

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI NAPOLI "FEDERICO II"

Dipartimento di Scienze Biomediche Avanzate

Direttore Prof. C. Buccelli

Dottorato di Ricerca in "Imaging Molecolare" XXV Ciclo

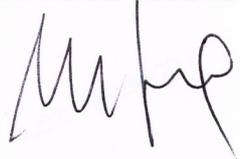
Tesi Sperimentale

Analisi molecolare con Risonanza Magnetica Nucleare del tessuto miocardico in pazienti affetti da malattia di Anderson-Fabry: valore aggiunto della Risonanza Magnetica Cardiaca nell'identificazione e nel follow-up dei pazienti affetti da malattia di Anderson-Fabry in trattamento con enzima ricombinante agalsidase beta e dopo "switch therapy" con agalsidase alfa

Coordinatore Prof. Marco Salvatore

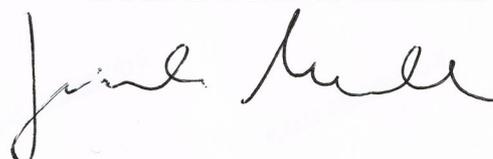
Relatore

Chiar.mo Prof. Marco Salvatore



Dottorando

Dott. Giancarlo Messalli



INDICE

RIASSUNTO -----	2
Scopo _____	2
Materiali e metodi _____	3
Risultati _____	4
Conclusioni _____	4
LAVORO _____	5
Introduzione _____	5
Materiali e metodi _____	7
<i>Popolazione dei pazienti</i> _____	<i>7</i>
<i>Tecnica di risonanza magnetica</i> _____	<i>9</i>
<i>Analisi statistica</i> _____	<i>12</i>
Risultati _____	13
Discussione _____	27
Limiti _____	32
Conclusioni _____	32
BIBLIOGRAFIA _____	34

RIASSUNTO

Scopo

La malattia di Anderson-Fabry è determinata da un disordine multi-sistemico del metabolismo lipidico dovuta alla carenza dell'enzima idrolitico α -galactosidase A (α -Gal A), secondario ad una alterazione del cromosoma X, che provoca un accumulo di "globotriaosylceramide" (Gb3) nelle cellule e nei tessuti in genere per malfunzionamento dei lisosomi. Tale accumulo provoca danni al cuore, ai reni ed al sistema cerebro-vascolare. In particolare la mancata degradazione dei glicosfingolipidi a livello cardiaco agisce come "spina irritativa" provocando una vera e propria ipertrofia con conseguente riduzione della "compliance" ed infine una ridotta "performance" del cuore. Dal 2001 è disponibile una terapia enzimatica sostitutiva rappresentata principalmente da due farmaci 1) agalsidase beta (Fabrazyme[®], Genzyme Corporation, Cambridge, MA, USA) e 2) agalsidase alfa (Replagal[®], Shire Human Genetic Therapies AB, Lund, Sweden). Nel giugno 2009, in seguito ad una carenza su scala mondiale dell'agalsidase beta, la maggior

parte dei pazienti sono stati costretti ad un cambiamento di terapia utilizzando l'agalsidase alfa, unico farmaco facilmente reperibile. Lo scopo del nostro studio è stato quello di monitorare con Risonanza Magnetica Cardiaca gli effetti della "switch therapy" in pazienti affetti da malattia di Anderson-Fabry trattati in primo luogo con agalsidase beta e successivamente "costretti" ad utilizzare l'agalsidase alfa.

Materiali e metodi

Dieci pazienti (7 uomini e 3 donne) con malattia di Anderson-Fabry geneticamente confermata, trattati in precedenza per una media di 46 mesi con agalsidase beta alla dose di 1mg/Kg ogni due settimane, sono stati successivamente trattati con agalsidase alfa alla dose di 0.2mg/Kg ogni due settimane per almeno 20 mesi. Un estensivo protocollo con Risonanza Magnetica Cardiaca ha permesso di analizzare i parametri funzionali ed indagare i cambiamenti che si verificano a livello molecolare nel miocardio.

Risultati

Tutti i pazienti sono rimasti in condizioni stabili durante i 20 mesi in cui vi è stato il cambiamento del farmaco; la risonanza magnetica cardiaca non ha documentato cambiamenti significativi nella performance del ventricolo sinistro (FE $p>0.05$); non si sono avuti incrementi della massa ventricolare né dei massimi spessori cardiaci ($p>0.05$); la tecnica utilizzata per mostrare i cambiamenti molecolari non ha evidenziato un peggioramento significativo ($p>0.05$).

Conclusioni

Possiamo concludere che lo “switch” di trattamento da agalsidase beta ad agalsidase alfa non ha prodotto una recrudescenza della malattia ed ha preservato tutti i benefici della terapia con agalsidase beta sul muscolo cardiaco.

LAVORO

Introduzione

La malattia di Anderson-Fabry è una rara malattia a trasmissione recessiva legata al cromosoma X, caratterizzata dalla presenza di maschi emizigoti affetti e di femmine eterozigoti portatrici, che possono comunque manifestare una forma blanda di malattia. Il difetto è nel gene che codifica l'enzima lisosomiale alfa-galattosidasi A (α -Gal A). Il deficit di tale enzima determina l'accumulo di glicosfingolipidi, con residui alfa-galattosil terminali all'interno di tessuti e fluidi corporei. I glicosfingolipidi che si accumulano nella malattia di Anderson-Fabry sono molecole neutre, la principale delle quali è la globotriaosilceramide. Questi lipidi si accumulano progressivamente nell'endotelio vascolare e nei tessuti viscerali di tutto l'organismo. Gli organi maggiormente coinvolti sono il rene, il cuore, la cute, i distretti vascolari, il sistema nervoso autonomo e centrale, l'occhio e l'apparato audio-vestibolare (1-4); in particolare, l'accumulo di glicosfingolipidi a livello miocardico, agisce da spina irritativa inducendo una vera e propria ipertrofia dei

miocardiociti, indistinguibile dalla cardiomiopatia ipertrofica (HCM) con le comuni tecniche di “imaging” ed in particolare dall’ecocardiografia. Nella malattia di Anderson-Fabry, l’età di insorgenza può variare come pure i sintomi ed il decorso clinico.

La forma classica insorge generalmente nel periodo infantile con dolore, stato febbrile, ipoidrosi, astenia e intolleranza all’esercizio fisico. Malgrado ciò i sintomi sono spesso misconosciuti fino all’età adulta quando ormai si è instaurato un danno d’organo. Il coinvolgimento cardiaco è un’evenienza molto frequente, riscontrabile in oltre il 60% dei maschi affetti e delle donne eterozigoti. La presenza e l’entità del danno cardiaco aumentano progressivamente con l’età. Assieme all’uremia, nei pazienti con insufficienza renale cronica sottoposti a dialisi e/o trapianto renale, il danno cardiaco rappresenta la prima causa di morte, in particolare nei soggetti femminili. Le più comuni manifestazioni cliniche comprendono l’ipertrofia del ventricolo sinistro (VS), le valvulopatie, la coronaropatia e i difetti della conduzione, tutti fattori che concorrono

all'insufficienza cardiaca congestizia, all'insorgere di aritmie ed all'infarto del miocardio (5, 6).

Con la clonazione del gene α -Gal A e l'avvento delle tecnologie di genetica molecolare, è ora possibile sintetizzare quantità terapeutiche di enzima ricombinante che, una volta in circolo, viene internalizzato dalle cellule dell'endotelio vascolare e dalle cellule parenchimali grazie ai recettori per il mannosio-6-fosfato sulla superficie cellulare (7–10). Scopo del nostro studio è stato quello di monitorare a lungo termine con risonanza magnetica (RM) i cambiamenti che si verificano a livello cardiaco nei pazienti affetti da malattia di Anderson-Fabry e sottoposti a terapia enzimatica sostitutiva con agalsidase beta e dopo la “switch therapy” con agalsidase alfa.

Materiali e metodi

Popolazione dei pazienti

Dieci pazienti adulti (7 uomini emizigoti, 3 donne eterozigoti) con diagnosi di malattia di Anderson-Fabry geneticamente confermata, sono

stati studiati tra settembre 2003 e gennaio 2013 (età media alla diagnosi: 44 ± 6 anni). Sono stati raccolti tutti i dati clinici, come i fattori di rischio cardiovascolare e la classe funzionale secondo la New York Heart Association (NYHA). La diagnosi genetica è stata ottenuta mediante la misurazione dell'attività enzimatica dell'enzima α -Gal A, e successivamente attraverso l'analisi della mutazione del gene α -Gal A. Tutti i pazienti sono stati sottoposti ad esame di RM cardiaca, prima dell'inizio della terapia enzimatica sostitutiva (Studio 1), dopo un trattamento con agalsidase beta di 46 ± 7 mesi (Studio 2) e dopo uno "switch" farmacologico con agalsidase alfa per un tempo pari a 20 ± 3 mesi (Studio 3). La terapia enzimatica sostitutiva è consistita nella somministrazione endovenosa di agalsidase β ricombinante (agalsidase beta, Fabrazyme, Genzyme Corporation, Inc., Cambridge, MA) alla dose di 1mg/kg di peso corporeo ogni 2 settimane (Studio 1 e Studio 2), e nella somministrazione endovenosa di agalsidase α ricombinante (Replagal[®], Shire Human Genetic Therapies AB, Lund, Sweden) alla dose di 0.2mg/Kg ogni due settimane (Studio 3).

Tecnica di risonanza magnetica

Gli esami di risonanza magnetica sono stati eseguiti con uno scanner da 1.5T (Gyroscan Intera, Philips Medical System, Best, Paesi Bassi) equipaggiato con gradienti con ampiezza massima pari a 30 mT/m e con massimo “slew rate” pari a 150 mT/m/ms. Le immagini sono state acquisite in apnea espiratoria utilizzando una antenna dedicata “phased array” a 5 canali; per la sincronizzazione cardiaca è stato utilizzato un elettrocardiogramma vettoriale (VCG).

Dopo aver acquisito i principali piani cardiaci, sono state acquisite sequenze T2 TSE pesate a sangue nero ed a diversi tempi di eco, secondo un piano quattro camere (4CH) per la misurazione del tempo di rilassamento T2 a livello del miocardio (MT2RT) (Figura 1).

Figura 1

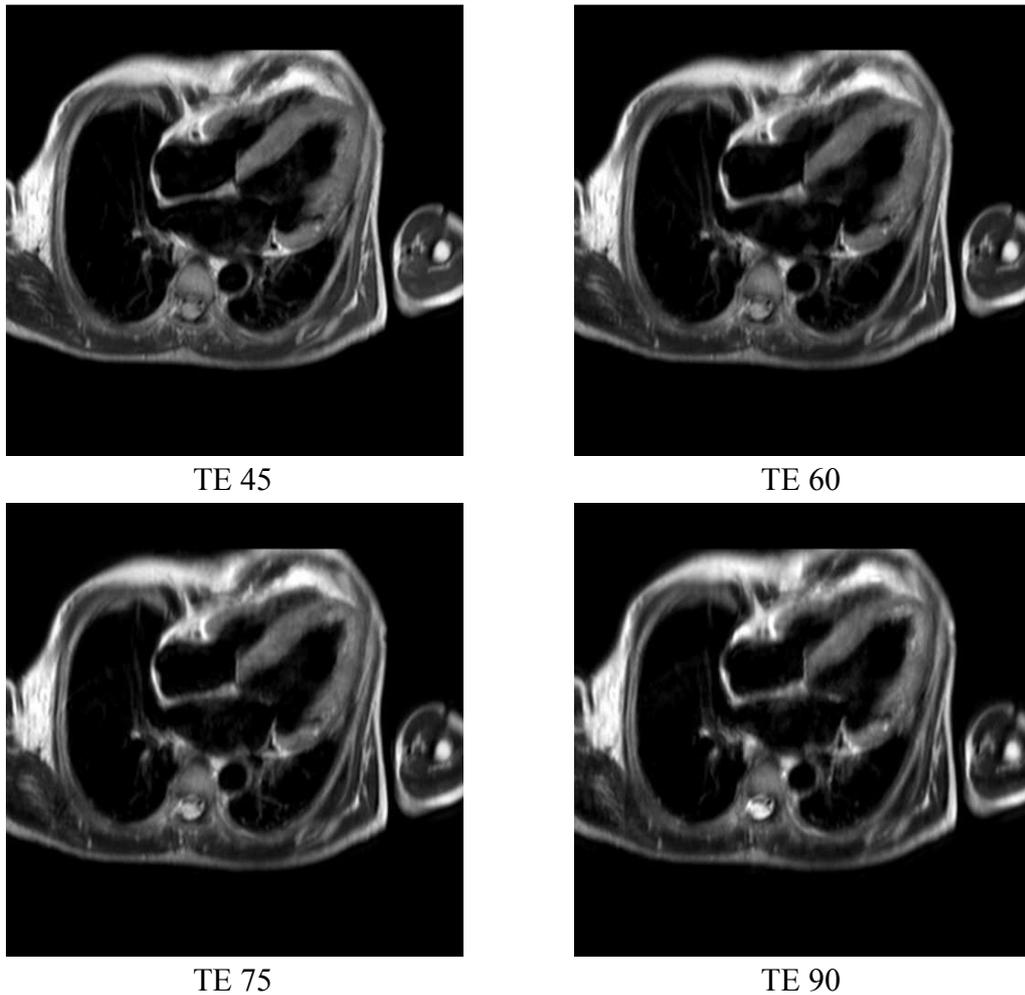


Figura 1. Le immagini mostrano un esempio di acquisizione di immagini T2 TSE a differenti tempi di "echo", 45, 60, 75 e 90 su cui è stata effettuata l'analisi molecolare del segnale miocardico.

Sono stati utilizzati i seguenti parametri: tempo di ripetizione (TR)/effective, tempo di eco (TE) 45, 60, 75, 90; matrice 256×512; campo di vista (FOV) 400 mm; spessore di strato 10 mm; numero di strati 3; turbo spin echo (TSE) factor 23; flip angle 90°; tempo di scansione

medio 22s per ogni strato. Successivamente sono state acquisite immagini cine 2D balance turbo field echo multiphase-multislice (TR/effective TE, 2,8/1,4; matrice, 160×256; spessore di strato, 10 mm; flip angle, 50°) secondo l'asse corto bi-ventricolare coprendo il ventricolo sinistro dalla base verso l'apice, per un totale di 11–12 sezioni per il calcolo dei volumi e della massa ventricolare sinistra. Il tempo totale di acquisizione è stato tra 25 e 30 minuti per ciascuno studio. Il post-processing è stato eseguito su una workstation dedicata (Viewforum, Philips Medical System, Best, Paesi Bassi). Sono state eliminate dalle immagini, tutte le informazioni utili al riconoscimento dei pazienti. Due operatori esperti (10 e 6 anni in cardio-RM) hanno effettuato in sessione congiunta tutte le misurazioni, senza conoscere il timing di studio (Studio 1, Studio 2 e Studio 3). Per la misurazione del tempo di rilassamento T2, sono state tracciate regioni di interesse a livello del setto inter-ventricolare, a livello dell'apice e della parete laterale del VS e riprodotte sulle diverse immagini ottenute con i diversi tempi di eco. Il tempo di rilassamento T2 è stato calcolato usando la seguente formula $M(TE)=M_0e^{-TE/T2}$, dove TE è il tempo di eco e M(TE)

è la media del segnale di tutte le regioni di interesse sulla corrispondente immagine TE. Per l'analisi degli spessori miocardici, abbiamo considerato il massimo spessore miocardico misurato in telediastole sulle immagini acquisite in asse corto. L'analisi dei volumi e della massa ventricolare sinistra è stata effettuata sulle immagini 2D cine balanced-steady-state free-precession (bSSFP) tracciando i contorni endocardici ed epicardici su tutti gli strati telediastolici e telesistolici. I muscoli papillari sono stati inclusi nella cavità del VS, così come ampiamente riportato in letteratura.

Tutti i dati sono stati immagazzinati in un database e sono stati analizzati da un operatore indipendente.

Analisi statistica

I dati sono presentati come media e deviazione standard ove non specificato. Le differenze nei parametri di funzione del VS tra i tre studi sono state analizzate usando un test Anova per misure seriali, ed una correzione di Bonferroni per individuare eventuali differenze “tra i

gruppi”. Un valore di $p < 0.05$ è stato considerato statisticamente significativo.

Risultati

Le caratteristiche demografiche della popolazione dei pazienti sono riportate nella Tabella 1 e nella Tabella 2.

Tabella 1

Paziente	Età alla Diagnosi (anni)	SESSO	Peso (Kg)	Altezza (cm)	BSA m²
1	56	M	75	160	1,87
2	43	M	77	165	2,09
3	44	M	82	176	1,95
4	43	F	82	170	1,64
5	38	F	65	166	1,55
6	40	M	58	168	1,79
7	41	M	68	158	1,88
8	50	M	80	170	1,77
9	40	F	90	177	1,48
10	48	M	72	178	1,84
Media e DS		(44 ± 6)	(75 ± 9)	(169 ± 7)	(1,8 ± 0,2)

Tabella 1. Caratteristiche demografiche del nostro campione

Tabella 2

Fattori di Rischio Cardio-Vascolare								
Obesità	Familiarità CAD	Familiarità morte improvvisa	Fumo	Diabete	Ipertensione	Colesterolo	Numero fattori di rischio	
0	0	0	1	0	1	0	2	
0	0	0	0	0	0	1	1	
0	0	1	0	0	0	0	1	
0	0	0	0	0	1	1	2	
0	1	0	0	0	1	0	2	
0	0	0	0	1	1	0	2	
0	0	0	0	0	0	0	0	
0	0	0	0	0	1	0	1	
0	1	0	0	0	0	0	1	
0	0	0	0	0	1	0	1	

Tabella 2. Fattori di rischio Cardio-Vascolare del nostro campione

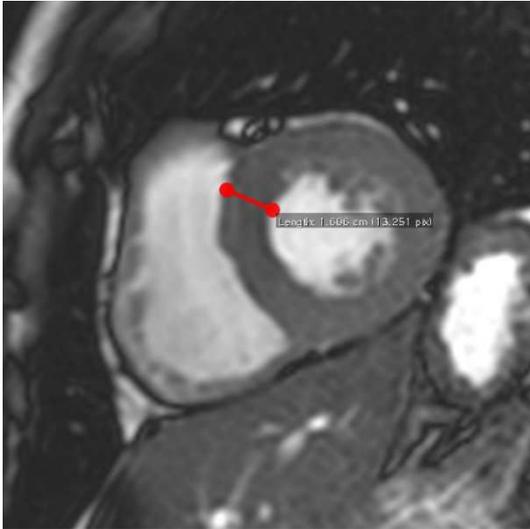
Una significativa riduzione dei valori di massa del VS è stata osservata tra lo Studio 1 ($104 \pm 23 \text{g/m}^2$) e lo Studio 2 ($70 \pm 23 \text{g/m}^2$) ($p < 0.001$); non si sono osservate riduzioni significative tra lo Studio 2 ($70 \pm 23 \text{g/m}^2$) e lo Studio 3 ($70 \pm 23 \text{g/m}^2$) ($p > 0.05$) (Tabella 3) (Figura 2) (Figura 3).

Tabella 3

Pts (n =10)	Età/Sesso	LVMI (g/m ²)			LVWT (mm)			
		Time Point	1	2 ^{a,c}	3 ^{b,c}	1	2 ^{a,c}	3 ^{b,c}
1	56/M		130	110	110	21	14	14
2	43/M		82	64	64	17	12	12
3	44/M		83	53	53	16	11	11
4	43/F		147	111	111	23	16	16
5	38/F		100	62	62	16	11	11
6	40/M		80	52	52	14	9	9
7	41/M		98	53	53	15	10	10
8	50/M		110	60	60	15	11	11
9	40/F		90	55	55	15	10	10
10	48/M		124	75	75	16	11	11
Media e DS			104±23	70±23	70±23	17±3	12±2	12±2

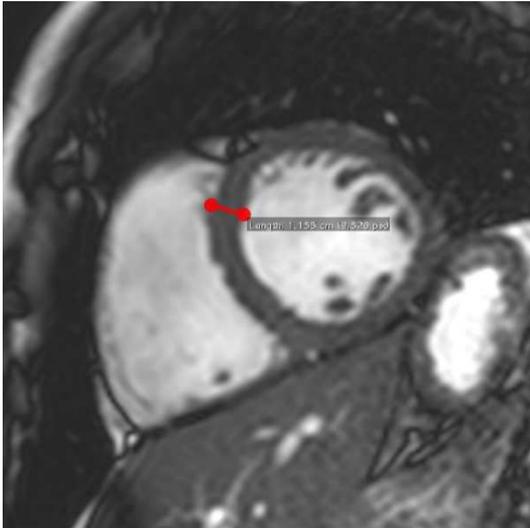
Tabella 3. Valori di Massa Miocardica indicizzata del VSin in telediastole (LVMI) riportati allo Studio 1, 2 e 3. Valori di Massimo spessore miocardico (LVMI) del VSin in telediastole riportati allo Studio 1, 2 e 3. ^a $p < 0.05$ Studio 2 vs Studio 1; ^b $p > 0.05$ Studio 3 vs Studio 2; ^c $p < 0.05$ Studio 2 e Studio 3 vs Studio 1

Figura 2.

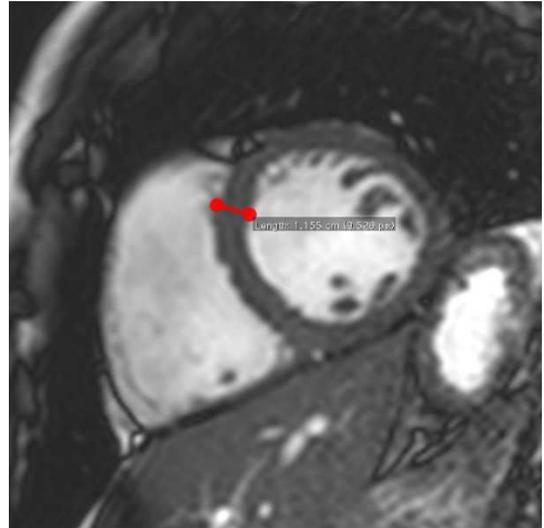


Studio 1

Figura 2. Esempio di immagini bSSFP acquisite secondo l'asse corto cardiaco nello stesso paziente con misurazione dei massimi spessori rispettivamente allo Studio 1 (16mm), Studio 2 (12mm) e Studio 3 (12mm). In tale paziente la massa totale del ventricolo sinistro era 124g/m², 75g/m² e 75g/m² rispettivamente allo Studio 1, Studio 2 e Studio 3.



Studio 2



Studio 3

Figura 3.

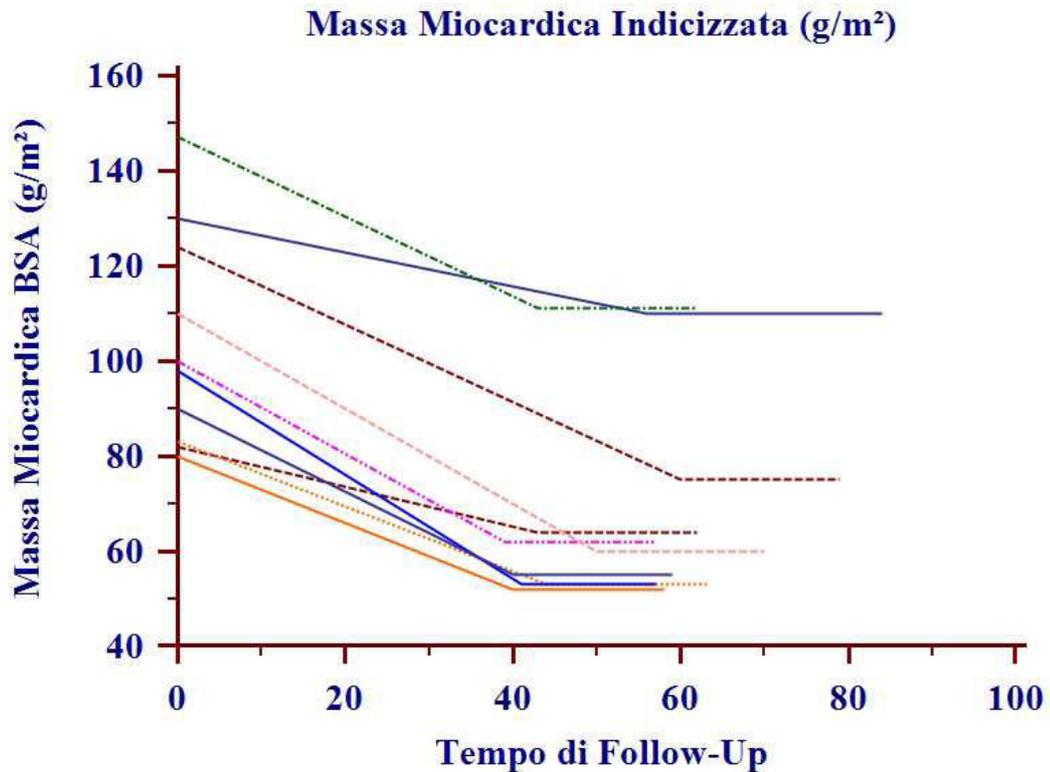


Figura 3. Grafico riportante i cambiamenti della Massa Miocardica indicizzata del VSin in telediastole ai vari tempi di follow-up: Studio 1, 2 e 3

Una significativa riduzione del massimo spessore di parete misurabile è stata osservata tra lo Studio 1 ($17\pm 3\text{mm}$) e lo Studio 2 ($12\pm 2\text{mm}$) ($p < 0.001$), mentre non si sono osservate riduzioni significative tra lo Studio 2 ($12\pm 2\text{mm}$) e lo Studio 3 ($12\pm 2\text{mm}$) ($p > 0.05$) (Figura 2) (Tabella 3) (Figura 4).

Figura 4.

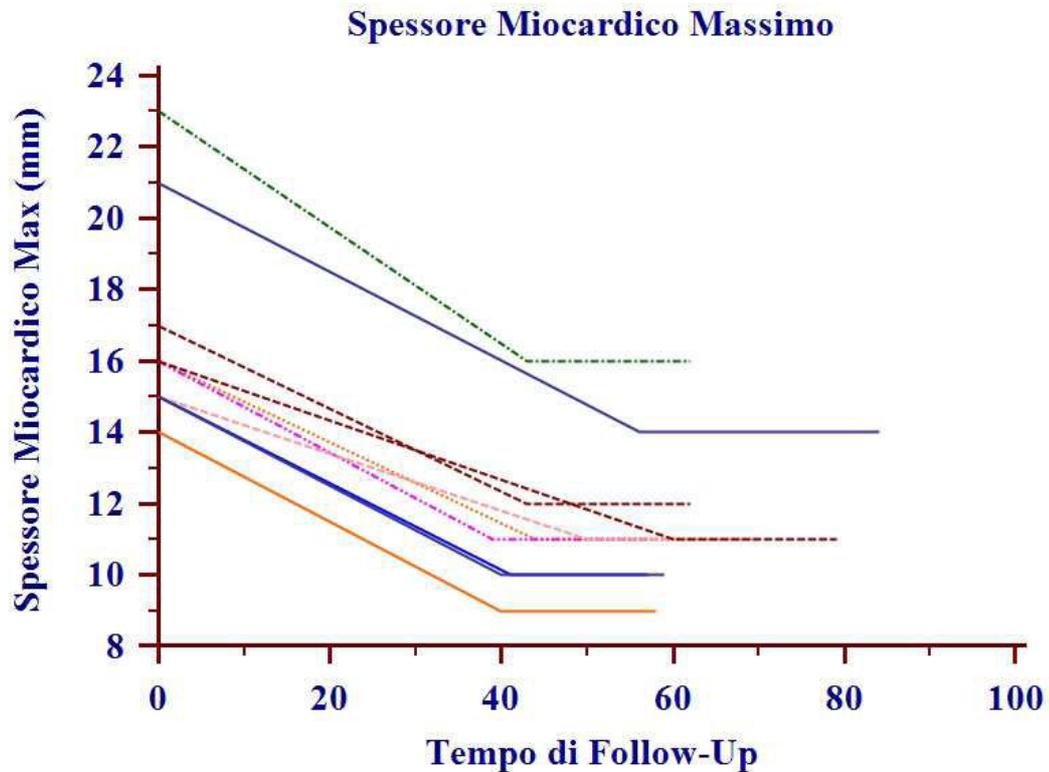


Figura 4. Grafico riportante i cambiamenti del Massimo spessore miocardico VSin in telediastole ai vari tempi di follow-up: Studio 1, 2 e 3

È stata osservata una significativa riduzione del tempo di rilassamento T2 (T2RT) tra lo Studio 1 e lo Studio 2 ($p < 0.001$), mentre non si sono osservati cambiamenti significativi tra lo Studio 2 e lo Studio 3 ($p > 0.05$), indipendentemente dalla regione miocardica analizzata ed in particolare:

- 1) setto interventricolare 80 ± 3 ms, 59 ± 5 ms, 59 ± 5 ms;
- 2) apice 81 ± 3 ms, 59 ± 4 ms, 59 ± 4 ms;
- 3) parete laterale 81 ± 3 ms, 59 ± 4 ms, 59 ± 4 ms;

rispettivamente Studio 1, Studio 2 e Studio 3, come esemplificato nella Figura 5 e come riportato nelle Tabelle 4-6 e nelle Figure 6,7,8.

Figura 5.

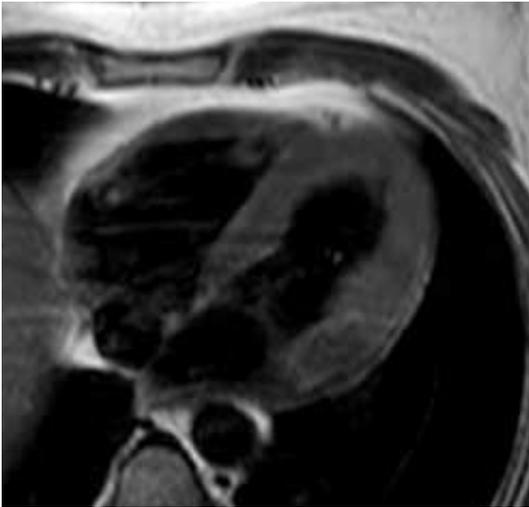
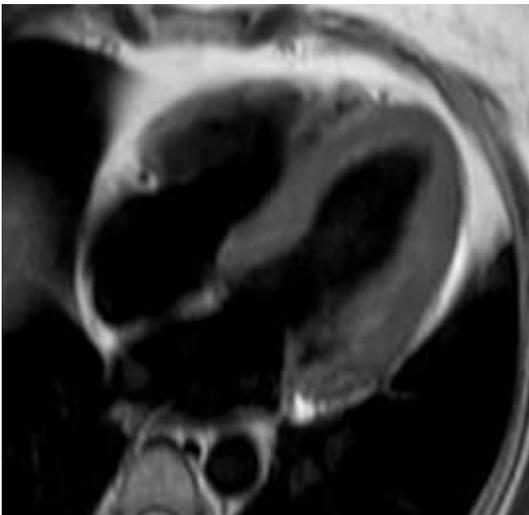
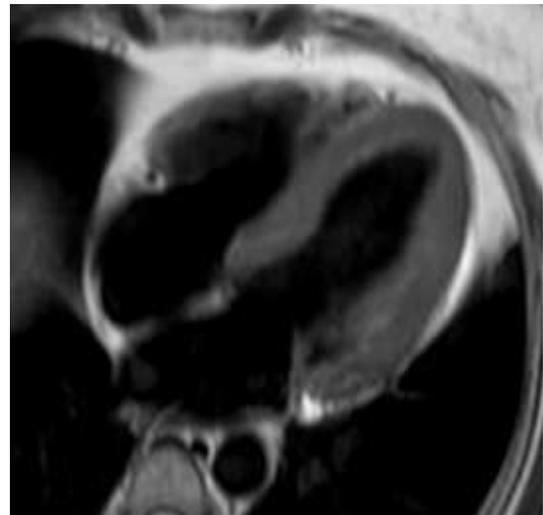


Figura 5. Esempio di immagini T2 TSE acquisite secondo l'asse "quattro camere" cardiaco nello stesso paziente con misurazione delle medie (Setto interventricolare, apice e parete laterale) dei tempi di rilassamento rispettivamente allo Studio 1 (85ms), Studio 2 (62ms) e Studio 3 (65ms).



Studio 2



Studio 3

Tabella 4

Pts (n =10)	Età/Sesso	T2RT (ms)			
		Time Point Setto	1	2 ^{a/c}	3 ^{b/c}
1	56/M		83	63	63
2	43/M		73	49	49
3	44/M		80	56	56
4	43/F		76	55	55
5	38/F		81	58	58
6	40/M		80	58	58
7	41/M		83	60	60
8	50/M		84	62	62
9	40/F		82	64	64
10	48/M		81	64	64
Media e DS			80 ± 3	59 ± 5	59 ± 5

Tabella 4. Valori di Tempo di rilassamento T2 (T2RT) del VSin misurati a livello del setto interventricolare e riportati allo Studio 1, 2 e 3. ^a*p* <0.05 Studio 2 vs Studio 1; ^b*p* >0.05 Studio 3 vs Studio 2; ^c*p* <0.05 Studio 2 e Studio 3 vs Studio 1.

Tabella 5

Pts (n =10)	Età/Sesso	T2RT (ms)			
		Time Point Apice	1	2 ^{a/c}	3 ^{b/c}
1	56/M		82	64	64
2	43/M		74	51	51
3	44/M		79	56	56
4	43/F		78	55	55
5	38/F		81	57	57
6	40/M		82	56	56
7	41/M		81	59	59
8	50/M		85	62	62
9	40/F		83	63	63
10	48/M		81	62	62
Media e DS			81 ± 3	59 ± 4	59 ± 4

Tabella 5. Valori di Tempo di rilassamento T2 (T2RT) del VSin misurati a livello dell'apice e riportati allo Studio 1, 2 e 3. ^a $p < 0.05$ Studio 2 vs Studio 1; ^b $p > 0.05$ Studio 3 vs Studio 2; ^c $p < 0.05$ Studio 2 e Studio 3 vs Studio 1.

Tabella 6

Pts (n =10)	Età/Sesso	Time Point Parete Lat.	T2RT (ms)	T2RT (ms)	T2RT (ms)
			1	2 ^{a/c}	3 ^{b/c}
1	56/M		83	64	64
2	43/M		74	51	51
3	44/M		79	56	56
4	43/F		78	55	55
5	38/F		81	57	57
6	40/M		82	56	56
7	41/M		81	59	59
8	50/M		85	62	62
9	40/F		83	63	63
10	48/M		81	62	62
Media e DS			81 ± 3	59 ± 4	59 ± 4

Tabella 6. Valori di Tempo di rilassamento T2 (T2RT) del VSin misurati a livello della parete laterale e riportati allo Studio 1, 2 e 3. ^a $p < 0.05$ Studio 2 vs Studio 1; ^b $p > 0.05$ Studio 3 vs Studio 2; ^c $p < 0.05$ Studio 2 e Studio 3 vs Studio 1.

Figura 6

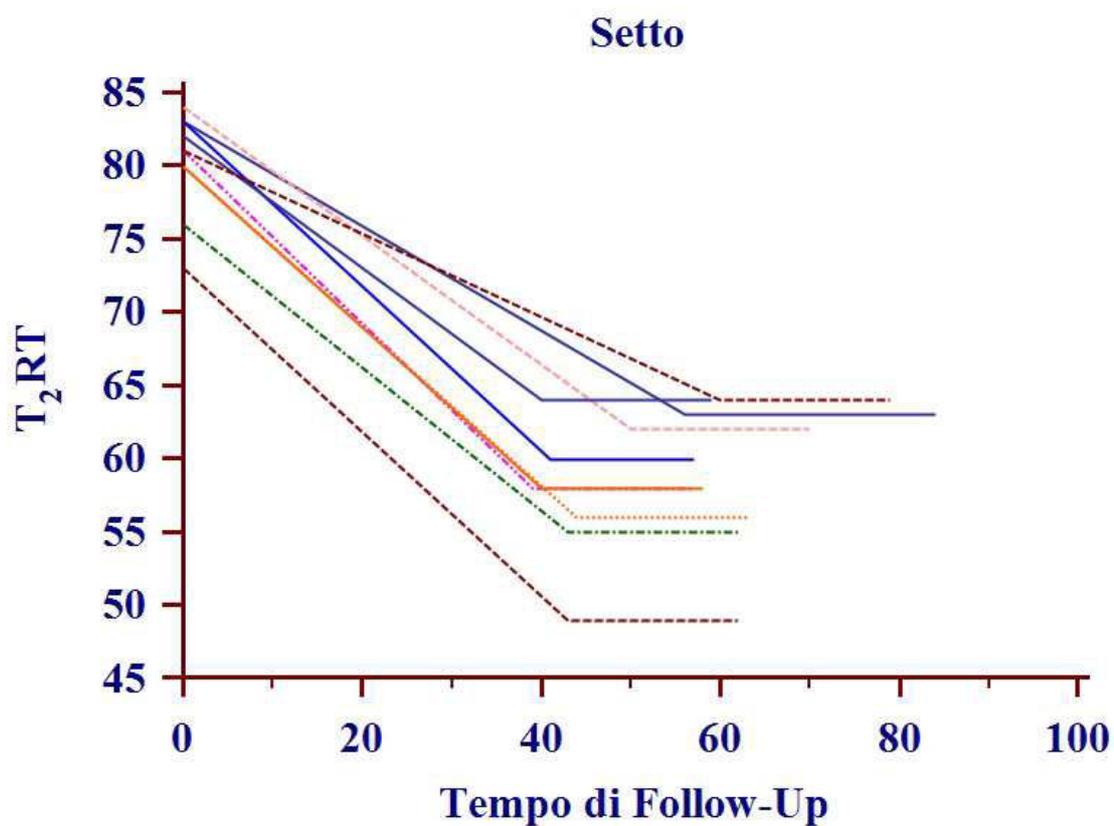


Figura 6. Grafico riportante i cambiamenti del tempo di rilassamento T2 (T_2RT) del setto interventricolare del VSin ai vari tempi di follow-up: Studio 1, 2 e 3.

Figura 7

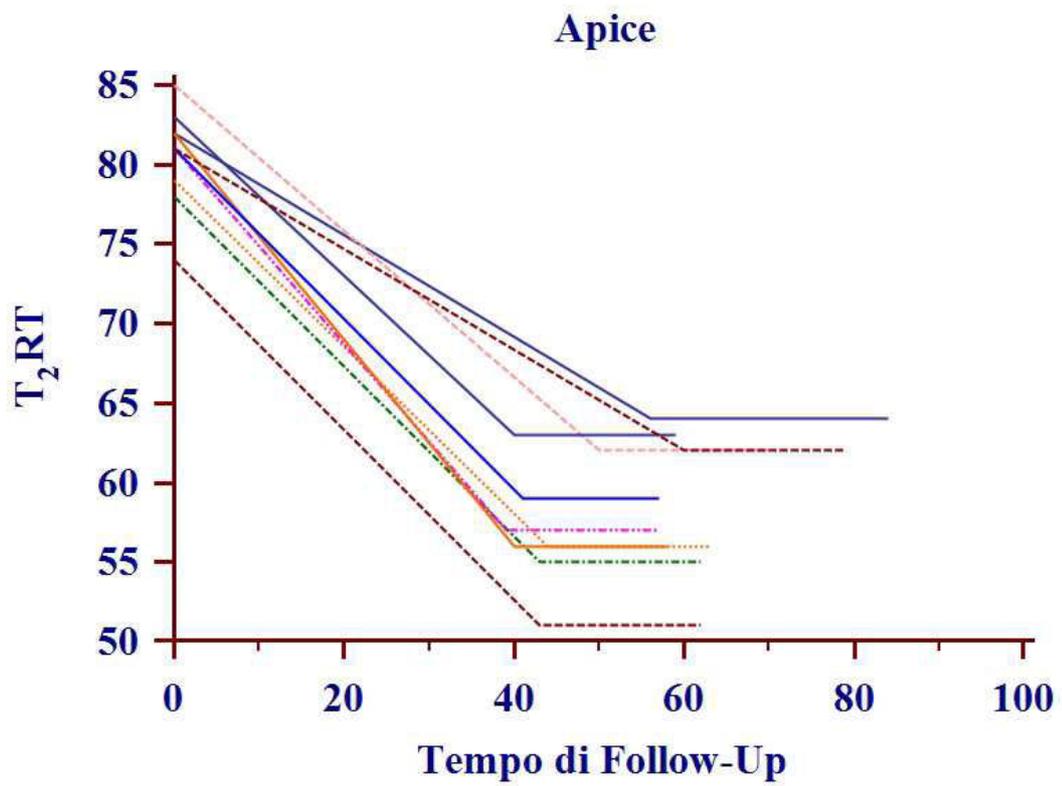


Figura 7. Grafico riportante i cambiamenti del tempo di rilassamento T_2 (T_2RT) dell'apice del VSin ai vari tempi di follow-up: Studio 1, 2 e 3.

Figura 8

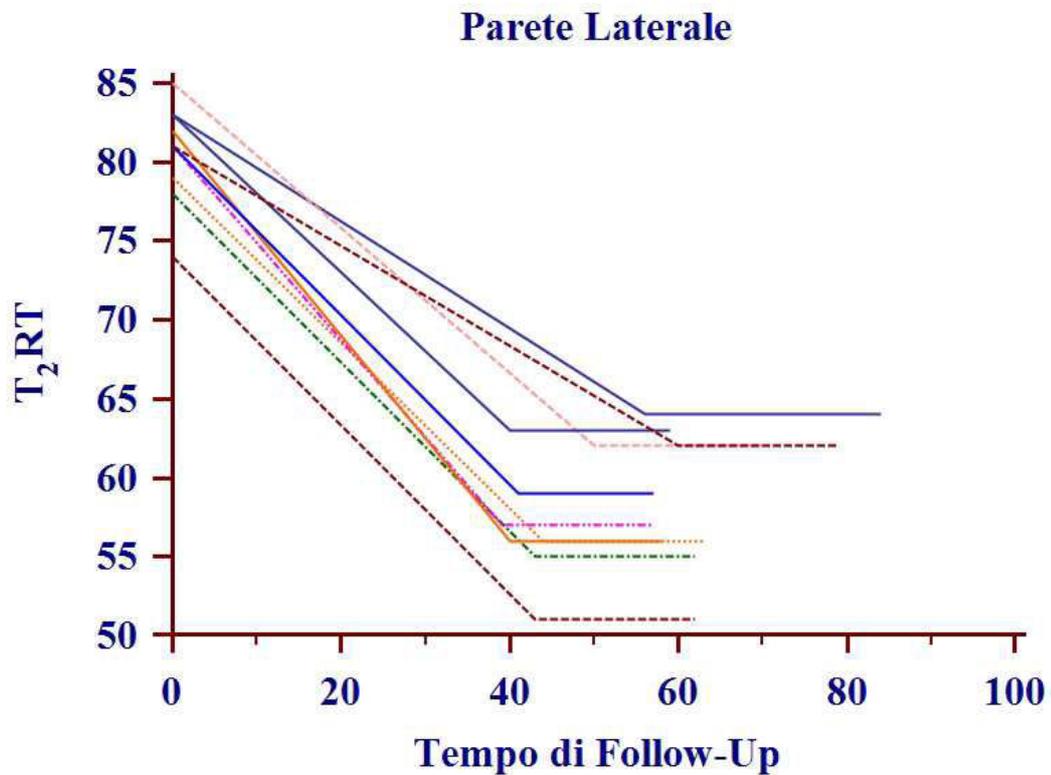


Figura 8. Grafico riportante i cambiamenti del tempo di rilassamento T2 (T_{2RT}) della parete laterale del VSin ai vari tempi di follow-up: Studio 1, 2 e 3.

Nessuna differenza statisticamente significativa è stata osservata nei valori di frazione d'ejezione tra i tre studi $63 \pm 4\%$, $65\% \pm 6\%$, $64\% \pm 7\%$, rispettivamente Studio 1, Studio 2 e Studio 3 ($p > 0.05$) (Tabella 7,8).

Tabella 7

Time Point	1	2	3
LV Mass (g/m ²)	104 (23)	70 (23) ^{a/b}	70 (23) ^{a/b}
LV Wall Thickness (mm)	17 (3)	12 (2) ^{a/b}	12 (2) ^{a/b}
LVEF ^c (%)	63 (4)	65 (6)	64 (7)

Tabella 7. Tabella riportante i cambiamenti della massa (LV Mass), del Massimo spessore (LV Wall Thickness) e della frazione di eiezione (LVEF) del VSin ai vari tempi di follow-up: Studio 1, 2 e 3. ^a $p < 0.05$ Studio 2 e Studio 3 vs Studio 1; ^b $p > 0.05$ Studio 3 vs Studio 1; ^c $p > 0.05$ Studio 1, Studio 2 e Studio 3.

Tabella 8

Time Point	1	2 ^{a/c}	3 ^{b/c}
LVMI (g/m ²)	104 ± 23	70 ± 23	70 ± 23
LVMT (mm)	17 ± 3	12 ± 2	12 ± 2
NYHA 1	1	7	7
NYHA 2	4	3	3
NYHA 3	5	0	0
NYHA 4	0	0	0

Time Point	1	2	3
EF (%) ^d	63 ± 4	65 ± 6	64 ± 7

Tabella 8. Tabella riportante i cambiamenti della massa del VSin (LVMI), del Massimo spessore (LVMT) del VSin e delle frazione di eiezione (EF) correlati alla classe NYHA ai vari tempi di follow-up: Studio 1, 2 e 3. ^a $p < 0.05$ Studio 2 vs Studio 1; ^b $p > 0.05$ Studio 3 vs Studio 2; ^c $p < 0.05$ Studio 3 e Studio 2 vs Studio 1; ^d $p > 0.05$ Studio 1, Studio 2 e Studio 3.

Abbiamo osservato un significativo miglioramento della classe funzionale NYHA tra lo Studio 1 e lo Studio 2 ($p < 0.05$), mentre non vi sono stati cambiamenti significativi tra lo Studio 2 e lo Studio 3 ($p > 0.05$) (Tabella 8).

Discussione

I risultati di questo studio confermano un ruolo della RM cardiaca, nel monitoraggio dei pazienti affetti da malattia di Anderson-Fabry e sottoposti a terapia enzimatica sostitutiva. La RM ha dimostrato una significativa riduzione del tempo di rilassamento T2 a livello di tutte le regioni miocardiche ed una regressione dei segni di ipertrofia del VSin, sia come spessore massimo misurabile, che come massa totale tra lo Studio 1 e lo Studio 2, ed una preservazione di tali risultati nello Studio 3 effettuato dopo “switch therapy” da agalsidase beta ad agalsidase alfa. Tali cambiamenti sono stati accompagnati da un miglioramento della classe funzionale NYHA, pur non essendo accompagnati da un significativo miglioramento della funzione sistolica globale.

La malattia di Anderson-Fabry è una rara malattia genetica dovuta al difetto del gene che codifica per l'enzima lisosomiale α -galattosidasi A, conosciuto anche come alfa-galattosidasi e triosidasi ceramide. Tale deficit determina l'accumulo di glicosfingolipidi con residui alfa-galattosil-terminali all'interno di tessuti e fluidi corporei.

Gli organi maggiormente coinvolti sono il rene, il cuore, la cute, i distretti vascolari, il sistema nervoso autonomo e centrale, l'occhio e l'apparato audio-vestibolare. L'insufficienza renale cronica rappresenta la causa più frequente di morbilità ed il coinvolgimento cardiaco rappresenta la causa più frequente di mortalità. In particolare, le manifestazioni cardiache della malattia di Anderson-Fabry provocano una disfunzione diastolica da ridotta compliance (11-18).

La diagnosi differenziale è spesso difficile senza ricorrere ad una dettagliata e costosa analisi genetica che peraltro può essere falsata nei soggetti di sesso femminile che possono avere una inattivazione sbilanciata del cromosoma X a livello dei differenti organi e tessuti; le difficoltà nel differenziare la malattia di Anderson-Fabry dalla HCM sono

messe in risalto da alcuni articoli che hanno dimostrato come fino al 6% degli uomini e fino al 12% delle donne con insorgenza tardiva di HCM, erano in realtà affetti da malattia di Anderson-Fabry. Il dover effettuare una diagnosi differenziale certa deriva anche dal fatto che dal 2001 la malattia di Anderson-Fabry è diventata un disordine potenzialmente trattabile, con la terapia enzimatica sostitutiva (8–10, 19, 20).

Recenti studi hanno dimostrato il ruolo della RM cardiaca nella valutazione dei pazienti con malattia di Anderson-Fabry (1, 21-24) e come sia in grado di differenziare tale patologia da altre forme di ipertrofia cardiaca ed in particolare dalla HCM, grazie ad una analisi del segnale intra-miocardico. Il razionale dell'analisi del segnale si basa sul presupposto che l'intensità ottenuta in RM nelle differenti sequenze dipende dalle caratteristiche chimico-fisiche del tessuto in analisi e quindi dal micro-ambiente molecolare in cui sono immersi gli "spins"; è infatti noto che nelle sequenze T2 pesate il tempo di rilassamento T2 aumenta con l'aumentare del contenuto di lipidi e di acqua dei tessuti in esame (23). Nei pazienti affetti da malattia di Anderson-Fabry, proprio a causa

dell'accumulo dei glicosfingolipidi, l'analisi del segnale mostra dei valori di T2RT superiori al gruppo di pazienti di controllo e superiori al gruppo di pazienti affetti da HCM (24).

Con la terapia sostitutiva è verosimile che vi sia una clearance dei depositi di Gb3 che porta nel tempo ad una regressione dell'ipertrofia, come si evince dai risultati del nostro studio, in linea con studi precedenti (25, 26), ed ad una riduzione dei tempi di rilassamento T2 (27). In questo studio, la riduzione del tempo di rilassamento T2, va di pari passo con una significativa riduzione della massa totale e degli spessori massimi di parete del VS nei pazienti trattati con agalsidase beta e si mantiene costante nei pazienti trattati con agalsidase alfa; la nostra spiegazione è che in circa 46 mesi di terapia con agalsidase beta già si è ottenuta un'ottima clearance dei depositi di Gb3 e con la terapia con agalsidase alfa tale clearance viene mantenuta costante, e non si osserva un riaccumulo dei depositi di Gb3; i nostri risultati sono in linea con quelli di Tsuboi et al (28) i quali hanno dimostrato che la "switch therapy" provoca una stabilizzazione della malattia e non peggiora il quadro clinico o la

performance cardiaca. Questo studio espande i risultati di un nostro recente lavoro (29), aggiungendo l'analisi molecolare dei cambiamenti che si verificano a livello del muscolo cardiaco prima e soprattutto dopo la "switch therapy".

Nel presente lavoro, così come in precedenti studi, con la riduzione del tempo di rilassamento T2 e con la riduzione della massa totale e degli spessori massimi di parete del miocardio, non è stato osservato un significativo miglioramento della funzione sistolica globale. In realtà, i pazienti affetti da malattia di Anderson-Fabry, così come quelli affetti da HCM, hanno prevalentemente una disfunzione diastolica piuttosto che una disfunzione sistolica, essendo la funzione sistolica globale conservata fino agli stadi terminali della malattia. In questo nostro lavoro abbiamo quindi voluto analizzare i dati derivanti dalla classe funzionale NYHA rilevando un significativo miglioramento nella nostra popolazione tra lo Studio 1 e Studio 2, compatibile con una riduzione della disfunzione diastolica, ed una stabilizzazione nello Studio 3.

Limiti

Potenziati limiti del nostro studio sono rappresentati dalla mancanza della correlazione con dati isto-patologici, dalla ridotta numerosità del campione e dalla mancanza di un gruppo di controllo di pazienti non sottoposti a terapia enzimatica sostitutiva; tuttavia, abbiamo ritenuto non etico negare la terapia enzimatica ad un sotto-gruppo di pazienti con malattia di Anderson-Fabry.

Conclusioni

I risultati di questo studio confermano l'utilità della RM cardiaca nel monitorare la risposta alla terapia enzimatica sostitutiva con agalsidase beta e con agalsidase alfa, identificando una stabilizzazione del tempo di decadimento T2 degli spessori miocardici massimi e della massa totale del VSin dopo la "switch therapy". La funzione sistolica globale del ventricolo sinistro è risultata conservata in tutte e tre le fasi di studio, pur riportando un miglioramento dello stato clinico funzionale NYHA; tale risultato potrebbe essere espressione di un miglioramento della

funzionalità diastolica secondaria ad un miglioramento della compliance cardiaca dopo terapia enzimatica sostitutiva.

BIBLIOGRAFIA

- 1) Messalli G, Imbriaco M, Avitabile G, Russo R, Iodice D, Spinelli L, Dellegrottaglie S, Cademartiri F, Salvatore M, Pisani A (2012) Role of cardiac MRI in evaluating patients with Anderson-Fabry disease: assessing cardiac effects of long-term enzyme replacement therapy. *Radiol Med* Feb;117 (1):19-28.

- 2) Nagueh SF (2003) Fabry disease. *Heart* 89:819–820

- 3) Desnick RJ, Brady R, Barranger J Collins AJ (2003) Fabry disease an under-recognized multisystemic disorder: expert recommendations for diagnosis, management, and enzyme replacement therapy. *Ann Intern Med* 138:338–346

- 4) Hopkin RJ, Bissler J, Banikazemi M et al (2008) Characterization of Fabry disease in 352 paediatric patients in the Fabry Registry. *Pediatr Res* 64:550–555

- 5) Linhart A, Magage S, Palecek T et al (2002) Cardiac involvement in Fabry disease. *Acta Paediatr Suppl* 91:15–20

- 6) 5. Kampmann C, Linhart A, Baehner F et al (2008) Onset and progression of the Anderson-Fabry disease related cardiomyopathy. *Int J Cardiol* 130:367– 373
- 7) Eng CM, Guffon N, Wilcox WR et al (2001) Safety and efficacy of recombinant human alpha-galactosidase A replacement therapy in Fabry's disease. *N Engl J Med* 345:9–16
- 8) Schiffmann R, Kopp JB, Austin HA III et al (2001) Enzyme replacement therapy in Fabry disease: a randomized controlled trial. *JAMA* 285:2743–2749
- 9) Wilcox WR, Banikazemi M, Guffon N et al (2004) Long-term safety and efficacy of enzyme replacement therapy for Fabry disease. *Am J Hum Genet* 75:65–74
- 10) Weidemann F, Breunig F, Beer M et al (2003) Improvement of cardiac function during enzyme replacement therapy in patients with Fabry disease: a prospective strain rate imaging study. *Circulation* 108:1299–1301
- 11) Desnick RJ, Brady RO (2004) Fabry disease in childhood. *J Pediatr* 144:20–26

- 12) Moller AT, Jensen TS (2007) Neurological manifestations in Fabry's disease. *Nat Clin Pract Neurol* 3:95–106
- 13) Linhart A, Elliott PM (2007) The heart in Anderson-Fabry disease and other lysosomal storage disorders. *Heart* 93:528–535
- 14) Branton M, Schiffmann R, Kopp JB (2002) Natural history and treatment of renal involvement in Fabry disease. *J Am Soc Nephrol* 13:139–143
- 15) Zarate YA, Hopkin RJ (2008) Fabry's disease. *Lancet* 372:1427–1435
- 16) Linhart A (2008) Treatment of Anderson-Fabry disease. *Heart* 94:138–139
- 17) von Scheidt W, Eng CM, Fitzmaurice TF et al (1991) An atypical variant of Fabry's disease with manifestations confined to the myocardium. *N Engl J Med* 324:395–399
- 18) Weidemann F, Breunig F, Beer M et al (2005) The variation of morphological and cardiac manifestation in Fabry disease: potential implications for the time course of the disease. *Eur Heart J* 26:1221–1227

- 19) Germain DP, Waldek S, Banikazemi M et al (2007) Sustained long-term stabilization after 54 months of agalsidase beta therapy in patients with Fabry disease. *J Am Soc Nephrol* 18:1547–1557
- 20) Breunig F, Weidemann F, Strotmann J et al (2006) Clinical benefit of enzyme replacement therapy in Fabry disease. *Kidney Int* 69:1216–1221
- 21) Beer M, Weidemann F, Breunig F et al (2006) Impact of enzyme replacement therapy on cardiac morphology and function and late enhancement in Fabry's cardiomyopathy. *Am J Cardiol* 97:1515–1518
- 22) De Cobelli F, Esposito A, Belloni E et al (2009) Delayed-enhanced cardiac MRI for differentiation of Fabry's disease from symmetric hypertrophic cardiomyopathy. *AJR Am J Roentgenol* 192:W97–W102
- 23) Higgins CB, Herfkens R, Lipton MJ et al (1983) Nuclear magnetic resonance imaging of acute myocardial infarction in dogs: alterations in magnetic relaxation times. *Am J Cardiol* 52:184–188

- 24) Imbriaco M, Spinelli L, Cuocolo A et al (2007) MRI characterization of myocardial tissue in patients with Fabry's disease. *AJR Am J Roentgenol* 188:850–853
- 25) Weidemann F, Niemann M, Breunig F et al (2009) Long-term effects of enzyme replacement therapy on Fabry cardiomyopathy: evidence for a better outcome with early treatment. *Circulation* 119:524–529
- 26) Spinelli L, Pisani A, Sabbatini M et al (2004) Enzyme replacement therapy with agalsidase beta improves cardiac involvement in Fabry's disease. *Clin Genet* 66:158–165
- 27) Imbriaco M, Pisani A, Spinelli L et al (2009) Effects of enzyme replacement therapy in patients with Anderson-Fabry disease: a prospective long-term magnetic resonance imaging study. *Heart* 95:1103–1107
- 28) Tsuboi K, Yamamoto H. (2012) Clinical observation of patients with Fabry disease after switching from agalsidase beta (Fabrazyme) to agalsidase alfa (Replagal). *Genet Med Sep;14(9):779-86*

- 29) A, Spinelli L, Visciano B, Capuano I, Sabbatini M, Riccio E, Messalli G, Imbriaco M.
(2013) Effects of switching from agalsidase Beta to agalsidase alfa in 10 patients with
anderson-fabry disease. JIMD Rep 9:41-8