



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MEXICO  
FACULTAD DE MEDICINA  
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN  
SECRETARÍA DE SALUD  
INSTITUTO NACIONAL DE PEDIATRÍA**

**TITULO DEL TRABAJO**

**Descripción clínica del primer caso de Enfermedad de Pompe de inicio tardío en México corroborado por análisis molecular.**

**PRESENTA:**

**DR. ANGEL MANUEL SANTACRUZ CASTAÑEDA  
CON FIN DE OBTENER EL DIPLOMA DE ESPECIALISTA EN PEDIATRIA**

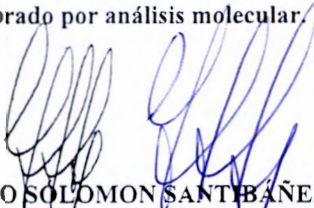
**TUTORES DE TESIS**

**DR. MIGUEL ANGEL ALCÁNTARA ORTIGOZA  
M. en C. REHOTBEVELY BARRIENTOS RÍOS**

**MÉXICO, D. F. OCTUBRE 2010**

**TITULO DEL TRABAJO**

**Descripción clínica del primer caso de Enfermedad de Pompe de inicio tardío en México corroborado por análisis molecular.**





**DR. GUILLERMO SOLOMON SANTIBÁÑEZ  
PROFESOR TITULAR DEL CURSO DE PEDIATRIA**



**DR. JOSÉ N. REYES MANZUR  
DIRECTOR DE ENSEÑANZA**



**DRA. MIRELLA VÁZQUEZ RIVERA  
JEFE DEL DEPARTAMENTO DE PRE Y POSGRADO**



**DR. MIGUEL ANGEL ALCÁNTARA ORTIGOZA  
TUTOR**



**M en C. REHOTBEVELY BARRIENTOS RÍOS  
COTUTOR**

## **AGRADECIMIENTOS**

A mis padres y hermanos así como el resto de mi familia por su apoyo a lo largo de mis estudios como médico.

A la Dra. González del Angel, al Dr. Alcántara y a Rehot por su paciencia e incondicional apoyo para la realización de éste trabajo.

A las autoridades de enseñanza de mi hospital por su apoyo durante mi residencia de pediatría.

A mis amigos y compañeros por tantos momentos inolvidables durante estos tres años.

## ÍNDICE

<b>Antecedentes y Marco Teórico</b>	<b>5</b>
Introducción	5
Frecuencia	6
Etiología	6
Fisiopatología e Histopatología	7
Cuadro Clínico	8
Diagnóstico	11
Diagnóstico Diferencial	13
Tratamiento	16
Pronóstico	18
Asesoramiento Genético Diagnóstico Prenatal y Tamizaje	19
<b>Justificación</b>	<b>20</b>
<b>Objetivo</b>	<b>20</b>
<b>Material y Métodos</b>	<b>20</b>
<b>Resultados: Descripción clínica y Estudio Molecular</b>	<b>24</b>
<b>Discusión</b>	<b>34</b>
<b>Conclusiones</b>	<b>39</b>
<b>Bibliografía</b>	<b>41</b>

## AUTORES

Dr. Miguel Angel Alcántara Ortigoza. Investigador en Ciencias Médicas D. Adscrito al Laboratorio de Biología Molecular. Tutor.

M. en C. Rehotbevely Barrientos Ríos. Investigador en Ciencias Médicas A. Adscrito al Laboratorio de Biología Molecular. Cotutor.

Dra. Ariadna Estela González del Angel. Médico Especialista. Adscrito al Departamento de Genética Humana.

Dr. Luis Martín Garrido García. Médico Especialista. Adscrito al Servicio de Cardiología.

Dra. Beatriz de León Bojorge. Médico Especialista. Adscrita al Servicio de Patología.

Dra. Adriana del Carmen Alva Chaire. Médico Especialista. Adscrita al Servicio de Neumología.

Instituto Nacional de Pediatría.

Dr. Angel Manuel Santacruz Castañeda. Tesista para obtener el diploma de Médico Peditra. Instituto Nacional de Pediatría.

## ANTECEDENTES Y MARCO TEORICO

### INTRODUCCION

La enfermedad de Pompe o glucógenosis tipo II fue descrita por primera vez en su forma clásica infantil en una niña de siete meses de edad con muerte súbita por miocardiopatía hipertrófica por el patólogo alemán P.J. Pompe en 1932 (1,2). Esta patología es un error innato del metabolismo autosómico recesivo y es consecuencia de la deficiencia de la  $\alpha$ -1,4 glucosidasa ácida (*GAA*), lo cual condiciona el almacenamiento de glucógeno a nivel lisosómico en el músculo esquelético, cardiaco y liso así como en otros tejidos. La acumulación del sustrato y por lo tanto el daño orgánico son variables, lo cual depende de la cantidad y función residual de la enzima (3).

El Colegio Americano de Genética Médica clasifica esta enfermedad en dos amplias categorías: 1) Infantil.

2) De inicio tardío.

La primera incluye la forma clásica de la enfermedad que es la variante más severa de esta patología, con mortalidad elevada durante el primer año de vida por afección pulmonar y cardiaca por hipertrofia miocárdica y la forma no clásica que se caracteriza por una progresión más lenta. La segunda incluye el cuadro clínico que aparece en los años

escolares, en la adolescencia y edad adulta cuya morbi-mortalidad se relaciona a debilidad muscular progresiva y a falla respiratoria. La miocardiopatía hipertrófica por lo general no se observa en los pacientes con esta variante. Es importante mencionar que la edad de aparición de los síntomas no siempre se correlaciona con alguno de los subtipos ya mencionados (3,4).

Por mucho tiempo no se contaba con una opción terapéutica específica que tuviera como objetivo evitar la progresión de la enfermedad; sin embargo, con la aprobación de la terapia de reemplazo enzimático (TRE), se han observado resultados satisfactorios que sugieren una modificación de la historia natural de la enfermedad. Así, la enfermedad de Pompe se ubica actualmente entre las enfermedades por atesoramiento lisosomal para las cuales el tratamiento específico se ha vuelto una realidad (5).

## **FRECUENCIA**

La frecuencia es variable de acuerdo a los diversos grupos étnicos y el área geográfica estudiada. Se estima una frecuencia de 1:40,000 en los afro-americanos, 1:50,000 en los chinos, 1:40,000 en los alemanes y 1:146,000 en los australianos (5). La forma infantil es menos común con una frecuencia de 1:138,000 que la forma tardía con una frecuencia de 1:57,000 (6). La frecuencia combinada de todas las formas de la enfermedad de Pompe se estima en 1:40,000 (2).

## **ETIOLOGIA**

La enfermedad de Pompe se debe a la deficiencia de la enzima  $\alpha$ -1,4 glucosidasa ácida (maltasa ácida) y se hereda con un patrón autosómico recesivo. El gen de la  $\alpha$ -1,4 glucosidasa ácida (*GAA*) se localiza en el cromosoma 17q25. Los pacientes con la enfermedad de Pompe portan una mutación patogénica en las dos copias o alelos del gen de la  $\alpha$ -1,4 glucosidasa ácida (*GAA*), ya sea en estado homocigoto (mutaciones iguales en ambos alelos) o en estado heterocigoto compuesto (mutaciones distintas en cada alelo) lo

que condiciona una disminución o ausencia en la síntesis y/o actividad catalítica de la enzima (1).

Los portadores de la enfermedad tienen una copia del gen o alelo normal y otro con la mutación (estado heterocigoto) por lo que presentan por lo menos un 50% de actividad normal de la enzima lo cual es suficiente para la adecuada degradación de glucógeno sin que aparezcan manifestaciones clínicas. Se ha determinado que la patología se manifiesta cuando la actividad de la enzima se encuentra por debajo del 25%. Se ha observado que la acumulación de glucógeno es inversamente proporcional al nivel de actividad de la enzima. Así, por lo general se espera que la severidad y el curso natural de la enfermedad estén determinados por el tipo de mutaciones en el gen de la  $\alpha$ -1,4 glucosidasa ácida (*GAA*) presentes en el genotipo del paciente. Actualmente se han identificado más de 200 mutaciones del gen de la  $\alpha$ -1,4 glucosidasa ácida (*GAA*) que se pueden consultar en la base de datos de mutaciones de la enfermedad de Pompe ([www.pompecenter.nl](http://www.pompecenter.nl)) (1).

## **FISIOPATOLOGIA E HISTOPATOLOGIA**

La formación de glucógeno a partir de glucosa en las diferentes células del cuerpo es una manera eficiente de almacenar energía. Cuando se requiere dicha energía el glucógeno es degradado rápidamente a glucosa para su inmediata utilización, este proceso de conservación y liberación de energía es regulado por una cascada de enzimas localizadas en el interior de la célula (1). La  $\alpha$ -1,4 glucosidasa ácida es una glicoproteína lisosomal que interviene en la degradación de una parte del glucógeno intracelular, por lo que su deficiencia ocasiona una acumulación del mismo dentro de los lisosomas, con la consecuente ruptura del organelo que provoca la liberación de hidrolasas en el citoplasma y daño tisular por autofagia (6,7). El músculo y el tejido nervioso son los más afectados. En el tejido muscular las miofibrillas son sustituidas por glucógeno lo cual provoca disminución en la contractilidad. En el tejido nervioso la infiltración de glucógeno afecta las células cerebrales de Purkinje, neuronas corticales, las células de Schwann de nervios pequeños en el diafragma y primariamente neuronas motoras en las astas anteriores (6). El depósito de glucógeno también afecta las células del tejido especializado en la conducción

cardiaca por lo que hay alteración en los patrones de despolarización y repolarización en músculo cardíaco (8).

El estudio histológico de las biopsias musculares de pacientes con enfermedad de Pompe revela un orden de eventos a lo largo de la evolución de la enfermedad: de manera inicial se observan pequeñas vacuolas (lisosomas con exceso de glucógeno) positivas para tinción de PAS las cuales se pueden encontrar de manera aislada o bien en un patrón lineal. Conforme la enfermedad avanza, los lisosomas aumentan en tamaño y se incrementan en número, posteriormente los lisosomas se fusionan e interfieren con la arquitectura de la fibra muscular. De manera adicional se desarrollan regiones con depósitos de lipofuscina, restos celulares rodeados por membranas (autofagosomas) y glucógeno libre disperso en el citoplasma con destrucción masiva del tejido muscular por el depósito abundante de glucógeno (5).

## **CUADRO CLINICO**

Como ya se mencionó hay dos variedades de esta enfermedad cada una de las cuales cursa con síntomas y signos específicos. A continuación se mencionan las principales características de cada subtipo.

*1) Infantil.-* Esta entidad puede ser aparente incluso *in útero* con la presencia de miocardiopatía hipertrófica, pero de manera más frecuente ésta aparece en el primer mes de vida aunado a un estado de hipotonía generalizada, dificultad para la alimentación y manejo inadecuado de secreciones, macroglosia, falla de medro y distrés respiratorio secundario a eventos de bronconeumonía y de debilidad muscular de los músculos respiratorios (9).

La miocardiopatía hipertrófica es una característica primordial de la variante infantil, la cual se debe a un engrosamiento de las paredes ventriculares y el septum con la consecuente obstrucción del tracto de salida e insuficiencia cardíaca que se manifiesta aproximadamente a los 4.5 meses de edad (5) (8).

El desarrollo motor está afectado con la ausencia, retraso o pérdida de sedestación, rodamiento, gateo o bipedestación. En el examen clínico los pacientes muestran



incapacidad para mantener un adecuado sostén cefálico, reflejos osteotendinosos disminuidos, así como disminución de los reflejos de succión y deglución. Se puede encontrar la frecuencia respiratoria aumentada, así como el uso de músculos accesorios de la respiración. A la auscultación se encuentran los ruidos respiratorios disminuidos sobretodo a nivel basal izquierdo del tórax por la compresión de la rama principal del bronquio izquierdo por la hipertrofia ventricular izquierda. A la auscultación cardíaca se puede encontrar ritmo de galope o bien soplos. De manera adicional puede llegar a observarse hepatomegalia moderada y macroglosia. Una disminución auditiva puede estar presente, la cual se ha atribuido a cambios patológicos a nivel de oído medio e interno así como del sistema neurosensorial de la audición, este último hallazgo previamente no se había descrito en la literatura en pacientes con Pompe Infantil o clásico debido a la mortalidad temprana de la entidad. También se observa osteopenia y osteoporosis en los niños afectados (5,10). Las principales causas de ingreso hospitalario en estos pacientes en orden decreciente son: problemas respiratorios, alteraciones cardíacas, dificultad para la alimentación y retraso en el crecimiento (11). La sobrevida calculada para estos pacientes sin tratamiento específico es de 6 a 9 meses de edad (9).

La forma no clásica de la variedad Infantil se caracteriza por la presencia de debilidad muscular así como por un retraso motor durante el primer año de vida. Los músculos se palpan con un aumento de consistencia como consecuencia del depósito de glucógeno, se puede observar pseudohipertrofia de los gemelos así como incapacidad para la bipedestación al estar en sedestación o en posición supina. La debilidad muscular en esta variedad tiene una progresión más lenta y la cardiomegalia tiene una frecuencia menor que en la forma clásica, si bien puede estar presente con o sin obstrucción al tracto de salida ventricular, generalmente tiene una severidad menor por lo que los pacientes suelen sobrevivir más allá del año de edad (9).

2) *De inicio tardío.*- A pesar de que ha sido dividida en forma infantil, juvenil y adulta esta variedad se ha considerado como un proceso continuo en el que los subtipos no pueden ser diferenciados de manera exacta por la edad de aparición. Los primeros síntomas aparecen en la infancia tardía, en la adolescencia o entre la segunda a séptima década de la vida. El cuadro clínico se caracteriza por debilidad muscular progresiva de tipo proximal con mayor afección de las extremidades inferiores. Los adultos afectados en muchas ocasiones describen como síntomas iniciales en la infancia la dificultad para participar en deportes así como la presencia de fatiga y dificultad para levantarse al estar en sedestación, para subir escaleras y para mantener la deambulación (4, 9).

Otros signos y síntomas de esta variedad incluyen la aparición de hiperlordosis y escoliosis, hepatomegalia de inicio en la infancia y adolescencia así como macroglosia, dificultad para masticar y deglutir, disminución en los reflejos osteotendinosos, contracturas articulares, disnea, ortopnea y apnea del sueño, aumento en la frecuencia de infecciones respiratorias e insuficiencia respiratoria. Pueden cursar también con hipertrofia cardíaca desde la infancia aunque no es habitual que las manifestaciones iniciales en esta variedad de Pompe sean por complicaciones cardíacas (4, 9).

La progresión a nivel músculoesquelético es más lenta en comparación con la forma infantil y eventualmente afecta tanto al diafragma como a los músculos accesorios de la respiración. Los individuos afectados en muchas ocasiones requieren de sillas de ruedas por la debilidad progresiva en las extremidades inferiores así como soporte ventilatorio por los problemas respiratorios secundarios (4, 9).

Los pacientes cursan además con osteoporosis, la cual se cree secundaria a la disminución en la deambulación, sin que hasta el momento se descarten otros procesos patológicos causales (4,9). A pesar de que en muchas ocasiones los signos y síntomas musculares son muy sutiles durante la infancia es importante un reconocimiento rápido de los mismos con el fin de evitar el retraso en el diagnóstico y tratamiento oportuno de esta variedad hasta la vida adulta (12).

## DIAGNOSTICO

El diagnóstico debe sospecharse en todo neonato con cardiomiopatía hipertrófica e hipotonía generalizada para el caso de la forma clásica infantil. En tanto para la forma tardía, esta entidad deberá sospecharse en pacientes que simulan distrofias musculares de cinturas o tipo Becker donde se observa una debilidad proximal de predominio pelvi-femoral, pero con datos de insuficiencia respiratoria. Se ha establecido que en todo paciente con sospecha de la enfermedad de Pompe, resulta muy útil como primera prueba diagnóstica la medición de  $\alpha$ -1.4 glucosidasa ácida en gotas de sangre seca depositada en papel filtro, ya que es un método rápido y evita la realización de estudios invasivos en la mayoría de los casos (2).

Dentro de los estudios auxiliares que corroboran la afectación cardíaca y músculoesquelética, se encuentran la radiografía de tórax, la cual en la variedad infantil muestra cardiomegalia; el electrocardiograma muestra datos de hipertrofia ventricular izquierda o bien de ambos ventrículos así como alteraciones del ritmo como un intervalo PR corto y complejos QRS muy amplios; el ecocardiograma corrobora la presencia de miocardiopatía hipertrófica y en fases posteriores, la evolución hacia una miocardiopatía dilatada e insuficiencia cardíaca. Los casos de inicio tardío rara vez muestran cardiomegalia o alteraciones electrocardiográficas lo cual disminuye la utilidad de estos estudios en dichos casos.

La electromiografía documenta un patrón miopático, aunque en ocasiones algunos músculos pueden aparecer sin alteración, los estudios de conducción nerviosa tanto sensitiva como motora son normales. La elevación de creatinina-cinasa (CPK) es sensible pero poco específica sobretodo en la forma infantil en la que se reportan valores hasta de 2,000 UI/L (valores de referencia habituales: 70-15 UI/L) y aproximadamente el 95% de los pacientes con la variedad tardía cursan también con elevación de esta enzima. Otras enzimas de escape como la aspartato aminotransferasa (AST), alanino aminotransferasa (ALT) y lactato deshidrogenasa (LDH) también se encuentran elevadas, debido a su liberación por el daño muscular.

La determinación de glucosa tetrasacaridasa en orina (Glc4) es útil ya que es muy sensible; sin embargo, es poco específica para la enfermedad de Pompe ya que también se eleva en otras enfermedades por atesoramiento de glucógeno (2, 3,9).

Las pruebas de funcionamiento pulmonar permiten identificar el compromiso respiratorio en todas las variantes y se deben de llevar a cabo de manera periódica, especialmente en pacientes con la variedad tardía. La debilidad diafragmática causada por el depósito excesivo de glucógeno causa una reducción de leve a moderada en la capacidad vital forzada que se evidencia aún más cuando se mide con el paciente en posición supina (2).

El diagnóstico definitivo de la enfermedad de Pompe en cualquiera de sus variedades, se basa en la determinación enzimática en muestras de gota de sangre seca depositada en papel filtro, fibroblastos o en biopsia muscular y mediante la identificación de las mutaciones patogénicas a través del estudio molecular del gen *GAA* (6).

Aunque todos los pacientes con enfermedad de Pompe cursan con deficiencia de la  $\alpha$ -1,4 glucosidasa ácida, la sensibilidad y la especificidad del procedimiento de determinación de la actividad enzimática depende de la elección del tejido, la correcta estandarización del ensayo, así como el tipo de sustrato utilizado. De la gran variedad de tejidos utilizados para el diagnóstico el que ha mostrado la mayor actividad de la  $\alpha$ -1,4 glucosidasa ácida es el cultivo de fibroblastos de piel. El uso de 4-metilumbelliferyl- $\alpha$ -D-glucopyranósido como sustrato artificial al realizar el ensayo enzimático resulta bastante específico y sensible lo cual permite detectar hasta el 1-2% de la actividad enzimática residual. Los pacientes con la forma clásica tienen menos del 1% de actividad residual, mientras que en otras formas de la enfermedad la actividad residual es mayor pero generalmente no sobrepasa el 30% con relación a la actividad promedio normal (5).

El cultivo de fibroblastos en piel por mucho tiempo se ha considerado el estándar de oro para el diagnóstico de esta patología (4); sin embargo, una desventaja del cultivo de fibroblastos de piel es el tiempo que se requiere para el crecimiento de los mismos el cual varía de 4-6 semanas (5,13). Actualmente otros métodos alternativos para el diagnóstico enzimático son la medición de la actividad enzimática en leucocitos a partir de gotas de sangre seca colocadas en papel filtro, con un inhibidor de maltasas neutras como la acarbosa o la medición de la actividad de  $\alpha$ -1,4 glucosidasa ácida en células mononucleares de sangre periférica; todos ellos tienen como ventaja el contar con el resultado en menor

tiempo en comparación con el ensayo enzimático en fibroblastos. La limitante de los estudios enzimáticos antes mencionados es que el porcentaje de actividad enzimática residual no siempre correlaciona con las formas clásica y tardía de la enfermedad (3,13).

El diagnóstico por genotipificación se lleva a cabo por medio de un análisis molecular del gen *GAA* el cual de acuerdo al origen étnico de los pacientes y a su fenotipo, se puede realizar inicialmente de manera dirigida de acuerdo a las mutaciones más frecuentemente descritas: p.Arg854X en individuos afro-americanos, p.Asp645Glu en pacientes chinos y la IVS1-13T>G en pacientes caucásicos, esta última se considera la mutación más frecuente observada en pacientes con la variante de Pompe de inicio tardío (9).

En algunas ocasiones se requiere de un análisis completo de la secuencia del gen para identificar la mutación causal mediante secuenciación automatizada. El diagnóstico por genotipificación en muchas ocasiones puede aportar información importante con relación al pronóstico de la enfermedad, sin embargo éste no debe de considerarse como un sustituto del diagnóstico enzimático antes mencionado (9).

## **DIAGNOSTICO DIFERENCIAL.**

El diagnóstico diferencial de la enfermedad de Pompe con cada una de sus variantes abarca un gran número de trastornos. En el caso de la variedad clásica hay que considerar como diagnóstico diferenciales las siguientes entidades (9):

1) *Atrofia muscular espinal tipo 1 (Enfermedad de Werdnig-Hoffman)*: Cursa con hipotonía, fasciculaciones linguales, dificultades para la alimentación, debilidad muscular proximal progresiva y arreflexia. No hay afectación cardíaca y se hereda de manera autosómica recesiva por mutaciones en el gen *SMN-1* (9).

2) *Enfermedad de Danon*: Tiene una presentación muy similar con hipotonía, miocardiopatía hipertrófica y miopatía como resultado de un almacenamiento excesivo de glucógeno causado por defectos en la proteína 2 de membrana lisosomal (LAMP2) que se hereda ligada al X por lo que los varones resultan más afectados que las mujeres. El

diagnóstico diferencial requiere de determinar la alteración en LAMP2 y la actividad de la  $\alpha$ -1,4 glucosidasa ácida es normal (9).

3) *Alteración en la captura de carnitina:* Hay debilidad muscular así como miocardiopatía sin la presencia de creatinina-cinasa elevada lo cual es importante para establecer el diagnóstico diferencial. Se hereda con un patrón autosómico recesivo por mutaciones en el gen *SLC22A5* (9).

4) *Enfermedad por almacenamiento de glucógeno tipo IIIa:* Cursa con hipotonía, cardiomegalia, debilidad muscular, elevación de CPK con mayor afectación hepática tanto por clínica y laboratorio en comparación con la enfermedad de Pompe. Es un trastorno que se hereda con un patrón autosómico recesivo por mutaciones en el gen *GBA* (9).

5) *Enfermedad por almacenamiento de glucógeno tipo IV:* Hay hipotonía, cardiomegalia, debilidad muscular y elevación de CPK con mayor afectación hepática tanto por clínica y laboratorio en comparación con la enfermedad de Pompe. Es un trastorno que se hereda con un patrón autosómico recesivo por mutaciones en el gen *GBE*. Es una patología muy similar a la enfermedad por almacenamiento de glucógeno tipo IIIa (9).

En el caso de la variedad de inicio tardío la afectación de los músculos respiratorios permite establecer un diagnóstico diferencial con otros trastornos neuromusculares. Se deben de considerar como diagnósticos diferenciales las siguientes entidades (9):

1) *Distrofia muscular de cinturas:* Es un grupo de desórdenes musculares que afectan de manera progresiva músculos de la pelvis, piernas y hombros respetando los músculos del tronco a diferencia de la enfermedad de Pompe de inicio tardío y se han identificado diferentes genes causales (9).

2) *Distrofia muscular de Duchenne y Becker:* Presentan debilidad muscular proximal progresiva, insuficiencia respiratoria y dificultad para la deambulación, los niveles de CK

generalmente son más altos que en enfermedad de Pompe. Afecta de manera característica a varones ya que es una patología ligada al X por mutaciones en el gen *DMD/B* (9).

3) *Enfermedad por almacenamiento de glucógeno tipo V*: Cursa con elevación de CPK y calambres musculares posteriores a la realización de esfuerzos. Se hereda de manera autosómica recesiva por mutaciones en el gen *PYGM* (9).

4) *Enfermedad por almacenamiento de glucógeno tipo VI*: Cursa con hipotonía, hepatomegalia, debilidad muscular, CPK elevada, hipoglicemias, y elevación de enzimas hepáticas. Se hereda de manera autosómica recesiva por mutaciones en el gen *PYGL* (9).

5) *Síndrome de espina rígida*: Se observa rigidez espinal así como dolor en espalda baja que no es característico de la enfermedad de Pompe (2).

6) *Miastenia Gravis*: Presenta debilidad muscular generalizada a diferencia de la enfermedad de Pompe de inicio tardío donde la afección es mayor en extremidades inferiores a nivel proximal (2).

7) *Atrofia espinal muscular tipo II o III*: Se identifica debilidad muscular asimétrica así como atrofia de los músculos voluntarios, se observa alteración en la velocidad de conducción motora y se origina por mutaciones en el gen *SMN-1* (2).

## TRATAMIENTO

Antes de la aprobación de la TRE, el tratamiento de la enfermedad de Pompe era únicamente de sostén (3), el cual va dirigido a las complicaciones con las que cursan los principales órganos afectados por esta patología. En el caso de la miocardiopatía las decisiones en cuanto a tratamiento deben de ser individualizadas y de acuerdo al grado de afectación de cada paciente, las alteraciones en la conducción cardiaca deben de ser tratadas por personal experto y familiarizado con esta patología ya que hay un riesgo elevado de muerte súbita por arritmias ventriculares. Entre las medidas generales que se recomiendan está el evitar estrés, infecciones, fiebre, deshidratación y anestias. La debilidad muscular se mejora por medio de terapias físicas que están diseñadas para optimizar y preservar la función motora y fisiológica tanto como sea posible así como para prevenir y disminuir las complicaciones secundarias, mejorar la calidad de vida y maximizar los beneficios de tratamientos como el de reemplazo enzimático. En ocasiones se requiere de medidas más agresivas como intervenciones quirúrgicas en aquellos pacientes que de forma secundaria desarrollan contracturas (9,14).

Los pacientes con enfermedad de Pompe requieren de dietas especiales y un programa de nutrición cuidadosamente diseñado (9). Las dietas basadas en suplementos orales como L-carnitina o bien aminoácidos de cadena ramificada mejoran la miopatía en algunas variantes como la forma no clásica de la enfermedad (3).

El compromiso ventilatorio requiere en ocasiones de manejo a base de CPAP (Presión positiva continua en la vía aérea) o bien BiPAP (Presión positiva bifásica en la vía aérea) así como la macroglosia e insuficiencia respiratoria de la forma clásica requiere en ocasiones de traqueostomía (9). Todas las medidas antes mencionadas no alteran la historia natural de la enfermedad.

El tratamiento de reemplazo enzimático actualmente aprobado por la FDA (Food and Drug Administration) y la Agencia Europea de medicamentos con  $\alpha$ -glucosidasa ácida humana recombinante (rhGAA) ha demostrado una excelente recuperación a nivel de músculo cardiaco y músculoesquelético en la variedad infantil; prolonga la supervivencia del paciente y disminuye la morbilidad. Con la instauración temprana del tratamiento (idealmente en las primeras semanas de vida) los resultados son más favorables, ya que se



disminuye la posibilidad de que ocurran daños irreversibles consecuencia del depósito de glucógeno (6).

Biopsias tomadas de músculo esquelético en niños y adultos antes y durante la TRE mostraron que primero ocurre un aclaramiento de los depósitos de glucógeno a nivel de las células endoteliales, más tarde, en las capas de músculo liso de los vasos sanguíneos así como en células de Schwann de nervios periféricos. Varios meses se requirieron para la degradación de glucógeno a nivel de tejido músculoesquelético; por lo tanto los efectos de la TRE en ocasiones no se aprecian de manera inmediata (5). Con la TRE se ha visto disminución de la masa cardíaca en varios grados e incremento de la fracción de eyección, incremento en el intervalo PR así como disminución en el voltaje del ventrículo izquierdo (8,9,15), adquisición de nuevas habilidades en el neurodesarrollo y disminución en la necesidad de soporte ventilatorio entre otros efectos benéficos (9).

La dosis indicada de  $\alpha$ -glucosidasa ácida humana recombinante (rhGAA) producida en células ováricas de hámster Chino es de 20mg/kg/dosis vía intravenosa en infusión cada 2 semanas (3). Los principales efectos adversos de la TRE incluyen urticaria, agitación, vómitos, taquicardia y taquipnea (6). Estos efectos se pueden controlar disminuyendo la velocidad de infusión de la enzima o bien si son muy severas las reacciones se puede interrumpir la infusión e iniciar tratamiento sintomático a base de antipiréticos, antihistamínicos o glucocorticoides (6).

La mayoría de los pacientes que se han tratado con TRE han mostrado el desarrollo de anticuerpos Ig.G anti-rhGAA; sin embargo, no se ha podido establecer una correlación entre el desarrollo de dichos anticuerpos y las reacciones adversas antes mencionadas (6). El desarrollo de anticuerpos Ig.E es menos frecuente pero puede estar asociado con reacciones anafilácticas (9). Se reportó un caso de síndrome nefrótico en un niño que recibió altas dosis de rhGAA el cual se resolvió tras la disminución de la dosis de rhGAA (3).

A pesar de los beneficios probados de la TRE los resultados no han sido uniformes. Los factores que predisponen a una pobre respuesta aún no están del todo comprendidos y sólo pueden ser sospechados en cada paciente tras una prueba terapéutica (9). Como ya se mencionó la mejor respuesta se obtiene cuando la arquitectura de las fibras músculoesqueléticas se encuentra aún bien preservada al inicio del tratamiento. La mejor respuesta clínica con mejora en la función motora y respiratoria se obtiene en aquellos

pacientes con un estado físico mejor al inicio del tratamiento (5). Hasta el momento una gran variedad de factores han sido identificados con una pobre respuesta entre los cuales se mencionan la edad y la severidad de la enfermedad así como el genotipo y el desarrollo de anticuerpos a la rhGAA. Los pacientes con mutaciones severas que impiden la producción endógena de una enzima activa o inactiva de  $\alpha$ -glucosidasa ácida pueden ser más susceptibles a la producción más elevada y persistente de anticuerpos a la rhGAA (3).

Actualmente hay pocos resultados disponibles de TRE en niños mayores y adultos ya que la mayoría de los estudios se han desarrollado en pacientes con la variedad infantil (5), sin embargo, se ha demostrado también la eficacia de este tratamiento con mejora tanto en la función muscular como en la respiratoria por lo que el manejo integral de los pacientes con la variedad tardía debe incluir la terapia de reemplazo enzimática (16).

## **PRONOSTICO**

La edad media de muerte en los pacientes con la variedad infantil se encuentra entre los 6-8.7 meses de edad, los pacientes con esta variedad casi nunca sobreviven más allá del año de edad, debido a insuficiencia cardiopulmonar (9).

En la variedad tardía la falla respiratoria causa la mayor morbi-mortalidad. La muerte generalmente ocurre en la segunda o tercera década de la vida, pero existe una amplia variabilidad en el tiempo de sobrevida de estos pacientes (9).

Con la introducción de la TRE el pronóstico se ha mejorado para estos pacientes, especialmente en aquellos con la variedad infantil en donde ya se ha aplicado la terapia de manera más sistematizada. Con base a los conocimientos actuales, la TRE ofrece resultados alentadores pero no uniformes hasta el momento. Un seguimiento a largo plazo es necesario para entender los beneficios reales de la TRE así como para formular guías universales para el tratamiento (5).

## ASESORAMIENTO GENETICO, DIAGNOSTICO PRENATAL Y TAMIZAJE

El asesoramiento genético se debe de ofrecer a todos los padres de un niño con enfermedad de Pompe así como a los adultos afectados por la enfermedad. Los padres de un individuo afectado se asume que son portadores, por lo que el riesgo de recurrencia en cada embarazo es del 25%. Se requiere del análisis de DNA para la identificación de otros miembros de la familia (ejem: hermanos) de un paciente afectado que pueden ser portadores.

El diagnóstico prenatal generalmente se realiza mediante la medición de la actividad enzimática en muestras de vellosidades coriónicas no cultivadas. El análisis en los amniocitos ha resultado también exitoso pero debe considerarse que la actividad enzimática es más baja que en los estudios de vellosidades coriónicas.

El diagnóstico prenatal en vellosidades coriónicas o células de líquido amniótico a través del estudio molecular del gen *GAA* se considera el estándar de referencia diagnóstico para aquellas familias en las que se conocen las mutaciones causales. Algunos laboratorios realizan primero el diagnóstico enzimático y la confirmación diagnóstica por medio de genotipificación, en los casos que hay dudas está indicada la realización de ambos procedimientos (2).

Con el surgimiento de la TRE en la enfermedad de Pompe es fundamental un diagnóstico temprano ya que como se ha mencionado hay una mejor respuesta al tratamiento en fases tempranas de la enfermedad (13). En Taiwán se llevó a cabo un estudio piloto de tamizaje para detección neonatal de enfermedad de Pompe mediante la medición de  $\alpha$ -1,4 glucosidasa ácida en gotas de sangre seca en papel filtro (2). En este estudio piloto se reportó un alto porcentaje de resultados falsos positivos; sin embargo, los pacientes con la forma clásica mostraron evidentes beneficios clínicos dado que la TRE se inicio en las primeras semanas de vida. Por lo tanto, es importante que se desarrollen estrategias para que el tamizaje sea más sensible y que el número de resultados falsos positivos sea menor ya que la determinación de una patología como la enfermedad de Pompe es compleja y requiere de una adecuada valoración de los riesgos y beneficios para el paciente y la sociedad. Con el método de tamizaje utilizado, no se puede establecer la variedad de la enfermedad que se detecta, lo cual es importante, ya que hay poca información con relación a cuando iniciar tratamiento del paciente con la variedad tardía en fase asintomática.

Por otro lado es importante considerar los recursos económicos con los que cuenta cada país para el cuidado de los niños que requirieran una confirmación diagnóstica o bien tratamiento. Con base en lo anterior se ha establecido que aún es muy temprano para establecer un tamizaje neonatal para la enfermedad de Pompe de manera sistemática (3).

### **JUSTIFICACIÓN**

En México se tiene poca experiencia en el diagnóstico de pacientes con enfermedad de Pompe de inicio tardío.

El INP se considera uno de los centros de concentración para el diagnóstico y tratamiento de trastornos neuromusculares, sin embargo hasta donde llega nuestro conocimiento, en el INP y en México, no se han reportado previamente pacientes con enfermedad de Pompe de inicio tardío.

El espectro de manifestaciones clínicas de los pacientes con Pompe tardío se caracteriza principalmente por debilidad muscular, por lo que se sobrelapa con las distrofias de cinturas (LGMD) y los fenotipos de Distrofia muscular tipo Becker.

Es importante la descripción del único paciente que se ha identificado en el INP con enfermedad de Pompe de inicio tardío con el fin de conocer los datos clínicos que nos deben hacer sospechar esta entidad.

### **OBJETIVO**

Describir las características clínicas y el estudio molecular de un paciente con diagnóstico de enfermedad de Pompe de inicio tardío.

### **MATERIAL Y METODOS**

Estudio descriptivo, prospectivo, observacional y transversal. El paciente que se describirá en el presente trabajo se identificó previamente en el laboratorio de Biología Molecular de la siguiente manera: de la base de datos de los pacientes estudiados para la identificación de deleciones en el gen de distrofina de laboratorio de Biología Molecular del INP, se

revisaron los datos clínicos de 158 pacientes con manifestaciones miopáticas pero negativos para deleciones. Se realizó una selección de estos pacientes para estudio enzimático de *GAA* con los siguientes criterios de inclusión y exclusión:

Inclusión.- 1) Ambos géneros.

2) Debilidad muscular proximal de etiología no determinada (predominio pelvi-femoral).

3) Biopsia muscular positiva para distrofina (dominio amino y carboxilo terminal).

4) Electromiografía con patrón miopático no concluyente o normal.

Exclusión.- 1) Pacientes que no cuenten con estudios de biopsia muscular.

2) Pacientes con datos de miopatía recesiva ligada al cromosoma X.

3) Pacientes con valores de CPK normales.

4) Pacientes femeninos con aberraciones estructurales que involucren Xp.

De los 158 pacientes antes mencionados sólo se escogieron 6 pacientes (5 masculinos y 1 femenino) con datos sugestivos de Pompe de los cuales se logró contactar a 5. De los 5 pacientes sin costo y previa firma de consentimiento informado, se realizó por duplicado tamizaje enzimático de *GAA* en sangre seca depositada en papel filtro de acuerdo a instrucciones de la Farmacéutica Genzyme para la determinación de la actividad enzimática de alfa-glucosidasa ácida (Laboratorio de Enfermedades metabólicas de la Universidad de Hamburgo, Alemania y Laboratorio de Genética-Enfermedades Lisosomales del CMN “La Raza” IMSS, México).

Sólo en un caso de los 5 analizados se identificó una deficiencia de la actividad enzimática de alfa glucosidasa ácida, se secuenció la totalidad de los 20 exones y bordes exón-intrón que conforman el gen *GAA* (Genzyme Genetics), identificándose las mutaciones IVSI – 13T>G y c.1673G>C (p.C5585) del gen *GAA*. A este paciente en el presente trabajo se le realizaron las valoraciones por parte de Cardiología y Neumología, además se revaloró la biopsia muscular con la que ya se contaba en el INP con el fin de hacer una descripción clínica del paciente dado el diagnóstico corroborado de enfermedad de Pompe, además se determinó el origen parental de las mutaciones caracterizadas de la siguiente manera:

**Extracción del DNA.-** Se llevó a cabo el análisis en el caso índice, padres y hermana, mediante extracción del DNA a partir de sangre periférica (5ml) en tubos con anticoagulante EDTA al 15%. Se utilizó la técnica de precipitación salina con el kit Puregene™ (Gentra Systems, Minneapolis, MN, USA). Donde se realizó el siguiente proceso. Se centrifugó la sangre total a 3000rpm por 20min, para obtener el botón de leucocitos. Este botón se lavó con 10ml de amortiguador de lisis de eritrocitos (RCLB, por sus siglas en inglés Red Cell Lysis Buffer) agitando por 2min, se centrifugó a 3000rpm por 10min y se eliminó el sobrenadante, se repitió el proceso hasta quedar limpios los leucocitos. El botón se resuspendió con 500ul de RCLB y se agregó 3ml de amortiguador de lisis de leucocitos (WLCB por sus siglas en inglés White Lysis Cells Buffer) y 1ml de solución precipitadora de proteínas. Centrifugando a 3500rpm por 5min, se obtuvo el sobrenadante y se agregó isopropanol al 100% en una proporción 1:1. Se agitó suavemente y se obtuvieron las hebras de DNA con una pipeta con punta en gancho. Una vez que estuvieron secas, se lavó en 1ml de etanol al 70% sumergiendo y secando a temperatura ambiente. Finalmente, se resuspendió para su almacenamiento aprox. en 200µl de solución Tris-EDTA (TE) y se almacenó a 4°C.

**Cuantificación del DNA.-** Se realizó una dilución de 2 µl de la muestra de DNA en 498 µl de agua estéril y se registró la densidad óptica a una longitud de onda de 260 nm. Para cuantificar la concentración de DNA se aplicó la siguiente fórmula:

$$(D.O) (F) (dil) = (DNA) \mu g/ml$$

Donde:

D.O = densidad óptica a 260 nm

F = constante equivalente a 0.05 (50 ng de DNA = 1 D: O)

Dil = volumen de dilución equivalente a 250 µl

**Integridad del DNA.-** La integridad del DNA se evaluó por medio de electroforesis, mezclando 1 µl de la muestra con 2 µl de colorante azul de bromofenol-xilencianol (0.05%: 0.05%) y 7 µl de agua estéril. La electroforesis se llevó a cabo durante 20 min. a 100 voltios en un gel de agarosa al 1 % teñido con Bromuro de Etidio; posteriormente el DNA se observó en un transiluminador con luz ultravioleta y se tomaron fotografías.

**Búsqueda de las mutaciones.-** Las mutaciones IVSI -13T>G y c.1673G>C (p.C5585) en el gen *GAA* fueron detectadas por el método PCR-ARMS, el cual es un método basado en la reacción en cadena de la polimerasa capaz de detectar mutaciones puntuales y pequeñas deleciones o inserciones. La mutación IVSI -13T>G se encuentra presente en el 65-94% de caucásicos y la mutación c.1673G>C (p.C558S) es una mutación nueva, ambas mutaciones se localizan en el exón 12 del gen *GAA*.

**c.1673G>C (p.C558S).**- En el caso del alelo normal o wild-type (WT) se amplificó por una reacción de PCR que contiene 1.5 mmol/L MgCl<sub>2</sub> plus 1X PCRx Enhancer Solution (invitrogen) y 100 pmol de cada primer (sentido: 5' TCC AGG CGG CCA CCA TCT G-3'; antisentido: 5' CTG TGG GAG GCG ATG GCT TC-3') utilizando el protocolo PCR "hot-start" a 30 ciclos (AmpliTaq® Gold DNA polimerasa, Applied Biosystems) con una alineación a 64°C. Para el alelo con la mutación se amplificó usando el mismo primer antisentido y las mismas condiciones de PCR pero con el primer sentido: 5' TCC AGG CGG CCA CCA TCT C-3. Los amplicones de 100 pb se visualizaron en un gel de agarosa al 4% teñido con bromuro de etidio.

**IVSI-13T>G.**- En el caso del alelo WT se amplificó con una reacción de PCR que contiene 1.5 mmol/L MgCl<sub>2</sub> plus 1X DE Q-solution (Quiagen) y 100 pmol de cada primer (sentido: 5' TCC CTG CTG TAG CCC GCT T 3'; antisentido: 5' CCT GCT GTA GCC CGC TTG-3') utilizando el protocolo PCR "hot-start" a 30 ciclos (AmpliTaq® Gold DNA polimerasa, Applied Biosystems) con una alineación de 59°C. Para el alelo con la mutación se amplificó usando el mismo primer antisentido y las mismas condiciones de PCR pero con el primer sentido: 5' ACC CCA AGC TTG TGA GGT G C-3. Los amplicones de 694 pb se visualizaron en un gel de agarosa al 4% teñido con bromuro de etidio.

Al encontrar una mutación nueva, c.1673G>C (p.C558S), se analizaron 120 controles sanos nacidos en la ciudad de México para descartar que se tratara de un polimorfismo. Se utilizó la técnica PCR-ARMS previamente mencionada, se consideraría polimorfismo en caso de observarlo en al menos el 1% de las muestras de controles sanos.

## **RESULTADOS: DESCRIPCIÓN CLÍNICA Y ESTUDIO MOLECULAR**

Masculino de 18 años de edad que cuenta con los siguientes antecedentes:

**Antecedentes heredofamiliares:** Madre de 37 años de edad con antecedente de lesión medular traumática, padre de 34 años de edad aparentemente sano, no consanguíneos. Hermana finada al mes con 6 días de vida por cuadro de bronconeumonía y hermana mayor sana madre de un hijo que falleció no malformado por circular de cordón y madre de otra hija sana.

**Antecedentes Prenatales:** Gesta III, Gestación de 40 semanas, control prenatal desde el cuarto mes, sin antecedentes de importancia. Conclusión del embarazo por cesárea iterativa. Se desconoce peso y talla al nacimiento, llanto y respiración espontáneos al nacimiento, sin complicaciones perinatales, se egresó como sano.

**Desarrollo Psicomotor:** Sonrisa social y control cefálico desconoce, deambulación al año y dos meses, bisílabos a los 2 años, desconoce inicio de frases y de control de esfínteres. Terminó primaria con buen aprovechamiento. Realizó estudios de estilista.

**Antecedentes Personales Patológicos:** Asmático desde los 3 años de edad sin tratamiento específico, amigdalectomía a los 2 años de edad por cuadros infecciosos de faringe en varias ocasiones. Síncope al alimentarse y estar parado en una sola ocasión en junio del 2004 de etiología no determinada.

**Padecimiento Actual:** Inicio de padecimiento a los 4 años de edad con la presencia de dolor en cara posterior de muslos después de caminar el cual con el tiempo se volvió más intenso. La madre nota que a los 10 años empieza a tener caídas frecuentes y dificultad para la marcha así como para subir escaleras, el paciente comienza a referir fatiga y continuaba con mialgias en extremidades inferiores. Acuden con médico el cual diagnóstica pie plano e indica plantillas para ambos pies con soporte de arco longitudinal interno y botón



retrometatarsal y más tarde aparato largo de mangueras desrotadoras que utilizó durante 3 meses sin mejoría. Tras acudir con varios médicos es referido al INP donde se encuentra paciente con hipotonía e hiporreflexia y se considera de manera inicial el diagnóstico de probable distrofia tipo Becker. Actualmente el paciente refiere que sube escaleras con dificultad y que tiene deambulación independiente. La discapacidad motora actualmente no le impide realizar sus actividades diarias.

**Exploración Física:** Peso por debajo de centila 3 y talla en centila 25-50, normocéfalo, frente amplia, cejas pobladas, puente nasal alto y delgado, fisuras palpebrales rectas, paladar íntegro, pabellones auriculares bien implantados, hélix acopado, cuello normal, tórax simétrico, ruidos cardíacos y campos pulmonares sin alteraciones, abdomen sin vísceromegalias, genitales con gónadas descendidas, hipotrofia muscular generalizada, escapulas ligeramente aladas, miembros torácicos simétricos, disminución de la fuerza 4/5, tono conservado miembros pélvicos simétricos, disminución de la fuerza 4/5 de predominio proximal simétrica con afección de cuádriceps, aductores y glúteos, dificultad para flexión dorso de pie, puede realizar marcha de talones y puntas con dificultad, Gowers incompleto, ROTs disminuidos.

**Evolución y abordaje diagnóstico:** Paciente conocido en el Instituto Nacional de Pediatría desde los 12 años con 6 meses de edad por manifestaciones clínicas de tipo muscular por el servicio de Genética. Cuenta con los siguientes estudios de laboratorio y gabinete:

CPK de 2217 UI/L a los doce años de edad (2-238 UI/L.)

CPK de 2214 UI/L a los 16 años de edad (2 – 238 UI/L.)

AST de 223 UI/L a los 14 años de edad (10-46 UI/L).

ALT de 210 UI/L a los 14 años de edad (10-46 UI/L).

DHL de 611 UI/L a los 14 años de edad (91-180 UI/L).

**Neurofisiología Clínica (29/07/02) a los 12 años con 6 meses de edad:** Velocidad de conducción nerviosa motora de los nervios medianos, peroneos y tibiales posteriores, muestra latencias distales, velocidad de conducción y amplitud dentro de límites normales en forma bilateral.

El estudio de velocidad de conducción nerviosa sensitiva de los nervios medianos y surales muestra latencias, amplitud y velocidad de conducción nerviosa dentro de límites normales, en forma bilateral.

El estudio de electromiografía de los músculos bíceps, vasto lateral izquierdo y tibial anterior derecho muestra actividad de inserción dentro de límites normales. No se observan fasciculaciones ni fibrilaciones. A la contracción muscular se observa el potencial de unidad motora de duración y amplitud dentro de límites con patrón de interferencia completo y amplitud dentro de límites normales. El estudio de electromiografía se considera dentro de límites normales.

**Neurofisiología Clínica (19/05/04) a los 13 años con 5 meses de edad:** El estudio de velocidad de conducción nerviosa motora (VCNM) de los nervios medianos, cubitales y peroneos muestra latencias, amplitud y velocidad de conducción nerviosa dentro de límites normales en forma bilateral.

El estudio de electromiografía de los músculos deltoides derecho, supraespinoso derecho y glúteo medio izquierdo, muestra actividad de inserción normal, no se observaron fasciculaciones, ni fibrilaciones, a la contracción muscular, los potenciales de acción muscular (PUM), se observan de duración, morfología y amplitud normal, con patrón de interferencia completo de amplitud normal.

**Biopsia muscular de cuádriceps (14/03/03) a los 13 años con 3 meses de edad:** Se identifican fibras musculares de diferente tamaño, con discreta fibrosis endomisial, con pérdida de la angulación y centralización nuclear ocasional. No hay infiltración adiposa.

Distrofina COOH: Positiva.

Distrofina NH2: Positiva leve, focal.

Histoquímica (24/09/03): tricrómica invertida no hay fibras rojas, ATPasas, DHS y DPNH sin alteraciones, fosfatasa ácida con positividad en numerosas fibras musculares, fosforilasa normal.

**Genética (09/08/04):** Se realizó sesión de neurogenética así como se comenta el caso con el servicio de Patología y se concluye que el paciente muestra alteración en el patrón de la inmunohistoquímica de distrofina pero no la clásica de Becker lo cual aunado a la clínica obligaba a descartar alguna alteración en el complejo de proteínas asociadas a distrofina que pudiera explicar las alteraciones con las que cursaba el paciente.

Al no tener un diagnóstico establecido, se realizó estudio de DNA en el laboratorio de Biología Molecular del INP en busca de deleciones en el gen de *DMD/DMB*, en el cual no se observan deleciones al analizar 22 exones.

**Cardiología (09/12/2002):** Valoración inicial se considera normal por clínica, tele de tórax y ECG normal. Sin afectación cardiaca. Se mantiene en control periódico.

(10/04): Se valora nuevamente por episodios de síncope. Sin alteración cardiológica aparente.

(17/04/06): Valoración clínica normal, tele de tórax normal, ECG normal. Se deja con cita abierta.

(29/09/06): Se reporta ecocardiograma dentro de límites normales en cuanto a la función ventricular.

**Neumología (11/12/02):** En la primera valoración se concluye que el paciente cursa con datos de rinitis alérgica así como de asma moderada persistente. Se solicitan pruebas de función respiratoria tanto por el diagnóstico de asma como el de miopatía en estudio para determinar limitación funcional con la que cursa el paciente así como centellografía pulmonar perfusoria.

(26/05/03): Centellografía pulmonar perfusoria que se reporta con pulmón derecho con morfología y perfusión de características normales. Pulmón izquierdo con morfología y perfusión de características normales.

(02/11/03): Tras nueva valoración el paciente refiere disnea a medianos esfuerzos que se consideró secundaria a la miopatía en estudio, así como apnea del sueño que se consideró secundaria a rinitis probablemente alérgica. Se descartó diagnóstico de asma.

(02/12/03): Pruebas de función pulmonar: Patrón restrictivo leve, sin respuesta a broncodilatador.

**Gastronutrición (06/04/04):** Paciente que cursa con evacuaciones disminuidas en consistencia desde los 12 años de edad así como dolor abdominal asociado a ingesta de alimentos principalmente lácteos. Refiere evacuaciones diarreas 6-7 por día durante 2 días refiere una semana evacuaciones de características normales y nuevamente cursa con evacuaciones diarreas 2 a 4 días. Se inicia subsalicilato de bismuto.

(01/06/04): Paciente que se encuentra con misma sintomatología sin mejora. Se considera secundario a afectación intestinal por lo que se solicita colon por enema así como tránsito intestinal.

Colon por enema (01/06/04): Se observan imágenes de ulceraciones y procesos inflamatorios a nivel intestinal.

S.E.G.D. y Tránsito intestinal (01/06/04): Imágenes que se observan en el estudio con relación a proceso inflamatorio de mucosa gástrica. Imágenes sugestivas de hiperplasia linfoide.

(07/06/04): Se realiza fibropanendoscopia por cuadro de diarrea crónica intermitente para valoración anatómica y toma de muestras. Se establece como diagnóstico endoscópico reflujo bilio-gástrico. Con toma de biopsias de antro, duodeno, esófago, íleon, colon ascendente, colon transverso, colon descendente, recto y sigmoides.

Descripción de biopsias (11/06/04): Esofagitis leve secundaria a reflujo, gastritis crónica leve, material insuficiente para diagnóstico a nivel duodenal, mucosa colonica con inflamación crónica moderada e hiperplasia linfoide en ileon, inflamación crónica moderada e hiperplasia linfoide en colon ascendente y transverso, inflamación crónica moderada e hiperplasia linfoide en colon descendente y sigmoides.

(22/11/05): Se considera que la diarrea pueda ser secundaria a la miopatía en estudio. Se mantiene con manejo sintomático a base de subsalicilato de bismuto por razón necesaria.

(15/02/07): Paciente que nuevamente cursa con cuadros discontinuos de diarrea así como con dolor abdominal. Exploración física normal. Se programó para nuevo estudio endoscópico.

(21/03/07): Se realiza nueva fibropanendoscopia con fines de diagnóstico. Se establece como diagnóstico endoscópico reflujo biliar, probable disquinesia antropilórica. Con toma de biopsias de esófago, mucosa gástrica, primera porción de duodeno y segunda porción de duodeno.

Descripción de biopsias (27/03/07): Esófago sin alteraciones histológicas, mucosa gástrica con cambios reactivos inespecíficos, primera porción de duodeno sin alteraciones histológicas, segunda porción de duodeno con dilatación focal de criptas sin cambios inflamatorios.

Se concluye probable trastorno de motilidad asociado a miopatía de base, se mantiene con manejo a base de subsalicilato de bismuto y loperamida por razón necesaria así como inhibidor de bomba de protones y amitriptilina.

**Urgencias (18/10/07):** Acudió por tos de 2 meses de evolución de predominio nocturno no disneizante ni cianozante si emetizante, fiebre cuantificada de 39 a 40 grados de predominio nocturno. A la exploración física se encontró con disminución de los movimientos de amplexión y amplexación, a la auscultación se encontró con hipoventilación basal derecha. Biometría hemática con Hb. de 14.3, Hto. 43.1, leucos de 10,800, N 79% y L 18%, plaquetas de 396 mil. Rx. tórax con sobredistensión pulmonar y opacidad basal izquierda.

Diagnóstico: Bronconeumonía adquirida en la comunidad por atípicos probablemente.

Tratamiento: Claritromicina 15mgkgd por 10 días.

Trimetropim con sulfametoxazol 20mgkgd sin suspender.

Se egresa el 19/10/07 del servicio de urgencias sin datos de dificultad respiratoria saturando sin oxígeno 94%.

**Genética (03/04/08):** Paciente que no muestra deleciones en el gen de distrofia muscular de Duchenne, con biopsia muscular no concluyente para un diagnóstico específico. Dado que la enfermedad de Pompe en adultos es diagnóstico diferencial de Duchenne la cual no se confirmó. El paciente se incluyó en un estudio de tamizaje para identificar casos de Pompe.

Se realizó la medición enzimática en el laboratorio de enfermedades metabólicas de la universidad de Hamburgo Alemania y laboratorio de Genética-enfermedades lisosomales del CMN "La Raza" IMSS México sin costo y previa firma de consentimiento informado, el presente paciente mostró una deficiencia de la  $\alpha$ -glucosidasa ácida a pH de 3.0 de 0.90 (normales de 1.5-10) en sangre depositada en papel filtro, con lo cual se estableció el diagnóstico de Enfermedad de Pompe, posteriormente se corroboró el diagnóstico al realizar el análisis molecular por medio de secuenciación del gen de la  $\alpha$ -glucosidasa ácida (GAA) del paciente en laboratorio de Genzyme Genetics identificándose las mutaciones c.-32-13T>G (IVSI-13T>G) y c.1673G>C (p.C5585).

De las mutaciones identificadas en el paciente una ya ha sido previamente descrita la cual es la c.-32-13T>G (IVSI-13T>G) en pacientes caucásicos con la variante de inicio tardío. Sin embargo, la otra mutación caracterizada la c.1673G>C (p.C5585) no se había identificado en pacientes con Pompe previamente. Por lo anterior, en el Laboratorio de Biología Molecular de nuestro Instituto se realizó el estudio molecular en la familia del paciente para determinar el origen parental de cada una de las mutaciones así como determinar si la mutación previamente no descrita no se trataba de un polimorfismo. La mutación c.-32-13T>G se identificó en la madre del paciente, mientras que la mutación c.1673G>C (p.C5585) se observó en el padre, la hermana del caso índice no presentó ninguna de las mutaciones por lo que se determinó que ella era clínica y genéticamente normal (Fig.1). La mutación c.1673G>C (p.C5585) se descartó que fuera un polimorfismo al no observarla en el análisis molecular dirigido en DNA de 120 controles sanos nacidos en la ciudad de México (Fig. 2).

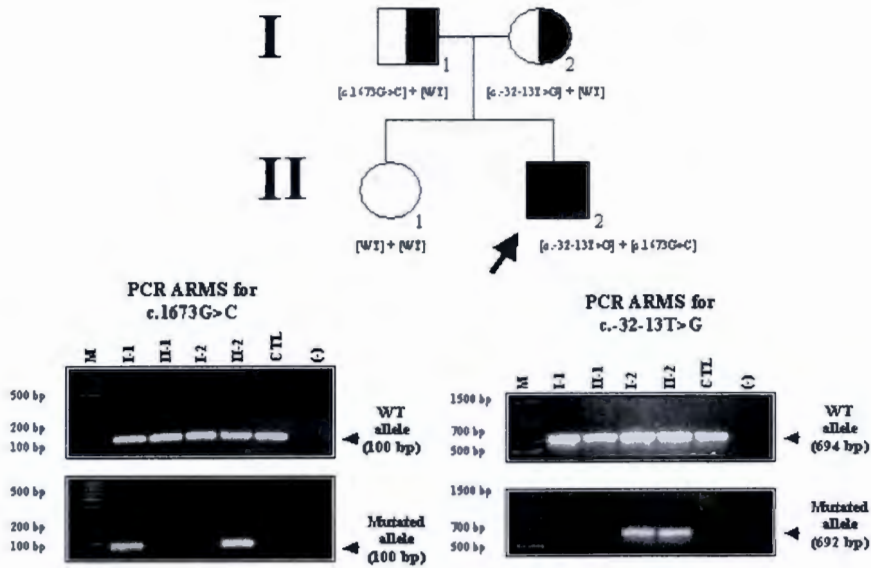
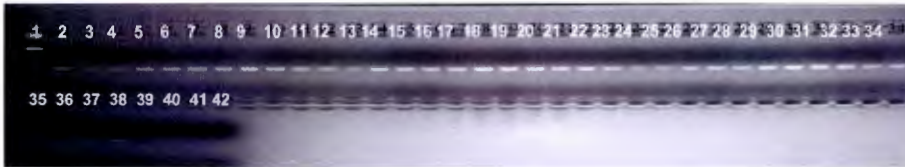


Fig. 1 a) Árbol genealógico del caso índice b) análisis por medio de la técnica PCR-ARMS para determinar el origen parental de la mutación c.-32-13T>G y el nuevo cambio c.1673G>C (p.C558S), localizadas en el exón 12 del gen *GAA*. Los amplicones de 100 pb se visualizaron en un gel de agarosa. Los genotipos respectivos están indicados en la figura. Este análisis de PCR-ARMS eliminó la posibilidad de que las dos mutaciones estuvieran presentes en el mismo alelo del gen *GAA* del caso índice (II-2). Las bandas CTL y (-) corresponden a DNA de controles sano de sexo masculino y vacíos, respectivamente.

a)



b)



Fig.2 Búsqueda de la mutación p.C558S en 120 controles sanos por medio de la técnica de PCR-ARMS.

a) Reacción para la identificación del alelo WT. Carril 1 marcador de peso molecular (50 pb), carriles 2 al 38 controles sanos en los que se observa el producto de PCR de 100pb compatible con una secuencia normal, carriles 39 al 41 controles positivos para la mutación p.C558S por lo que no se observa producto de PCR y carril 42 control negativo. b) Reacción para la identificación del alelo mutado. Carril MP (marcador de peso molecular 50 pb), carriles 1 al 39 controles sanos, en ninguno se identificó producto de PCR por lo que se descarta en ellos la presencia de la mutación p.C558S.

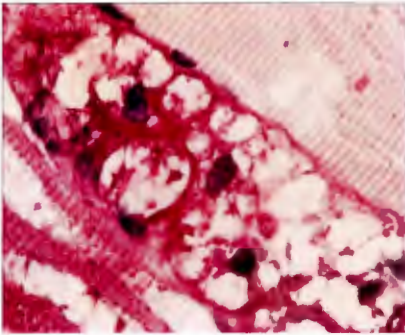
Al tener corroborado el diagnóstico se valoró nuevamente la biopsia muscular con la que ya se contaba en el INP. En la cual se encontraron los siguientes hallazgos:

(06/02/09): Se revisan nuevamente las laminillas y se estudió la microscopia electrónica. Se encontraron vacuolas irregulares subsarcolemales positivas con la tinción de PAS en forma granular fina y gruesos cúmulos magenta. La microscopía electrónica también mostró vacuolas subsarcolemales con gránulos de glucógeno que también se observaron en algunas células endoteliales de capilares entre las fibras musculares.

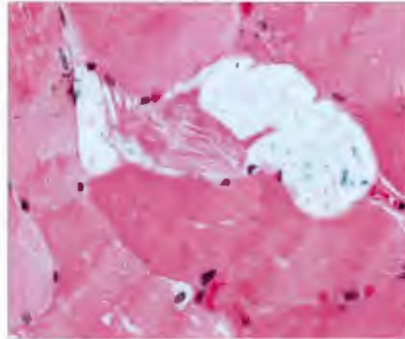
Diagnóstico Corregido: Glucogenosis tipo II.



A continuación se muestran los cortes histológicos de la biopsia del paciente:



Corte transversal con técnica H y E.  
Destaca la vacuolización de una fibra muscular.



Corte transversal con técnica PAS.  
Nótese la presencia de abundante  
Material PAS positivo contenido  
en las vacuolas de fibras afectadas.

En el presente trabajo dado el diagnóstico establecido, al paciente se le realizaron valoraciones por parte de los servicios de cardiología así como de neumología del INP. Los resultados fueron los siguientes:

#### **Cardiología:**

Electrocardiograma (07/08): sin alteraciones (intervalo PR normal).

Ecocardiograma (08/08): Masa ventricular izquierda de 75gr/m<sup>2</sup>. (Valor normal para la edad 60gr/m<sup>2</sup>). Presión sistólica de la arteria pulmonar normal de 28 mm Hg. Resto sin alteraciones.

#### **Neumología:**

Pruebas de función pulmonar (14/07/08): Paciente que cursa con rinofaringitis al momento del estudio. Pruebas basales que sugieren patrón de restricción leve. Sin respuesta significativa a broncodilatador.

Pruebas de función pulmonar (21/07/08): Espirometría normal con disminución en la capacidad vital forzada (FVC) de 28.6% al realizarse pruebas en posición supina. Existe una disminución importante en la presión inspiratoria máxima.

## **DISCUSIÓN**

El paciente que se presenta en este trabajo cursó con manifestaciones clínicas características de una miopatía proximal. Tras descartar entidades como la distrofia muscular de Duchenne y Becker era necesario descartar que cursara con la enfermedad de Pompe de inicio tardío considerando que es diagnóstico diferencial de las entidades antes mencionadas (9).

El presente caso se encuentra dentro del grupo de pacientes con la variedad de inicio tardío en donde se refiere un curso de progresión más lento que en la forma clásica. En esta entidad, se describe en la literatura un cuadro clínico en el que generalmente los pacientes cursan con dificultad para participar en deportes así como más tarde fatiga y dificultad para levantarse al estar en sedestación, subir escaleras y caminar (4,9). La mayoría de los síntomas antes mencionados coinciden con la sintomatología referida por nuestro paciente que inicio durante la infancia.

A la exploración física también hay hallazgos que coinciden con lo referido en la literatura como son la debilidad muscular de predominio proximal, ROTS disminuidos e hipotrofia muscular (4,9).

En cuanto a los estudios de laboratorio iniciales realizados al paciente cursó con cifras de CPK elevadas, como lo observado hasta en el 95% de los pacientes con enfermedad de Pompe de inicio tardío, así como con elevación de AST, ALT y DHL, lo cual se debe al daño muscular con el que cursan estos pacientes (2, 3,9). Sin embargo, las alteraciones antes mencionadas no son exclusivas de los pacientes con enfermedad de Pompe de inicio tardío ya que pueden estar elevadas en otras miopatías de origen proximal como la distrofia muscular de Duchenne, la cual es una enfermedad más frecuente y en donde los niveles de CPK se encuentran más elevados por lo que es diagnóstico diferencial de la enfermedad de

Pompe de inicio tardío (9), así la elevación de CPK se considera como una prueba sensible pero poco específica (2,3,9).

Los estudios de conducción nerviosa en el paciente tanto sensitiva como motora son normales, lo cual es lo esperado en pacientes con enfermedad de Pompe. Los resultados de electromiografía en el presente paciente se reportan como normales, sin embargo, se refiere que en los pacientes con Pompe generalmente se muestra un patrón miopático aunque también se menciona que algunos músculos pueden aparecer sin alteración como en nuestro caso, lo cual nos permite considerar que ante la sospecha de Pompe un resultado de electromiografía normal no descarta el diagnóstico (2, 3,9).

Al paciente se le realizó la determinación de la actividad enzimática por medio de una gota de sangre seca. El estándar de oro para determinar la actividad de la  $\alpha$ -glucósidasa ácida es el cultivo de fibroblastos en piel (4). Sin embargo, la detección de la actividad de la enzima por medio de gota de sangre seca tiene algunas ventajas como menor tiempo para tener el resultado, menor invasividad y facilidad de transporte con relación al cultivo de fibroblastos en piel (2, 3, 13). A pesar de que se menciona que el cultivo de fibroblastos en piel es el estudio con mejor sensibilidad y especificidad para detectar la actividad enzimática residual, la cual es de mayor importancia en la variedad infantil por la escasa actividad con la que cursan los pacientes con esta variedad (5); en el caso de los pacientes con enfermedad de Pompe de inicio tardío, como en nuestro paciente, la determinación enzimática por medio de una gota de sangre seca puede ser una buena opción de manera inicial ya que generalmente estos pacientes cursan con mayor actividad enzimática residual en comparación con los casos de la variedad infantil y por lo tanto la detección no requiere de tanta especificidad y sensibilidad. Consideramos que para identificar pacientes con enfermedad de Pompe mediante métodos de tamizaje en población de alto riesgo como en los casos de pacientes con miopatía de origen no determinado, como se llevo a cabo en el presente caso, la medición enzimática en sangre seca en papel filtro es un método más accesible con mayores ventajas que la medición enzimática en fibroblastos.

Posterior a la confirmación de una deficiencia en la actividad de la enzima  $\alpha$ -glucósidasa ácida en el paciente se realizó la secuenciación completa del gen *GAA* y se comprobó la presencia de 2 mutaciones. De las mutaciones identificadas en el paciente una ya ha sido

previamente descrita la cual es la c.-32-13T>G que es una de las tres mutaciones más frecuentes en pacientes con enfermedad de Pompe y esta mutación de manera específica es la más frecuente en pacientes caucásicos con la variante de inicio tardío (9) que es la variante con la que cursa nuestro paciente. De manera intencionada se interrogó acerca del origen étnico de la familia de nuestro caso, en el cual se negó tener antecedentes evidentes de familiares de origen caucásico, sin embargo, la presencia de la mutación c.-32-13T>G en nuestro paciente corrobora que la población mexicana genéticamente es heterogénea y que existe contribución genética ancestral europea en nuestro país.

La mutación antes mencionada ocasiona una sustitución de la base T por G en la posición número -13 del intrón 1 favoreciendo la eliminación aberrante del exón 2, donde se encuentra el codón de inicio AUG para la formación adecuada de la enzima, así los pacientes con esta mutación no producen una proteína normal; sin embargo, se considera leve ya que con una frecuencia baja existe un procesamiento de corte y empalme de exones normal (se preserva el exón 2), suficiente para que se permita una síntesis y función adecuada de la enzima en un 20-40% de lo normal, lo que explica que el cuadro clínico de la enfermedad de Pompe sea de inicio tardío (17).

La otra mutación caracterizada la c.1673G>C (p.C5585) en nuestro paciente no se había identificado en pacientes con Pompe previamente. Con este nuevo hallazgo se realizó un análisis de 120 lactantes sanos nacidos en la ciudad de México para descartar que se tratara de un polimorfismo, la mutación no se encontró en ninguno de estos controles, esto aunado al hecho de que el aminoácido cisteína en la posición 558 está altamente preservado filogenéticamente, nos permite establecer que es una mutación causal de la enfermedad y no un polimorfismo o variante normal. Este hallazgo le da aún mayor relevancia al estudio realizado en nuestro paciente ya que se corroboró la presencia de una mutación previamente no descrita en el gen *GAA* localizada en el exón 12. Para definir con certeza el efecto que condiciona este cambio en la proteína así como en el fenotipo se requieren de otros estudios en un futuro.

Con la evidencia de 2 mutaciones en el gen *GAA* en el paciente, era altamente probable que cada una de ellas derivara de uno de los progenitores, sin embargo, se tenía que confirmar este dato mediante el estudio en la familia, en la cual se corroboró que las mutaciones observadas en el paciente se transmitieron de acuerdo a una herencia autosómica recesiva,

siendo él heterocigoto compuesto (los dos alelos del gen *GAA* mutados pero con mutaciones diferentes, cada mutación heredada a través de un progenitor portador clínicamente sano).

Una vez confirmado el diagnóstico mediante el estudio enzimático y molecular, era importante analizar porque con los estudios de gabinete previamente realizados en nuestro caso no se había llegado al diagnóstico de Pompe; en la revaloración que se hizo en la biopsia de cuádriceps, se encontraron hallazgos que coinciden con lo descrito en la literatura como son la presencia de vacuolas (lisosomas con exceso glucógeno) así como la presencia de material PAS positivo contenido en las vacuolas de fibras musculares afectadas (5). Estos cambios se describen como eventos iniciales en los cuales todavía no hay un depósito masivo de glucógeno en el citoplasma así como tampoco la presencia de autofagosomas o destrucción del tejido muscular (5).

Los hallazgos antes mencionados se identificaron en nuestro caso al realizar la tinción de PAS, la cual no se había llevado al cabo de manera inicial en la biopsia del paciente, lo que corrobora que en una biopsia muscular ante la sospecha de Glucogenosis tipo II es importante contar no sólo con la descripción de los hallazgos con Hematoxilina y Eosina sino obligatoriamente con la tinción con PAS que permite detectar la acumulación de glucógeno. Es importante mencionar que hasta en un 25% de pacientes con enfermedad de Pompe se han reportado biopsias musculares sin evidencia de depósitos de glucógeno por lo tanto una biopsia normal no descarta el diagnóstico de enfermedad de Pompe de inicio tardío (18).

Al paciente se le hicieron valoraciones por el servicio de Cardiología tanto antes como después del diagnóstico definitivo. El paciente presenta datos de cardiomiopatía hipertrófica leve. En la enfermedad de Pompe de inicio tardío se menciona que en ocasiones puede haber cierta afectación desde la infancia con hipertrofia cardiaca pero no es lo característico y por otro lado también se menciona que estudios como radiografía de tórax, electrocardiograma o bien ecocardiograma resultan menos útiles para apoyo diagnóstico en comparación con la forma infantil ya que generalmente en la variedad de inicio tardío no se encuentran alteraciones cardiacas tan evidentes (2, 3, 4, 9).

El paciente actualmente no se encuentra bajo ningún tipo de tratamiento por parte del servicio de cardiología. Sin embargo los pacientes con enfermedad de Pompe de inicio tardío requieren de un seguimiento anual con la realización de ecocardiogramas y electrocardiogramas periódicos (9). Por los datos de cardiomiopatía hipertrófica leve que presenta nuestro paciente, el seguimiento antes mencionado es de extrema importancia para valorar si hay un mayor crecimiento cardíaco así como alteraciones en el ritmo que pudieran requerir un tratamiento médico específico.

Con relación a Neumología, el paciente cursa con sintomatología que coincide con los datos de patología pulmonar descritos en los pacientes con enfermedad de Pompe de inicio tardío como lo son disnea de medianos esfuerzos y apneas del sueño (4, 9). Las pruebas de función pulmonar generalmente en estos pacientes cursan con alteraciones (2). Nuestro paciente mostró desde las pruebas iniciales un patrón restrictivo leve. Por otro lado, también se reporta que estos pacientes cursan con una disminución en la capacidad vital forzada sobre todo en posición supina por la afectación diafragmática que provoca esta patología (2). En las últimas pruebas de función pulmonar realizadas a nuestro paciente se reporta una disminución de la capacidad vital forzada de un 28.6%, por lo que se está valorando el apoyo de asistencia ventilatoria en la noche como describe la literatura, en donde se ha reportado que hasta un 37% de los pacientes requieren de algún tipo de soporte ventilatorio ya sea no invasivo o bien invasivo y que todos estos pacientes de manera invariable han requerido de soporte ventilatorio por las noches. Se ha determinado que la edad media para asistencia ventilatoria es de 56.7 +- 13.2 años (rango de 32-81 años de edad) y para el uso de ventilación artificial es de 48.6 +- 16.3 años (rango de 15-78 años de edad) (12).

Nuestro paciente sólo ha cursado con un cuadro infeccioso pulmonar que requirió 24 hrs. de estancia intrahospitalaria y que no condicionó insuficiencia respiratoria en ningún momento. Este evento infeccioso lo favoreció la patología de base ya que en pacientes con enfermedad de Pompe, la frecuencia de infecciones de vías respiratorias bajas es mayor y, a diferencia de nuestro paciente, en muchas ocasiones un evento de esta naturaleza condiciona la necesidad de apoyo ventilatorio (4, 9).

El paciente fue ampliamente conocido y estudiado por el servicio de gastroenterología del INP por la presencia de un cuadro de diarrea crónica así como de dolor abdominal

intermitente. Tras un abordaje exhaustivo no se encontró una causa aparente de este trastorno por lo que consideramos como causa probable de estos cuadros la miopatía de base con la que cursa el paciente, en donde probablemente el depósito de glucógeno en el músculo liso del tracto gastrointestinal condicione las manifestaciones clínicas. Sin embargo las biopsias tomadas de diversas porciones del tracto gastrointestinal no mostraron depósitos de glucógeno y por lo tanto no fueron concluyentes para corroborar lo anterior. Cabe mencionar que en la literatura revisada para la realización de este trabajo no se reporta que los pacientes con enfermedad de Pompe de inicio tardío, tengan como manifestación diarrea (4,9,12), sin embargo, dado que no se encontraron otras posibles causas de la misma, como se mencionó, consideramos que es muy probable que esta manifestación se deba a la patología de base.

Nuestro paciente fue atendido en el INP por 5 años previo a establecer un diagnóstico etiológico; se describe que el tiempo en el que se establece el diagnóstico de enfermedad de Pompe de inicio tardío puede tardar años ya que en muchas ocasiones las manifestaciones clínicas suelen ser muy sutiles durante la infancia y pueden pasar desapercibidas de manera inicial. La literatura establece que en un 20% de los pacientes con enfermedad de Pompe de inicio tardío el diagnóstico tomó de 1 a 5 años y en un 28% de los pacientes tomó de 5 a 30 años. Por los datos antes mencionados se considera actualmente que síntomas sugestivos de debilidad muscular aún siendo sutiles durante la infancia deben de recibir mayor importancia para evitar retrasos en el diagnóstico (12).

### **CONCLUSIONES**

Se describen las manifestaciones clínicas y los hallazgos moleculares en un paciente con enfermedad de Pompe tardío, se trata del primer paciente mexicano descrito con esta variedad ya que en la literatura no hay otros casos publicados que tengan este origen étnico. Nuestro trabajo muestra la importancia de considerar la enfermedad de Pompe de inicio tardío como un diagnóstico diferencial en aquellos pacientes que cursan con datos de una miopatía con afección de cinturas.

Se confirma que las biopsias musculares que se realizan como abordaje diagnóstico en pacientes con miopatía, deben incluir el mayor número de tinciones y estudios inmunohistoquímicos posibles dada la heterogeneidad etiológica de las miopatías, y en

particular cuando existe sospecha del diagnóstico de enfermedad de Pompe se debe contar con la tinción de PAS con lo cual se puede lograr un diagnóstico oportuno.

Se sugiere la determinación de actividad enzimática de GAA por medio de gotas de sangre seca en papel filtro en aquellos pacientes pediátricos con datos de miopatía proximal de etiología no determinada así como en aquellos casos en los cuales la biopsia muscular sea normal o bien inespecífica.

La realización de un oportuno y adecuado diagnóstico desde los primeros años de la infancia en estos pacientes no solo nos permite establecer una etiología sino también la posibilidad de una acción terapéutica específica ya que actualmente se cuenta con la terapia de reposición enzimática que puede ser útil en pacientes con la variedad de inicio tardío.



## **BIBLIOGRAFIA**

- 1) Baethmann M, Straub V, Reuser AJJ. Pompe disease. Editorial Uni Med Science, Europa. 2008: 1-100.
- 2) Kishnani PS. Steiner RD. Bali D .Berger K. Byrne BJ. Case LE. Crowley JF. Downs S. Howell RR. Kravitz RM. Mackey J. Marsden D. Martins AM. Millington DS. Nicolino M. O'Grady G. Patterson MC. Rapoport DM. Slonim A. Spencer CT. Tiffit CJ. Watson MC. Pompe disease diagnosis and management guideline. *Genet Med.* 2006; 8 (5): 267-288.
- 3) Kemper AR. Hwu WL. Lloyd-Puryear M. Kishnani PS. Newborn Screening for Pompe disease: Synthesis of the Evidence and Development of Screening Recommendations. *Pediatrics* 2007; 120 (5): 1327-1334.
- 4) Winkel LPF. Hagemans M.L.C. Van Doorn P.A. Loonen M.C.B. Hop W.J.C. Reuser A.J.J. Van der Ploeg A.T. The natural course of non-classic Pompe's disease; a review of 225 published cases. *J. Neurol* 2005; 252: 875-884.
- 5) Van der Ploeg A. Reuser A. Lysosomal Storage Disease 2. *Lancet* 2008; 372: 1342-1353.
- 6) Pereira S. Berditchevisky C. Marie S. Report of the first Brazilian infantile Pompe disease patient to be treated with recombinant human acid alpha-glucosidase. *J Pediatr (Rio J)*. 2008; 84 (3): 272-275.
- 7) Devlin T.M. Bioquímica. Libro de texto con aplicaciones clínicas. Editorial Reverté Colombiana S.A. 1998. Metabolismo glucídico I: Principales rutas metabólicas y su control. Tomo I. p. 329-410.
- 8) Cook AL. Kishnani PS. Carboni MP. Kanter RJ. Chen YT. Ansong AK. Kravitz RM. Rice H. Li JS. Ambulatory electrocardiogram analysis in infants treated with recombinant human acid  $\alpha$ -glucosidase enzyme replacement therapy for Pompe disease. *Genet Med.* 2006; 8 (5): 313-317.
- 9) Tinkle B. Leslie N. Glycogen Storage Disease Type II (Pompe disease). *Gene Reviews.* 2007; 1-20.
- 10) Howell RR. Byrne B. Darras BT. Kishnani P. Nicolino M. Van der Ploeg A. Diagnostic Challenges for Pompe disease: An under-recognized cause of floppy baby syndrome. *Genet Med.* 2006; 8 (5): 289-296.
- 11) Van den Hout H. Hop W. Van Diggelens O. Smeitink J. Smith G. Poll-The B. Bakker H. Loonen C. De Klerk J. Reusers A. Van der Ploeg A. The Natural Course of Infantile Pompe's Disease: 20 Original Cases Compared with 133 Cases From the Literature. *Pediatrics* 2003; 112 (2): 332-340.
- 12) Hagemans M. Winkel L. Van Doorn P. Hop W. Loonen M. Reuser A. Van der Ploeg A. Clinical manifestation and natural course of late-onset Pompe's disease in 54 Dutch patients. *Brain* 2005; 128: 671-677.
- 13) Zhang H. Kallwass H. Young SP. Carr C. Dai J. Kishnani PS. Millington DS. Keutzer J. Chen YT. Bali D. Comparison of maltose and acarbose as inhibitors of maltase-glucoamylase activity in assaying acid  $\alpha$ -glucosidase activity in dried blood spots for the diagnosis of infantile Pompe disease. *Genet Med.* 2006; 8 (5): 302-306.
- 14) Case LE. Kishnani PS. Physical therapy management of Pompe disease. *Genet Med.* 2006; 8 (5): 318-327.

- 15) Ansong AK, Li JS, Nozik-Grayck E, Ing R, Kravitz RM, Idriss SF, Kanter RJ, Rice H, Chen YT, Kishnani PS. Electrocardiographic response to enzyme replacement therapy for Pompe disease. *Genet Med.* 2006; 8 (5): 297-301.
- 16) Winkel L, Van den Hout J, Kamphoven J, Disseldorp J, Remmerswaal M, Arts W, Loonen M, Vulto A, Van Doorn P, De Jong G, Hop W, Smit G, Shapira S, Boer M, Van Diggelen O, Reuser A, Van der Ploeg A. Enzyme replacement therapy in late-onset Pompe's disease: A three-year follow up. *Ann Neurol* 2004; 55: 495-502.
- 17) Kross MA, Van der Kraan M, Van Diggelen OP, Kleijer WJ, Reuser AJ, Van den Boogaard MJ, Ausems MG, Ploos Van Amstel HK, Poenaru L, Nicolino M. Glycogen storage disease type II: frequency of three common mutant alleles and their associated clinical phenotypes studied in 121 patients. *J Med Genet.* 1995; 32 (10): 836-837.
- 18) Muller-Felber W, Horvath R, Gempel K, Podskarbi T, Shin Y, Pongratz D, Walter MC, Baethmann M, Schlotter-Weigel B, Lochmuller H, Schoser B. Late Onset Pompe disease: clinical and neurophysiological spectrum of 38 patients including long-term follow-up in 18 patients. *Neuromuscular Disord.* 2007; 17: 698-706.