

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
Curso de Graduação em Farmácia-Bioquímica

**Análise da eficácia da terapia de reposição enzimática aplicada à
Doença de Pompe e os principais desafios futuros.**

Emilio Nunes Garcia

Trabalho de Conclusão do Curso de
Farmácia-Bioquímica da Faculdade de
Ciências Farmacêuticas da
Universidade de São Paulo.

Orientador:

Prof. Dr. Joilson de Oliveira Martins

São Paulo

2019

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS	1
1. INTRODUÇÃO	3
1.1. Doença de Pompe	3
1.2. Histórico	5
1.3. Epidemiologia.....	7
1.4. Enzima ácido alfa-glicosidase (GAA).....	8
1.5. Fisiopatologia	10
1.6. Diagnóstico.....	12
1.6.1. Manifestações clínicas	12
1.6.2. Análise enzimática	15
1.6.3. Análise genética	15
1.7. Tratamento.....	16
1.8. Farmacoeconomia.....	17
2. OBJETIVO(S).....	18
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	19
3.1. Estratégias de pesquisa	19
3.2. Critérios de inclusão	19
3.3. Critérios de exclusão	20
4. RESULTADOS.....	20
4.1. Variante clássica	20
4.2. Variante tardia	21
4.3. Novas abordagens terapêuticas.....	23
4.3.1. Supressão genética de mecanismos autofágicos	23
4.3.2. Estratégias relacionadas com terapia genética.....	23
5. DISCUSSÃO	24
5.1. Variante clássica	24
5.2. Variante tardia	25
6. CONCLUSÃO.....	25
7. BIBLIOGRAFIA.....	27

LISTA DE ABREVIATURAS

ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
GSDII	Doença do armazenamento do glicogênio tipo II / <i>Glicogen Storage Disease</i>
M6P	Manose-6-fosfato
EMA	<i>European Medicines Agency</i>
GAA	Enzima ácido alfa-glicosidase
CK	Creatina quinase
PAS	Coloração ácido periódico-Schiff
TRE	Terapia de reposição enzimática
QALY	<i>Quality-adjusted life-years</i>
CVF	Capacidade vital forçada

RESUMO

GARCIA, E. N. **Análise da eficácia da terapia de reposição enzimática aplicada à Doença de Pompe e os principais desafios futuros**. 2019. 31p. Trabalho de Conclusão de Curso de Farmácia-Bioquímica – Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2019.

Palavras-chave: Doença de Pompe; Terapia de Reposição Enzimática; Enzima Ácido Alfa-Glicosidase; Autofagia

INTRODUÇÃO: A doença de Pompe é uma desordem neuromuscular rara, autossômica recessiva, causada por uma deficiência da enzima ácido alfa-glicosidase (GAA), resultando principalmente no acúmulo de glicogênio nos lisossomas de diversos tecidos, em especial nos músculos esquelético, cardíaco e liso. O acúmulo progressivo de glicogênio nesses tecidos leva à debilitação clínica, falência de órgãos e sistemas e, muitas vezes, à morte. **OBJETIVO:** Discutir as linhas terapêuticas para o tratamento da Doença de Pompe, através da caracterização do processo de produção de enzimas recombinantes utilizadas no tratamento dessa doença, sua efetividade e os diversos fatores envolvidos que podem levar a resistência do organismo durante o tratamento da doença. Outro ponto a ser abordado diz respeito à análise das perspectivas para o futuro no tratamento dessa doença, como, por exemplo, através da modulação autofágica. **MATERIAL E MÉTODOS:** Serão revisados artigos científicos, encontrados através da busca em bancos de dados relevantes, como o PubMed e em websites de organizações públicas e privadas, nacionais e internacionais nos últimos 10 anos. **RESULTADOS:** Reunir dados de artigos recentes que discutam a caracterização da doença de Pompe e os principais métodos utilizados no tratamento dessa doença, indicando os parâmetros avaliados que sugerem melhoria das manifestações clínicas dos pacientes, além de descrever sobre a efetividade da terapia de reposição enzimática e as possíveis novas abordagens terapêuticas que beneficiaram os pacientes portadores da doença. **CONCLUSÃO:** A opção de tratamento atualmente presente no mercado apresenta uma boa eficácia e segurança, modificando consideravelmente o curso natural da doença. Novas abordagens terapêuticas estão sendo desenvolvidas de forma a garantir a diminuição da imunogenicidade desencadeada pela enzima recombinante, com destaque para as terapias genéticas.

1. INTRODUÇÃO

1.1. Doença de Pompe

A doença de Pompe, também conhecida como doença de armazenamento do glicogênio tipo II ou deficiência de maltase ácida lisossomal, caracteriza-se como uma desordem neuromuscular rara, autossômica recessiva, causada por uma deficiência da enzima ácido alfa-glicosidase (GAA), resultando no armazenamento inadequado de glicogênio dentro dos lisossomas de diversos tecidos, em especial nos músculos esquelético, cardíaco e liso. O acúmulo progressivo de glicogênio nesses tecidos leva à debilitação clínica, falência de órgãos e sistemas e, muitas vezes, à morte (KISHNANI et al., 2014; KUHN et al., 2014).

Como resultado dessa deficiência, o espectro clínico manifestado pela doença de Pompe é bastante amplo e seus sintomas podem se manifestar em qualquer idade, sendo este um fator importante na caracterização dos sintomas, uma vez que afeta diretamente a taxa de progressão da doença e o fenótipo clínico geral (CHAN et al, 2016). Com isso, podemos definir duas principais variantes clínicas: a forma de início infantil (ou de apresentação clássica), manifestada até o primeiro ano de vida e, a forma de início tardio, que acomete pacientes com mais de 1 ano de idade.

A forma infantil é a variante mais grave da doença, como início de sinais e sintomas já nas primeiras semanas de vida, caracterizada por cardiomiopatia hipertrófica progressiva, hipotonia e morte por insuficiência cardiorrespiratória, tipicamente antes dos 2 anos de idade. Já a variante de início tardio, se manifesta após os 12 meses de idade e está associada por fraqueza progressiva, predominantemente nos musculatura proximal dos membros inferiores e nos músculos respiratórios, que podem acarretar na morte do indivíduo afetado pela doença (HIRSCHHORN et al., 2001).

A Tabela 1 resume as principais características das duas formas da doença:

Tabela 1 – Principais características da Doença de Pompe

Características	Variante Infantil	Variante Tardia
Início da Doença	Logo após o nascimento	Em qualquer momento da vida
Atividade GAA	Atividade de < 1%	Atividade de 2% a 40% - pode variar entre os diferentes tipos de tecidos
Evolução clínica	<p>Rápida</p> <p>Deposição de glicogênio nos tecidos cardíacos e dos músculos esqueléticos resultando em cardiomiopatia progressiva, fraqueza muscular generalizada e hipotonia.</p> <p>Comprometimento da capacidade respiratória, devido ao enfraquecimento dos músculos do diafragma e de outros músculos respiratórios.</p> <p>Dificuldade de alimentação e perda de peso.</p> <p>Desenvolvimento motor atrasado, acompanhado de fraqueza muscular.</p> <p>Aumento do fígado e em alguns casos macroglossia.</p> <p>Desenvolvimento mental preservado.</p>	<p>Variada</p> <p>Caráter clínico mais heterogêneo (maior variação na apresentação clínica e na progressão da doença).</p> <p>Entre os jovens (2- 18 anos) não apresenta envolvimento cardíaco grave.</p> <p>Forma adulta acima dos 20 é caracterizada por progressão mais lenta da doença, acometendo principalmente os músculos esqueléticos.</p> <p>Os principais sintomas estão relacionados com a disfunção muscular esquelética progressiva.</p> <p>Maior dependência de utilização cadeiras de rodas e necessidade de ventilação assistida.</p> <p>A principal causa de óbito dessa variante está ligada a insuficiência respiratória ocasionada na evolução da</p>

		doença.
Desfecho da doença	Morte precoce (em geral dos 6 aos 9 meses de idade) devido à falência cardiorrespiratória	A estimativa da morte varia e depende da taxa de progressão da doença, grau de envolvimento dos músculos respiratórios e outras comorbidades.

Fonte: Adaptado de CCATES, 2014.

1.2. Histórico

A doença de Pompe foi primeiramente descrita em 1932 por um médico holandês, Joannes Cassianus Pompe após observação de um bebê apresentando severa fraqueza muscular e hipertrofia do coração (CUPLER, 2012). A autópsia revelou grandes quantidades de glicogênio acumuladas dentro de vesículas membranosas no interior de fibras musculares cardíacas e em outros tecidos (SILVA, 2012).

A base metabólica da doença de Pompe foi descoberta anos depois, em 1963, devido a uma série de investigações em duas áreas que seriam a bioquímica e a biologia celular. Primeiramente, foi realizado o delineamento da via metabólica normal do glicogênio, que permitiu uma nova classificação de doenças devido ao metabolismo patológico do glicogênio. Com isso, a doença de armazenamento do glicogênio do tipo II (GSDII) foi considerada como uma das desordens mais severas desse tipo de armazenamento. Isso porque, diferentemente de outras desordens de armazenamento do glicogênio, a GSDII não apresentava defeito na via metabólica de degradação do glicogênio e o glicogênio estocado não apresentava defeitos em sua estrutura (HIRSCHHORN et al., 2001).

Nesse mesmo período, estudos na área da biologia celular permitiram identificar e caracterizar os lisossomos, uma organela membranosas que contém

uma variedade de enzimas hidrolíticas, todas ativas em pH ácido e capazes de degradar várias ligações presentes nas macromoléculas.

Baseando-se nesses dois avanços, HERS (1963), descreveu a enzima alfa-glicosidase presente nos lisossomos, capaz de liberar glicose e maltose através do metabolismo de degradação do glicogênio. A descrição da deficiência dessa enzima foi a primeira das aproximadamente 40 desordens de armazenamento lisossomal descobertas.

Em 1970, foi publicado o primeiro artigo que descrevia a forma de início tardio da doença. Anos mais tarde, o gene responsável pela doença foi localizado no cromossomo 17. Também nesse período, houve a primeira tentativa de tratar um paciente através de transplante de medula óssea, porém sem obtenção de sucesso (WATSON et al., 1986).

As primeiras tentativas de terapia utilizando GAA purificado obtido através de placenta humana foi relatado em 1973 e, novamente, o tratamento não foi bem-sucedido (BARSY, 1973). Até aquele presente momento os pesquisadores não sabiam da necessidade de receptores específicos que possibilitassem a captação de enzimas lisossomais exógenas, que futuramente identificou-se que seria o receptor manose-6-fosfato (M6P).

Em 1991, camundongos Swiss com 6 semanas de idade foram tratados com a enzima GAA isolada de testículos bovinos. Os resultados comprovaram a captação in vivo de GAA no músculo (VAN DER PLOEG et al, 1991).

Os testes clínicos em humanos, por sua vez, tiveram início no final da década de 90 e as enzimas eram obtidas de duas formas distintas. A primeira era originária de leite de fêmeas de coelhos transgênicos e segunda, provinha do cultivo de células de ovário de hamsters chineses. O resultado do estudo clínico revelou que as enzimas apresentavam características farmacodinâmicas muito semelhantes (MCVIE-WYLIE, 2008).

Em 2006, o Food and Drug Administration (FDA) e a European Medicines Agency (EMA) aprovaram a ácido alfa-glicosidase para ser utilizada na terapia de reposição enzimática, devido aos resultados favoráveis obtidos em um primeiro ensaio clínico contendo 18 paciente que apresentavam a forma infantil da doença.

Com isso, a doença de Pompe foi a primeira miopatia metabólica hereditária com tratamento disponível no mercado, possibilitando alterar a história natural da doença, especialmente a da forma infantil (HIRSCHHORN et al., 2001).

Para os pacientes com mais de 8 anos de idade, o FDA aprovou em 2011 o tratamento uma outra forma da enzima ácido alfa-glicosidase, com base na publicação de resultados de um estudo de TRE randomizado, duplo cego, controlado com placebo, para essa população desde que não apresentem risco cardíaco, ou seja, é uma enzima com caráter mais específico indicada para o tratamento da forma tardia da doença (STROTHOTTE, 2010).

1.3. Epidemiologia

Por se tratar de uma doença rara, estima-se que sua incidência seja da ordem de aproximadamente 1:40.000 nascimentos vivos (CUPLER et al., 2012). Assim como outras doenças genéticas, a doença de Pompe pode ter uma incidência maior do que a realmente relatada, devido a dificuldades encontradas em relação ao diagnóstico, em especial para as variantes tardias (SILVA, 2012).

Cabe ressaltar ainda que estudos comparativos verificaram que existe uma variação dentre os diferentes grupos étnicos, sendo que os Afro-Americanos apresentaram a maior incidência reportada, representando uma proporção de cerca de 1:14.000 indivíduos afetados (STEWART, 2010).

As diferenças das incidências da doença de Pompe podem ser encontradas na Tabela 2.

Tabela 2 – Incidência da doença de Pompe nas diferentes populações.

População	Incidência	Referência
Afro-Americanos	1:14.000	(HIRSCHHORN et al., 2001).
Holandeses	1:40.000 (combinado*) 1:138.000 (variante infantil) 1:57.000 (variante tardia)	(AUSEMS et al, 1999 ; POORTHUIS et al, 1999)
Estados Unidos	1:40.000 (combinado)	(MARTINIUK et al., 1998)
Sul da China/Taiwan	1:50.000	(LIN et al., 1987)
Descendentes europeus	1:100.000 (variante infantil) 1:60.000 (variante tardia)	(MARTINIUK et al., 1998)
Austrália	1:145.000	(MEIKLE et al., 1999)
Portugal	1:600.000	(PINTO et al., 2004)

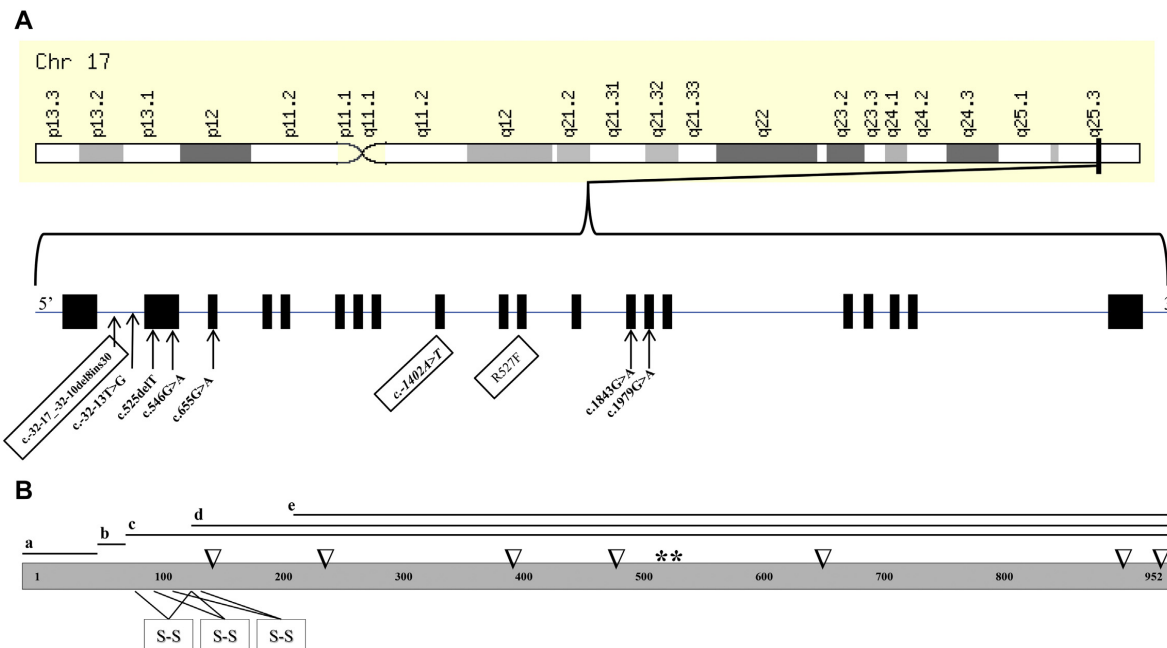
* Combinado = todos os fenótipos da doença de Pompe.

Fonte: LESLIE, N. e BAILEY, L. (2019)

1.4. Enzima ácido alfa-glicosidase (GAA)

O gene humano (Figura 1) responsável pela enzima GAA está localizado no cromossomo 17, contém aproximadamente 28 kb de comprimento e possui 20 éxons (MARTINIUK et al., 1998). No retículo endoplasmático, é realizada uma reação de glicosilação na sua forma precursora e, posteriormente, a proteína é direcionada para os lisossomos que são captados via receptores M6P (TSUJI et al., 1988).

Figura 1 – Representação esquemática do local genômico (A) e da estrutura (B) da GAA.



Legenda: O GAA está localizado na região chr17q25.3 e consiste em 20 éxons que codificam 952 aminoácidos. Mutações (variantes do DNA) identificadas neste estudo são mostradas de acordo com sua respectiva posição genômica. O GAA possui 4 isoformas (a – d), 2 sítios cataliticamente ativos (*), 3 ligações dissulfeto (s-s) e 7 sítios de glicosilação ligada a N (▼). **Fonte:** DASOUKI, M. et al. (2014).

A inserção de resíduos de M6P nas enzimas lisossomais é o resultado da modificação pós-traducional realizada por fosfotransferase e N-acetilglucosaminidase localizada no complexo de Golgi. Após adição de resíduos de M6P no complexo de Golgi, as enzimas lisossomais são reconhecidas por M6Ps independentes de cátions e M6Ps dependentes de cátions, que finalmente translocam as enzimas aos lisossomas (ZHU et al., 2005)

Após a remoção de uma sequência da forma precursora de 110 kDa, ocorre clivagem proteolítica no lisossoma levando à forma intermediária (95 kDa) e por fim, às formas lisossômicas totalmente ativas (76 e 67 kDa). Essas duas últimas formas de GAA são responsáveis por efetuar a degradação do glicogênio em glicose (GEEL, 2007).

Cabe ressaltar que para a Doença de Pompe, a forma infantil da doença está atrelada à ausência total de produção dessa enzima anteriormente descrita. Já para a forma de início tardio, verifica-se que há muito mais variantes no genótipo, devido a possíveis mutações ocorridas que prejudicam a produção dessa enzima ou que a tornam menos eficiente na degradação do glicogênio. Dessa forma, constata-se a existência de uma maior complexidade com relação a fisiopatologia da doença de Pompe.

1.5. Fisiopatologia

A baixa ou ausência de atividade da enzima GAA acarreta no acúmulo de glicogênio dentro das pequenas organelas intracelulares denominadas de lisossomas e, também, no citoplasma celular. Sendo que esse acúmulo é o principal responsável por originar danos nas células e disfunções em todo o corpo humano.

Verifica-se que a ausência de degradação do glicogênio, por sua vez, estimula uma intensa resposta autofágica nos mioblastos. Essa resposta autofágica acoplada com a incapacidade das vesículas de se fundirem e descarregarem seus conteúdos nos lisossomos pode levar a um acúmulo autofágico contínuo e uma intensa desorganização da estrutura dos microtúbulos, que podem perpetuar o processo autofágico resultando no comprometimento das principais funções das fibras musculares (SILVA, 2012).

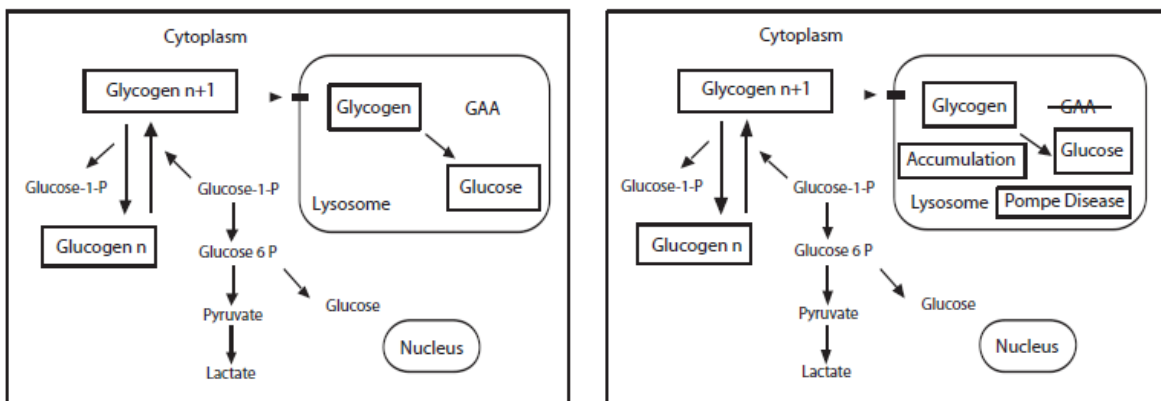
Em um estudo realizado por THURBERG et al (2006)., analisou-se as principais alterações estruturais dos miócitos de pacientes com a doença, por meio de microscopia eletrônica, no qual foi possível classificar a progressão da doença em cinco fases. Inicialmente, descreveu-se o aumento do acúmulo de glicogênio, levando ao aumento no tamanho e no número de lisossomos. Nos próximos estágios, verificou-se o rompimento das membranas dos lisossomos preenchidos com glicogênio. Como consequência, há a liberação de glicogênio lisossomal no citoplasma, permitindo que a arquitetura mitocondrial se tornasse aberrante. Esse fenômeno consegue explicar as queixas de fadiga dos pacientes.

Na última etapa, as células acabam aumentando muito o seu volume devido a intensa absorção de água promovida com a finalidade de diluir o glicogênio em excesso.

Além da atividade deficiente da enzima nas células, pode-se destacar algumas outras características diferenciais da doença de Pompe: no plasma, verifica-se o aumento da creatina quinase (CK) em até dez vezes, enquanto no fígado há o aumento das transaminases hepáticas. Em biópsias dos músculos, verifica-se a presença de vacúolos no lisossomo por meio da utilização da coloração ácido periódico-Schiff (PAS), com aumento da coloração pela fosfatase ácida.

A Figura 2 representa esquematicamente a patogênese da doença de Pompe.

Figura 2 – Patogênese da Doença de Pompe



Legenda: No citoplasma, o glicogênio é quebrado em glicose que pode servir como fonte de energia ou para a manutenção dos níveis de glicose no sangue. Nos períodos de renovação celular, o glicogênio aumenta sua concentração dentro dos lisossomos. No lisossomo, a enzima GAA é a única capaz de realizar a degradação do glicogênio (A). Com a sua deficiência (B), ocorre um acúmulo substancial do glicogênio dentro dos lisossomos, resultando na sua expansão, dano celular e disfunção. **Fonte:** GEEL, T. M. et al. (2007).

1.6. Diagnóstico

Algumas das principais abordagens em se tratando do diagnóstico da doença de Pompe, envolvem análises de exames laboratoriais, análise de atividade enzimática e análises genéticas adequadas, juntamente com a avaliação clínica de profissionais capacitados, com a finalidade de confirmar corretamente a doença, visto que muitos dos sinais e sintomas podem ser confundidos com outras doenças de caráter mais comuns (FERREIRA, 2014).

Em se tratando de diagnóstico, a forma infantil apresenta uma maior homogeneidade frente às manifestações clínicas apresentadas pelo paciente, enquanto a forma de início tardio apresenta uma heterogeneidade maior que dificulta o estabelecimento correto do diagnóstico. A dificuldade de traçar o correto diagnóstico reside na raridade da condição e na natureza relativamente inespecífica das características fenotípicas que em conjunto podem levar à suspeita da doença de Pompe.

1.6.1. Manifestações clínicas

Devido à grande heterogeneidade das manifestações clínicas da doença de Pompe e por estas se assemelharem a diversos outros distúrbios descritos em literatura, torna-se importante estabelecer comparações, tais como as apresentadas nas Tabelas 3 e 4, que trazem as informações acerca dos diagnósticos diferenciais mais comuns para as duas variantes da doença, com destaque para a inclusão de um amplo conjunto de miopatias e distúrbios motores, bem como outros distúrbios relacionados a problemas cardíacos (KISHANANI, 2006).

Tabela 3 – Diagnóstico diferencial da Doença de Pompe – variante infantil

Diagnóstico Diferencial	Sinais e sintomas compartilhados
Doença aguda de Werdnig-Hoffman (Atrofia Muscular Espinal I)	Hipotonia, miopatia proximal progressiva, reflexos ausentes
Hipotireoidismo	Hipotonia, macroglossia
Fibroelastose endocárdica	Falta de ar, dificuldade de alimentação, cardiomegalia, insuficiência cardíaca
Miocardite	Cardiomegalia
Distrofia muscular congênita	Hipotonia severa e fraqueza muscular
Doenças de armazenamento de glicogênio: IIIa (deficiência de Debrancher / doença de Cori ou Forbes e IV (deficiência de enzima ramificada / doença de Anderson)	Cardiomegalia, miopatia, elevação da creatina quinase (CK)
Transtornos mitocondriais	Hepatomegalia, fraqueza muscular, cardiomegalia, elevação da creatina quinase (CK)
Doença de Danon	Cardiomegalia, cardiomiopatia, miopatia, armazenamento de glicogênio vacuolar
Cardiomiopatia hipertrófica idiopática	Hipertrofia biventricular
Distúrbios peroxissômicos	Hipotonia, hepatomegalia

Fonte : KISHNANI, P. S. et al. (2006).

Tabela 4 – Diagnóstico diferencial da Doença de Pompe – variante tardia

Diagnóstico Diferencial	Sinais e sintomas compartilhados
Distrofia muscular de cinturas de membros (LGMD)	Fraqueza muscular progressiva na pelve, pernas e ombros
Distrofia muscular de Becker (DMO)	Fraqueza muscular proximal progressiva, comprometimento respiratório, dificuldade para deambular, elevação da creatina quinase (CK)
Síndrome escapuloperoneal	Fraqueza muscular progressiva atrás dos joelhos e ao redor das omoplatas
Síndrome da coluna rígida	Rigidez da coluna vertebral, dor lombar
Miastenia grave	Fraqueza muscular generalizada
Atrofia muscular espinhal	Fraqueza muscular assimétrica, atrofia dos músculos voluntários
Polimiosite	Fraqueza muscular inexplicada
Doenças de armazenamento de glicogênio: IIIa (deficiência de Debrancher / doença de Cori ou Forbes, IV (deficiência de enzima ramificada / doença de Anderson), V (deficiência de fosforilase muscular / doença de McCardle) e VII (deficiência de fosfofrutoquinase muscular / doença de Tauri)	Hipotonia, hepatomegalia, fraqueza muscular, elevação da creatina quinase (CK)
Artrite reumatóide	Rigidez / dor ao esforço
Miopatias mitocondriais	Hipotonia, hiporreflexia, hepatomegalia. Algumas formas com cardiomiopatia hipertrófica,

	fraqueza muscular, elevação da creatina quinase (CK)
--	--

Fonte : KISHNANI, P. S. et al. (2006).

1.6.2. Análise enzimática

O diagnóstico clínico é tradicionalmente confirmado pela ausência (variante infantil) ou pela redução acentuada da atividade GAA (tardia) em tecidos como fibroblastos cultivados de biópsia de pele, biópsia muscular, linfócitos purificados, células mononucleares e linhas celulares linfoides. Dados da literatura indicam que a atividade enzimática na forma infantil seja <1% e na forma tardia, haja uma variação da atividade entre 2-40% do normal.

A medição da atividade GAA através do cultivo de fibroblastos da pele é considerado o padrão ouro atual. Para isso, é necessário realizar a cultura de células obtidas por biópsia de pele até a realização do ensaio enzimático, porém esse processo pode levar de 4 a 6 semanas para ficar pronto e, assim, ocasionar um atraso significativo para o diagnóstico. Outra possibilidade é a realização da biópsia do tecido muscular, apesar de mais ser uma abordagem mais invasiva, permite mensurar a atividade da enzima α -glicosidase muscular e o conteúdo de forma rápida e direta.

1.6.3. Análise genética

O primeiro programa de triagem neonatal para a doença de Pompe foi realizado em Taiwan, durante o período de 2005 e 2007, no qual foi coletada as informações de cerca de metade dos recém-nascidos do período. A atividade da enzima foi medida a partir do teste da mancha de sangue seco. Esse teste possibilita que o diagnóstico seja fornecido com maior antecedência (menos de

um mês de vida), quando comparado com os grupos controles que obtiveram o diagnóstico em torno dos 3 a 6 meses de vida (CHIEN et al., 2008).

Para minimizar a chance de ocorrência de falsos positivos, YANG et al. (2014) desenvolveram um protocolo de que inclui a combinação de parâmetros contendo baixa atividade de GAA em teste de mancha de sangue seco ($\leq 0,5$ $\mu\text{mol/L/h}$) com hipotonia, elevado nível de CK (≥ 250 U/L) e índice de massa ventricular esquerda elevado (LVMI ≥ 80 g/m²).

Os autores desse estudo argumentam que os benefícios de uma TRE precoce para indivíduos portadores da doença superam o baixo risco de efeitos adversos associados à administração do medicamento.

A recomendação do *Advisory Committee on Heritable Disorders in Newborns and Children* (ACHDNC) para adicionar a doença de Pompe na lista de desordens recomendadas para a triagem neonatal foi aprovada em 2015 e implementado em vários estados dos Estados Unidos.

Com relação a abordagem genética, recomenda-se também o oferecimento de aconselhamento genético a todos os pais que possuem filhos afetados com doença e a todos os adultos que a desenvolveram ao longo da vida. Ainda é recomendável realizar testes genéticos capazes de determinar as diferentes mutações relacionadas com a deficiência de produção da GAA.

1.7. Tratamento

O principal tratamento para a Doença de Pompe atualmente consiste na terapia de reposição enzimática (TRE), cujo objetivo é reposição da enzima que se encontra deficiente ou ausente nos indivíduos portadores dessa doença. O medicamento está sendo comercializado desde 2006, após aprovação das agências reguladoras FDA e EMA (SILVA, 2012).

No Brasil, o medicamento para o tratamento da doença foi aprovado em 2007 e diferentemente de outros países, a indicação presente em bula não limita a idade para o uso do medicamento (ANVISA).

Os resultados obtidos com essa terapia demonstram a melhoria dos quadros de pacientes que apresentam a forma de início infantil, principalmente quando o tratamento já é iniciado precocemente. Já os estudos com pacientes com que apresentam a forma de início tardio demonstraram que com esse tratamento foi possível obter resultados satisfatórios, inclusive com a estabilização da progressão da doença (KISHNANI et al., 2014). Os principais desafios encontrados estão relacionados com os pacientes que apresentam resistência a esse tratamento e que, portanto, necessitariam de novas abordagens terapêuticas, diferentes das utilizadas, como por exemplo, a abordagem de terapias de modulação gênica. Alguns estudos investigam tratamento combinado com a modulação autofágica e traz novas perspectivas para o tratamento dessa doença (LIM et al., 2018).

1.8. Farmacoeconomia

O primeiro estudo referente ao custo-benefício do atual tratamento disponível para a doença de Pompe foi realizado por KANTERS et al. (2014). Nesse estudo, foi utilizado um modelo de simulação de paciente que comparava os custos da terapia de reposição enzimática com os custos de terapias de suporte, que incluía, por exemplo, ventilação (noturna), cirurgia de correção de escoliose ou suporte nutricional adequado. Esse modelo se baseou em dados de sobreviventes, de qualidade de vida e custos dispendidos em pacientes holandeses que apresentavam a forma infantil da doença.

Através dos dados disponíveis, calculou-se a relação custo-benefício, utilizando-se um modelo farmacoeconômico que usa os anos de vida ajustados pela qualidade (*quality-adjusted life-years* – QALY) como medida de benefício e hipóteses sobre o curso da doença. O custo por QALY foi estimado em € 1,0 milhão, sendo que o custo por ano de vida ganho foi de 0,5 milhões de euros.

No Brasil, a posologia indicada na bula do medicamento recomenda o uso de 20 mg/ kg de peso corpóreo administrados a cada duas semanas como infusão intravenosa, sendo que o medicamento registrado se encontra na forma farmacêutica de pó liofilizado contendo 50 mg (ANVISA). O preço fábrica atual da apresentação registrada com 0% de ICMS registrado na Câmara de Regulação do Mercado de Medicamentos (CMED) é de R\$ 1.494,45. O racional utilizado para a construção da Tabela 5 baseou-se no peso médio de uma criança de até um ano e um adulto para determinar qual seria o custo mensal e anual do tratamento de um indivíduo portador da doença.

Através desse racional, foi possível estimar o custo de tratamento no Brasil, conforme os dados da tabela abaixo:

Tabela 5: Custo do tratamento no Brasil

	Peso	Número de aplicações/mês	Custo /Mês (R\$)	Custo/Ano (R\$)
Infantil	10	8	11.955,60	143.467,20
Tardia	70	56	83.689,20	1.004.270,40

Fonte: Adaptado de CCATES, 2014.

2. OBJETIVO(S)

Através da teoria explicitada anteriormente, propõe-se apresentar uma visão geral da efetividade do tratamento atual para a Doença de Pompe e os mecanismos utilizados como tratamento dessa enfermidade, discutindo os principais benefícios clínicos alcançados com essa terapia. Além disso, planeja-se avaliar a existência de novas maneiras e abordagens clínicas que estão potencialmente levando a um diagnóstico mais preciso da doença.

Para isso, será realizada a caracterização do processo de produção de enzimas recombinantes utilizadas no tratamento dessa doença, sua efetividade e os diversos fatores envolvidos que podem levar a resistência do organismo durante o tratamento da doença. Outro ponto a ser abordado diz respeito à análise

das perspectivas para o futuro no tratamento dessa doença, como, por exemplo, através da modulação autofágica e tratamentos genéticos.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Estratégias de pesquisa

A estratégia adotada consiste em uma revisão bibliográfica, através de busca de artigos científicos publicados nos últimos 10 anos (de 2009 a 2019). A consulta foi efetuada nas principais bases de dados como PubMed, SciFinder, Web of Science, dentre outras que venham a apresentar dados relevantes. Para isso serão utilizadas as seguintes palavras chaves, isoladamente ou relacionadas entre si: Doença de Pompe; Terapia de Reposição Enzimática; Enzima Ácido Alfa-Glicosidase; Autofagia e seus correspondentes em inglês. Ao todo, foram verificados 18 trabalhos relevantes que contribuíram para a elaboração da revisão.

3.2. Critérios de inclusão

Para a literatura selecionada, o critério de inclusão utilizado compreendeu a busca de publicações nas línguas portuguesa e/ou inglesa; publicações cujo conteúdo estivesse em conformidade aos objetivos deste trabalho e, finalmente, publicações recentes a partir de 2009, ou anteriores caso sejam de grande relevância ao trabalho. Ao todo, foram incluídos 16 artigos que traziam dados clínicos para as variantes infantil e tardia.

3.3. Critérios de exclusão

Dentre a pesquisa realizada, excluiu-se dois artigos que não apresentavam dados clínicos relevantes dentro da proposta. Cabe ressaltar que não foram encontrados nenhuma duplicata de dados clínicos dos estudos utilizados que permitissem sua exclusão.

4. RESULTADOS

A eficácia da terapia de reposição enzimática pode ser melhor analisada através da separação dos dados relevantes entre as principais variantes da Doença de Pompe - variante clássica ou infantil e a variante não clássica ou tardia.

4.1. Variante clássica

Devido a questões relacionadas com a pouca idade e a rápida progressão da doença para esse grupo, poucos dados da literatura puderam ser obtidos. A maior parte dos dados estavam relacionados ao período de estudos clínicos que facilitaram a aprovação do medicamento e assim permitiram corroborar sua eficácia e inserção no mercado.

Em um dos estudos observados em 2007, foi obtido o resultado de um ensaio clínico contendo 18 pacientes com menos de 6 meses de idade, que não dependiam de um auxílio externo para respirar. O tempo de tratamento observado nesse estudo foi de 52 semanas. Nele, demonstrou-se que a terapia melhorou significativamente a cardiomiopatia e função cardíaca, reduzindo drasticamente o risco de morte (em cerca de 99%) e o risco de ventilação de suporte invasivo (em

cerca de 92%), quando comparado com os resultados de um estudo de coorte histórico de pacientes que não haviam recebido tratamento.

Apesar dos resultados favoráveis em primeiro momento, a melhora significativa no desempenho motor dos pacientes só foi observada em um dos subgrupos tratados (KISHNANI, 2007).

Um novo estudo foi realizado, no qual acompanhou-se os pacientes por um longo período (até 3 anos), no qual foram verificadas queda na taxa de sobrevivência para 67,5%, o número de pacientes que se tornaram dependentes de ventilação externa aumentou para 50% e apenas 40% dos pacientes que inicialmente aprenderam a caminhar continuaram a fazê-lo (KISHNANI, 2009).

Uma análise retrospectiva realizada na Alemanha entre 2003 e 2010, revelou que dos 23 pacientes tratados, por pelo menos 30 meses, 60% dos pacientes morreram ou se tornaram dependentes de ventilação; 30% dos pacientes não tiveram melhora no desempenho motor e metade dos pacientes com melhora inicial positiva, apresentaram piora da resposta durante o curso da doença (HAHN et al., 2015). No Reino Unido, um estudo com 20 pacientes também apresentou dados inferiores aos observados nos estudos clínicos, em que 35% dos pacientes faleceram com média de 10 meses de idade e 30% eram dependentes de ventilação (CHAKRAPANI et al., 2010).

4.2. Variante tardia

Desde a introdução da TRE, vários estudos observacionais abertos e relatos de casos individuais sobre o efeito da terapia doença de pompe de início tardio foram publicados.

Esses estudos forneceram evidências de um efeito benéfico da TRE, mas a resposta à terapia variou significativamente entre os pacientes. Na maioria dos pacientes, o tratamento foi associado à melhora no caminhar, algum grau de melhoria da função motora, um aumento na distância percorrida em 6 minutos (do inglês, *6 minute walk test* – 6MWT), e um modesto aumento ou estabilização da

função pulmonar medida pelo teste de capacidade vital forçada (CVF) (STOTHOTHE et al, 2010; van CAPELLE et al. 2010; ANGELINI et al, 2012).

O único ensaio clínico de fase III randomizado, duplo cego, controlado com placebo, de alglucosidase alfa para o tratamento da Doença de Pompe foi realizado em crianças (com mais de 8 anos de idade) e adultos. Este estudo multinacional multicêntrico envolveu 90 pacientes, 60 dos quais receberam a droga e 30 receberam placebo ao longo de 78 semanas. Os pacientes tratados com GAA mostraram melhorias na distância percorrida em 6 minutos (aumento médio de 28,1 m no teste realizado) e estabilização da função respiratória. O estudo também revelou uma grande variabilidade na resposta ao tratamento, e alguns pacientes continuaram a piorar em decorrência da doença apesar da terapia, conforme estudos de VAN DER PLOEG et al. (2010; 2012).

Os estudos observacionais foram compilados em um artigo de revisão por TOSACANO et al. (2013), que resultou na coleta de dados de 21 estudos e forneceu os dados clínicos de 368 pacientes que apresentavam a doença de Pompe e que tratados por um período entre 0 a 3 anos. Nos resultados apresentados nessa revisão sistemática foi possível concluir que a enzima é efetiva no tratamento da doença e que cerca de dois terços dos indivíduos apresentaram melhoras em alguns dos principais parâmetros utilizados para medir a progressão da doença ou que pelo menos tiveram uma estabilização do quadro clínico.

Um outro estudo de revisão mais recente de revisão da literatura (SCHOSER et al., 2017) apresentou novos dados observados em um estudo realizado no Reino Unido, contendo 62 pacientes (ANDERSON et al., 2014) Através da utilização de métodos analíticos para ajustar as medições repetidas e os diferentes tempos de acompanhamento, os autores conseguiram analisar 438 pacientes, que foram monitorados de 3 a 48 meses de tratamento. Como conclusão, verificou-se que a taxa de mortalidade é cerca de cinco vezes menor em pessoas tratadas com o medicamento quando comparados com pacientes não tratados. Dentre os parâmetros analisados, ainda foi possível observar que nos pacientes tratados, a CVF melhorou consideravelmente nos primeiros meses de

tratamento, atingindo um platô e posteriormente com um leve declínio após 2 a 3 anos de tratamento. No grupo controle de pacientes não tratados, o declínio ocorre de modo contínuo. Com relação ao teste de caminhada em 6 minutos também se observou um efeito benéfico pronunciado nos primeiros 20 meses de tratamento, com posterior estabilização.

4.3. Novas abordagens terapêuticas

4.3.1. Supressão genética de mecanismos autofágicos

Em um estudo realizado por RABEN et al. (2010) investigou-se a possibilidade de modulação de genética em camundongos *knockout* (KO), no qual induzia-se a supressão da autofagia. A inativação de um gene crítico para autofagia em músculos esqueléticos diminuiu a significativamente a quantidade de glicogênio lisossomal armazenado. Essa modulação, juntamente com a TER, funcionou de forma em que foi demonstrado um resultado bom para a depuração do glicogênio lisossomal.

Contudo, LIM et al. (2018) verificaram que esta abordagem anteriormente descrita acarreta em acúmulo de proteínas ubiquitinadas, estresse oxidativo e exacerbação da atrofia muscular. Com isso, explorou-se uma nova abordagem capaz de regular mTOR, a inibição da autofagia, a reversão da atrofia muscular juntamente com a eficiência na depuração do glicogênio lisossomal.

4.3.2. Estratégias relacionadas com terapia genética

Atualmente, as terapias genéticas são potenciais alternativas para a terapia de reposição enzimática. Esse consiste em entregar uma cópia funcional do gene para o tecido de um paciente, sem substituir ou remover a cópia mutante presente no genoma do próprio indivíduo (KOHLENER et al., 2018).

Na pesquisa de HAN et al. (2016), foi verificada a eficácia de três baixas dosagens de AVV2/8-LSPHGA em camundongos KO, isoladamente e em combinação com a TRE. Nesse estudo, foi possível identificar a dose mínima

eficaz para reduzir o conteúdo presente em tecidos do coração e do diafragma. Nesse tipo de terapia, espera-se diminuir a formação e anticorpos que usualmente são formados com a terapia clássica.

5. DISCUSSÃO

5.1. Variante clássica

Notadamente, observou-se uma variabilidade nos resultados dos ensaios clínicos e de outros estudos em relação ao efeito da terapia de reposição enzimática em pacientes contendo a forma infantil. Entretanto, foi possível obter também diversos achados comuns entre esses estudos. É interessante notar que a terapia alterou o curso natural da doença e prolongou significativamente a expectativa de vida dos pacientes, principalmente relacionados aos parâmetros cardíacos e a melhora nas suas funções. Também é possível notar que os sobreviventes ainda apresentam complicações decorrentes da doença, com o desenvolvimento de novas sintomas decorrentes da progressão da doença frente a sobrevida alcançada.

Outro ponto comum averiguado é que a terapia é afetada negativamente por respostas imunes. A maioria dos pacientes desenvolve algum tipo de resposta imune, porém nos pacientes que apresentam a variante clássica é ainda mais preocupante devido à ausência total de produção da enzima, que quando associada com o desenvolvimento de uma resposta imune, agrava o estado clínico do paciente levando a óbito.

O principal consenso do momento de iniciação da TRE é que quanto antes ela for introduzida, melhores os resultados alcançados. Antigamente havia uma dificuldade maior em iniciar o tratamento antes de 6 meses de idade, devido à dificuldade de um diagnóstico preciso juntamente com a dificuldade de observação dos sintomas nos primeiros meses de vida. A triagem neonatal realizada para

identificação da Doença de Pompe altera esse panorama e garante que o tratamento seja iniciado logo nos primeiros dias de vida (KRONN et al., 2017).

5.2. Variante tardia

Os resultados para a variante tardia demonstram que a terapia de reposição enzimática teve um efeito muito benéfico, mudando consideravelmente o curso da Doença de Pompe, ao resultar no aumento da sobrevida dos pacientes que receberam o tratamento. Entretanto, alguns dos pacientes sob tratamento desencadeiam uma resposta imune que inviabiliza a continuidade da terapia e para isso, se faz necessário mais estudos para averiguar os fatores relacionados com essa resposta clínica (TOSCANO et al, 2012).

Os resultados dos estudos indicam que a enzima recombinante é segura e bem tolerada, mas o quadro dos pacientes que recebem esse tratamento tem uma melhora no início e depois tende a se estabilizar. Ao verificarmos o acompanhamento realizado para os pacientes portadores da doença, vemos que essa estabilização tende a declinar após algum tempo, levando os pacientes a desenvolverem complicações relacionadas a patologia da doença. Fica evidente também que quanto antes o diagnóstico é definido e o tratamento é iniciado, maiores são as chances de se maximizar os efeitos benéficos do tratamento.

6. CONCLUSÃO

A doença de Pompe, por se tratar de uma doença genética de caráter recessivo e de baixa incidência na população mundial, apresenta maior dificuldade de investimento em terapias e desenvolvimento de biomoléculas responsáveis por tratar a condição. Atualmente, no mercado mundial só há a disponibilidade de um medicamento capaz de minimizar os efeitos e alterar o curso natural da doença,

que é o Myozyme®. Esse medicamento possibilitou garantir uma maior sobrevida maior aos pacientes portadores da doença.

Em relação a esse tratamento, foi possível obter uma visão geral sobre os principais benefícios atribuídos a essa terapia e a sua eficácia, uma vez que há uma melhora perceptível em aspectos de desenvolvimento motor, permitindo uma melhor autonomia para os pacientes, uma melhora nos aspectos cardiorrespiratórios e uma estabilização de outros parâmetros atrelados à doença.

Os pontos negativos verificados, foram de pacientes que não aceitaram a terapia devido ao desenvolvimento de resposta imunológica desencadeada pela enzima recombinante e o conseqüente declínio da resposta do medicamento com o passar dos anos, levando os pacientes a óbito devido a complicações do quadro clínico.

Para isso, alternativas estão sendo estudadas que visam garantir uma terapia combinada, capaz de diminuir a resposta imune e, em paralelo, novas abordagens terapêuticas estão sendo desenvolvidas visando uma abordagem voltada para a terapia genética e que garantiriam uma melhor condição a esses pacientes.

7. BIBLIOGRAFIA

Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Ministério da Saúde. Myozyme. **Bulário Eletrônico da Anvisa**, disponível em: < <http://portal.anvisa.gov.br/bulario-eletronico1>> acesso em: 15 fev 2019.

Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Ministério da Saúde. Preços máximos de medicamentos por princípio ativo. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/listas-de-precos>> Acesso em 14 fev 2019

ANDERSON, L.J. ; HENLEY, W. ; WYATT, K.M. et al. Effectiveness of enzyme replacement therapy in adults with late-onset Pompe disease: results from the NCS-LSD cohort study. **Journal of Inherited Metabolic Disease**, v.37, n. 6, p. 945–52, 2014.

ANGELINI, C. ; SEMPLICINI, C. ; RAVAGLIA, S. et al. Observational clinical study in juvenile-adult glycogenosis type 2 patients undergoing enzyme replacement therapy for up to 4 years. **Journal of Neurology**, v. 259, n. 5, p. 952–958, 2012.

AUSEMS, M.G.; VERBIEST, J.; HERMANS, M.P.; KROOS, M.A. et al. Frequency of glycogen storage disease type II in The Netherlands: implications for diagnosis and genetic counselling. **European Journal of Human Genetics**, v.7, p. 713–716, 1999.

BARSY, T.; JACQUEMIN, P.; VAN HOOFF, F.; HERS, H.G. Enzyme replacement in Pompe disease: an attempt with purified human acid alpha-glucosidase. **Birth Defects Original Articles Series**, v. 9, p. 184-190, 1973.

Centro Colaborador do SUS: Avaliação de Tecnologias e Excelência em Saúde (CCATES). Nota Técnica NT 05/2014. Alfa- α -glucosidase no tratamento da Doença de Pompe. Disponível em: < http://www.ccates.org.br/content/pdf/PUB_1406646124.pdf> Acesso em 14 fev 2019

CHAN, J et al. The emerging phenotype of late-onset Pompe disease: A systematic literature review. **Molecular genetics and metabolism**, v.120, n. 3, p. 163–172, 2016.

CHIEN, Y.H. ; CHIANG, S.C. ; ZHANG, X.K. et al. Early detection of Pompe disease by newborn screening is feasible: results from the Taiwan screening program. **Pediatrics**, v. 122, n. 1, p. 39-45, 2008.

CUPLER, E.J. ; BERGER, K.I. ; LESHNER, RT et al. Consensus treatment recommendations for late-onset Pompe disease. **Muscle and Nerve**, v. 45, n.3, p. 319–33, 2012

DASOUKI, M. et al. Pompe Disease. **Neurologics Clinics**, v. 32, n. 3, p. 751-776, 2014.

FERREIRA, K. M. S. Resposta ao uso da Terapia de Reposição Enzimática na Doença de Pompe: uma revisão sistemática com metanálises. 115 fl. 2014. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2014.

GEEL, T.M. Pompe disease: Current state of treatment modalities and animal models. **Molecular genetics and metabolism**, v.92, n. 4, p. 299-307, 2007.

HAHN, A.; PRAETORIUS, S.; KARABUL, N. et al. Outcome of patients with classical infantile Pompe disease receiving enzyme replacement therapy in Germany. **JIMD Reports**, v. 20, p. 65-75, 2015.

HERS, H.G. Alpha-glucosidase deficiency in generalized glycogen-storage disease (Pompe's disease). **Biochemical Journal**, v. 86, n. 1, p. 11-16, 1963.

HIRSCHHORN, R.; REUSER, A. J. J. Glycogen storage disease type II: acid α -glucosidase (acid maltase) deficiency, in: C.R. Scriver, A.L. Beaudet, W. Sly, D. Valle, B. Childs, K.W. Kinzler, B. Vogelstein (Eds.), **The Metabolic & Molecular Bases of Inherited Disease**, 8th edition, McGraw-Hill, New York, 2001.

KANTERS, T.; VAN DER PLOEG, A. T.; KRUIJSHAAR, M. E. et al. Cost-effectiveness of enzyme replacement therapy with α -glucosidase alfa in classic-

infantile patients with Pompe disease. *Orphanet Journal of Rare Diseases*, v. 12, p. 179, 2017.

KISHNANI, P.S ; STEINER, R.D ; BALI, D. ; BERGER, K. et al. Pompe disease diagnosis and management guideline. *Genetics in Medicine*, v. 8, n. 5, p. 267-288, 2006.

KISHNANI, P. S.; CORZO, D.; NICOLINO, M. et al. Recombinant human acid [alpha]-glucosidase: major clinical benefits in infantile-onset Pompe disease. *Neurology*, v. 68, n. 2, p. 99-109, 2007.

KISHNANI, P. S.; CORZO, D.; LESLIE, N. D. et al. Early treatment with alglucosidase alpha prolongs long-term survival of infants with Pompe disease. *Pediatric Research*, v. 66, n.3, p. 329-335, 2009.

KISHNANI, P. S.; AMARTINO, H. M.; LINDBERG, C. et al. Methods of diagnosis of patients with Pompe disease: Data from the Pompe Registry. *Molecular Genetics and Metabolism*, v. 113, n. 1, p. 84-91, 2014.

KUHN, I. M.; BORGES, V; BOCK, M. P. Tratamento da Doença de Pompe - Deficiência da Alfa-glicosidase Ácida. *Infarma*, Ciências Farmacêuticas. v. 26, n. 3, p. 179-187, 2014.

LESLIE, N.; BAILEY, L. Pompe Disease. *GeneReviews*®. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1261/> > Acesso em: 15 fev 2019

LIM J.A., et al Therapeutic Benefit of Autophagy Modulation in Pompe Disease. *Molecular Therapy*. v. 26, n. 7, p. 1783-1796, 2018.

LIN, C.Y.; HWANG, B.; HSIAO, K. J.; JIN, Y.R. Pompe's disease in Chinese and prenatal diagnosis by determination of alpha-glucosidase activity. *Journal of Inherited Metabolic Disease*, v. 10, n. 1, p. 11-17, 1987.

MARTINIUK, F.; CHEN, A.; MACK, A. et al. Carrier frequency for glycogen storage disease type II in New York and estimates of affected individuals born with the disease. *American Journal of Medical Genetics*, v. 79, p. 69-72, 1998.

MCVIE-WYLIE, A. J., LEE, K. L; QIU, H.; JIN, X. et al. Biochemical and pharmacological characterization of different recombinant acid α -glucosidase

preparations evaluated for the treatment of Pompe disease. **Molecular Genetics and Metabolism**; v. 94, n. 4, p. 448-455, 2008.

MEIKLE, P. J.; HOPWOOD, J. J.; CLAGUE, A. E; CAREY, W. F. Prevalence of lysosomal storage disorders. **JAMA**, v. 281, n. 3, p. 249-54, 1999.

PINTO, R.; CASEIRO, C.; LEMOS, M., LOPES, L. et al. Prevalence of lysosomal storage diseases in Portugal. **European Journal of Human Genetics**, v.12, n. 2, p. 87-92, 2004.

POORTHUIS, B. J.; WEVERS, R. A.; KLEIJER, W. J. et al. The frequency of lysosomal storage diseases in The Netherlands. **Human Genetics**, v. 105; p. 151-156, 1999.

SCHOSER, B.; STEWART, A.; KANTERS, S. et al. Survival and long-term outcomes in late-onset Pompe disease following alglucosidase alfa treatment: a systematic review and meta-analysis. **Journal of Neurology**, v. 264, n. 4, p. 621-630, 2017.

SILVA, A. P. G. S. Doença de Pompe: a propósito de 2 casos do Hospital Pêro da Covilhã. Dissertação de Mestrado: Universidade da Beira Interior, 2012.

STEWART, F. Genetics and Epidemiology of Pompe Disease. **Clinical Therapeutics**, v. 32, p. 66, 2010.

STROTHOTTE, S.; STRIGL-PILL, N.; GRUNERT, B. et al. Enzyme replacement therapy with alglucosidase alfa in 44 patients with late-onset glycogen storage disease type 2: 12-month results of an observational clinical trial. **Journal of Neurology**, v. 257, n. 1, p. 91-97, 2010.

THURBERG, B.L.; LYNCH MALONEY, C; VACCARO, C; AFONSO, K. et al. Characterization of pre- and post-treatment pathology after enzyme replacement therapy for Pompe disease. **Laboratory Investigation**, v. 86, n. 12, p. 1208-1220, 2006.

TOSCANO, A.; SCHOSER, B. Enzyme replacement therapy in late-onset Pompe disease: a systematic literature review. **Journal of Neurology**, v. 260, n. 4, p. 951-959, 2013.

TSUJI, A.; OMURA, K.; SUZUKI, Y. Intracellular transport of acid alpha-glucosidase in human fibroblasts: evidence for involvement of phosphomannosyl receptor-independent system. **Journal of Biochemistry**, v. 104, n. 2, p. 276-278, 1988.

VAN CAPELLE, C. L.; VAN DER BEEK, N. A; HAGEMANS, M. L. et al. Effect of enzyme therapy in juvenile patients with Pompe disease: a three-year open-label study. **Neuromuscular Disorders**, v.20, n. 12, p. 775-782, 2010.

VAN DER PLOEG, A. T.; KROOS, M. A.; WILLEMSSEN, R.; BRONS, N. H.; REUSER, A. J. Intravenous administration of phosphorylated acid alpha-glucosidase leads to uptake of enzyme in heart and skeletal muscle of mice. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 87, n. 2, p. 513-518, 1991.

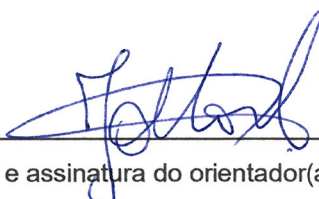
VAN DER PLOEG, A. T.; CLEMENS, P. R.; CORZO, D. et al. A randomized study of alglucosidase alfa in late-onset Pompe's disease. **The New England Journal of Medicine**, v.362, n. 15, p. 1396-1406, 2010.

VAN DER PLOEG, A. T.; BAROHN, R.; CARLSON, L. et al. Open-Label extension study following the Late-Onset Treatment Study (LOTS) of alglucosidase alfa. **Molecular Genetics and Metabolism**, v. 107, n. 3, p. 456–461, 2012.

WATSON, J. G.; GARDNER-MEDWIN, D.; GOLDFINCH, M.E.; PEARSON, A. D. Bone marrow transplantation for glycogen storage disease type II (Pompe's disease). **The New England Journal of Medicine**, v. 314, n. 6, p. 385, 1986.

ZHU, Y.; LI, X.; MCVIE-WYLIE, A.; JIANG, C. et al. Carbohydrate-remodelled acid alpha-glucosidase with higher affinity for the cation-independent mannose 6-phosphate receptor demonstrates improved delivery to muscles of Pompe mice. **The Biochemical Journal**, v. 389, p.619-628, 2005.

11/04/19 Eniko Maria Garcia
Data e assinatura do aluno(a)


11/04/19
Data e assinatura do orientador(a)