpha-galactosidase A reduces tissue globotriaosylceramide storage in patients with Fabry disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97: 365–370.
99. Austin HA3rd, Muenz LR, Joyce KM, et al: Diffuse proliferative lupus nephritis: Identification of specific pathologic features affecting renal outcome. *Kidney Int* 1984; 25: 689–695.
100. Mauer SM, Steffes MW, Ellis EN, et al: Structural-functional relationships in diabetic nephropathy. *J Clin Invest* 1984; 74: 1143–1155.
101. Schainuck LI, Striker GE, Cutler RE, Benditt EP: Structural-functional correlations in renal disease. II. The correlations. *Hum Pathol* 1970; 1: 631–641.



102. Bass JL, Shrivastava S, Grabowski GA, Desnick RJ, Moller JH: The M-mode echocardiogram in Fabry's disease. *Am Heart J* 1980; 100: 807–812.
103. Strotmann J, Weidemann F, Breunig F, et al. Morbus Fabry of the heart. Why should cardiologists care? *Z Kardiol* 2005; 94:557–563.
104. Von Scheidt W, Eng CM, Fitzmaurice TF, et al: An atypical variant of Fabry's disease with manifestations confined to the myocardium. *N Engl J Med* 1991; 324: 395–9.
105. Christoph Kampmann, Frank Baehner, Markus Ries and Michael Beck: Cardiac Involvement in Anderson-Fabry Disease. *J Am Soc Nephrol* 2002; 13:S147-S149.
106. Linhart A, Palecek T, Bultas J: Endothelin-1 is associated with advanced clinical symptoms and end-organ involvement in patients with Fabry's disease. *Eur Heart J* 2001; 21: 492.
107. Linhart A, Palecek T, Bultas J, et al: New insights in cardiac structural changes in patients with Fabry's disease. *Am Heart J* 2000; 139: 1101–1108.
108. Ikari Y, Kuwako K, Yamaguchi T: Fabry's disease with complete atrioventricular block: Histological evidence of involvement of the conduction system. *Br Heart J* 1992; 68: 323–325.
109. Mehta J, Tuna N, Moller JH, Desnick RJ: Electrocardiographic and vectorcardiographic abnormalities in Fabry's disease. *Am Heart J* 1997; 93: 699–705.
110. Ogawa T, Kawai M, Matsui T et al Vasospastic angina in a patient with Fabry's disease who showed normal coronary angiographic findings. *Jpn Circ J* 1996; 60(5):315–318.



111. Orteu C.H., Jansen T., Lidove O. et al. Fabry disease and the skin: data from FOS, the Fabry outcome survey . *British Journal of Dermatology* 2007; 157 (2), 331–337.
112. Mohrenschlager M, Braun-Falco M, Ring J, Abeck D. Fabry disease: recognition and management of cutaneous manifestations. *Am J Clin Dermatol* 2003; 4: 189–96.
113. Navarro C, Teijeira S, Dominguez C et al. Fabry disease: an ultrastructural comparative study of skin in hemizygous and heterozygous patients. *Acta Neuropathol* 2006; 111:178–85.
114. Lidove O, Ramaswami U, Jaussaud R et al. Hyperhidrosis: a new and often early symptom in Fabry disease. International experience and data from FOS – the Fabry Outcome Survey. *Int J Clin Pract* 2006; 60:1053–9.
115. Amann-Vesti BR, Gitzelmann G, Widmer U et al. Severe lymphatic microangiopathy in Fabry disease. *Lymphat Res Biol* 2003; 1:185–9.
116. Chowdhury MM, Holt PJ: Pain in Anderson-Fabry disease. *Lancet* 2001; 357: 887–892.
117. MacDermot J, MacDermot KD: Neuropathic pain in Anderson-Fabry disease: Pathology and therapeutic options. *Eur J Pharmacol* 2001; 429: 121–125.
118. Hilz MJ, Stemper B, Kolodny EH: Lower limb cold exposure induces pain and prolonged small fiber dysfunction in Fabry patients. *Pain* 2000; 84: 361–365.
119. Cable WJ, Dvorak AM, Osage JE, Kolodny EH: Fabry disease: Significance of ultrastructural localization of lipid inclusions in dermal nerves. *Neurology* 1982; 32: 347–353.
120. Toyooka K, Said G: Nerve biopsy findings in hemizygous and heterozygous patients with Fabry's disease. *J Neurol* 1997; 244: 464–468.



121. Ro LS, Chen ST, Tang LM, et al: Current perception threshold testing in Fabry's disease. *Muscle Nerve* 1999; 22: 1531–1537.
122. Scott LJ, Griffin JW, Luciano C, et al: Quantitative analysis of epidermal innervation in Fabry disease. *Neurology* 1999; 52: 1249–1254.
123. Chowdhury MM, Holt PJ: Burning fingers, but where is the fire? *Br J Dermatol* 2001; 144: 1286–1289.
124. Hozumi I, Nishizawa M, Ariga T, et al. Accumulation of glycosphingolipids in spinal and sympathetic ganglia of a symptomatic heterozygote of Fabry's disease. *J. Neurol. Sci.* 1989; 90. 273–280.
125. Argoff CE, Barton NW, Brady RO, Ziessman HA: Gastrointestinal symptoms and delayed gastric emptying in Fabry's disease: Response to metoclopramide. *Nucl Med Commun* 1998; 19: 887–891.
126. Lao LM, Kumakiri M, Mima H, et al. The ultrastructural characteristics of eccrine sweat glands in a Fabry disease patient with hypohidrosis. *J. Dermatol. Sci.* 1998; 18. 109–117.
127. DeVeber GA, Schwarting GA, Kolodny EH, Kowall NW: Fabry disease: Immunocytochemical characterization of neuronal involvement. *Ann Neurol* 1992; 31: 409–415.
128. Moore DF, Herscovitch P, Schiffmann R: Selective arterial distribution of cerebral hyperperfusion in Fabry disease. *J Neuroimaging* 2001; 11: 303–307.
129. Kolodny EH. and Pastores GM. Anderson-Fabry Disease: Extrarenal, Neurologic Manifestations. *J Am Soc Nephrol* 2002; 13:S150-S153.
130. Mitsias P, Levine SR: Cerebrovascular complications of Fabry's disease. *Ann Neurol* 1996; 40: 8–17.



131. DeGraba T, Azhar S, Dignat-George F, et al: Profile of endothelial and leucocyte activation in Fabry's patients. *Ann Neurol* 2000; 47: 229–233.
132. Mehta A, Ginsberg L, FOS Investigators. Natural history of the cerebrovascular complications of Fabry disease. *Acta Paediatr Suppl.* 2005 Mar; 94(447):24-7
133. Sher NA, Letson RD, Desnick RJ . The ocular manifestations in Fabry's disease. *Arch Ophthalmol* 1979 ; 97 : 671 – 6 .
134. Tuppurainen K, Collan Y, Rantanen T, Hollmen A. Fabry's disease and cornea verticillata: a report of 3 cases. *Acta Ophthalmol* 1981 ; 59 : 674 – 82 .
135. Hirano K, Murata K, Miyagawa A et al. Histopathologic findings of cornea verticillata in a woman heterozygous for Fabry's disease. *Cornea* 2001 ; 20 : 233 – 6 .
136. Macrae WG, Ghosh M, McCulloch C . Corneal changes in Fabry's disease: a clinico-pathologic case report of a heterozygote. *Ophthalmic Paediatr Genet* 1985 ; 5 : 185 – 90 .
137. Sodi A, Ioannidis AS, Mehta A et al. Ocular manifestations of Fabry's disease: data from the Fabry Outcome Survey: *British Journal of Ophthalmology* 2007; 91: 210–214.
138. Garmizo G. Ocular manifestations of Fabry's disease. *J Am Optom Assoc* 1987; 58 : 87–89 .
139. Nguyen TT, Franzco TG, Fracp KN, et al. Ophthalmological manifestations of Fabry disease: a survey of patients at the Royal Melbourne Fabry Disease Treatment Centre: *Clinical & Experimental Ophthalmology* 2005 ; 33 (2), 164–168.
140. Spaeth GL, Frost P. Fabry's disease. Its ocular manifestations. *Arch Ophthalmol* 1965 ; 74 : 760 – 9 .



141. Libert J, Toussaint D. Tortuosities of retinal and conjunctival vessels in lysosomal storage diseases. *Birth Defects Orig Artic Ser* 1982; 18: 347-58
142. Dantas MA, Fonseca RA, Kaga T, Yannuzzi LA, Spaide RF. Retinal and choroidal vascular changes in heterozygous Fabry's disease. *Retina* 2001; 21: 87 – 9.
143. Bloomfield SE, David DS, Rubin AL. Eye findings in the diagnosis of Fabry's disease . *JAMA* 1978; 240 : 647 – 9 .
144. Banikazemi M, Ullman T, Desnick RJ. Gastrointestinal manifestations of Fabry disease: Clinical response to enzyme replacement therapy. *Molecular Genetics and Metabolism* 2005; 85, 4: 255-259
145. Hoffmann B, Schwarz M, Mehta A and Keshav S. Gastrointestinal Symptoms in 342 Patients With Fabry Disease: Prevalence and Response to Enzyme Replacement Therapy *Clinical Gastroenterology and Hepatology* 2007; 5, 12: 1447-1453
146. Cable WJ, Kolodny EH and Adams RD. Fabry disease: impaired autonomic function. *Neurology* 1982; 32: 498–502.
147. Sheth KJ, Werlin SL, Freeman ME, et al. Gastrointestinal structure and function in Fabry's disease, *Am J Gastroenterol* 1981; 76: 246–251.
148. O'Brien BD, Shnitka TK, McDougall R, et al. Pathophysiologic and ultrastructural basis for intestinal symptoms in Fabry's disease. *Gastroenterology* 1982; 82: 957–962.
149. Kim W., Pveritz RF., Bernhardt BA., et al. Pulmonary manifestations of Fabry disease and positive response to enzyme replacement therapy. *Am J Med Genet A*. 2007 Feb 15; 143(4): 377-81.



150. Rosenberg DM, Ferrans VJ, Fulmer JD et al. Chronic airflow obstruction in Fabry's disease. *Am J Med* 1980; 68: 898– 905.
151. Ries M, Gupta S, Moore DF, et al.: Pediatric Fabry disease. *Pediatrics*. 2005 Mar;115(3):e344-55.
152. Mersebach H, Johansson JO, Rasmussen AK et al. Osteopenia: a common aspect of Fabry disease. Predictors of bone mineral density. *Genet Med*. 2007 Dec; 9(12): 812-818.
153. Hauser AC, Gessl A, Harm F, et al.: Hormonal profile and fertility in patients with Anderson-Fabry disease. *Int J Clin Pract*. 2005 Sep; 59(9):1025-8.
154. Paira SO, Roverano S, Iribas JL, Barceló HA. Joint manifestations of Fabry's disease. *Clin Rheumatol*. 1992 Dec; 11(4):562-5.
155. Crouzet J, Le Charpentier Y, Lambert F, et al. Articular manifestations and overstress in a case of Fabry's disease. *Rev Rhum Mal Osteoartic*. 1979 Apr; 46(4): 271-277.
156. Kleinert J., Dehout F., Schwarting A., et al: Anemia is a new complication in Fabry disease: data from the Fabry Outcome Survey. *Kidney Int*. 2005 May; 67(5):1955-60
157. Germain DP, Benistan K, Boutouyrie P, Mutschler C. Osteopenia and osteoporosis: previously unrecognized manifestations of Fabry disease. *Clin Genet*. 2005 Jul; 68(1): 93-95.
158. Faggiano A, Pisani A, Milone F, et al. Endocrine dysfunction in patients with Fabry disease. *J Clin Endocrinol Metab*. 2006 Nov; 91(11): 4319-25.
159. Misery L, Gregoire M, Prieur F, et al. Fabry's disease and hypoparathyroidism. *Ann Med Interne* 2002 Jun;153(4): 283-5.



160. MacDermot KD, Holmes A, Miners AH. Anderson-Fabry disease: clinical manifestations and impact of disease in a cohort of 98 hemizygous males. *J Med Genet* 2001; 38: 750– 60.
161. Eng CM, Fletcher J., Wilcox WR. et al . Fabry disease: Baseline medical characteristics of a cohort of 1765 males and females in the Fabry Registry. *J Inherit Metab Dis* 2007; 30: 184–192.
162. Hopkin RJ, Bissler J, Banikazemi M, et al. Characterization of Fabry disease in 352 pediatric patients in the Fabry Registry. *Pediatr Res.* 2008 Nov;64(5):550-5.
163. Hoffmann B., Beck M., Sunder-Plassmann G., et al: Nature and prevalence of pain in Fabry disease and its response to enzyme replacement therapy-a retrospective analysis from the Fabry Outcome Survey. *Clin J Pain.* 2007 Jul-Aug; 23(6): 535-42.
164. Buechner S, Moretti M, Burlina AP, et al. Central nervous system involvement in Anderson-Fabry disease: a clinical and MRI retrospective study. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2008 Nov;79(11):1249-54.
165. Grewal RP. Psychiatric disorders in patients with Fabry's disease. *Int J Psychiatry Med* 1993; 23: 307– 12.
166. Cable WJ, Dvorak AM, Osage JE, Kolodny EH. Fabry disease: significance of ultrastructural localization of lipid inclusions in dermal nerves. *Neurology* 1982; 32: 347– 53.
167. Michels H, Mengel E. Lysosomal storage diseases as differential diagnoses to rheumatic disorders. *Curr Opin Rheumatol.* 2008 Jan;20(1):76-81.
168. Sheth KJ, Bernhard GC. The arthropathy of Fabry disease. *Arthritis Rheum* 1979; 22: 781– 3.





169. Whybra C, Bahner F, Baron K. Measurement of disease severity and progression in Fabry disease. In: Fabry Disease: Perspectives from 5 Years of FOS (Mehta A, Beck M, Sunder-Plassman G, eds). Oxford: Oxford PharmaGenesis, 2006; 315–22.
170. Fumex-Boizard L, Cochat P, Fouilhoux A, et al. Relation between ocular manifestations and organ involvement in ten patients with Fabry disease. *J Fr Ophtalmol* 2005; 28: 45–50.
171. Orssaud C, Dufier J, Germain D. Ocular manifestations in Fabry disease: a survey of 32 hemizygous male patients. *Ophthalmic Genet* 2003; 24: 129–39.
172. Samiy N. Ocular features of Fabry disease: diagnosis of a treatable life-threatening disorder. *Surv Ophthalmol*. 2008 Jul-Aug; 53(4): 416-23.
173. Hauser AC, Lorenz M, Voigtländer T, et al. Results of an ophthalmologic screening program for identification of cases with Fabry disease. *Ophthalmologica* 2004; 218(3): 207-209.
174. Linhart A., Kampmann C., Zamorano JL., et al. Cardiac manifestations of Anderson–Fabry disease: results from the international Fabry outcome survey. *European Heart Journal* 2007 28(10): 1228-1235
175. Desnick RJ, Blieden LC, Sharp HL, et al. Cardiac valvular anomalies in Fabry disease. Clinical, morphologic, and biochemical studies. *Circulation* 1976; 54: 818–825.
176. Shah JS, Hughes DA, Sachdev B, et al. Prevalence and clinical significance of cardiac arrhythmia in Anderson–Fabry disease. *Am J Cardiol* 2005; 96: 842–846.



160. MacDermot KD, Holmes A, Miners AH. Anderson-Fabry disease: clinical manifestations and impact of disease in a cohort of 98 hemizygous males. *J Med Genet* 2001; 38: 750–60.
161. Eng CM, Fletcher J, Wilcox WR, et al. Fabry disease: Baseline medical characteristics of a cohort of 1765 males and females in the Fabry Registry. *J Inher Metab Dis* 2007; 30: 184–192.
162. Hopkin RJ, Bissler J, Banikazemi M, et al. Characterization of Fabry disease in 352 pediatric patients in the Fabry Registry. *Pediatr Res*. 2008 Nov;64(5):550-5.
163. Hoffmann B, Beck M, Sunder-Plassmann G, et al. Nature and prevalence of pain in Fabry disease and its response to enzyme replacement therapy—a retrospective analysis from the Fabry Outcome Survey. *Clin J Pain*. 2007 Jul-Aug; 23(6): 535-42.
164. Buechner S, Moretti M, Burlina AP, et al. Central nervous system involvement in Anderson-Fabry disease: a clinical and MRI retrospective study. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2008 Nov;79(11):1249-54.
165. Grewal RP. Psychiatric disorders in patients with Fabry's disease. *Int J Psychiatry Med* 1993; 23: 307–12.
166. Cable WJ, Dvorak AM, Osage JE, Kolodny EH. Fabry disease: significance of ultrastructural localization of lipid inclusions in dermal nerves. *Neurology* 1982; 32: 347–53.
167. Michels H, Mengel E. Lysosomal storage diseases as differential diagnoses to rheumatic disorders. *Curr Opin Rheumatol*. 2008 Jan;20(1):76-81.
168. Sheth KJ, Bernhard GC. The arthropathy of Fabry disease. *Arthritis Rheum* 1979; 22: 781–3.



169. Whybra C, Bahner F, Baron K. Measurement of disease severity and progression in Fabry disease. In: Fabry Disease: Perspectives from 5 Years of FOS (Mehta A, Beck M, Sunder-Plassman G, eds). Oxford: Oxford PharmaGenesis, 2006; 315–22.
170. Fumex-Boizard L, Cochat P, Fouilhoux A, et al. Relation between ocular manifestations and organ involvement in ten patients with Fabry disease. *J Fr Ophtalmol* 2005; 28: 45–50.
171. Orssaud C, Dufier J, Germain D. Ocular manifestations in Fabry disease: a survey of 32 hemizygous male patients. *Ophthalmic Genet* 2003; 24: 129–39.
172. Samiy N. Ocular features of Fabry disease: diagnosis of a treatable life-threatening disorder. *Surv Ophthalmol*. 2008 Jul-Aug; 53(4): 416-23.
173. Hauser AC, Lorenz M, Voigtländer T, et al. Results of an ophthalmologic screening program for identification of cases with Fabry disease. *Ophthalmologica* 2004; 218(3): 207-209.
174. Linhart A., Kampmann C., Zamorano JL., et al. Cardiac manifestations of Anderson–Fabry disease: results from the international Fabry outcome survey. *European Heart Journal* 2007 28(10): 1228-1235
175. Desnick RJ, Blieden LC, Sharp HL, et al. Cardiac valvular anomalies in Fabry disease. Clinical, morphologic, and biochemical studies. *Circulation* 1976; 54: 818–825.
176. Shah JS, Hughes DA, Sachdev B, et al. Prevalence and clinical significance of cardiac arrhythmia in Anderson–Fabry disease. *Am J Cardiol* 2005; 96: 842–846.



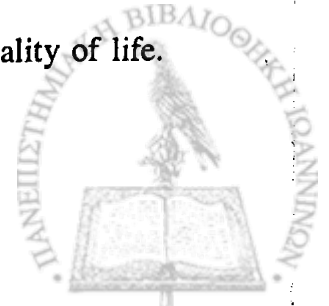
177. Elliott PM, Kindler H, Shah JS, et al. Coronary microvascular dysfunction in male patients with Anderson–Fabry disease and the effect of treatment with alpha galactosidase A. *Heart* 2006; 92: 357–360.
178. Kalliokoski RJ, Kalliokoski KK, Sundell J, et al. Impaired myocardial perfusion reserve but preserved peripheral endothelial function in patients with Fabry disease. *J Inherit Metab Dis* 2005; 28: 563–573.
179. Kampmann C, Baehner F, Ries M, Beck M. Cardiac involvement in Anderson-Fabry disease. *J Am Soc Nephrol* 2002; 13( Suppl. 2): S147– 9.
180. Kampmann C, Linhart A, Baehner F, et al. Onset and progression of the Anderson-Fabry disease related cardiomyopathy. *Int J Cardiol.* 2008 Nov 28; 130(3): 367-73.
181. Ortiz A., Oliveira JP, Waldek S., et al.: Nephropathy in males and females with Fabry disease: cross-sectional description of patients before treatment with enzyme replacement therapy. *Nephrol Dial Transplant* 2008, 0: 1–8.
182. Tahir H, Jackson LL, Warnock DG. Antiproteinuric therapy and Fabry nephropathy: sustained reduction of proteinuria in patients receiving enzyme replacement therapy with agalsidase-beta. *J Am Soc Nephrol* 2007; 18(9): 2609–2617
183. Wanner C, Breunig F.: Fabry nephropathy and the case for adjunctive renal therapy. *J Am Soc Nephrol* 2007; 18(9): 2426–2428
184. Spada M, Pagliardini S.: Screening for Fabry disease in end-stage nephropathies. *J Inherit Metab Dis* 2002; 25: 113.
185. D. Hajioff, S. Hegemann, G. Conti, et al. Agalsidase alpha and hearing in Fabry disease: data from the Fabry Outcome Survey. *European Journal of Clinical Investigation* 2006; 36 (9): 663–667.



186. Morgan SH, Rudge P, Smith SJ et al. The neurological complications of Anderson-Fabry disease (alpha-galactosidase A deficiency) – investigation of symptomatic and presymptomatic patients. *Q J Med* 1990; 75: 491– 507.
187. Beck M.: Demographics of FOS. In: *Fabry Disease: Perspectives from 5 Years of FOS* (Mehta A, Beck M, Sunder-Plassman G, eds). Oxford: Oxford PharmaGenesis Ltd, 2006; 155–61.
188. Desnick RJ, Brady R, Barranger J, et al.: Fabry disease, an under-recognized multisystemic disorder: expert recommendations for diagnosis, management, and enzyme replacement therapy, *Ann Intern Med* 2003; 138: 338–346.
189. Ortiz A, Oliveira JP, Wanner C, et al. Recommendations and guidelines for the diagnosis and treatment of Fabry nephropathy in adults. *Nat Clin Pract Nephrol.* 2008 Jun; 4(6):327-36.
190. Meehan SM., Junsanto T., Rydel JJ et al.: Fabry disease: renal involvement limited to podocyte pathology and proteinuria in a septuagenarian cardiac variant. Pathologic and therapeutic implications. *Am J Kidney Dis* 2004; 43(1), 164-171
191. Nagao Y, Nakashima H, Fukuhara Y, et al: Hypertrophic cardiomyopathy in late-onset variant of Fabry disease with high residual activity of  $\alpha$ -galactosidase A. *Clin Genet* 1991; 39: 233–237
192. Sachdev B., Takenaka T., Teraguchi H., et al., Prevalence of Anderson-Fabry disease in male patients with late onset hypertrophic cardiomyopathy, *Circulation* 2002; 105: 1407–1411.
193. Chimenti C., Pieroni M., Morgante E., et al., Prevalence of Fabry disease in female patients with late-onset hypertrophic cardiomyopathy, *Circulation* 2004; 110: 1047–1053.



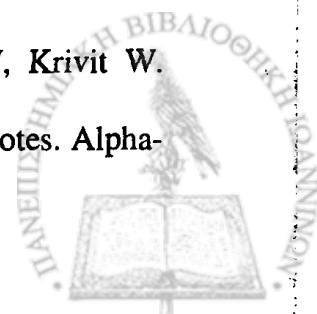
194. Monserrat L., Gimeno-Blanes JR, Marín F et al.: Prevalence of Fabry Disease in a Cohort of 508 Unrelated Patients With Hypertrophic Cardiomyopathy . J Am Coll Cardiology 2007; 50(25): 2399-2403.
195. Ackerman MJ, Landstrom AP. Detection of subclinical fabry disease in patients presenting with hypertrophic cardiomyopathy. J Am Coll Cardiol. 2007 Dec 18;50(25):2404-5.
196. Yoshitama T, Nakao S, Takenaka T, et al. Molecular genetic, biochemical, and clinical studies in three families with cardiac Fabry's disease. Am J Cardiol. 2001; 87: 71-75.
197. Nakao S, Kodama C, Takenaka T, et al. Fabry disease: detection of undiagnosed hemodialysis patients and identification of a "renal variant" phenotype. Kidney Int 2003; 64: 801–7.
198. Cybulla M., Schaefer E., Wendt S., et al: Chronic Renal Failure and Proteinuria in Adulthood: Fabry Disease Predominantly Affecting the Kidneys. Am J Kidney Dis 2005; 45(5): e82-e89
199. Ichinose M., Nakayama M., Ohashi T., et al.: Significance of screening for Fabry disease among male dialysis patients Clin Exp Nephrol 2005; 9: 228–232.
200. Nance CS, Klein CJ, Banikazemi M, et al.: Later-onset Fabry disease: an adult variant presenting with the cramp-fasciculation syndrome, Arch Neurol 2006; 63: 453–457.
201. Guffon N. Clinical presentation in female patients with Fabry disease. J Med Genet 2003; 40: 38-43
202. Wang R., Lelis A., Mirocha J., et al.: Heterozygous Fabry women are not just carriers, but have a significant burden of disease and impaired quality of life. Genet Med 2007; 9(1): 34-45



203. Lyon M. "Some milestones in the history of X-chromosome inactivation", *Ann. Rev. Genet.* 1992; 26, 17-28
204. Lyon M. "The William Allan Memorial Award Address: X-chromosome inactivation and the location and expression of X-linked genes", *American Journal of Human Genetics* 1988, 42:8-16.
205. Sharp A., Robinson D., Jacobs P.: Age- and tissue-specific variation of chromosome X inactivation ratios in normal women. *Hum Genet* 2000; 107: 343-349.
206. Dobrovolny R., Dvorakova L., Ledvinova J., et al.: Relationship between X-inactivation and clinical involvement in Fabry heterozygotes. Eleven novel mutations in the  $\alpha$ -galactosidase A gene in the Czech and Slovak population. *J Mol Med* 2005; 83: 647-654
207. Redonnet-Vernhet I, Ploos van Amstel JK, Jansen RP, et al.: Uneven X inactivation in a female monozygotic twin pair with Fabry disease and discordant expression of a novel mutation in the alpha-galactosidase A gene. *J Med Genet* 1996; 33: 682-688
208. Morrone A, Cavicchi C, Bardelli T, et al.: Mutation analysis and X-inactivation studies in the alpha-galactosidase A gene. *Am J Hum Genet* 2002; 71: 421-427
209. Gupta S, Ries M, Kotsopoulos S, Schiffmann R. The relationship of vascular glycolipid storage to clinical manifestations of Fabry disease: a cross-sectional study of a large cohort of clinically affected heterozygous women. *Medicine* 2005; 84: 261-268.
210. Valbuena C, Carvalho E, Bustorff M, et al. Kidney biopsy findings in heterozygous Fabry disease females with early nephropathy. *Virchows Arch.* 2008 Oct; 453(4): 329-38.



211. Wilcox WR., Oliveira JP., Hopkin RJ., et al : Females with Fabry disease frequently have major organ involvement: Lessons from the Fabry Registry. *Molecular Genetics and Metabolism* 2008; 93: 112–128
212. Ware JE, Kosinski M, Keller SD. SF-36 physical and mental health summary scales: A user's manual. The Health Institute, New England Medical Center, Boston, MA, 1994.
213. Gold KF, Pastores GM, Botteman MF, et al. Quality of life of patients with Fabry disease. *Qual Life Res* 2002; 11: 317–327.
214. Laney DA and Fernhoff PM: Diagnosis of Fabry Disease via analysis of family history. *J Genet Counsel* 2008; 17: 79-83.
215. Stratta P, Quaglia M, Messina M, et al. The challenges of diagnosing Fabry disease. *Am J Kidney Dis.* 2008 May;51(5):860-4.
216. Clarke LA, Clarke JTR, Sirrs S, et al: Fabry Disease: Recommendations for Diagnosis, Management, and Enzyme Replacement Therapy in Canada
217. Hughes DA, Ramaswam U, Elliott P et al: Guidelines for the Diagnosis and Management of Anderson-Fabry Disease. Middelheim Interdisciplinary Team for Orphan Drugs. Version 4 – November 8, 2007
218. Lidove O, Bekri S, Goizet C et al: Fabry disease: proposed guidelines from a French expert group for its diagnosis, treatment and follow-up. *Presse Med.* 2007 Jul-Aug; 36(7-8):1084-97
219. Eng CM, Germain DP, Banikazemi M et al: Fabry disease: guidelines for the evaluation and management of multi-organ system involvement. *Genet Med.* 2006 Sep;8(9): 539-48.
220. Desnick RJ, Allen KY, Desnick SJ, Raman MK, Bernlohr RW, Krivit W. Fabry's disease: enzymatic diagnosis of hemizygotes and heterozygotes. *Alpha-*

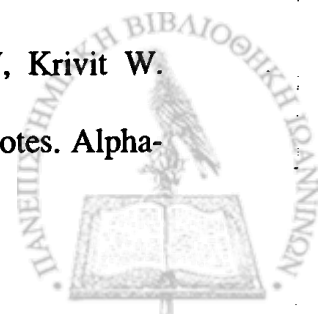




- galactosidase activities in plasma, serum, urine, and leukocytes. *J Lab Clin Med* 1973;81:157-71.
221. Mayes JS, Scheerer JB, Sifers RN, Donaldson ML. Differential assay for lysosomal  $\alpha$ -galactosidases in human tissues and its application to Fabry's disease. *Clin Chim Acta*. 1981;112:247-51.
222. Brady RO, Uhlenendorf BW, Jacobson CB. Fabry's disease: antenatal detection. *Science*. 1971;172:174-5.
223. Linthorst GE, Poorthuis BJ, Hollak CE. Enzyme activity for determination of presence of Fabry disease in women results in 40% false-negative results. *J Am Coll Cardiol*. 2008 May 27;51(21):2082; author reply 2082-3.
224. Lockman LA, Hunninghake DB, Krivit W et al: Relief of pain of Fabry's disease by diphenylhydantoin. *Neurology*. 1973;23:871-5
225. Lenoir G, Rivron M, Gubler MC, et al: Fabry's disease. Carbamazepine therapy in acrodyniform syndrome. *Arch Fr Pediatr*. 1977;34:704-16
226. Germain DP. Fabry's disease (alpha-galactosidase-A deficiency): recent therapeutic innovations. *J Soc Biol*. 2002;196:183-90
227. Pastores GM and Thadani R. Enzyme replacement therapy for Fabry-Anderson Disease. *Lancet* 2001; 358: 601-3.
228. Wilcox WR, Banikazemi M, Guffon N et al. Long-term safety and efficacy of enzyme replacement therapy for Fabry disease. *Am J Hum Genet* 2004; 75: 65–74.
229. Hilz MJ, Brys M, Marthol H, Stemper B, Dutsch M. Enzyme replacement therapy improves function of C-, Delta-, and Abeta-nerve fibers in Fabry neuropathy. *Neurology* 2004; 62: 1066–72.



211. Wilcox WR., Oliveira JP., Hopkin RJ., et al : Females with Fabry disease frequently have major organ involvement: Lessons from the Fabry Registry. *Molecular Genetics and Metabolism* 2008; 93: 112–128
212. Ware JE, Kosinski M, Keller SD. SF-36 physical and mental health summary scales: A user's manual. The Health Institute, New England Medical Center, Boston, MA, 1994.
213. Gold KF, Pastores GM, Botteman MF, et al. Quality of life of patients with Fabry disease. *Qual Life Res* 2002; 11: 317–327.
214. Laney DA and Fernhoff PM: Diagnosis of Fabry Disease via analysis of family history. *J Genet Counsel* 2008; 17: 79-83.
215. Stratta P, Quaglia M, Messina M, et al. The challenges of diagnosing Fabry disease. *Am J Kidney Dis.* 2008 May;51(5):860-4.
216. Clarke LA, Clarke JTR, Sirrs S, et al: Fabry Disease: Recommendations for Diagnosis, Management, and Enzyme Replacement Therapy in Canada
217. Hughes DA, Ramaswam U, Elliott P et al: Guidelines for the Diagnosis and Management of Anderson-Fabry Disease. Middelheim Interdisciplinary Team for Orphan Drugs. Version 4 – November 8, 2007
218. Lidove O, Bekri S, Goizet C et al: Fabry disease: proposed guidelines from a French expert group for its diagnosis, treatment and follow-up. *Presse Med.* 2007 Jul-Aug; 36(7-8):1084-97
219. Eng CM, Germain DP, Banikazemi M et al: Fabry disease: guidelines for the evaluation and management of multi-organ system involvement. *Genet Med.* 2006 Sep;8(9): 539-48.
220. Desnick RJ, Allen KY, Desnick SJ, Raman MK, Bernlohr RW, Krivit W. Fabry's disease: enzymatic diagnosis of hemizygotes and heterozygotes. *Alpha-*



- galactosidase activities in plasma, serum, urine, and leukocytes. *J Lab Clin Med* 1973;81:157-71.
221. Mayes JS, Scheerer JB, Sifers RN, Donaldson ML. Differential assay for lysosomal  $\alpha$ -galactosidases in human tissues and its application to Fabry's disease. *Clin Chim Acta*. 1981;112:247-51.
222. Brady RO, Uhlenendorf BW, Jacobson CB. Fabry's disease: antenatal detection. *Science*. 1971;172:174-5.
223. Linthorst GE, Poorthuis BJ, Hollak CE. Enzyme activity for determination of presence of Fabry disease in women results in 40% false-negative results. *J Am Coll Cardiol*. 2008 May 27;51(21):2082; author reply 2082-3.
224. Lockman LA, Hunninghake DB, Krivit W et al: Relief of pain of Fabry's disease by diphenylhydantoin. *Neurology*. 1973;23:871-5
225. Lenoir G, Rivron M, Gubler MC, et al: Fabry's disease. Carbamazepine therapy in acrodyniform syndrome. *Arch Fr Pediatr*. 1977;34:704-16
226. Germain DP. Fabry's disease (alpha-galactosidase-A deficiency): recent therapeutic innovations. *J Soc Biol*. 2002;196:183-90
227. Pastores GM and Thadani R. Enzyme replacement therapy for Fabry-Anderson Disease. *Lancet* 2001; 358: 601-3.
228. Wilcox WR, Banikazemi M, Guffon N et al. Long-term safety and efficacy of enzyme replacement therapy for Fabry disease. *Am J Hum Genet* 2004; 75: 65–74.
229. Hilz MJ, Brys M, Marthol H, Stemper B, Dutsch M. Enzyme replacement therapy improves function of C-, Delta-, and Abeta-nerve fibers in Fabry neuropathy. *Neurology* 2004; 62: 1066–72.



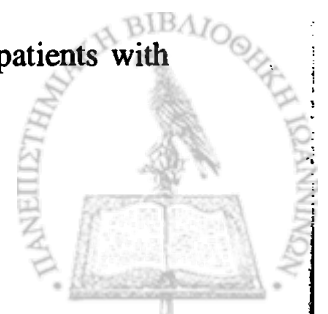
230. Schiffmann R, Floeter MK, Dambrosia JM et al. Enzyme replacement therapy improves peripheral nerve and sweat function in Fabry disease. *Muscle Nerve* 2003; 28: 703–10.
231. Jardim L, Vedolin L, Schwartz IV et al. CNS involvement in Fabry disease: clinical and imaging studies before and after 12 months of enzyme replacement therapy. *J Inher Metab Dis* 2004; 27: 229–40.
232. Moore DF, Altarescu G, Herscovitch P, Schiffmann R. Abnormal cerebrovascular reactivity in Fabry disease is reversed following enzyme replacement therapy. *BMC Neurol* 2002; 2: 4.
233. Thurberg BL, Rennke H, Colvin RB, et al. Globotriaosylceramide accumulation in the Fabry kidney is cleared from multiple cell types after enzyme replacement therapy. *Kidney Int.* 2002 Dec;62(6):1933-46
234. Thomaidis T, Relle M, Golbas M, et al. Downregulation of alpha-galactosidase A upregulates CD77: functional impact for Fabry nephropathy. *Kidney Int.* 2008; 26.
235. Wilcox WR, Banikazemi M, Guffon N et al. Long-term safety and efficacy of enzyme replacement therapy for Fabry disease. *Am J Hum Genet* 2004; 75: 65–74.
236. Torra R, Algaba F, Ars E, et al. Preservation of renal function in a patient with Fabry nephropathy on enzyme replacement therapy. *Clin Nephrol.* 2008 Jun; 69(6): 445-9.
237. Germain DP, Waldek S, Banikazemi M, et al. Sustained, long-term renal stabilization after 54 months of agalsidase beta therapy in patients with Fabry disease. *J Am Soc Nephrol.* 2007;18:1547-1557.



238. Breunig F, Wanner C. Update on Fabry disease: kidney involvement, renal progression and enzyme replacement therapy. *J Nephrol*. 2008 Jan-Feb; 21(1): 32-37.
239. Breunig F, Weidemann F, Strotmann J, Knoll A, Wanner C. Clinical benefit of enzyme replacement therapy in Fabry disease. *Kidney Int*. 2006;69:1216-1221.
240. Banikazemi M, Bultas J, Waldek S, et al; Fabry Disease Clinical Trial Study Group. Agalsidase-beta therapy for advanced Fabry disease: a randomized trial. *Ann Intern Med*. 2007;146:77-86.
241. Torra R. Renal manifestations in Fabry disease and therapeutic options. *Kidney Int Suppl*. 2008 Dec;(111): S29-32.
242. Schiffmann R, Askari H, Timmons M, Robinson C, Benko W, Brady R, Ries M: Weekly enzyme replacement therapy may slow decline of renal function in Fabry patients who are on long-term biweekly dosing. *J Am Soc Nephrol* 2007; 18: 1576 –1583.
243. Feriozzi S, Schwarting A, Sunder-Plassmann G, et al. Agalsidase Alfa Slows the Decline in Renal Function in Patients with Fabry Disease. *Am J Nephrol*. 2008 Oct 31;29(5):353-361.
244. Inderbitzin D, Avital I, Largiadèr F, et al. Kidney transplantation improves survival and is indicated in Fabry's disease. *Transplant Proc*. 2005 Dec; 37(10):4211-4
245. Pisani A, Spinelli L, Sabbatini M, Andreucci MV. Enzyme replacement therapy in Fabry disease patients undergoing dialysis: effects on quality of life and organ involvement. *Am J Kidney Dis*. 2005 Jul;46(1):120-7.



246. Spinelli L, Pisani A, Sabbatini M, et al. Enzyme replacement therapy with agalsidase  $\beta$  improves cardiac involvement in Fabry's disease. *Clin Genet* 2004; 66: 158–65.
247. Beck M, Ricci R, Widmer U et al: Fabry disease: overall effects of agalsidase alfa treatment. *Eur J Clin Invest* 2004; 34(12):838–844
248. Weidemann F, Breunig F, Beer M et al: Improvement of cardiac function during enzyme replacement therapy in patients with Fabry disease: a prospective strain rate imaging study. *Circulation* 2003;108(11):1299–1301
249. Hughes DA, Elliott PM, Shah J et al: Effects of enzyme replacement therapy on the cardiomyopathy of Anderson–Fabry disease: a randomised, double-blind, placebo-controlled clinical trial of agalsidase alfa. *Heart* 2008;94:153-158
250. Richfield R, Orteu CH, Fox N et al: Fabry disease: changes in typical facial features in response to ERT with agalsidase alpha. *Acta Paediatr* 2005;94(Suppl 447):132
251. Hajioff D, Enever Y, Quiney R, et al. Hearing loss in Fabry disease: the effect of agalsidase alfa replacement therapy. *J Inherit Metab Dis* 2003;26:787–94.
252. Banikazemi M, Ullman T and Desnick RJ: Gastrointestinal manifestations of Fabry disease: Clinical response to enzyme replacement therapy. *Molecular Genetics and Metabolism* 2005;85,4:255-259.
253. Wang RY, Abe JT, Cohen AH, Wilcox WR. Enzyme replacement therapy stabilizes obstructive pulmonary Fabry disease associated with respiratory globotriaosylceramide storage. *J Inherit Metab Dis*. 2008 Oct 21.
254. Hoffmann B, García de Lorenzo A, Mehta A et al. Effects of enzyme replacement therapy on pain and health related quality of life in patients with



- Fabry disease: data from FOS (Fabry Outcome Survey). *J Med Genet* 2005; 42:247-52.
255. Hollak CE, Linthorst GE. Immune response to enzyme replacement therapy in Fabry disease: Impact on clinical outcome? *Mol Genet Metab*. 2008 Dec 3.
256. Bénichou B, Goyal S, Sung C, et al. A retrospective analysis of the potential impact of IgG antibodies to agalsidase beta on efficacy during enzyme replacement therapy for Fabry disease. *Mol Genet Metab*. 2008 Nov 18.
257. Fan JQ. A contradictory treatment for lysosomal storage disorders: inhibitors enhance mutant enzyme activity. *Trends Pharmacol Sci* 2003; 24:355-60.
258. Yam GH, Zuber C, Roth J: A synthetic chaperone corrects the trafficking defect and disease phenotype in a protein misfolding disorder. *FASEB J* 2005; 19: 12-18.
259. Shin SH, Kluepfel-Stahl S, Cooney AM, et al. Prediction of response of mutated alpha-galactosidase A to a pharmacological chaperone. *Pharmacogenet Genomics*. 2008 Sep;18(9):773-80.
260. Suzuki Y. Chemical chaperone therapy for GM1-gangliosidosis. *Cell Mol Life Sci*. 2008 Feb;65(3):351-3.
261. Linhart A. Treatment of Anderson-Fabry disease. *Heart*. 2008; 94(2): 138-9.
262. Kolioussi E, Kalaitzidis R, Patsiouras D, et al. Evaluation of renal and cardiac function after enzyme replacement therapy in patients with Fabry's disease and renal involvement. (Abstract) *Nephrol Dial Transpl* 2003;18(suppl 4): 631
263. Shen JS, Meng XL, Moore DF, et al. Globotriaosylceramide induces oxidative stress and up-regulates cell adhesion molecule expression in Fabry disease endothelial cells. *Mol Genet Metab*. 2008 Nov; 95(3): 163-8.



264. Hughes DA. Early therapeutic intervention in females with Fabry disease? *Acta Paediatr Suppl.* 2008 Apr;97(457):41-7.
265. Ramaswami U. Fabry disease during childhood: clinical manifestations and treatment with agalsidase alfa. *Acta Paediatr Suppl.* 2008 Apr;97(457):38-40.
266. Wraith JE, Tylki-Szymanska A, Guffon N, et al. Safety and efficacy of enzyme replacement therapy with agalsidase beta: an international, open-label study in pediatric patients with Fabry disease. *J Pediatr.* 2008 Apr; 152(4): 563-70.
267. Zarate YA, Hopkin RJ. Fabry's disease. *Lancet* 2008 Oct 18; 372(9647): 1427-35.
268. Vedder AC, Linthorst GE, Houge G, et al. Outcome of a comparative trial with Agalsidase alpha or beta at dose of 0,2mg/kg. *PloS ONE* 2007; 2(7): 598-608.





