



FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE COIMBRA

TRABALHO FINAL DO 6º ANO MÉDICO COM VISTA À ATRIBUIÇÃO DO GRAU DE MESTRE NO ÂMBITO DO CICLO DE ESTUDOS DE MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA

FILIPA LOUREIRO NEVES

DOENÇA DE POMPE JUVENIL
A PROPÓSITO DE QUATRO CASOS CLÍNICOS

ARTIGO CIENTÍFICO – CASO CLÍNICO

ÁREA CIENTÍFICA DE PEDIATRIA

TRABALHO REALIZADO SOB ORIENTAÇÃO DE:

PROF.^a DOUTORA LUÍSA DIOGO

DR.^a PAULA GARCIA

JANEIRO/2012

DOENÇA DE POMPE JUVENIL
A PROPÓSITO DE QUATRO CASOS CLÍNICOS



DOENÇA DE POMPE JUVENIL

A PROPÓSITO DE QUATRO CASOS CLÍNICOS

Filipa Loureiro Neves¹
Luísa Maria de Abreu Freire Diogo Matos^{1,2}
Paula Cristina Valente dos Santos Baptista Garcia Matos²

¹ Faculdade de Medicina, Universidade de Coimbra, Portugal

² Unidade de Doenças Metabólicas, Centro de Desenvolvimento Luís Borges,
Hospital Pediátrico Carmona da Mota - CHUC, Coimbra, Portugal

Contactos:

Hospital Pediátrico Carmona da Mota – CHUC
Av. Afonso Romão – Alto da Baleia, 3000-Coimbra
- filipalneves@hotmail.com
- ld@chc.min-saude.pt
- pg@chc.min-saude.pt

À Yolanda e à Ana Paula, duas
inspirações na luta do dia-a-dia, que
me têm mostrado que as barreiras
são para ultrapassar.

AGRADECIMENTOS

À Prof.^a Doutora Luísa Diogo, em especial, agradeço-lhe a confiança que em mim depositou para ser minha orientadora neste projecto. Também o incentivo e moldagem da minha ideia inicial e a orientação e ajuda em todas as etapas da concepção deste trabalho.

À Dr.^a Paula Garcia, agradeço ter-me “aberto a porta” quando lhe expus o que pretendia, bem como a revisão crítica deste trabalho.

Aos doentes e respectivas famílias, um agradecimento muito especial.

À Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra, personificada em todos quantos contribuíram para a minha formação académica e pessoal, agradeço este percurso que é o realizar de um sonho.

Finalmente, agradeço a todos os que de alguma maneira me apoiaram em especial à minha família e amigos, por terem estado sempre presentes.

ÍNDICE DE TEXTO

	Página
• ABREVIATURAS	7
• RESUMO	8
• INTRODUÇÃO	12
• CASOS CLÍNICOS	
○ Caso 1	15
○ Caso 2	18
○ Caso 3	20
○ Caso 4	23
○ Tabelas I e II	25
• DISCUSSÃO	26
• CONCLUSÃO	32
• BIBLIOGRAFIA	33

ABREVIATURAS

DP - Doença de Pompe

CK - Creatina cinase

GSD - Doença de Armazenamento de Glicogénio

GAA - Gene *glucosidase-alpha-acid*

CVF - Capacidade Vital Funcional

BiPAP - *Bi Level Positive Airway Pressure*

RESUMO

A doença de Pompe ou doença de armazenamento de glicogénio tipo II é uma doença genética, autossómica recessiva, por deficiência de maltase ácida. É uma entidade rara, com incidência estimada em 1/40.000. Embora se distingam três formas de apresentação (infantil, juvenil e do adulto), observa-se um espectro clínico nas manifestações desta doença. Desde Março de 2006, que em Portugal está comercializada uma terapêutica enzimática de substituição.

Foram estudadas retrospectivamente quatro doentes (duas irmãs). Em todas, a doença manifestou-se no segundo ano de vida. O tempo decorrido até ao diagnóstico variou entre dois e onze anos. Aquando do diagnóstico, todas apresentavam miopatia com atraso de aquisições motoras e em duas havia hipertrofia do ventrículo esquerdo. A suspeita clínica surgiu na sequência de insuficiência respiratória em contexto infeccioso em duas doentes, durante a qual foi valorizada a miopatia subjacente. Nas outras foi constatada a miopatia, associada à história familiar numa delas. A creatina cinase e as aminotransferases plasmáticas estavam elevadas em todos os casos. Todas evoluíram com insuficiência respiratória crónica por síndrome restritiva. O diagnóstico foi baseado na diminuição da actividade da maltase ácida em fibroblastos que se situou entre 0 e 1,5% do limite inferior do normal. Na biópsia muscular, realizada em três doentes, demonstrou-se acumulação lisossómica de glicogénio. Todas as doentes apresentavam a mutação c.1064T > C no exão 6 do gene *GAA* (*glucosidase-alpha-acid*), em homozigotia numa delas, associada às mutações c.1666A > G no exão 12 e c.2065G > A no exão 15 nas duas irmãs e à mutação c.380G > T no exão 2 na doente mais nova.

Todas iniciaram terapia enzimática de substituição logo que disponível, com boa tolerância. A mais jovem faleceu. As doentes sobreviventes mantêm medidas de suporte

ventilatório e fisioterapia, sendo que a mais velha se desloca em cadeira de rodas e a irmã mantém marcha independente. A doente mais nova faz marcha apoiada em andarilho.

Os nossos casos incluem-se clinicamente na forma juvenil da Doença de Pompe.

A doença de Pompe deve ser considerada nas miopatias progressivas, especialmente das cinturas e dos músculos respiratórios em qualquer idade e em pequenos lactentes com cardiomiopatia. A elevação da creatina cinase é um dado sensível, embora inespecífico. Dada a grande variabilidade dos achados genéticos, a demonstração da redução da actividade da maltase ácida (em leucócitos ou outros tecidos), continua a ser o pilar do diagnóstico desta doença rara.

PALAVRAS-CHAVE

- Glicogenose tipo II
- Doença de Pompe
- Doença lisossómica de sobrecarga
- Terapia de substituição enzimática
- Miopatia
- Idade pediátrica
- Forma juvenil

ABSTRACT

Pompe disease or glycogen storage disease type II is a genetic, autosomal recessive disorder due to deficiency of acid maltase. It is a rare disease, with an estimated incidence of 1 in 40,000. There are three forms of clinical presentation (infantile-onset, childhood-onset and adult-onset), although the disease presents as a *continuum* of clinical phenotypes. Enzyme replacement therapy is available in Portugal since 2006.

The clinical files of four patients (two sisters) were analyzed retrospectively. In all, disease presented in the second year of life and the time to diagnosis ranged from two to eleven years. At diagnosis, all presented myopathic features with a delay in some motor skills achievement and two had left ventricular hypertrophy. Clinical suspicion arose as the result of respiratory failure in the context of infection due to the underlying myopathy in two patients. In the other two, myopathy was the first sign. It was associated with a positive family history in one patient. Creatine kinase and aminotransferases were increased in all cases. All patients progressed to pulmonary restrictive syndrome with chronic respiratory failure. The diagnosis was based on the reduced activity of acid maltase in fibroblasts: 0 to 1.5% of the lower normal value. Muscle biopsy, performed in three patients, showed lysosomal glycogen accumulation. A c.1064T > C mutation in exon 6 of *GAA* (glucosidase-alpha-acid) gene was found in all patients, in homozygosity in one of them. In the sisters, it was associated to c.1666A > G and c.2065G > A mutations in exons 12 and 15, respectively and in the youngest patient, to c.380G > T mutation in exon 2.

All patients started enzyme replacement therapy as soon as it became available, with good tolerance. The youngest patient died. The surviving patients maintain ventilatory support measures and physiotherapy. The oldest patient is wheelchair ridden and her sister keeps independent walking. The youngest uses a walking aid.

Our cases are clinically included in the juvenile form of Pompe Disease.

Pompe disease should be suspected in progressive myopathies at any age, especially those involving limb-girdle and respiratory muscles and in small infants with cardiomyopathy. High creatine kinase is a sensitive, although nonspecific, marker. Given the great variability of the genetic findings, demonstration of reduced activity of acid maltase (in leukocytes or other tissues) remains the diagnosis cornerstone of this rare disorder.

KEY-WORDS

- Glycogenosis type II
- Pompe Disease
- Lysosomal storage disease
- Enzyme replacement therapy
- Miopathy
- Pediatric age
- Juvenile form

INTRODUÇÃO

A Doença de Pompe (DP) é uma doença genética causada por deficiência de maltase ácida. A maltase ácida, ou alfa-1,4-glicosidase ácida “*Angelini (2010)*”, é uma enzima lisossomal que catalisa a hidrólise das ligações alfa-1,4 e alfa-1,6 do glicogénio “*Darras et al.(2010)*”. Também designada doença de armazenamento de glicogénio (GSD) tipo II, a DP é simultaneamente uma glicogenose e uma doença lisossomal de sobrecarga “*Chien et al.(2009)*”.

Trata-se de uma doença de hereditariedade autossómica recessiva. Conhecem-se mais de 200 mutações patogénicas no gene *GAA*, localizado no cromossoma 17q25.2-q25.3 “*Darras et al.(2010)*”.

Distinguem-se na DP três formas clínicas de apresentação, havendo de um modo geral uma correlação inversa entre o nível de actividade enzimática residual e a gravidade clínica: formas infantil, juvenil e do adulto “*Nylan et al.(2005)*”.

Na forma infantil (GSD tipo IIa) as manifestações iniciam-se nos primeiros meses de vida e caracterizam-se por envolvimento cardíaco progressivo (miocardiopatia hipertrófica com cardiomegália maciça) e hipotonia generalizada. Pode associar-se a macroglossia, dificuldades alimentares e hepatomegália cardiogénica “*Nylan et al.(2005)*”. A morte, devida a falência cardio-respiratória, advém habitualmente no primeiro ou segundo ano de vida “*Thurberg et al.(2006)*”. Nestes doentes, a actividade enzimática é mínima ou completamente ausente, geralmente menor que 1% “*Forsha et al.(2011)*”. Nas formas juvenil (GSD tipo IIb) e do adulto (GSD tipo IIc) a gravidade clínica é muito variável “*van der Ploeg et al.(2010)*”. A actividade enzimática está variavelmente reduzida, sendo no entanto habitualmente inferior a 30% do normal “*Laforêt et al.(2012)*”. Estes doentes apresentam tipicamente uma miopatia de fraqueza mais marcada ao nível das cinturas escapular e pélvica, com afecção precoce do

diafragma e dos músculos intercostais, conduzindo a hipoventilação “*van der Ploeg et al.(2010)*”. Ao contrário da forma infantil, nestes doentes o envolvimento cardiovascular é pouco significativo (inferior a 10% dos casos) “*Forsha et al.(2011)*”. Na forma juvenil, a morte ocorre predominantemente por insuficiência respiratória durante as segunda ou terceira décadas de vida “*Darras et al.(2010)*”. Na forma adulta é mais difícil prever a morbilidade e a esperança de vida. Estas dependerão da idade de aparecimento dos sintomas e da sua gravidade.

A DP é uma doença rara. Estima-se que a sua incidência seja de 1/40.000 nascimentos, com 1/138.000 para a doença infantil clássica e 1/57.000 para as formas tardias “*Darras et al.(2010)*”.

O diagnóstico deve ser suspeitado em pequenos lactentes com hipotonia profunda e insuficiência cardíaca “*Chien et al.(2009)*” ou em crianças mais velhas e adultos com miopatia das cinturas, sendo que é muito sugestivo o envolvimento dos músculos cervicais e do diafragma. A creatina cinase (CK) encontra-se tipicamente elevada em todas as formas da doença, mas em alguns doentes mais velhos pode estar normal “*Desnuelle et al.(2011)*”. A histologia do músculo mostra alterações miopáticas em todos os casos, com acumulação de glicogénio dentro e fora dos lisossomas nas crianças e em dois terços dos adultos “*Laforêt et al.(2012)*”.

O diagnóstico de certeza obtém-se demonstrando o défice de actividade da maltase ácida em fibroblastos em cultura, leucócitos ou músculo “*Hagemans et al.(2010)*”.

É possível oferecer diagnóstico pré-natal às famílias destes doentes. O rastreio neonatal é exequível por doseamento enzimático em sangue colhido em cartão “*Laforêt et al.(2012)*”.

Desde 2006 existe terapêutica enzimática de substituição com alfa-glicosidase recombinante humana “*Schoaser (2008)*”.

Neste estudo será feita a análise retrospectiva dos processos clínicos dos doentes com DP seguidos no Hospital Pediátrico Carmona da Mota nos últimos dez anos.

Embora se trate de uma doença de baixa incidência, a possibilidade de diagnóstico precoce (mesmo pré-natal) e de tratamento específico (cujo resultado será expectavelmente tanto melhor quanto mais cedo for instituído), torna relevante o aprofundar do conhecimento da DP e a sua divulgação entre a classe médica. Este é o objectivo do presente estudo.

CASOS CLÍNICOS

Caso 1:

Y.S., nascida em 1988, raça caucasiana, é a primeira filha de pais jovens, portugueses, saudáveis e não consanguíneos. Iniciou marcha autónoma pelos 11 meses de idade mas apresentava algumas dificuldades motoras, nomeadamente nunca ter conseguido saltar a pés juntos. Cerca dos 10 anos, uma escoliose dorsal alta, associada a retracção bilateral do tendão de Aquiles e dificuldade no apoio plantígrado com quedas frequentes, levou a consultar um ortopedista. Sempre fora considerada uma criança saudável, com crescimento estaturoponderal e desenvolvimento psicomotor/ intelectual normais.

Aos 13 anos, foi internada no nosso hospital por insuficiência cárdio-respiratória no decurso de pneumonia bacteriana, tendo necessitado de ventilação invasiva.

No internamento foi suspeitada miopatia por apresentar atrofia muscular generalizada com diminuição da força muscular, de predomínio nas cinturas, região cervical e músculos intercostais, e abolição dos reflexos osteotendinosos. Foram ainda constatados hiperlordose lombar, omoplatas *alatas*, diminuição do diâmetro ântero-posterior do tórax, hipertrofia dos gêmeos, retracção bilateral do tendão de Aquiles e pé cavo. O sinal de Gowers era positivo. Tinha um fenótipo longilíneo, com peso e estatura abaixo do percentil 5.

Na ecocardiografia foram identificados aumento do calibre da veia cava inferior, hipertrofia concêntrica do ventrículo esquerdo, alterações do septo inter-ventricular e pequeno derrame pericárdico. A avaliação laboratorial evidenciou aumento das enzimas de citólise muscular (Tabela I), com ionograma, função glomerular renal e proteína C reactiva normais.

A biópsia do músculo deltóide esquerdo mostrou acumulação de glicogénio que a microscopia electrónica provou estar rodeado de unidades de membrana. O doseamento da

maltase ácida em fibroblastos da pele em cultura confirmou o diagnóstico de DP (Tabela II). O estudo do gene *GAA* permitiu detectar a presença de três mutações em heterozigotia (Tabela II).

Tem evoluído com atrofia muscular progressiva, grave cifoescoliose e insuficiência respiratória crónica por síndrome restritiva (Capacidade Vital Funcional- CVF- de 15.6%). Está sob ventilação não invasiva nocturna com *Bi Level Positive Airway Pressure (BiPAP)* no domicílio desde o diagnóstico, recrutamento alveolar com insuflador-autoinsuflável e *cough-assist* regularmente. Faz fisioterapia e há sete anos foi a primeira doente portuguesa a iniciar terapia enzimática (em uso compassivo) em ciclos quinzenais, que mantém.

Não repetiu infecções respiratórias com necessidade de internamento. Ao longo da evolução agravou-se o défice motor com perda da capacidade de marcha pelos 20 anos.

Aos 24 anos é estudante universitária. Apresenta dificuldades na área da autonomia e socialização (Escala do Comportamento Adaptativo de Vineland). Desloca-se em cadeira de rodas eléctrica (Figura 1). Apresenta peso abaixo do percentil 5 (percentil 50 dos 10 anos) e estatura no percentil 50. Mantém ausência de compromisso cardíaco, tendo a última ecocardiografia evidenciado função normal.



Figura 1 – Doente 1 em cadeira de rodas. Note-se a atrofia muscular e magreza acentuadas.

Fotografias de 11 de Março de 2012 (cedidas por Y.S.).

Caso 2:

A.S., nascida em 1990, raça caucasiana, é irmã de Y.S. A DP foi-lhe diagnosticada aos 11 anos na sequência do diagnóstico na irmã mais velha. Foi sempre considerada saudável, com crescimento e desenvolvimento psicomotor/ intelectual normais. Embora tivesse iniciado a marcha pelos 11 meses, retrospectivamente foram reconhecidos alguns problemas motores “desde cedo”, traduzidos em dificuldade em subir/ descer escadas e na corrida.

Apresentava um fenótipo semelhante ao da irmã, com fraqueza e atrofia muscular das cinturas e região cervical, ausência de reflexos osteotendinosos, sinal de Gowers positivo, hipertrofia dos gêmeos, incapacidade para marcha em calcanhares, com marcha em bicos dos pés por encurtamento do tendão de Aquiles. O peso situava-se no percentil 25 e a estatura no percentil 50. A ecocardiografia revelou sinais de hipertensão pulmonar moderada. O electrocardiograma era normal. A avaliação laboratorial evidenciou aumento das enzimas de citólise muscular (Tabela I).

O doseamento da maltase ácida, feito em fibroblastos e em leucócitos, mostrou valores compatíveis com o diagnóstico de DP (Tabela II).

Em termos genéticos, A. S. é portadora das mesmas mutações no gene *GAA* que a irmã (Tabela II).

Apresenta insuficiência respiratória crónica com síndrome restritiva (CFV 27.2%). Faz ventilação não invasiva nocturna (BiPAP) no domicílio desde 2002, associada a recrutamento alveolar com insuflador-autoinsuflável e *cough-assist* regularmente. Faz fisioterapia e, desde há seis anos, terapia enzimática de substituição intravenosa em ciclos quinzenais.

Nunca necessitou de internamento hospitalar por doença respiratória ou outra. Actualmente com 21 anos (Figura 2), mantém peso e estatura adequados à idade, marcha

autónoma, independência em todas as actividades da vida diária, terminou o 12º ano e obteve licença de condução automóvel.



Figura 2 – Doente 2, ambulatória, com atrofia muscular menos acentuada que a da doente 1.

Fotografias de 11 de Março de 2012 (cedidas por A.S.)

Caso 3:

F.R., nascida em 1998, raça caucasiana, é a segunda filha de pais jovens, portugueses, saudáveis e não consanguíneos. Fruto de quarta gesta, segunda para, com história de dois abortos espontâneos. Não se conhecem doenças heredo-familiares. Preocupou a partir do segundo ano de vida por ter sido notado algum atraso nas aquisições motoras, na altura atribuído à prematuridade, com sentar sem apoio pelos 9 meses e marcha autónoma aos 20 meses, apesar de crescimento estaturoponderal e desenvolvimento intelectual normais. Aos 4 anos foi investigada por suspeita de miopatia. A ecografia cardíaca e o electrocardiograma não mostraram alterações. A avaliação laboratorial evidenciou aumento das enzimas de citólise muscular (Tabela I). Foi submetida a biópsia muscular, cuja histologia mostrou presença de numerosas fibras vacuolizadas contendo glicogénio, tendo sido confirmado por microscopia electrónica estar aquele rodeado por unidades de membrana. A avaliação funcional da cadeia respiratória mitocondrial em músculo foi normal, não tendo sido constatadas alterações mitocondriais em microscopia electrónica. O doseamento de maltase ácida em leucócitos e em fibroblastos foi compatível com o diagnóstico de DP, confirmado pelo estudo do gene *GAA* (Tabela II).

Teve vários episódios de infecção respiratória sem necessidade de internamento até 2004, quando, por pneumonia e atelectasia com dispneia importante, necessitou de ventilação invasiva. Em 2005 sofreu um acidente de viação, com fractura diafisária do fémur e da mandíbula direitos, que condicionou internamento hospitalar. Teve mais cinco internamentos por infecções respiratórias, o último em 2008.

Por insuficiência respiratória crónica com síndrome restritiva (CVF 24%), faz ventilação não invasiva no domicílio (BiPAP), *cough-assist* e recrutamento alveolar com

insuflador-autoinsuflável. Iniciou terapia enzimática de substituição intravenosa há seis anos, com boa tolerância e faz fisioterapia.

Actualmente com 14 anos, frequenta irregularmente o 8º ano de escolaridade com algumas dificuldades que têm sido atribuídas ao grande absentismo escolar. Avaliada pela Escala de Comportamento Adaptativo de Vineland foram identificadas dificuldades ligeiras em todas as áreas, com evolução positiva. O quociente de inteligência, avaliado pela escala Wechsler Intelligence Scale for Children (WISC) III mostrou valores de 64 (escala completa), 79 (realização) e 59 (verbal). Apresenta face alongada, atrofia muscular generalizada com diminuição da força muscular, reflexos osteotendinosos abolidos, cifoescoliose grave e pés *cavus*. Tem atraso de crescimento, com peso e estatura nos percentis 50 dos 9,5 e dos 11,5 anos, respectivamente e cifoescoliose muito acentuada (Figura 3). Desloca-se com a ajuda de andarilho. A última ecocardiografia mostrou ligeira hipertrofia do septo inter-ventricular e sinais de hipertensão pulmonar moderada.



Figura 3 – Radiografia da coluna realizada em carga, incidências frente e perfil, da doente 3, de Setembro de 2009, nas quais é notória cifoesciose muito acentuada.

Caso 4:

E.M, raça caucasiana, nasceu em 2001 e faleceu inesperadamente no domicílio aos 5 anos de idade. Foi a primeira filha de pais jovens, portugueses, saudáveis e não consanguíneos. Descrita aos 12 meses como tendo fácies miopático e atraso de crescimento, com peso e estatura abaixo do percentil 5 desde os 3 meses de idade. Iniciou a marcha pelos 20 meses de idade, altura em que foi referido ser “mais parada e com menos força” que as outras crianças da mesma idade. Aos 4 anos não corria e tinha dificuldade em subir escadas. Quando foi internada pela primeira vez apresentava pneumonia bacteriana, atelectasia e derrame pulmonar com insuficiência cárdio-respiratória, hepatomegália e necessidade de ventilação invasiva. Para além do fácies “miopático”, tinha tendência à hiperextensão do tronco, dificuldade na dorsiflexão dos pés, pobreza das massas musculares e reflexos osteotendinosos não despertáveis.

A ecocardiografia revelou hipertrofia concêntrica do ventrículo esquerdo, sem hipertensão pulmonar. A avaliação laboratorial evidenciou aumento das enzimas de citólise muscular (Tabela I).

O doseamento de maltase ácida em leucócitos mostrou valores baixos, próximos do limite inferior do normal (Tabela II).

O estudo de amostra de músculo deltóide em microscopia óptica revelou a presença de múltiplos vacúolos contendo glicogénio e alterações mitocondriais, com aumento da actividade oxidativa em algumas fibras. Na microscopia electrónica demonstrou-se acentuado aumento do glicogénio, localizado em vacúolos rodeados por unidade de membrana e também livre no sarcoplasma das fibras, bem como aumento das mitocôndrias, com alteração das cristas. Na biopsia hepática foi detectado aumento difuso do glicogénio, com microesteatose ligeira. O estudo da actividade enzimática da cadeia respiratória mitocondrial em

homogeneizado de músculo foi normal. Havia déficit do complexo IV (25% da média corrigida para a citrato sintase) no homogeneizado de fígado.

A actividade da maltase ácida em fibroblastos era 1,5% do limite inferior do normal (Tabela II). O estudo do gene *GAA* identificou duas mutações em heterozigotia (Tabela II).

Teve mais três internamentos por insuficiência respiratória, em contexto infeccioso.

Iniciou terapia enzimática de substituição intravenosa em 2006, aos 5 anos, tendo completado cinco ciclos de tratamento. Por insuficiência respiratória crónica, fazia ventilação não invasiva nocturna (*BiPAP*) e *cough-assist* diariamente no domicílio, onde faleceu, inesperadamente, aos 5 anos e 4 meses.

Tabela I – Idade diagnóstico e achados laboratoriais.

	Caso 1	Caso 2	Caso 3	Caso 4
Idade actual (anos) ^a	24	21	14	5
Idade de diagnóstico (anos) ^o	13	11	4	4
Tempo até ao diagnóstico (anos)	11	9	2	2
CK ao diagnóstico (v.r. < 250 U/L)	604	860	972	378
Aminotransferases ao diagnóstico				
TGO (v.r. < 50 U/L)	207	261	235	302
TGP (v.r. < 40 U/L)	248	223	222	191

^a No caso 4, refere-se à idade em que faleceu (2006).

^o Nos casos 1 e 2 é difícil situar no tempo as dificuldades motoras, que, retrospectivamente reconhecidas, nunca foram motivo de consulta médica ou tratamento. Assumiu-se o atraso motor com início pelos 2 anos de idade, uma vez que a idade de aquisição de marcha autónoma foi normal em ambos os casos.

Tabela II – Diagnóstico enzimático e genético.

	Maltase ácida ao diagnóstico Fibroblastos (v.r. 170-515 nmol/h/mg) Leucócitos (v.r. 68-148 nmol/h/mg)	Estudo do gene <i>GAA</i> - mutações
Caso 1	Fibroblastos – 1,2	Exão 6 – [c.1064T > C; p.L355P] Exão 12 – [c. 1666A > G; p.T556A] Exão 15 – [c. 2065G > A; p.E689 K]
Caso 2	Fibroblastos – 0,3 Leucócitos – 8,8	
Caso 3	Fibroblastos – 0 Leucócitos – 5	Exão 6 – [c.1064T > C; p.L355P] Homozigotia
Caso 4	Fibroblastos – 2,6 Leucócitos – 63	Exão 2 - [c.380G > T, p.C127F] - mãe Exão 6 - [c.1064T > C, p.L355P] - pai

DISCUSSÃO

A DP é uma doença rara, com uma incidência entre 1/14.000 e 1/300.000, consoante a etnia e a região geográfica “*Hirschhorn et al.(2001)*”.

Em Portugal não há dados oficiais sobre a sua incidência. Num estudo português (entre 1982 e 2001), a incidência da doença lisossómica, nos quais se inclui a DP, foi calculada em 1/4000 “*Pinto et al.(2004)*”. Com base nesse estudo (10 sujeitos com DP em 353 casos de doença lisossómica), pode assumir-se uma incidência de 1/140.000 para a DP em Portugal.

A DP manifesta-se por um largo espectro clínico, em termos de idade de início, extensão do envolvimento orgânico, grau de miopatia e ritmo de progressão da doença “*Kishnani et al.(2006)*”. A distinção nas três formas de apresentação clínica anteriormente descritas é por vezes difícil. Em regra, o início mais tardio dos sintomas associa-se a quadros clínicos menos graves “*Baethmann (2008)*”.

As doentes em discussão podem incluir-se na forma juvenil da doença (GSD tipo IIb). Aquando do diagnóstico todas apresentavam sinais e sintomas de miopatia com atraso de algumas aquisições motoras. Em duas (casos 1 e 4) havia hipertrofia miocárdica na altura do diagnóstico, o que não é típico do tipo IIb. Quando surge miocardiopatia nesta forma da DP, ela é caracteristicamente pouco acentuada “*Forsha et al.(2011)*”. O significado prognóstico dos achados cardíacos nas duas doentes foi distinto, uma vez que o caso 1 sobreviveu, ao contrário do caso 4. No caso 1 pode ter sido secundária a hipertensão pulmonar agravada, decorrente do processo infeccioso com necessidade de ventilação assistida, uma vez que foi reversível.

Na forma infantil clássica da DP a apresentação clínica é aguda e de gravidade acentuada. Pelo contrário, nas formas tardias, de evolução crónica, há habitualmente atraso

diagnóstico significativo, podendo mesmo ser atribuídas a outras causas durante anos “*Straub (2008)*”. O atraso de diagnóstico foi calculado em 2 anos nas doentes 3 e 4. Nas irmãs, a sintomatologia foi mais insidiosa, traduzida por dificuldades motoras desde o segundo ano de vida e só retrospectivamente valorizadas. O diagnóstico de DP fez-se apenas na segunda década de vida, na sequência de falência ventilatória aguda na irmã mais velha.

A DP caracteriza-se pela acumulação de glicogénio nos tecidos, sobretudo no músculo esquelético, miocárdio e músculo liso “*Forsha et al.(2011)*”. Nas formas mais tardias é o envolvimento muscular esquelético que domina o quadro clínico, tal como se verificou nas doentes em discussão, que apresentaram dificuldades ou atraso de desenvolvimento motor muito antes do diagnóstico e miopatia franca de predomínio nas cinturas com hipertrofia dos gêmeos, tal como registado nos casos 1 e 2. O compromisso dos membros inferiores é habitualmente mais notório do que o dos superiores, o que foi manifesto nas irmãs, que apresentaram dificuldades na marcha.

Em duas doentes (1 e 4) a suspeita clínica surgiu aquando de infecção respiratória, durante a qual foi valorizada a miopatia subjacente. Nas outras (2 e 3) foi a constatação da miopatia, associada à história familiar na doente 2, que conduziu ao diagnóstico.

O atraso de crescimento, característico da forma infantil clássica da DP, está também frequentemente presente na criança com DP “*Baethmann (2008)*”. Nas doentes 1 e 4 havia atraso de crescimento ponderal e estatural, o que associado à miocardiopatia presente aquando do diagnóstico as aproximava mais da forma infantil clássica. No entanto, a gravidade do quadro clínico era muito maior na doente 4, tendo as alterações cardíacas regredido na primeira, como já referido. A morte inesperada da doente 4 poderia ser explicada por eventual arritmia cardíaca no contexto da miocardiopatia “*Tabarki et al.(2002)*”.

À miopatia associou-se insuficiência respiratória crónica com síndrome restritiva em todas as doentes analisadas, como é típico na DP. O envolvimento diafragmático é

característico das formas de início tardio da DP “*Mellies et al.(2008)*”. As novas técnicas de apoio ventilatório no domicílio vieram, a par com a terapia de substituição enzimática, melhorar substancialmente o prognóstico e a qualidade de vida destes doentes.

O quadro clínico da DP pode confundir-se com o de outras doenças neuromusculares. No caso particular das formas infantis tardias ou juvenis, que habitualmente cursam sem miocardiopatia, tal como se verificou nas doentes 2 e 3, são as distrofias musculares, a miastenia gravis, as miopatias inflamatórias e outras miopatias metabólicas como as mitocondriais, entre outras, que colocam problemas de diagnóstico diferencial. O aspecto hipertrófico dos gémeos, evidenciado nas doentes 1 e 2, associado ao aumento da CK, pode, no sexo masculino, sugerir distrofia muscular de Duchenne/ Becker. Nestas, os valores de CK são habitualmente muito mais elevados. Outro diagnóstico diferencial que se pode revelar difícil é a doença de Danon (défice de LAMP2), que cursa igualmente com acumulação lisossómica de glicogénio e miocardiopatia. Na doente 4, o quadro clínico levou a que fosse considerada a doença mitocondrial. Os valores de maltase ácida leucocitária quase normais e o estado crítico na apresentação levaram à realização das biopsias. As alterações mitocondriais identificadas, secundárias, podem ter contribuído para a evolução fatal nesta doente “*Thorburn et al.(2004)*”.

Na DP infantil ou juvenil a elevação da CK plasmática é tão típica que a sua normalidade exclui virtualmente o diagnóstico “*Desnuelle et al.(2011)*”. Embora muito sensível, o aumento da CK é inespecífico. A elevação é habitualmente moderada, tal como se verificou nas nossas doentes, que apresentaram igualmente aumento das aminotransferases. A detecção de hipertransaminasémia, sem que seja avaliada a CK pode levar a falsos diagnósticos de hepatite perante quadros de miopatia frustrada “*Straub et al.(2008)*”.

A demonstração de diminuição significativa da actividade da maltase ácida, em leucócitos, músculo ou fibroblastos, é o parâmetro de maior valor diagnóstico na DP. A

determinação em leucócitos era até há alguns anos pouco fidedigna, já que a actividade de maltases neutras inflacionava os resultados “*Winkel et al.(2005)*”. Os valores próximos do limite inferior do normal na doente 4 levaram à consideração de outros diagnósticos, como a citopatia mitocondrial. Os métodos actuais usam inibidores das maltases interferentes e tornaram possível o diagnóstico em leucócitos “*Okumiya (2005)*” e em sangue em cartão “*Chamoles (2004)*”.

A cultura de fibroblastos da pele é mais demorada e dispendiosa do que a obtenção de leucócitos. Embora menos invasiva do que a biópsia muscular, esta tem a vantagem de permitir o doseamento enzimático directo e a avaliação histológica. Em todas as nossas doentes foi avaliada a maltase ácida em fibroblastos. Aquela actividade correlacionou-se bem com a determinada em leucócitos em apenas 2 de 3 doentes.

Existe habitualmente uma correlação inversa entre a gravidade da doença e os níveis de actividade enzimática “*Nylan et al.(2005)*”, que são habitualmente de 1 a 10% nas formas infantis tardias/ juvenis, inferiores a 1% na infantil clássica e de 5 a 30% na do adulto “*Chen et al.(2000)*”. Nas nossas doentes essa correlação não foi muito evidente, com o caso 4, o mais grave, a apresentar a actividade mais elevada. Por outro lado os casos 2 e 3, sem miocardiopatia, tinham actividades próximas de zero, típicas da forma infantil clássica.

A biópsia muscular, que na grande maioria dos doentes de Pompe, mostra acumulação de glicogénio dentro dos lisossomas e disperso no citoplasma, não é indispensável para o diagnóstico “*Darras et al.(2010)*”. Foi realizada em 3 das 4 doentes em discussão, tendo sido constatadas as alterações histológicas típicas em todas. Não foi feita na doente 2, cujo diagnóstico, dada a história familiar, foi facilmente evocado.

A biópsia muscular permite fazer o diagnóstico diferencial com outras miopatias. Em duas das três doentes submetidas a biópsia foi feito o estudo funcional mitocondrial, que foi normal. Curiosamente, na doente 4 havia alterações histológicas sugestivas de doença

mitocondrial, tendo sido aliás demonstrado um défice *minor* do complexo IV no fígado. A identificação de doença mitocondrial no caso 4, mas não no 1, poderá explicar a diferença de gravidade clínica, contrária ao que apontariam os níveis de maltase ácida, mais elevados no caso 4.

A acumulação de glicogénio constatada no fígado da doente 4 comprova o carácter multissistémico da DP “*Schooser et al.(2008)*”.

A análise mutacional na DP tem revelado grande heterogeneidade de alterações, que variam com o grupo populacional e a forma de apresentação da doença. São actualmente conhecidas mais de uma centena de mutações patogénicas e numerosos polimorfismos no gene *GAA* (<http://www.pompecenter.nl>).

O diagnóstico genético não é indispensável nos casos em que a actividade enzimática está substancialmente reduzida. No entanto, quando é possível consegui-lo, pode ser relevante nos casos de apresentação tardia com elevada actividade residual, em que é difícil a distinção com o estado de heterozigotia. A identificação de mutações patogénicas num caso índice é importante para a detecção de familiares doentes ou portadores e ainda para o eventual diagnóstico pré-natal. Assim, na família da doente 4, primeiro e único filho daquele casal, a identificação do estado de portador dos progenitores permitiu o adequado aconselhamento genético.

O estudo genético efectuado às quatro doentes em discussão revelou em todas a presença da mutação [c.1064T > C; p.L355P] no exão 6, em homozigotia numa delas (doente 3). Esta mutação é descrita como potencialmente menos grave “*Montalvo et al.(2004)*”. As duas irmãs apresentam também uma alteração da sequência no exão 15 descrita como não patogénica e associada a pseudodeficiência “*Kroos et al.(2008)*” e uma mutação no exão 12 ainda não descrita na literatura. A doente 4 tinha, além da mutação patogénica encontrada nas

outras doentes, uma mutação no exão 2 que não consta da literatura consultada. Estes dados confirmam a grande diversidade genética da DP.

Até 2005 o tratamento da DP limitava-se a medidas de suporte que não alteravam a história natural da doença “*Pereira et al.(2008)*”. Essas medidas continuam a ser muito importantes no tratamento destes doentes “*Kishnani et al.(2006)*”. As doentes em discussão fazem apoio ventilatório no domicílio que, a par do efeito da terapia de substituição enzimática, lhes tem permitido manter-se livres de infecções respiratórias e internamentos hospitalares.

A introdução da terapia de substituição com a alfa-glicosidase recombinante humana alterou o prognóstico da doença, prolongando a sobrevida e reduzindo a morbilidade, tanto mais, quanto mais cedo iniciada “*Schooser et al.(2008)*”. No caso das quatro doentes, este tratamento não se encontrava disponível aquando do diagnóstico, tendo sido introduzido logo que possível, com boa tolerância.

O prognóstico da DP é muito variável e está correlacionado com a idade de início dos sintomas, o que depende em grande medida da actividade enzimática residual, mas também de outros factores. Ilustrativo do carácter multifactorial do prognóstico na DP é o facto de a doente 4 com actividade enzimática mais elevada ter tido evolução fatal. Na doente 3 o valor de zero faria supor apresentação infantil com má evolução, o que não se verificou. No entanto, o seu fenótipo é mais grave do que o das irmãs, que apresentaram valores mais elevados.

Reconhecer precocemente a DP é um desafio, uma vez que a semiologia apresentada é heterogénea e partilhada com outras doenças “*Kishnani et al.(2006)*”. O diagnóstico precoce é essencial para otimizar a gestão do tratamento de substituição enzimática, já que a acumulação de glicogénio se inicia muito antes dos sinais clínicos. A sintomatologia surge quando é ultrapassado um limiar de acumulação de glicogénio lesivo para o funcionamento

das células e órgãos. O reconhecimento precoce poderá passar pela inclusão da DP nos programas de rastreio neonatal “*Chamoles et al.(2004)*”. Em Portugal aquele rastreio é do tipo “alargado” desde 2005 ” *Vilarinho et al.(2010)*”.

Nas doentes em estudo, em que em as manifestações de doença ocorreram em idade precoce, o rastreio neonatal teria diminuído a idade do diagnóstico, embora à data não houvesse ainda disponível o tratamento de substituição enzimática.

CONCLUSÃO

A DP deve ser considerada em casos com sinais e sintomas sugestivos de degeneração muscular progressiva, especialmente dos músculos das cinturas e respiratórios, bem como cardiomegália/ cardiomiopatia em pequenos lactentes. Apesar de se tratar de uma doença muito rara, apresenta impacto significativo, com alta morbilidade e mortalidade na forma infantil e elevada morbilidade nas formas mais tardias. A demonstração da redução da actividade da maltase ácida, que pode actualmente ser realizada em leucócitos ou mesmo em sangue em cartão, continua a ser o pilar do diagnóstico desta doença.

BIBLIOGRAFIA:

- Angelini C (2010) State of the art in muscle glycogenoses. *Acta Myologica* 24:339-342.

- Baethmann M (2008) Clinical Manifestations of Pompe Disease. In: *Pompe Disease* (Baethmann M, Straub V, Reuser A, eds.), p32-46. Bremen: UNI-MED.

- Chamoles NA, Niizawa G, Blanco M, Gaggioli D, Casentini C (2004) Glycogen storage disease type II: enzymatic screening in dried blood spots on filter paper. *Clin Chim Acta* 347:97-102.

- Chen YT, Amalfitano A. (2000) Towards a molecular therapy for glycogen storage disease type II (Pompe Disease). *Mol Med Today*. 6:245-51.

- Chien Y, Lee N, Thurberg BL, Chiang S, Zhang XK, Keutzer J, Huang A, Wu M, Huang P, Tsai F, Chen Y, Hwu W (2009) Pompe Disease in Infants: Improving the Prognosis by Newborn Screening and Early Treatment. *Pediatrics*, Vol 124, Issue 6. Disponível em: <http://pediatrics.aappublications.org/content/124/6/e1116.full.html>. Acesso em 27/01/12.

- Darras BT, Craigen WJ (2011) Lysosomal acid maltase deficiency (glycogen storage disease II, Pompe disease) UpToDate. Disponível em <<http://www.uptodate.com/contents/lysosomal-acid-maltase-deficiency-glycogen-storage-disease-ii-pompe-disease>>. Acesso em 10/11/2011.

- Desnuelle C, Salvíati L (2011) Challenges in diagnosis and treatment of late-onset Pompe disease. *Curr Opin Neurol* 24:443-448.

-
- Forsha D, Li JS, Smith PB, van der Ploeg AT, Kishnani P, Pasquali SK (2011) Cardiovascular Abnormalities in Late Onset Pompe Disease and Response to Enzyme Replacement Therapy *Genet Med.* 13(7): 625–631.
- Hagemans ML, Stigter RL, van Capelle CI, van der Beek NA, Winkel LP, van Vliet L, Hop WC, Reuser AJ, Beishuizen A, van der Ploeg AT (2010) PAS-positive lymphocyte vacuoles can be used as diagnostic screening test for Pompe disease. *J Inher Metab Dis* 33:133–139.
- Hirschhorn R, Reuser AJJ. (2001) Glycogen storage disease type II: acid alfa-glucosidase (acid maltase) deficiency. In: *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease.* (Beaudet A, Scriver C, Sly W et al. eds.) 3389-3420. New York: McGraw Hill.
- Kishnani PS, Steiner RD, Bali D, Berger K, MD, Byrne BJ, Case L, PT, 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, Tifft CJ, Watson MS (2006) Pompe disease diagnosis and management guideline. *Genet Med.* 8(5):267-88.
- Kroos MA, Mullaart RA, Van Vliet L, Pomponio RJ, Amartino H, Kolodny EH, Pastores GM, Wevers RA, Van der Ploeg AT, Halley DJ, Reuser AJ. (2008) p.[G576S; E689K]: pathogenic combination or polymorphism in Pompe disease?. *Eur J Hum Genet.* 16(8):875-9.
- Laforêt P, Weinstein DA, Peter G, Smith A (2012) The Glycogen Storage Diseases and Related Disorders (GSDs with Cardiac Involvement). In *Inborn Metabolic disease Diagnosis and Treatment* (Saudubray JM, van den Berghe G, Walter JH eds.) p130-132. Berlin: Springer Medizin.

-
- Mellies U (2008) Respiratory Insufficiency in Pompe Disease. In: Pompe Disease (Baethmann M, Straub V, Reuser A, eds.), p74-79. Bremen: UNI-MED.

 - Montalvo AL, Cariati R, Deganuto M, Guerci V, Garcia R, Ciana G, Bembi B, Pittis MG. (2004) Glycogenosis type II: identification and expression of three novel mutations in the acid alpha-glucosidase gene causing the infantile form of the disease. *Mol Genet Metab.* 81(3):203-8.

 - Nylan WL, Barshop BA, Ozand PT (2005) Glycogenosis type II/ Pompe/ Lysosomal α -glucosidase deficiency. In *Atlas of Metabolic Disease*, 2nd edition (Nylan WL, Barshop BA, Ozand PT) p341-346. London: Chapman & Hall.

 - Okumiya T, Keulemans JL, Kroos Ma, Van der Beek NM, Boer MA, Takeuchi H, Van Diggelen OP, Reuser AJ. (2006) A new diagnostic assay for glycogen storage disease type II in mixed leukocytes. *Mol Genet Metab.* 88:22-8.

 - Pereira SJ, Berditchevsky CR, Marie SK (2008) Relato do primeiro paciente brasileiro com a forma infantil da doença de Pompe tratado com alfa-glicosidase recombinante humana J. *Pediatr.* 84 (3).

 - Pinto R, Caseiro C, Lemos M, Lopes L, Fontes A, Ribeiro H, Pinto E, Silva E, Rocha S, Marcão A, Ribeiro I, Lacerda L, Ribeiro G, Amaral O, Miranda MCS (2004) Prevalence of lysosomal storage diseases in Portugal. *European Journal of Human Genetics* 12, 87–92.

-
- Schoser B, Hill V, Raben N (2008) Therapeutic approaches in Glycogen Storage Disease type II (GSDII)/Pompe disease. *Neurotherapeutics* 5(4): 569–578.
- Straub V (2008) Diagnosis. In: Pompe Disease (Martina Baethmann, ed), p48-57. Bremen: UNI-MED.
- Tabarki B, Mahdhaoui A, Yacoub M, Selmi H, Mahdhaoui N, Bouraoui H, Ernez S, Jridi G, Ammar H, Essoussi AS. (2002) Familial hypertrophic cardiomyopathy associated with Wolff-Parkinson-White syndrome revealing type II glycogenosis. *Arch Pediatr*; 9 (7):697-700.
- Thorburn DR, Chow CW, Kirby DM. (2004) Respiratory chain enzyme analysis in muscle and liver. *Mitochondrion* 4:363-75.
- Thurberg BL, Maloney CL, Vaccaro C, Afonso K, Tsai AC, Bossen EH, Kishnani PS, O’Callaghan M (2006) Characterization of pre- and post-treatment pathology after enzyme replacement therapy for Pompe disease. *Laboratory Investigation* 86, 1208–1220.
- van der Ploeg AT, Clemens PR, Corzo D, Escolar DM, Florence J, Groeneveld GJ, Herson S, Kishnani PS, Laforet P, Lake SL, Lange DJ, Leshner RT, Mayhew JE, Morgan C, Nozaki K, Park DJ, Pestronk A, Rosenbloom B, Skrinar A, van Capelle CI, van der Beek NA, Wasserstein M, Zivkovic SA (2010) A Randomized Study of Alglucosidase Alfa in Late-Onset Pompe’s Disease. *N Engl J Med* 362:1396-1406.

- Vilarinho L, Rocha H, Sousa C, Marcão A, Fonseca H, Bogas M, Osório RV. (2010) Four years of expanded newborn screening in Portugal with tandem mass spectrometry. *J Inherit Metab Dis.* [Epub ahead of print].

- Winkel LP, Hagemans ML, van Doorn PA, Loonen MC, Hop WJ, Reuser AJ, van der Ploeg AT. (2005) The natural course of non-classic Pompe's Disease: a review of 225 published cases. *J Neurol.* 252:875-84.