



**FACULTAD DE FARMACIA  
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE**

**TRABAJO FIN DE GRADO**

**Enfermedades raras: Enfermedad de Pompe**

Autora: Carmen Mateos Salillas

Fecha: Junio 2019

Tutora: Pilar Iniesta Serrano

# ÍNDICE

1. RESUMEN.....	2
2. INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES .....	2
3. OBJETIVOS.....	4
4. METODOLOGÍA .....	4
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	4
ENFERMEDAD DE POMPE.....	4
5.1. Definición y antecedentes e historia.....	4
5.2. Incidencia .....	5
5.3. Alfa-glucosidasa ácida: biosíntesis y defectos genéticos .....	5
5.4. Patogenia .....	6
5.4.1. Músculo cardíaco .....	6
5.4.2. Músculo esquelético .....	7
5.5. Manifestaciones clínicas .....	9
5.6. Diagnóstico.....	10
5.7. Terapias .....	12
5.7.1. Terapia de reemplazo enzimático.....	12
5.7.2. Terapia génica .....	15
5.7.3. Otros enfoques terapéuticos .....	17
6. CONCLUSIONES .....	18
7. BIBLIOGRAFÍA.....	18

## 1. RESUMEN

Clasificada como enfermedad rara, la enfermedad de Pompe es un trastorno de almacenamiento lisosomal de glucógeno debido a un déficit en la enzima alfa-glucosidasa ácida (GAA). La transmisión es autosómica recesiva y el gen GAA está localizado en el cromosoma 17q25.3, existiendo numerosas mutaciones del mismo, lo que se traduce en una heterogeneidad clínica. Se distinguen dos tipos principales de enfermedad, la forma de aparición infantil con elevada mortalidad (incidencia alrededor de 1/138.000) y la forma de inicio tardío (juvenil y adulta), menos grave (1/57.000). El déficit enzimático tiene una presencia ubicua, pero sólo lo expresan ciertos órganos, sobre todo el corazón y el músculo esquelético, aunque también destacan las anomalías en el aparato respiratorio y el tejido nervioso. Esto se traduce en una miopatía metabólica autofágica grave.

El diagnóstico de la enfermedad y la detección en recién nacidos se basan principalmente en la evidencia de este déficit de actividad enzimática y en la evaluación de las mutaciones identificadas. Ambos son esenciales para el inicio de la terapia enzimática de sustitución, la alglucosidasa alfa, el medicamento huérfano para el tratamiento de estos pacientes. Así mismo, se están desarrollando nuevos enfoques terapéuticos en modelos de ratones y la terapia génica como alternativa de futuro.

**Palabras clave:** enfermedades raras, enfermedades de almacenamiento lisosomal, enfermedad de Pompe, terapia de reemplazo enzimático.

## 2. INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES

Las **enfermedades raras** son patologías, la mayoría graves, crónicas y degenerativas, que se definen por su baja prevalencia; en la Unión Europea se ha establecido en 1 de entre 2000 nacimientos. Sin embargo, afectan a un gran número de personas, la Organización Mundial de la Salud estima que el 6-8% de la población las sufre, esto es, unos 3 millones en España y 30 millones en Europa. Por todo ello, a pesar de su baja prevalencia individual en la población, en conjunto, tienen una repercusión global importante (1).

Comparándolas con las enfermedades frecuentes o comunes, se encuentran seis diferencias relevantes (Tabla 1) (2).

	<b>Enfermedades comunes</b>	<b>Enfermedades raras</b>
<b>Edad</b>	Adulta (se incrementa la frecuencia con la edad)	Población joven (50% de los pacientes en la edad pediátrica)
<b>Patrón</b>	Multifactorial	Herencia mendeliana o mitocondrial
<b>Órganos afectados</b>	Uno	Varios órganos o sistemas (sindrómicas)
<b>Papel relevante</b>	Factores ambientales	Genética
<b>Prevalencia</b>	Elevada	Baja
<b>Número de enfermedades</b>	Moderado	Muy elevado

*Tabla 1. Principales diferencias entre enfermedades comunes y enfermedades raras. Adaptada de (2).*

Las primeras enfermedades raras fueron descubiertas a principios del siglo XX y en la actualidad hay descritas más de 7000. Aunque no todas, muchas de estas enfermedades son de carácter hereditario. Su base genética sigue desconociéndose en muchos casos; sin embargo, el horizonte en la investigación en enfermedades raras hereditarias es muy prometedor gracias a las técnicas de secuenciación del genoma humano, que están revelando una gran cantidad de genes y mutaciones causantes de enfermedad, con el objetivo claro de poder llevar a cabo un diagnóstico y desarrollar terapias o medicamentos huérfanos (3).

En este trabajo nos vamos a centrar en las **enfermedades raras de almacenamiento lisosomal**. Es importante recordar que los lisosomas son orgánulos citoplasmáticos rodeados de membrana con un diámetro de entre 0,05-0,5  $\mu\text{m}$ . Tienen a su cargo la digestión y el reciclaje de macromoléculas derivadas de los mecanismos endocíticos (materiales extracelulares) así como de la célula misma en un proceso conocido como autofagia (materiales intracelulares). Además tienen múltiples tareas: homeostasis del colesterol, reparación de la membrana plasmática, remodelación de tejidos, defensa contra patógenos, regulación de los receptores de superficie y muerte y proliferación celular.

Para llevar a cabo esta digestión, estos orgánulos contienen una variedad de enzimas lisosomales, esto es, enzimas hidrolíticas activas o hidrolasas tales como glicosidasas, sulfatasas, fosfatasas, lipasas, fosfolipasas, proteasas y nucleasas en un medio ácido (pH aproximadamente 5). Las macromoléculas (lípidos, carbohidratos, proteínas) son degradadas por estas enzimas para formar sus respectivos componentes terminales (ácidos grasos, monosacáridos, aminoácidos), que posteriormente salen del lisosoma.

Las enfermedades de almacenamiento lisosomal son un grupo de más de 40 enfermedades genéticas raras en las que hay algún fallo en los procesos degradativos que ocurren en los lisosomas, de modo que se produce un acumulo de distintos compuestos, con deformación de estos orgánulos, que aumentan su tamaño. Existen diferentes causas que desembocan en estos trastornos:

- Déficit de una enzima lisosomal: genera una incapacidad para degradar correctamente la macromolécula. Estas enzimas se someten a un complejo proceso de varios pasos desde la transcripción génica en el núcleo hasta la proteína funcional dentro del lisosoma, camino en el que pueden existir fallos. Se clasifican en función de la macromolécula que no se degrada y, por lo tanto, se almacena:

- Lipidosis:

- Esfingolipidosis (esfingolípidos, ceramidas, cerebrósidos, sulfuros, esfingomielinas, gangliósidos y lipofuscinas): enfermedades de Gaucher, Niemann-Pick, Krabbe, Fabry, Tay-Sachs, etc.
- Lípidos neutros: enfermedad de Wolman y de almacenamiento de colesterol esterificado.

- Mucopolisacaridosis: enfermedad de Hurler, Hunter, etc.

- Glucogenosis: enfermedad de Pompe, desarrollada en este trabajo, y de Danon.

- Glucoproteínosis (glucanos de las glicoproteínas):  $\alpha$ -fucosidosis, manosidosis  $\alpha$  y  $\beta$ , sialidosis, aspartilglucosaminuria, etc.

- Mucolipidosis (glucolípidos).

- Mutaciones que afectan a proteínas activadoras, proteínas que deben estar presentes para que algunas enzimas hidrolasas lisosomales estén completamente activas. Imitan la deficiencia de la hidrolasa. Estas proteínas activadoras están formadas por cuatro proteínas activadoras de esfingolípidos (SAP) y la proteína activadora GM2.

- Incapacidad de transportar una pequeña molécula fuera del lisosoma, hacia el citoplasma, como consecuencia de un transportador deficiente. Desemboca en cinco trastornos conocidos: cistinosis, enfermedad de Salla, enfermedad de la cobalamina F y de la cobalamina J y mucolipidosis tipo IV. Se distinguen porque el material intralisosomal acumulado consiste en un aminoácido, monosacárido, cofactor y cationes, respectivamente, en contraste con las deficiencias enzimáticas, en las que se almacena una macromolécula.

- Fármacos que inducen fosfolipidosis (inhibición de fosfolipasas lisosomales). Se considera una forma adquirida de enfermedad y puede ser causada por más de cincuenta medicamentos, incluidos antiarrítmicos, antipalúdicos, antipsicóticos o antibacterianos.

En general, la gravedad de estas enfermedades decrece con la edad: infantil grave, juvenil intermedia y adulta moderada. Los síntomas clínicos tienen un amplio espectro dependiendo de la enfermedad y el genotipo particular, aunque es característico de la mayor parte la disfunción del sistema nervioso central, anomalías óseas, visceromegalias, nubosidad de la córnea y características dismórficas. Son muchos los tipos diferentes de tejidos afectados en estos trastornos, con participación en diferentes etapas del proceso de la enfermedad (4).

### **3. OBJETIVOS**

El objetivo de este trabajo es llevar a cabo una revisión bibliográfica sobre las enfermedades raras, en concreto sobre las enfermedades de almacenamiento lisosomal centrándonos en la enfermedad de Pompe. Específicamente, se pretende revisar el estado actual de estas enfermedades poco frecuentes y el conocimiento hasta la fecha de la enfermedad de Pompe, así como sus posibilidades y opciones de tratamiento.

### **4. METODOLOGÍA**

Se ha realizado una revisión bibliográfica descriptiva de artículos procedentes de bases de datos como Pubmed y Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM). Además, se recopiló información de la revista Sociedad Española de Bioquímica y Biología Molecular y del portal web de enfermedades raras Orphanet.

### **5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

#### **ENFERMEDAD DE POMPE**

##### **5.1. Definición y antecedentes e historia**

La enfermedad de Pompe, también llamada “enfermedad de almacenamiento de glucógeno tipo II” o “deficiencia de maltasa ácida” es un trastorno raro lisosomal de almacenamiento de glucógeno. Está causada por mutaciones en el gen que codifica la enzima  $\alpha$ -glucosidasa ácida lisosomal (GAA) o maltasa ácida, enzima que hidroliza el glucógeno en el medio ácido del lisosoma, de modo que esta enzima es deficiente o está ausente. En este orgánulo, el glucógeno sufre una degradación completa por GAA hasta rendir glucosa mediante la escisión de los enlaces glicosídicos  $\alpha$ -1,4 y  $\alpha$ -1,6. Por tanto, una deficiencia de esta enzima conduce a la acumulación lisosomal de glucógeno en múltiples tejidos, principalmente el músculo, siendo los músculos cardíaco y esquelético los más gravemente afectados, además del respiratorio; también destaca la acumulación en las motoneuronas (sistema nervioso). Se trata pues de una miopatía metabólica grave, generando un trastorno muscular raro y mortal y un déficit neurológico.

El nombre de esta enfermedad proviene del patólogo holandés Johannes Cassianus Pompe, que en 1932 describió la autopsia de una niña de 7 meses diagnosticada de "hipertrofia miocárdica idiopática" y debilidad muscular generalizada, proporcionando una idea de la biología subyacente: el almacenamiento masivo de glucógeno vacuolar en prácticamente todos los tejidos. Décadas más tarde se descubrieron la vía metabólica del glucógeno y un nuevo orgánulo celular, el lisosoma. La conexión entre este orgánulo, el defecto enzimático y la enfermedad de Pompe fue realizada en 1963 por un bioquímico belga, Henri-Gery Hers, quien descubrió la enzima  $\alpha$ -glucosidasa ácida y demostró que estaba ausente en pacientes con este trastorno. La enfermedad de Pompe es la primera enfermedad de almacenamiento lisosomal documentada (5).

## 5.2. Incidencia

Las estimaciones actuales fijan la incidencia global de esta enfermedad en aproximadamente 1 caso por cada 40.000 recién nacidos vivos. Según datos de Orphanet, la incidencia es de 1/138.000 para la forma infantil y de 1/57.000 para la forma de inicio tardío. Se estima que la prevalencia mundial puede ser de 5000 a 10.000 personas (de ambos sexos y de edades y etnias diferentes).

Además, varios estudios indican que la incidencia puede variar entre las poblaciones, oscilando entre 1 caso por cada 14.000 y 1 caso por cada 300.000 en función de la zona geográfica o del grupo étnico examinado. En lactantes parece ser más frecuente entre los afroamericanos y en el sur de China y en Taiwán. En cuanto a los adultos, hay una incidencia comparativamente alta en los Países Bajos (6).

## 5.3. Alfa-glucosidasa ácida: biosíntesis y defectos genéticos

### Biosíntesis

Al igual que muchas otras enzimas lisosomales, la enzima  $\alpha$ -glucosidasa ácida se sintetiza en el retículo endoplásmico rugoso (RE), donde se agregan oligosacáridos con alto contenido de manosa a las moléculas precursoras de 110 kDa, proceso conocido como glicosilación. La glicosilación y el plegamiento adecuado en el RE son cruciales para el transporte al aparato de Golgi. En este orgánulo, la enzima adquiere una señal de direccionamiento lisosomal mediante la adición de restos de manosa 6-fosfato (M6P), proceso conocido como fosforilación, que permite el reconocimiento de la enzima por los receptores de manosa 6-fosfato (M6PR). La enzima capturada por M6PR, junto con otras enzimas lisosomales, deja el aparato de Golgi en una vesícula que transmite su contenido a los endosomas tempranos/tardíos. Una vez dentro de los endosomas tardíos, los complejos receptor-enzima se disocian debido al bajo pH en estas vesículas y la enzima se envía al lisosoma, mientras que los receptores se reciclan para la siguiente ronda de clasificación (Figura 1).

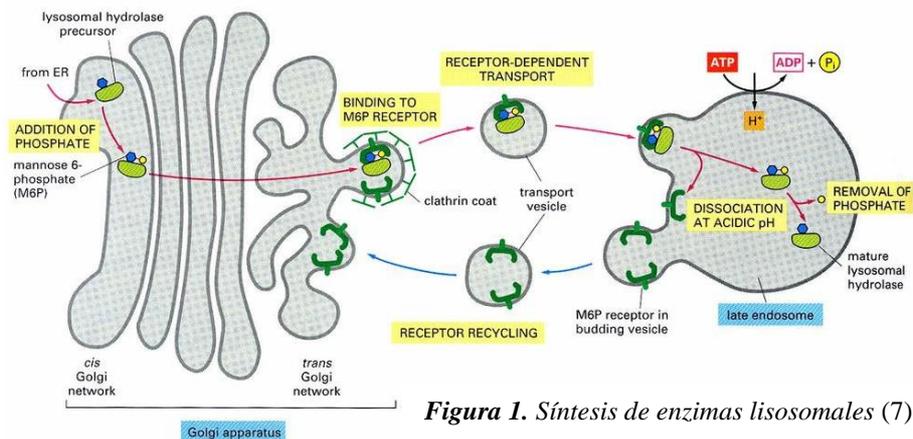


Figura 1. Síntesis de enzimas lisosomales (7).

En el camino hacia los lisosomas, la enzima sufre modificaciones en la cadena de azúcar y escisión proteolítica. En el aparato de Golgi se produce la primera escisión proteolítica del precursor, seguida por la escisión adicional en los extremos amino y carboxilo terminal antes y después de la entrada a los lisosomas, un proceso crítico para la activación catalítica de la enzima. Las amplias modificaciones postraduccionales de la proteína precursora en su camino hacia los lisosomas, proceso llamado maduración, aumentan la actividad de la enzima.

Por otra parte, una porción del precursor de GAA se secreta y puede ser captada por células vecinas a través del receptor de manosa 6-fosfato independiente de catión (CI-MPR) en la membrana plasmática, que dirige la endocitosis y el transporte de la enzima al lisosoma. Esto supone una capacidad de las células para segregar e internalizar enzimas lisosomales (7).

### Defectos genéticos

La enfermedad de Pompe es una **enfermedad genética autosómica recesiva**. El gen que codifica para la enzima GAA se localiza en el **cromosoma 17q25.3**. Esta enfermedad es causada por una mutación homocigótica o mayoritariamente heterocigótica compuesta (dos alelos mutados diferentes en un mismo locus, uno en cada cromosoma) de este gen *GAA*. Existe una base de datos que contiene todas las mutaciones y polimorfismos informados (>300 variantes) (8). Las mutaciones se extienden por todo el gen y afectan diferentes etapas de la síntesis de GAA completamente funcional, incluida la síntesis de la proteína, las modificaciones postraduccionales y el tráfico y maduración lisosomal.

La mayoría de las mutaciones se encuentran en una sola familia o en una pequeña población y además comúnmente en pacientes de ciertos orígenes étnicos (5):

- En los caucásicos predomina c.-32-13T>G (IVS1), una mutación en sitio de empalme de exones que permite la síntesis de niveles bajos de enzima normal (10-20%). La mayoría de los pacientes son heterocigotos compuestos y esta mutación IVS1 se combina con otra mutación *GAA* diferente y mucho más grave en el otro alelo, del tipo que sea. Durante mucho tiempo se pensó que los individuos homocigotos no mostraban ningún síntoma, pero esta suposición resultó ser incorrecta ya que se describió mialgia, fatiga inducida por el ejercicio y aumento de la creatinquinasa en pacientes con dos mutaciones IVS1.
- En los Países Bajos son frecuentes c.del525, delección del exon18 y c.925G>A (p.Gly309Arg), pero también se encuentran en otras poblaciones.
- Los pacientes chinos de Taiwán comparten una mutación común c.1935C>A (p.Asp645Glu).
- En los afroamericanos la más común es c.2560C>T (p.Arg854Ter).
- Dos variantes de secuencia, c.1726G>A y c.2065G>A, causan pseudodeficiencia, una condición asociada con niveles bajos de actividad GAA pero no con enfermedad clínica. Existe una frecuencia relativamente alta en poblaciones asiáticas.

En la enfermedad de Pompe existe una estricta correlación genotipo-fenotipo, es decir, su curso clínico se correlaciona principalmente con la naturaleza de la mutación específica en el gen *GAA* y con el grado de actividad enzimática residual, aunque los antecedentes genéticos y los factores modificadores secundarios también influyen. Un ejemplo de éstos es el papel modulador potencial del polimorfismo de inserción/eliminación en el intrón 16 de la enzima convertidora de angiotensina, que modifica algunos aspectos clínicos (9).

## **5.4. Patogenia**

### **5.4.1. Músculo cardíaco**

En la enfermedad de Pompe se produce una marcada cardiomegalia (Figura 2). Las paredes de todas las cámaras están engrosadas, especialmente la pared libre del ventrículo izquierdo y los músculos papilares (en el interior de los ventrículos) (Figura 3). En algunos pacientes el engrosamiento grave de la pared se asocia con cavidades cardíacas pequeñas y con obstrucción del flujo de salida del ventrículo izquierdo y/o derecho; otros pacientes muestran dilatación cardíaca. El engrosamiento fibroelástico del endocardio ocurre en aproximadamente el 20% de los pacientes.

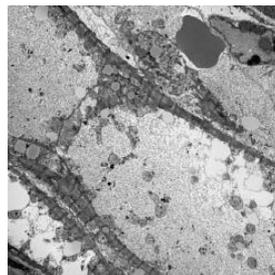
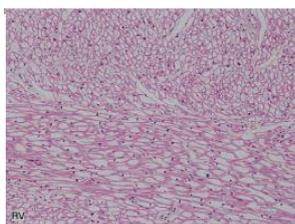
**Figura 2.** Corazón de un niño de 7 meses con enfermedad de Pompe muestra cardiomegalia (10).



**Figura 3.** El ventrículo izquierdo muestra hipertrofia concéntrica con fibrosis endocárdica leve (10).

Histológicamente, hay un cambio vacuolar en el citoplasma del miocito cardíaco, con una apariencia de encaje (Figura 4). Esto es causado por depósitos masivos de glucógeno, que desplazan las miofibrillas a la periferia de las células. Se observa escasez de miofibrillas y grado variable de fibrosis intersticial (Figura 5).

**Figura 4.** Miocardio con marcada vacuolización citoplásmica de miocitos con apariencia de encaje (100x, hematoxilina y eosina) (10).

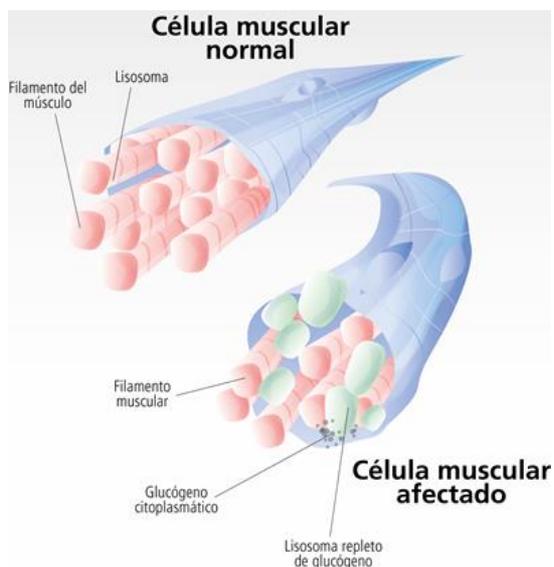


**Figura 5.** Acumulación citoplásmica libre de glucógeno en los miocitos con apariencia granular o fibrilar y pérdida de miofibrillas (5000x) (10).

Los estudios ultraestructurales revelan grandes cantidades de glucógeno que se acumulan en cuerpos unidos a una sola membrana llamados glucogenosomas. Éstos se han encontrado en varias localizaciones tisulares como músculo estriado, hígado, riñón, piel, páncreas, cerebro y ojos. Sin embargo, en el músculo estriado, gran parte del glucógeno se encuentra fuera de los lisosomas, lo que se piensa que podría deberse a la ruptura lisosomal por la presión mecánica de la contracción muscular. Además, la liberación concomitante de hidrolasas ácidas explicaría las fibras musculares degeneradas y necróticas, los restos celulares y las figuras de mielina observadas con el microscopio electrónico (10).

#### 5.4.2. Músculo esquelético

La pérdida de la estructura y fuerza muscular se deben al aumento progresivo de los lisosomas llenos de glucógeno en el espacio intermiofibrilar seguido de la ruptura lisosomal, la acumulación de glucógeno citoplásmico y el desplazamiento de las miofibrillas (Figura 6) (11).



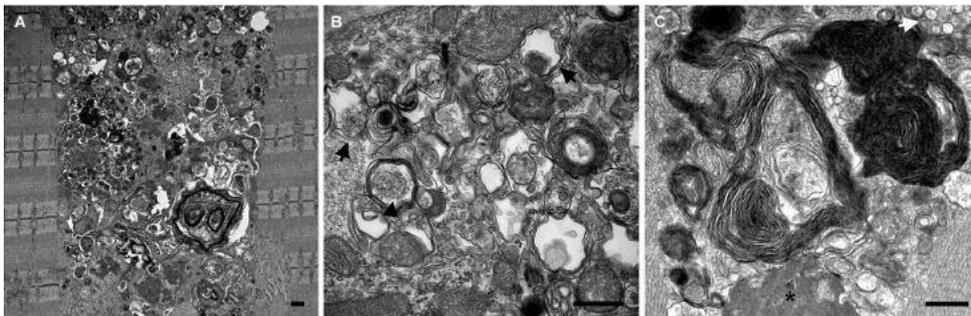
**Figura 6.** Diferencia entre células musculares normales y células musculares afectadas por la enfermedad de Pompe (11).

Durante mucho tiempo se ha pensado que ésta era la única causa, sin embargo, se producen además eventos secundarios como resultado de la acumulación de sustratos no metabolizados en los lisosomas. Esto es, una serie de mecanismos patógenos contribuyen al daño tisular en la enfermedad de Pompe y otras enfermedades de almacenamiento lisosomal:

- Autofagia defectuosa

La macroautofagia es la forma predominante de autofagia y consiste en el secuestro de diversos constituyentes citosólicos en vesículas de membrana doble (autofagosomas), que maduran, se fusionan con los lisosomas y descargan su contenido para su descomposición y reciclaje. Este proceso está profundamente desregulado en la enfermedad de Pompe: existe un fracaso en la fusión entre autofagosomas y lisosomas generando un flujo autofágico incompleto o bloqueo autofágico.

Existen varios marcadores para estudiar la autofagia, destacando la proteína MAP1LC3 (conocida como LC3), marcador altamente específico de autofagosomas, o LAMP1, marcador para lisosomas. La tinción de fibras musculares para estos marcadores mostró que su núcleo contenía grandes áreas de acumulación autofágica compuestas por numerosos autofagosomas, endosomas tardíos agrupados, lisosomas con bordes rotos y material autofluorescente. Además, el área estaba llena de sustratos autofágicos no digeridos, como p62, y agregados proteicos ubiquitinados potencialmente tóxicos (Figura 7).



**Figura 7.** Acumulación autofágica en el músculo esquelético de un ratón GAA-KO de 5 meses de edad (A). Autofagosomas de doble membrana clásicos con material citosólico no digerido (flechas negras) y partículas de glucógeno (punta de flecha) (B). Estructuras multimembrana, cuerpo multivesicular (flecha blanca), material denso de electrones (asterisco), otros residuos celulares de origen desconocido (C) (7).

La presencia de estos residuos autofágicos en el músculo esquelético indica que el proceso de reciclaje intracelular es ineficiente y parece ser un contribuyente importante a la debilidad muscular y a una respuesta incompleta a la terapia de reemplazo enzimático.

Por ello, la enfermedad de Pompe se clasifica como una miopatía autofágica.

- Anomalías mitocondriales

Se observan en la mayoría de las biopsias musculares de los pacientes y se encuentran directamente relacionadas con la autofagia deteriorada, ya que las mitocondrias dañadas se eliminan a través de la vía autofágica (mitofagia).

- Profunda desregulación de la homeostasis del  $Ca^{2+}$ , disminución en el potencial de membrana mitocondrial, sobrecarga de  $Ca^{2+}$  mitocondrial, aumento de las especies reactivas de oxígeno (estrés oxidativo) y aumento en la apoptosis independiente de caspasa se reportaron en ratones con el gen GAA desactivado (ratones knockout o KO).

- Inclusiones de lipofuscina

La lipofuscina es un lipopigmento autofluorescente cuya acumulación intralisosomal gradual supone un signo característico de daño oxidativo celular y envejecimiento. Su deposición progresiva disminuye aún más la capacidad de degradación de los lisosomas, lo que conduce a una disminución en el recambio autofágico de las mitocondrias dañadas, lo que a su vez resultaría en generación de especies reactivas de oxígeno y formación de proteínas y

agregados oxidados, perpetuando así la producción de lipofuscina. Además, su acumulación afecta el tráfico de las enzimas lisosómicas recién sintetizadas, lo que disminuye aún más la capacidad de degradación de estos orgánulos. Todo ello conduce a un "círculo vicioso".

- Desregulación de la vía de señalización de mTOR

La quinasa mTOR es un potente regulador anabólico y el lisosoma sirve como plataforma para su activación; además, ejerce control sobre la masa muscular. Se demostró que la disminución de su actividad y el fracaso en el traslado hacia y desde los lisosomas en respuesta al estrés celular contribuyen a la pérdida muscular.

Por tanto y a modo de resumen, grandes grupos de material no contráctil, como lisosomas cargados de glucógeno, lagos de glucógeno citoplásmico, residuos autofágicos y lipofuscina, interrumpen la maquinaria contráctil, causando daño y disminución de la función muscular, ya que, a diferencia de los sarcómeros, son incapaces de generar fuerza (5, 7).

## 5.5. Manifestaciones clínicas

La enfermedad de Pompe se presenta como un continuo de fenotipos clínicos que difiere según la edad de inicio, la gravedad y la afectación de los órganos. Sin embargo, sin importar la presentación o el subtipo, la enfermedad es causada por la misma patología subyacente, la deficiencia de la enzima GAA.

Existe cierta ambigüedad a la hora de clasificar pero, por regla general, se reconocen dos tipos generales según el inicio de los síntomas y la presencia o ausencia de cardiomiopatía: enfermedad de Pompe de aparición infantil (IOPD) y enfermedad de Pompe de inicio tardío (LOPD). A su vez, los signos y síntomas de la IOPD varían y los expertos la han clasificado en dos formas, clásica y no clásica o atípica:

**La enfermedad de Pompe de aparición infantil clásica (IOPD clásica)** es la forma más grave, se manifiesta antes de los 12 meses de edad y es rápidamente progresiva. La actividad enzimática está ausente o casi ausente (<1%). Sus principales signos y síntomas son:

- Sistema cardiovascular: miocardiopatía hipertrófica y obstrucción del flujo ventricular izquierdo. Son los signos clásicos y pueden llevar a que el corazón tenga una capacidad reducida para bombear una cantidad suficiente de sangre. El sistema de conducción cardíaco también puede verse afectado, ocasionando alteraciones en frecuencia y ritmo.

- Sistema respiratorio: dificultad respiratoria y pérdida progresiva de ventilación independiente debido a la pérdida de fuerza de los músculos empleados en la respiración. Pueden aparecer además trastornos del sueño (apnea del sueño), llanto débil, tos húmeda e infecciones respiratorias frecuentes.

- Sistema musculoesquelético: hipotonía ("bebé flácido") y debilidad muscular profunda (miopatía). Además, el desarrollo motor se retrasa significativamente y los principales hitos del desarrollo, como la capacidad de rodar o sentarse, el control de la cabeza o la marcha independiente, a menudo no se logran.

- Sistema digestivo: hepatomegalia leve, dificultades de alimentación y macroglosia. Todo ello contribuye a la falta de aumento de peso adecuado.

Solo un pequeño porcentaje de pacientes no tratados sobrevive más de 1 año de edad; la principal causa de muerte es la insuficiencia cardíaca y respiratoria (5, 6, 12).

Se clasifica como **IOPD no clásica** a un subconjunto de pacientes con presentaciones clínicas similares a IOPD clásica durante el primer año de vida pero con cardiomiopatía menos grave, ausencia de obstrucción del flujo ventricular izquierdo y

supervivencia algo más prolongada. Se ha informado una amplia gama de signos y síntomas, lo que dificulta su diagnóstico. El término IOPD atípica se emplea para aquellos pacientes que se presentan dentro del primer año de vida sin cardiomiopatía o indistintamente con el término IOPD no clásica (5).

**La enfermedad de Pompe de inicio tardío (LOPD)**, menos devastadora, presenta una gran heterogeneidad en cuanto a la edad de aparición, la gravedad, la tasa de progresión y los síntomas, por lo que a menudo supone un desafío diagnóstico.

Se manifiesta en cualquier momento después de los 12 meses: infancia, niñez, adolescencia o incluso durante la edad adulta. La actividad de la enzima GAA es variable y oscila entre 2% y 40%. Por lo general, los síntomas más comunes en la mayoría de las personas con LOPD y que pueden ayudar al diagnóstico son:

- Síntomas musculoesqueléticos, muy habituales: miopatía proximal de las cinturas escapular o pélvica, mialgias y calambres musculares. Primero se produce debilidad en las extremidades inferiores, después en las extremidades superiores; existe dificultad para caminar, levantarse de la silla, subir escaleras, correr, practicar deportes o levantar objetos.

- Síntomas respiratorios, muy prevalentes: insuficiencia respiratoria debido a la debilidad de los músculos respiratorios. Desemboca en fatiga, dificultad para realizar actividades cotidianas y para respirar en decúbito, dolores de cabeza, somnolencia diurna, apnea del sueño e infecciones respiratorias frecuentes.

- Síntomas gastrointestinales: insuficiencia de la función gástrica, dificultades para comer o tragar (disfagia), pobre aumento de peso o sobrepeso.

- Generalmente sin afectación cardíaca significativa, la hipertrofia cardíaca es rara, pero algunos pacientes presentan riesgo de arritmia cardíaca y aneurismas cerebrales e intracraneales.

- Otros: disartria, osteoporosis, escoliosis, neuropatía de fibras pequeñas, pérdida de la audición, compromiso del tracto urinario y del esfínter anal, dolor.

El curso de la enfermedad es variable pero progresivo. En algunos casos, el impacto inicial puede ser muy severo y progresar rápidamente, mientras que en otros puede ser menos extremo y progresar más gradualmente. En general, cuanto más temprano aparecen los síntomas, más rápida es la tasa de progresión. Ésta a veces puede ser impredecible, por lo que un monitoreo cuidadoso es muy importante. En última instancia la enfermedad conduce a una profunda debilidad y desgaste muscular, dependencia de la silla de ruedas e insuficiencia respiratoria debido a la implicación del diafragma (requerimiento de asistencia respiratoria).

El pronóstico es variable, la edad de muerte varía desde más de un año hasta la edad adulta, la causa más frecuente es la insuficiencia respiratoria, pero también se puede deber a otras causas, como aneurismas cerebrales (13).

## 5.6. Diagnóstico

Las herramientas que ayudan a guiar el diagnóstico de la enfermedad de Pompe son:

- Alteraciones bioquímicas (marcadores inespecíficos):
  - Enzimas elevadas en suero:
    - Creatinquinasa (CK): valores muy superiores a los normales.
    - Aminotransferasa (AST), alanina aminotransferasa (ALT) y lactato deshidrogenasa (LDH): a menudo aumentadas.
    - Niveles elevados de tetrasacáridos de glucosa en la orina (Glc4): la mayoría de los pacientes, siendo más altos en bebés que en adultos.
- Evaluación cardíaca: las radiografías de tórax revelan una cardiomegalia masiva en la IOPD; el electrocardiograma muestra un intervalo P-R corto, complejos QRS altos y

mayores dispersiones de QT; la ecocardiografía revela un aumento de grosor de la pared del ventrículo izquierdo con o sin obstrucción del flujo de salida.

- Evaluación de la función pulmonar en LOPD: midiendo la presión inspiratoria y espiratoria máximas, la capacidad vital forzada (FVC) y la capacidad vital en las posiciones vertical y supina para evaluar el grado de deficiencia diafragmática.

- Resonancia magnética: evaluación de la extensión y la localización de los cambios musculares en LOPD. Ayuda a elegir el lugar donde practicar una biopsia muscular. Se observa que, aunque la actividad de la enzima GAA es deficiente en todos los músculos, algunos grupos musculares están relativamente bien conservados incluso durante las etapas avanzadas de la enfermedad.

- Histología de biopsias musculares: muestran miopatía vacuolar con depósito de glucógeno, cuya extensión generalmente se correlaciona con la gravedad. Estas vacuolas son sensibles a la diastasa y son positivas para el ácido Schiff (tinción PAS) y la fosfatasa ácida, lo que confirma la naturaleza del material de almacenamiento y su origen lisosomal. Aunque útiles, el valor diagnóstico de las biopsias musculares en LOPD es bastante limitado porque diferentes grupos musculares, e incluso fibras dentro del mismo grupo muscular, exhiben una patología altamente variable. La identificación histológica de inclusiones de lipofuscina ácida fosfatasa positivas se ha sugerido como un nuevo marcador, especialmente en adultos.

Además de todo lo anterior, el **diagnóstico de certeza** (el más importante y específico) es la **demonstración de la deficiencia de la actividad enzimática GAA**. Normalmente se mide en manchas de sangre seca o en sangre (en linfocitos), sin embargo, en algunos casos, como sujetos heterocigotos con baja actividad enzimática, se puede medir en otros tejidos como fibroblastos de piel cultivados o más raramente en una biopsia muscular. La medición se lleva a cabo utilizando un sustrato sintético acoplado a un compuesto fluorescente en presencia de acarbosa (un compuesto capaz de inhibir la maltasa de glucoamilasa que puede interferir con la reacción) o de anticuerpos específicos para la maltasa ácida. Cualquiera que sea la prueba inicial utilizada, debe confirmarse en una segunda toma de muestra.

En la mayoría de los casos se realiza también un **diagnóstico genético**, que consiste en un análisis de mutación GAA mediante la secuenciación de este gen. Se realiza no solo para confirmar el diagnóstico, sino también para evaluar la correlación genotipo-fenotipo, para identificar portadores dentro de las familias y para brindar asesoramiento genético (5, 14).

### **Detección en recién nacidos**

El primer programa nacional de detección en recién nacidos para la enfermedad de Pompe se estableció en Taiwan hace más de una década. La evaluación cubrió cerca de la mitad de los recién nacidos en el país y el número de casos diagnosticados de IOPD fue similar al número de bebés diagnosticados clínicamente en la población de control no seleccionada. Aunque la IOPD clásica en teoría no presenta dificultad diagnóstica importante, el screening de recién nacidos redujo las demoras proporcionando un diagnóstico más temprano, menos de 1 mes de edad en comparación con 3 a 6 meses en el grupo control.

Sin embargo, la alta frecuencia de pseudodeficiencia en la población taiwanesa, comentada anteriormente, complicaba el cribado y podía aumentar los resultados falsos positivos. Ante esto, se desarrolló un protocolo de diagnóstico basado en una combinación de baja actividad de GAA en manchas de sangre seca con hipotonía, CK elevada e índice de masa del ventrículo izquierdo alto. También se argumentó que los beneficios de la terapia de

reemplazo enzimático temprana para pacientes con IOPD altamente sospechosa superan el bajo riesgo de efectos adversos asociados con la administración del fármaco (15).

Por lo tanto, *la importancia y beneficios a largo plazo del screening en recién nacidos para el diagnóstico y tratamiento temprano de la IOPD son incuestionables.*

Por otra parte, el cribado identifica a los recién nacidos con todas las formas de la enfermedad y la mayoría de los casos será LOPD, ya que esta forma es más prevalente. Estos casos requieren decisiones con respecto a la frecuencia del monitoreo, el seguimiento y el momento en que se inicia el tratamiento, además del daño psicológico asociado al diagnóstico y la incertidumbre. Estos desafíos trajeron dificultades para convencer a los responsables de las políticas sanitarias de agregar la enfermedad de Pompe a los paneles de detección de recién nacidos. De nuevo, la experiencia taiwanesa mostró que *la detección y el seguimiento posterior de los pacientes con LOPD permitían identificar las primeras manifestaciones de la enfermedad y un inicio temprano de la terapia que conducía a mejores resultados* (5).

Además de Taiwan, se implementó y agregó la enfermedad de Pompe al “Panel de detección uniforme recomendado” en varios estados de los EE.UU en 2015. También se han introducido programas de detección en recién nacidos en Austria, Italia, Hungría o Japón. Uno de los hallazgos inesperados de estos estudios es una prevalencia mucho mayor de la enfermedad que la reconocida previamente (16).

En el cribado para este trastorno se aplican distintos métodos:

- Análisis de la actividad enzimática de GAA mediante el uso de sustratos artificiales en manchas de sangre seca:
  - Fluorimetría
  - Espectrometría de masas en tándem
  - Microfluidos combinados con fluorimetría
- Otros: análisis del sustrato de acumulación, cuantificación inmunológica y/o la actividad de captura inmunitaria de la enzima de interés.

Después de una prueba de detección en recién nacidos positiva son importantes las pruebas confirmatorias o de segundo grado, basadas en la secuenciación molecular del gen GAA. Éstas no forman parte de la mayoría de los programas de cribado ya que los laboratorios de screening generalmente no tienen capacidad para la secuenciación. Sin embargo, algunos sí cuentan con una detección de segundo nivel que incluye la secuenciación completa de genes (16).

## 5.7. Terapias

### 5.7.1. Terapia de reemplazo enzimático

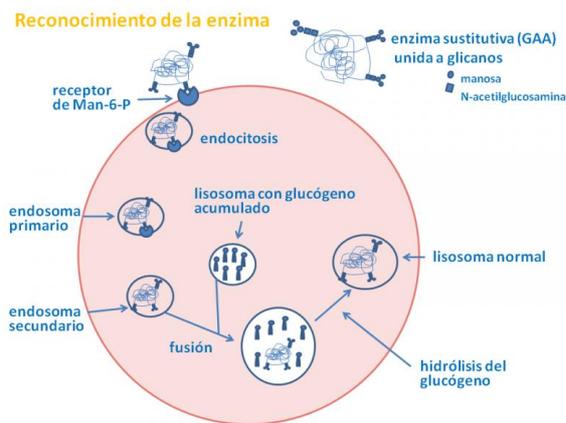
Surgió con el descubrimiento de la vía de secreción e internalización de enzimas lisosomales (vía endocítica), demostrada en experimentos de corrección cruzada, en los que fibroblastos cultivados de pacientes con dos trastornos de almacenamiento lisosomal diferentes fueron capaces de corregirse mutuamente. Esta corrección cruzada metabólica natural sugirió que los trastornos de almacenamiento lisosomal pueden ser susceptibles de terapia con enzimas funcionales administradas de forma exógena, un concepto que se conoció como terapia de reemplazo enzimático (ERT).

El primer ensayo clínico de ERT en Pompe empleó  $\alpha$ -glucosidasa ácida humana recombinante (rhGAA) de leche de conejo transgénica, seguido de un ensayo que utilizó la enzima producida y purificada a partir de células de ovario de hámster chino y que desplazó a la primera (5). Tras los pertinentes estudios de seguridad y eficacia, se aprobó el primer

tratamiento específico para la enfermedad de Pompe: en 2006, la  $\alpha$ -glucosidasa ácida humana recombinante (alglucosidasa alfa) recibió una amplia aprobación de comercialización en Europa (Myozyme®) y posteriormente en los EE.UU (Lumizyme®).

ERT es actualmente el **tratamiento estándar para tratar la enfermedad de Pompe** y es el primer caso de uso de enzimas recombinantes para tratar el músculo esquelético.

Alglucosidasa alfa es un precursor que contiene grupos M6P que permiten que la enzima se una al receptor en la superficie celular y que son críticos para la captación eficiente. Una vez dentro de la célula, rhGAA, al igual que el precursor endógeno, se escinde para producir un intermedio y formas lisosomales totalmente maduras, que una vez transportadas dentro del lisosoma se encargan de la hidrólisis del glucógeno acumulado (7) (Figura 8).



**Figura 8.** Esquema del fundamento de la terapia de reemplazo enzimático y del mecanismo de acción de la enzima GAA administrada de forma exógena (11).

La dosis autorizada de este medicamento es de 20 mg/kg cada dos semanas. Un estudio reciente mostró resultados mejorados en cuatro pacientes que recibieron 40 mg/kg/semana; sin embargo, aún no se ha demostrado ampliamente que esta pauta mejore significativamente la supervivencia o la calidad de vida pero, en cambio, puede asociarse a un incremento de efectos adversos (17).

El consenso actual es que *el momento de inicio de la ERT es de importancia crítica para el resultado de la terapia*: cuanto antes, mejores resultados. En IOPD la terapia se inicia dentro de los primeros días después del nacimiento.

En contra, dos de los grandes obstáculos de esta terapia son:

- *La incapacidad de la enzima recombinante para cruzar la barrera hematoencefálica.* Se hallaron anomalías en la materia blanca cerebral y diferentes grados de deterioro cognitivo en los sobrevivientes a largo plazo tratados (18).
- *La terapia se ve afectada negativamente por las respuestas inmunes.* Casi todos los pacientes desarrollan anticuerpos contra la proteína exógena, pero el impacto de la respuesta inmune es particularmente perjudicial en los pacientes infantiles clásicos, que no producen alfa-glucosidasa ácida endógena. Estos pacientes, denominados negativos para CRIM (material inmunológico con reactividad cruzada), desarrollan títulos elevados de anticuerpos asociados con un deterioro clínico que a menudo conduce a la muerte a pesar de la terapia en curso. Las formas tardías de la enfermedad, al tener actividad enzimática residual, se denominan positivas para CRIM, pero también se han registrado títulos elevados de anticuerpos en estos casos (14).

Se han introducido varios protocolos para la inducción de tolerancia en pacientes negativos para CRIM: una combinación de rituximab, metotrexato e inmunoglobulina intravenosa o bien la adición de bortezomib a regímenes inmunomoduladores (5).

## Resultados de la ERT en IOPD clásica

La terapia *ha cambiado el curso natural de la enfermedad y ha extendido significativamente la vida útil* de los bebés gracias a la *reversión de las anomalías cardíacas*. Todos los pacientes tuvieron una gran y sostenida mejoría en los parámetros cardíacos con marcadas disminuciones en el grosor de la pared ventricular izquierda, corrección de parámetros anormales del electrocardiograma y mejora de la función cardíaca; además, muchos pacientes logran grandes hitos del desarrollo motor (5).

*Sin embargo*, es igualmente claro que *la mayoría de los sobrevivientes a largo plazo todavía llevan la carga de la enfermedad y que la forma infantil de Pompe sigue siendo una afección potencialmente mortal*. Además, la terapia tiene consecuencias imprevistas: muchos pacientes a la larga sufren de miopatía debilitante del músculo esquelético y desarrollan un nuevo fenotipo emergente que incluye debilidad motora gruesa, pérdida de audición, ptosis, debilidad muscular facial, dificultad del habla, disfagia que incrementa el riesgo de aspiración, arritmias, neumonías recurrentes, osteopenia y deformidades ortopédicas (19).

## Resultados de la ERT en LOPD

Los diferentes estudios han proporcionado evidencia de un *efecto beneficioso de ERT en la LOPD a nivel grupal, pero la respuesta al tratamiento varía significativamente entre los pacientes*. Existen dos grandes revisiones que resumen los resultados de estos estudios realizados, una más reciente que otra (Tabla 2).

	Revisión de Toscano A et al (20)	Revisión de Schoser B et al (21)
Número de pacientes	368	438
Edad	2 años o más	Pacientes con LOPD (edad no especificada)
Duración del tratamiento	Menos de un año a más de 3 años	De 3 a 48 meses
Principales conclusiones tras el tratamiento con ERT	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Mejor ambulación</li> <li>-Mejoría modesta de la función motora</li> <li>-Aumento de distancia recorrida en “test de la marcha de 6 minutos” (6MWT)</li> <li>-Aumento moderado o estabilización de la función pulmonar (medida por FVC)</li> <li>-Meseta después de la mejora inicial</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Tasa de mortalidad cinco veces menor</li> <li>-FVC: mejora rápida en primeros meses, regreso gradual a línea de base y finalmente ligero descenso tras 2-3 años</li> <li>-Mejora en 6MWT más pronunciada durante primeros 20 meses y posterior mantenimiento</li> <li>-Reducción de la fatiga</li> </ul>

**Tabla 2.** Comparación de las revisiones realizadas por distintos autores del efecto de la terapia de reemplazo enzimático en pacientes Pompe LOPD. Adaptada de (5).

## Terapias experimentales diseñadas para mejorar el efecto de la ERT

El efecto limitado de la ERT en el músculo esquelético se atribuye principalmente al bajo número de grupos M6P en la enzima recombinante rhGAA y a la baja expresión del receptor CI-MPR en la superficie de las células musculares.

Estas limitaciones de la terapia actual estimularon el diseño de medicamentos de segunda generación más efectivos. Son varias las terapias actualmente en investigación:

- Mejorar el suministro enzimático aumentando el número de residuos M6P en la enzima recombinante:

- Neo-GAA es una alglucosidasa alfa de segunda generación que tiene una afinidad incrementada por CI-MPR y se encuentra en un estudio de fase 3. En estudios preclínicos, mostró una mayor eficacia en comparación con la de primera generación y redujo el glucógeno a niveles similares a una dosis mucho menor (22).

- ATB200 es una nueva rhGAA con un alto contenido de glicano M6P y bis-M6P.

- Dado que CI-MPR también se une al factor de crecimiento insulínico tipo II (IGFII), se ha desarrollado una tecnología de direccionamiento lisosomal independiente de la glicosilación (sin residuos M6P) que emplea proteínas etiquetadas con IGFII. Se probó con éxito en ratones Pompe, sin embargo, el medicamento se retiró en los ensayos clínicos de fase 3 por problemas de seguridad (23).

- Enzimas de ingeniería glucoquímica: injerto de un análogo sintético de M6P en rhGAA que conduce a un aumento significativo en la afinidad de la enzima recombinante por M6PR sin cambios en la actividad catalítica. Mejoró en gran medida la patología y función muscular incluso en ratones KO difíciles de tratar, mientras que rhGAA era inactiva (24).

- Regulación positiva del receptor CI-MPR por el agonista  $\beta$ 2 clenbuterol o albuterol: aumenta la eficacia de la terapia en modelos de ratón (25).

- Terapia emergente con chaperonas farmacológicas: se basa en la capacidad de estas pequeñas moléculas para promover el plegamiento, la estabilidad y el tráfico lisosomal de algunas enzimas mutantes. Además, se ha demostrado que las chaperonas tienen un efecto estabilizador sobre las enzimas recombinantes tal y como se observó en pacientes que recibieron ERT en combinación con el iminosugar N-butyldeoxynojirimycin (26). Se ha utilizado un enfoque similar combinando el iminosugar miglustat (conocido como AT2221) con ATB200, cuyo efecto está siendo investigado en un ensayo clínico de fase 2 en LOPD.

### 5.7.2. Terapia génica

La terapia génica consiste en la entrega de una copia funcional de un gen (transgén) en el tejido de un paciente sin reemplazar o eliminar la copia mutada del gen albergada dentro del propio genoma del paciente. Esta terapia se está desarrollando actualmente para el tratamiento de la enfermedad de Pompe, así como otros trastornos genéticos, y se basa en la *entrega del transgén dentro de un vector viral*.

Los estudios iniciales utilizaron adenovirus (Ad), virus adenoasociados (AAV) y retrovirus como vectores y demostraron la viabilidad de esta terapia génica (Tabla 3).

Vector viral	Logros/ventajas	Inconvenientes
Adenovirus (Ad)	Corrección sistémica de la patología muscular en ratones KO mediante la orientación hepática	-Seguridad -Elevada respuesta inmune
Retrovirus	Éxito in vitro en líneas celulares deficientes en GAA e in vivo en ratones KO	Seguridad: -Integración en sitios aleatorios → mutaciones no intencionadas o anulación de genes -Expresión de oncogenes cercanos
Virus adenoasociados (AAV)	-No patógenos -Infección de células replicantes y no replicantes -Requieren virus auxiliar para provocar infección -Baja inmunogenicidad -Múltiples serotipos: cada uno con tropismo de tejido específico (orientación más específica) -Seguridad: los recombinantes diseñados por ingeniería genética (rAAV)	-Tamaño limitado del transgén -Producción en títulos bajos

**Tabla 3.** Comparación de distintos vectores virales para la entrega del trasgén en la terapia génica para la enfermedad de Pompe. Adaptada de (5).

Dadas sus ventajas, los vectores AAV se han convertido en el mecanismo de administración aceptado para las terapias genéticas en la enfermedad de Pompe, que están siendo investigadas en ratones KO y en ensayos clínicos.

- Existen distintos puntos clave que influyen en el diseño de esta terapia génica:
- Lugar de administración, se plantean distintas estrategias:
    - Muscular: inyecciones directas de rAAV que expresa la proteína GAA, lo que resultó en un aumento de la expresión de esta enzima en ratones KO, pero la reducción de glucógeno se restringió al músculo inyectado, sin mejora significativa en otros músculos (27).
    - Sistema nervioso: en la administración espinal, intratecal o intracerebroventricular de AAV-GAA se observó una mejoría neuromuscular, aunque el almacenamiento de glucógeno muscular no se vio afectado (28-30).
    - Sistémica: vectores AAV de determinados serotipos que mejoran la eficacia; sin embargo, la respuesta inmune resulta un obstáculo porque se requieren altas dosis de vectores para lograr la eficacia terapéutica.
    - Sistémica e intradiafragmática: se demostró que esta administración de rAAV1-hGAA mejoró la función respiratoria en ratones KO (31, 32).
    - Intralingual: esta administración de AAV produjo una corrección temporal de la patología de la motoneurona en ratones KO (33).
  - Respuesta inmune: la *reactividad inmunitaria a la cápside viral y al producto transgénico codificado supone un gran desafío para traducir los avances de la terapia génica mediada por AAV a la clínica*. Puede ocurrir como causa de una ERT previa o si un paciente fue anteriormente infectado en su vida con AAV del mismo serotipo (los pacientes con inmunidad preexistente al virus de AAV de tipo salvaje tienen menos probabilidades de beneficiarse de la terapia). Cabe destacar que la respuesta inmunitaria ha sido controlada durante un ensayo clínico utilizando el agotamiento de células B por parte del fármaco rituximab para reducir la reactividad tanto a la cápside de AAV como al transgén GAA (34).

Sobre la base de estos estudios preclínicos, el primer **ensayo en humanos** de terapia génica diafragmática (AAV1-CMV-GAA) se realizó en cinco niños con IOPD que requirieron ventilación asistida antes del estudio. Éste demostró la seguridad del tratamiento pero el resultado clínico fue mínimo: no se detectaron mejoras en la función muscular ni en la diseminación del transgén GAA fuera del tejido inyectado. Sí se observó un aumento en el volumen tidal y el tiempo de tolerancia a la respiración sin asistencia (35).

Se planea un ensayo clínico adicional con un vector rAAV que contiene el gen GAA optimizado por codón bajo el control de un promotor de desmina humana (rAAV2/9-DES-hGAA). Debido a que la desmina se expresa altamente en el músculo, esto mejora los niveles de expresión del transgén. La función neural y cardiorrespiratoria mejoró después de la administración sistémica o intrapleural de este vector en ratones KO (36).

Otro enfoque en desarrollo es la **terapia génica dirigida al hígado**, basado en la infección con AAV8, que presenta un tropismo por las células hepáticas. El atractivo de este planteamiento, denominado "terapia génica inmunomoduladora", es doble:

- Induce tolerancia inmune a rhGAA activando células T reguladoras, lo que mejora además la eficacia de la ERT (ratones KO).
- Proporciona una expresión estable de GAA en el hígado (alta capacidad metabólica de este órgano para producir y secretar esta enzima), convirtiéndolo así en un depósito para la secreción continua de GAA y corrección cruzada en órganos distantes, mejorando el suministro sistémico (37).

Por tanto, en comparación con la terapia de reemplazo enzimático, la terapia génica podría ofrecer varios beneficios a los pacientes Pompe y suponer una alternativa de futuro si se continúa desarrollando (Tabla 4).

	<b>Terapia de reemplazo enzimático</b>	<b>Terapia génica</b>
<b>Frecuencia de administración</b>	Actualmente cada 2 semanas por goteo intravenoso durante 6-7h	Un tratamiento para toda la vida
<b>Precio</b>	Más cara	Potencialmente más barata
<b>Calidad percibida</b>	Más incómoda y molesta	Más cómoda
<b>Efectividad</b>	Actualmente mayor	En desarrollo, en un futuro potencialmente elevada
<b>Atraviesa la barrera hematoencefálica</b>	No	Sí, ciertos serotipos de AAV
<b>Afectada por respuestas inmunes</b>	Sí	Sí

**Tabla 4.** Comparación de la terapia de reemplazo enzimático y la terapia génica en el tratamiento de la enfermedad de Pompe. Adaptada de (5).

## Edición del genoma

La edición del genoma se lleva a cabo a través del *sistema CRISPR/Cas* (Repeticiones palindrómicas cortas agrupadas y regularmente interespaciadas/Sistema asociado a CRISPR). Actualmente se basa en la entrega de una secuencia guía de ARN (CRISPR) que detecta mutaciones en el genoma que la proteína Cas9 editará. El gen puede ser editado por unión final no homóloga (NHEJ) o *reparación dirigida por homología (HDR)*.

NHEJ conduce a mutaciones aleatorias por lo que las estrategias CRISPR que utilizan NHEJ no corrigen las mutaciones específicas de sitio encontradas en la mayoría de casos Pompe, en los cuales es deseable restaurar la proteína GAA funcional de longitud completa. En su lugar, son necesarias correcciones específicas de sitio a través de HDR, actualmente algo ineficientes en las células musculares debido a que las proteínas reparadoras del ADN que se requieren no están altamente expresadas (5).

### 5.7.3. Otros enfoques terapéuticos

Además de la terapia de reemplazo enzimático y la terapia génica, se han probado varios enfoques terapéuticos nuevos en modelos de ratones knockout para GAA, es decir, en estudios preclínicos:

- *La terapia de reducción de sustrato* para disminuir o incluso prevenir la acumulación de glucógeno. La inhibición de la glucogenina o la glucógeno sintasa, las dos enzimas principales involucradas en la síntesis de glucógeno, reduce la acumulación de glucógeno lisosomal y el tamaño lisosomal en mioblastos deficientes de GAA. La inhibición de la glucógeno sintasa in vivo revirtió las anomalías cardíacas, redujo el almacenamiento de glucógeno y la acumulación autofágica y mejoró la capacidad de ejercicio (38).
- *La supresión genética de la autofagia* mediante la inactivación selectiva de un gen autofágico crítico, *Atg7*, en los músculos esqueléticos (ratones *Atg7/GAA* doble knockout) resultó en una disminución significativa de la cantidad de glucógeno lisosomal almacenado. Además, una vez eliminada la acumulación autofágica, ERT funcionó notablemente bien (39).
- *La estimulación de la exocitosis lisosomal* es un enfoque prometedor en la terapia para los trastornos de almacenamiento lisosomal. Aprovecha la capacidad intrínseca de los lisosomas para experimentar exocitosis: un proceso de traslocación y acoplamiento a la membrana plasmática dependiente de calcio, seguido de fusión con la membrana y descarga del contenido lisosomal fuera de la célula. Surgió con el descubrimiento de la función de los factores de transcripción EB y E3 (estrechamente relacionado con EB pero incluso más atractivo por su abundancia en el músculo esquelético) en la regulación de la biogénesis lisosomal y autofagosomal. Ambos son capaces de unirse directamente a una secuencia de 10

pares de bases (denominada CLEAR: expresión y regulación lisosomal coordinada) en las regiones promotoras de muchos genes lisosomales y autofágicos (7). La sobreexpresión de EB o E3 en células musculares de Pompe indujo exocitosis lisosomal y promovió el aclaramiento de glucógeno (40).

## 6. CONCLUSIONES

La enfermedad de Pompe es un trastorno genético raro que se conoce desde hace más de 75 años, tiempo en el que se han logrado muchos avances en su entendimiento. Sin embargo, es igualmente cierto que aún no se ha encontrado un tratamiento eficaz.

El desarrollo de la terapia de reemplazo enzimático fue un logro importante y ha cambiado la historia natural de la enfermedad, extendiendo significativamente la vida útil de los pacientes. Su efecto más destacable ha sido en la patología cardíaca, en beneficio principal de los bebés; en contraste, la respuesta del músculo esquelético es variable y menos notoria.

Las limitaciones de la terapia de reemplazo enzimático han llevado a estimular la mejora de su eficacia y a desarrollar nuevos enfoques, incluida la terapia génica o la reexaminación de la patogenia del daño muscular buscando nuevos objetivos terapéuticos.

Además, la implementación mundial de la detección en recién nacidos permitirá un diagnóstico temprano y el inicio de la terapia antes de que se hayan producido cambios irreversibles en el paciente.

Finalmente, para abordar las enfermedades raras son necesarios planes nacionales y globales que diseñen una estrategia común para el diagnóstico genético, además de una digitalización de la información médica de los pacientes en bases de datos extensas de forma continua. A medida que todos estos cambios se implementen, se impondrá la medicina personalizada. Cuando llegue este momento, la frontera entre las enfermedades mayoritarias y las enfermedades raras se diluirá ya que es una división artificial nacida de las limitaciones para clasificar las patologías y ya no habrá más pacientes con enfermedades raras.

## 7. BIBLIOGRAFÍA

1. Molina Vázquez E. Coste y barreras a la accesibilidad de los Medicamentos Huérfanos. ¿Nudo Gordiano?. Sociedad Española de Bioquímica y Biología Molecular. 2018;195:22-6.
2. Palau F. Fenotipos, genes y moléculas: la necesidad de investigar en enfermedades raras. Sociedad Española de Bioquímica y Biología Molecular. 2018;195:12-6.
3. Palacín M. Investigación en enfermedades raras: una vía de dos sentidos. Sociedad Española de Bioquímica y Biología Molecular. 2018;195:17-21.
4. Ferreira CR, Gahl WA. Lysosomal storage diseases. Transl Sci Rare Dis. 2017;2(1-2):1-71.
5. Kohler L, Puertollano R, Raben N. Pompe Disease: From Basic Science to Therapy. Neurotherapeutics. 2018;15(4):928-42.
6. Kishnani PS, Steiner RD, Bali D, Berger K, Byrne BJ, Case LE, et al. Pompe disease diagnosis and management guideline. Genet Med. 2006;8(5):267-88.
7. Lim JA, Li L, Raben N. Pompe disease: from pathophysiology to therapy and back again. Front Aging Neurosci. 2014;6:177.
8. Pompe Center EUiR. Mutations in human acid alpha-glucosidase. [Internet]. Erasmus MC. [Consultado 15 enero 2019]. Disponible en: <http://cluster15.erasmusmc.nl/klgn/pompe/mutations.html?lang=en>.

9. de Filippi P, Ravaglia S, Bembi B, Costa A, Moglia A, Piccolo G, et al. The angiotensin-converting enzyme insertion/deletion polymorphism modifies the clinical outcome in patients with Pompe disease. *Genet Med*. 2010;12(4):206-11.
10. Nair V, Belanger EC, Veinot JP. Lysosomal storage disorders affecting the heart: a review. *Cardiovasc Pathol*. 2019;39:12-24.
11. Déu HSJd. Guía metabólica: Enfermedad de Pompe o glucogenosis tipo II. [Internet]. Hospital Sant Joan de Déu. [Consultado 5 marzo 2019]. Disponible en: <https://metabolicas.sjdhospitalbarcelona.org/sites/default/files/GSDII-Pompe-DIP-ES.pdf>.
12. Kishnani PS, Hwu WL, Mandel H, Nicolino M, Yong F, Corzo D. A retrospective, multinational, multicenter study on the natural history of infantile-onset Pompe disease. *J Pediatr*. 2006;148(5):671-6.
13. Chan J, Desai AK, Kazi ZB, Corey K, Austin S, Hobson-Webb LD, et al. The emerging phenotype of late-onset Pompe disease: A systematic literature review. *Mol Genet Metab*. 2017;120(3):163-72.
14. FILNEMUS et G2M FdSMR. Protocole National de Diagnostic et de Soins: Maladie de Pompe. [Internet]. Orphanet. [Consultado 6 febrero 2019]. Disponible en: [https://www.orpha.net/data/patho/PNDS/Maladie\\_de\\_pompe\\_FR\\_fr\\_PNDS.pdf](https://www.orpha.net/data/patho/PNDS/Maladie_de_pompe_FR_fr_PNDS.pdf).
15. Yang CF, Liu HC, Hsu TR, Tsai FC, Chiang SF, Chiang CC, et al. A large-scale nationwide newborn screening program for Pompe disease in Taiwan: towards effective diagnosis and treatment. *Am J Med Genet A*. 2014;164a(1):54-61.
16. Bodamer OA, Scott CR, Giugliani R. Newborn Screening for Pompe Disease. *Pediatrics*. 2017;140(Suppl 1):S4-s13.
17. Pascual-Pascual SI, Nascimento A, Fernandez-Llamazares CM, Medrano-Lopez C, Villalobos-Pinto E, Martinez-Moreno M, et al. [Clinical guidelines for infantile-onset Pompe disease]. *Rev Neurol*. 2016;63(6):269-79.
18. Ebbink BJ, Poelman E, Aarsen FK, Plug I, Regal L, Muentjes C, et al. Classic infantile Pompe patients approaching adulthood: a cohort study on consequences for the brain. *Dev Med Child Neurol*. 2018;60(6):579-86.
19. Prater SN, Banugaria SG, DeArmev SM, Botha EG, Stege EM, Case LE, et al. The emerging phenotype of long-term survivors with infantile Pompe disease. *Genet Med*. 2012;14(9):800-10.
20. Toscano A, Schoser B. Enzyme replacement therapy in late-onset Pompe disease: a systematic literature review. *J Neurol*. 2013;260(4):951-9.
21. Schoser B, Stewart A, Kanters S, Hamed A, Jansen J, Chan K, et al. Survival and long-term outcomes in late-onset Pompe disease following alglucosidase alfa treatment: a systematic review and meta-analysis. *J Neurol*. 2017;264(4):621-30.
22. Zhu Y, Jiang JL, Gumlaw NK, Zhang J, Bercury SD, Ziegler RJ, et al. Glycoengineered acid alpha-glucosidase with improved efficacy at correcting the metabolic aberrations and motor function deficits in a mouse model of Pompe disease. *Mol Ther*. 2009;17(6):954-63.
23. Maga JA, Zhou J, Kambampati R, Peng S, Wang X, Bohnsack RN, et al. Glycosylation-independent lysosomal targeting of acid alpha-glucosidase enhances muscle glycogen clearance in pompe mice. *J Biol Chem*. 2013;288(3):1428-38.
24. Basile I, Da Silva A, El Cheikh K, Godefroy A, Daurat M, Harmois A, et al. Efficient therapy for refractory Pompe disease by mannose 6-phosphate analogue grafting on acid alpha-glucosidase. *J Control Release*. 2018;269:15-23.
25. Koeberl DD, Li S, Dai J, Thurberg BL, Bali D, Kishnani PS. beta2 Agonists enhance the efficacy of simultaneous enzyme replacement therapy in murine Pompe disease. *Mol Genet Metab*. 2012;105(2):221-7.

26. Parenti G, Fecarotta S, la Marca G, Rossi B, Ascione S, Donati MA, et al. A chaperone enhances blood alpha-glucosidase activity in Pompe disease patients treated with enzyme replacement therapy. *Mol Ther.* 2014;22(11):2004-12.
27. Sun B, Zhang H, Franco LM, Brown T, Bird A, Schneider A, et al. Correction of glycogen storage disease type II by an adeno-associated virus vector containing a muscle-specific promoter. *Mol Ther.* 2005;11(6):889-98.
28. Qiu K, Falk DJ, Reier PJ, Byrne BJ, Fuller DD. Spinal delivery of AAV vector restores enzyme activity and increases ventilation in Pompe mice. *Mol Ther.* 2012;20(1):21-7.
29. Hordeaux J, Dubreil L, Robveille C, Deniaud J, Pascal Q, Dequeant B, et al. Long-term neurologic and cardiac correction by intrathecal gene therapy in Pompe disease. *Acta Neuropathol Commun.* 2017;5(1):66.
30. Lee NC, Hwu WL, Muramatsu SI, Falk DJ, Byrne BJ, Cheng CH, et al. A Neuron-Specific Gene Therapy Relieves Motor Deficits in Pompe Disease Mice. *Mol Neurobiol.* 2018;55(6):5299-309.
31. Mah C, Pacak CA, Cresawn KO, Deruisseau LR, Germain S, Lewis MA, et al. Physiological correction of Pompe disease by systemic delivery of adeno-associated virus serotype 1 vectors. *Mol Ther.* 2007;15(3):501-7.
32. Mah CS, Falk DJ, Germain SA, Kelley JS, Lewis MA, Cloutier DA, et al. Gel-mediated delivery of AAV1 vectors corrects ventilatory function in Pompe mice with established disease. *Mol Ther.* 2010;18(3):502-10.
33. Elmallah MK, Falk DJ, Nayak S, Federico RA, Sandhu MS, Poirier A, et al. Sustained correction of motoneuron histopathology following intramuscular delivery of AAV in pompe mice. *Mol Ther.* 2014;22(4):702-12.
34. Corti M, Elder M, Falk D, Lawson L, Smith B, Nayak S, et al. B-Cell Depletion is Protective Against Anti-AAV Capsid Immune Response: A Human Subject Case Study. *Mol Ther Methods Clin Dev.* 2014;1.
35. Smith BK, Collins SW, Conlon TJ, Mah CS, Lawson LA, Martin AD, et al. Phase I/II trial of adeno-associated virus-mediated alpha-glucosidase gene therapy to the diaphragm for chronic respiratory failure in Pompe disease: initial safety and ventilatory outcomes. *Hum Gene Ther.* 2013;24(6):630-40.
36. Falk DJ, Mah CS, Soustek MS, Lee KZ, Elmallah MK, Cloutier DA, et al. Intrapleural administration of AAV9 improves neural and cardiorespiratory function in Pompe disease. *Mol Ther.* 2013;21(9):1661-7.
37. Han SO, Ronzitti G, Arnson B, Leborgne C, Li S, Mingozi F, et al. Low-Dose Liver-Targeted Gene Therapy for Pompe Disease Enhances Therapeutic Efficacy of ERT via Immune Tolerance Induction. *Mol Ther Methods Clin Dev.* 2017;4:126-36.
38. Douillard-Guilloux G, Raben N, Takikita S, Ferry A, Vignaud A, Guillet-Deniau I, et al. Restoration of muscle functionality by genetic suppression of glycogen synthesis in a murine model of Pompe disease. *Hum Mol Genet.* 2010;19(4):684-96.
39. Raben N, Schreiner C, Baum R, Takikita S, Xu S, Xie T, et al. Suppression of autophagy permits successful enzyme replacement therapy in a lysosomal storage disorder--murine Pompe disease. *Autophagy.* 2010;6(8):1078-89.
40. Martina JA, Diab HI, Lishu L, Jeong AL, Patange S, Raben N, et al. The nutrient-responsive transcription factor TFE3 promotes autophagy, lysosomal biogenesis, and clearance of cellular debris. *Sci Signal.* 2014;7(309):ra9.