

Ayudas diagnósticas y diagnóstico diferencial de la enfermedad de Pompe

Alba Lucía Marentes-Cubillos¹ , Sandra Carrillo-Villa² , Andrea del Pilar López-Cáceres³ , Maria Paula Mesa-Mosquera⁴

Resumen

Introducción: la enfermedad de Pompe (EP) o glucogenosis tipo II es una enfermedad autosómica recesiva causada por mutaciones en el gen GAA que codifica para la proteína alfa-1,4-glucosidasa. Su deficiencia lleva a un almacenamiento anormal de glucógeno en los lisosomas de varias células, a través de los diferentes tejidos, lo que causa un compromiso musculoesquelético predominante.

Contenidos: los fenotipos de la enfermedad dependen de las variantes genéticas y de los niveles de la actividad enzimática residual. La enfermedad se presenta como EP de inicio infantil, EP de inicio tardío y EP intermedio, por lo que es de suma importancia su diagnóstico temprano, por medio de estudios moleculares como la secuenciación de Sanger y la secuenciación de nueva generación.

Conclusiones: se ha demostrado, mediante diferentes estudios, que las variaciones genéticas pueden diferir entre etnias, y es importante su caracterización molecular para determinar el tratamiento más adecuado, de acuerdo con el estado del material inmunológico de reacción cruzada (CRIM).

Palabras clave: diagnóstico molecular, enfermedad de Pompe, fibroblastos, leucocitos, microscopía electrónica, GAA, variante genética.

Diagnostic aids and differential diagnosis of Pompe disease

Abstract

Introduction: Pompe disease (PD) or Glycogenosis Type II is a rare autosomal recessive disease caused by mutations in the GAA gene that codes for the alpha-1,4-glucosidase protein. Its deficiency leads to abnormal glycogen storage in the lysosomes of various cells throughout the different tissues causing a predominant musculoskeletal compromise.

Contents: The phenotypes of the disease depend on the genetic variants and the levels of residual enzyme activity, presenting as infantile-onset PD, late-onset PD, and intermediate PD; Therefore, early diagnosis of the disease through molecular studies such as Sanger sequencing and new generation sequencing is of utmost importance.

Conclusions: It has been shown through different studies that genetic variations can vary between ethnic groups and the molecular characterization of the variants is important to determine the most appropriate treatment depending on the state of the cross-reactive immunological material (CRIM)

Keywords: Molecular diagnosis, Pompe disease, Fibroblasts, Leukocytes, Electron microscopy, GAA, Genetic variant.

- 1 Hospital Universitario San Ignacio, Bogotá, Colombia
- 2 Centro Internacional de Especialistas, Piedecuesta (Santander), Colombia
- 3 Fundación Santa Fe de Bogotá, Bogotá, Colombia
- 4 Universidad de los Andes, Fundación Santa Fe de Bogotá, Bogotá, Colombia

Correspondencia/Correspondence

Alba Lucía Marentes-Cubillos, Av. Calle 127 # 19 A 28, edificio Acomedica I, consultorio 611, Bogotá, Colombia.

Correo-e:
luciamarent@gmail.com

Historia del artículo

Recepción: 17 de diciembre, 2022
Evaluación: 23 de junio, 2023
Aceptación: 31 de julio, 2023
Publicación: 15 de septiembre, 2023

Citación: Marentes-Cubillos AL, Carrillo-Villa S, López-Cáceres AP, Mesa-Mosquera MP. Ayudas diagnósticas y diagnóstico diferencial de la enfermedad de Pompe. Acta Neurol Colomb. 2023;39(2):e1751.
<https://doi.org/10.22379/anc.v39i2.1751>



La enfermedad de Pompe (EP) es un trastorno metabólico hereditario en el que la forma infantil suele ser severa y homogénea, con síndrome de bebé flácido, hipertrofia cardíaca e insuficiencia respiratoria. La presentación clínica de la enfermedad de Pompe de inicio tardío (LOPD) es más benigna y marcadamente heterogénea, con compromiso respiratorio y musculoesquelético variable, lo que hace más difícil un diagnóstico temprano (véase artículo sobre manifestaciones clínicas). En este artículo exploraremos las tecnologías y enfoques disponibles para el proceso de diagnóstico de la enfermedad.

El análisis de datos del registro de Pompe entre 1.079 pacientes muestra un retraso en el diagnóstico de la enfermedad (1). En la forma infantil, la media de retraso en el diagnóstico es de 1,4 meses en recién nacidos con miocardiopatía y otros síntomas, en los primeros 12 meses de vida. En pacientes con inicio de la sintomatología después de los 12 años, la media de retraso es de 6 años, mientras que en los pacientes con inicio de síntomas durante los primeros 12 meses de vida, sin miocardiopatía, se informó un retraso más largo de 12,6 años para el diagnóstico de la enfermedad. Por último, se observó un retraso similar en pacientes con EP que desarrollan síntomas entre los 12 meses y los 12 años; de ahí la importancia de sospechar y diagnosticar la enfermedad lo antes posible (1-3).

Puesto que la forma de presentación inicial puede ser muy variable, desde signos y síntomas leves como mialgia, fatiga, hiperCKemia aislada, intolerancia al ejercicio, calambres y debilidad muscular, hasta síntomas de insuficiencia respiratoria, es importante conocer las principales herramientas que se utilizan en la actualidad en el diagnóstico de pacientes con sospecha de enfermedad de Pompe (tabla 1).

Herramientas diagnósticas

Análisis no específicos

Los exámenes de laboratorio muestran niveles elevados de enzimas musculares como CK, LDH, AST y ALT. La hiperCKemia a menudo no es más de cinco veces de los rangos de referencia; la elevación suele ser mayor en pacientes jóvenes en comparación con aquellos con una enfermedad de mayor duración, e incluso puede ser normal en pacientes con enfermedad de inicio tardío (4).

Un potencial biomarcador de enfermedades por almacenamiento de glucógeno (GSD) es el tetrasacárido

de 6- α D-glucopiranosil-maltotriosa (Glc4), debido a que la excreción urinaria de Glc4 aumenta en diferentes condiciones clínicas asociadas con un mayor recambio o almacenamiento de glucógeno. Aunque esta prueba es sensible y precisa para un diagnóstico presuntivo, no es capaz de diferenciar los tipos de GSD. Este ensayo debe usarse en combinación con los análisis genéticos y enzimáticos estándar para confirmar el diagnóstico de EP (5).

Estudios neurofisiológicos

En la LOPD, en la cual la afectación del músculo esquelético es una característica destacada, es útil hacer estudios electrofisiológicos para considerar el diagnóstico diferencial con otros trastornos musculares, enfermedad motoneuronal y descartar patología de nervio.

El estudio de electromiografía (EMG) revela un patrón miopático con potenciales de fibrilación, ondas agudas, descargas complejas repetitivas y evidencia de descargas miotónicas (DM) eléctricas, sin presencia de miotonía clínica (6). Estas DM parecen más comunes en los músculos paraespinales y en el tensor de la fascia lata, lo que sugiere que estos músculos deben incluirse durante la EMG de los casos sospechosos (6,7).

Biopsia muscular

El valor diagnóstico de la biopsia muscular en pacientes con LOPD es bastante limitado, porque en diferentes grupos de músculos e incluso fibras dentro del mismo grupo de músculos, se observa una alta variabilidad.

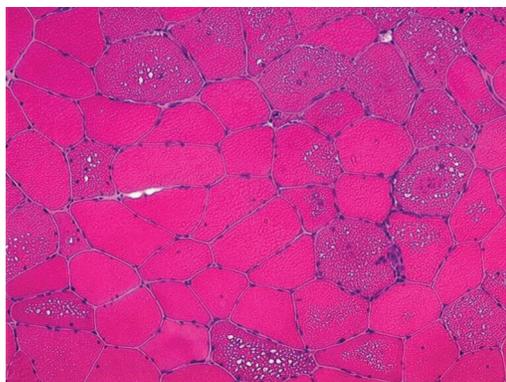
La evaluación histológica del espécimen de la biopsia muscular para EP muestra acumulación de glucógeno y una miopatía vacuolar. Estas vacuolas con frecuencia contienen glucógeno y se tiñen con PAS (*periodic acid-schiff*) (5) (figura 1).

Las vacuolas autofágicas son positivas para fosfatasa ácida tanto en las fibras tipo I como en las tipo II. El glucógeno puede ser visto en microscopía electrónica en los lisosomas, y también en el citoplasma; aunque esta técnica no se utiliza frecuentemente, debería usarse, si está disponible (8,9). Sin embargo, la identificación histológica de las inclusiones de lipofuscina positivas a la fosfatasa ácida se sugirió como un marcador de diagnóstico de LOPD en músculo esquelético (1).

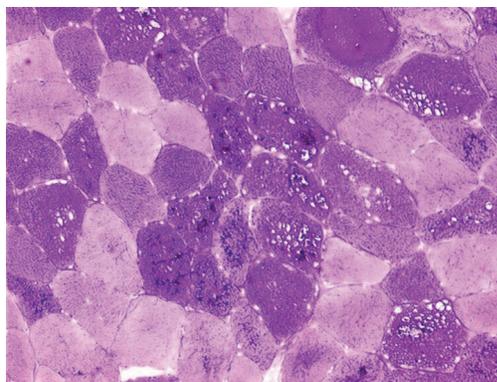
Tabla 1. Métodos diagnósticos de laboratorio actuales

Método	Tiempo	Invasivo	Falso -	Falso +	Pros	Cons
Bioquímica						
Gota seca en papel de filtro	2-4 días	No	Sí	Sí	Económico, rápido, fácil de realizar, útil como herramienta de tamizaje	Confirmación bioquímica o genética
Fibroblastos	4-6 semanas	Sí (mínimo)	No	No	Factible, resultados precisos	Largo periodo de espera
Leucocitos	2-4 días	No	No	No	Fácil de realizar	No siempre es preciso
Músculo	2-4 días	Sí	No	No	Factible, resultados precisos, tiempo de espera moderado	Solo en centros esquelético especializados, usualmente en adultos
Morfología						
Frotis de	Inmediato	No	No	Sí	Económico, rápido, sugestivo	Pocos estudios, requiere confirmación
Morfología muscular	2-4 semanas	Sí	Sí	Sí	Si positivo, altamente sugestivo	Solo en centros especializados, requiere confirmación
Análisis genético						
Secuenciación GAA	Algunas semanas	No	No	No	Altamente fiable si hay dos mutaciones patogénicas	Si es inconcluso (solo una mutación), se requiere confirmación bioquímica

Fuente: modificado de (4).



Hematoxilina-Eosina



Ácido periódico de Schiff

Figura 1. Biopsia muscular en LOPD (enfermedad de Pompe de inicio tardío). Miopatía vacuolar típica con vacuolas PAS positivas en alrededor del 70% de los casos

Fuente: Cortesía Prof. Edoardo Malfatti.

Resonancia muscular

La resonancia magnética (RMN) de músculo puede ser útil para identificar patrones típicos de remplazo de músculo por grasa en las imágenes de T1w, lo que puede guiar al diagnóstico de la enfermedad en pacientes adultos que presentan síntomas de debilidad proximal-cintura miembro, al simular distrofias musculares (10).

Ya que hasta ahora la enfermedad de Pompe es la única miopatía hereditaria con tratamiento aprobado, la RMN proporciona la oportunidad de monitorizar cambios en la estructura muscular, en el contenido de grasa y en el glucógeno como respuesta a un tratamiento de remplazo enzimático (11).

Los estudios semicuantitativos de las secuencias T1w se han utilizado para el diagnóstico tanto en EP de inicio temprano como en el tardío. En el caso de Pompe de inicio tardío, los estudios T1w muestran un patrón de compromiso considerado característico y útil para el diagnóstico. Los músculos más comúnmente reemplazados por grasa son: la lengua, el subescapularis, el latissimus dorsal, los paraespinales, los abdominales, el psoas, el aductor magnus, los músculos posteriores del muslo, el semimembranoso y el vasto intermedio. En cambio, los músculos rectus femoris, gracilis y sartorio no son afectados sino hasta etapas muy avanzadas. En la mayoría de los casos, es más severo el grado de remplazo graso en los miembros inferiores que en los superiores (10) (figura 2).

La resonancia de músculo es capaz de identificar remplazo graso aun en fases presintomáticas. En resumen, los músculos más afectados en la reso-

nancia son: la lengua, los paraespinales, el abdomen y el aductor magnus. Con base en estos hallazgos, la resonancia es muy útil para diferenciar de otros trastornos neuromusculares, dado que los músculos distales generalmente están preservados en la enfermedad de Pompe, al contrario de algunas formas de distrofia muscular, tal como la distrofinopatía, la disferlinopatía y la calpinopatía, que tienen más compromiso de los músculos distales, principalmente gastrocnemius medial y soleus. Sin embargo, las sarcoglicanopatías tienen un patrón similar al visto en la EP con compromiso de músculos abdominales y paraespinales, pero a pesar de ello tienen un mayor compromiso de miembros superiores, sobre todo en los músculos bíceps, tríceps y escapularis. En cambio, el compromiso de la lengua es típico de la EP (10).

Análisis de actividad enzimática GAA

El estándar de oro para las pruebas de diagnóstico en la enfermedad de Pompe es la identificación de la actividad enzimática GAA disminuida o ausente. Esta anomalía se ha medido en muestras de tejido, incluidos los fibroblastos de la piel, el músculo y también en sangre (5).

Análisis de actividad enzimática GAA en muestras de sangre

La actividad de la enzima GAA puede medirse con precisión en muestras de sangre como DBS (obtenida de sangre completa) y los linfocitos purificados.

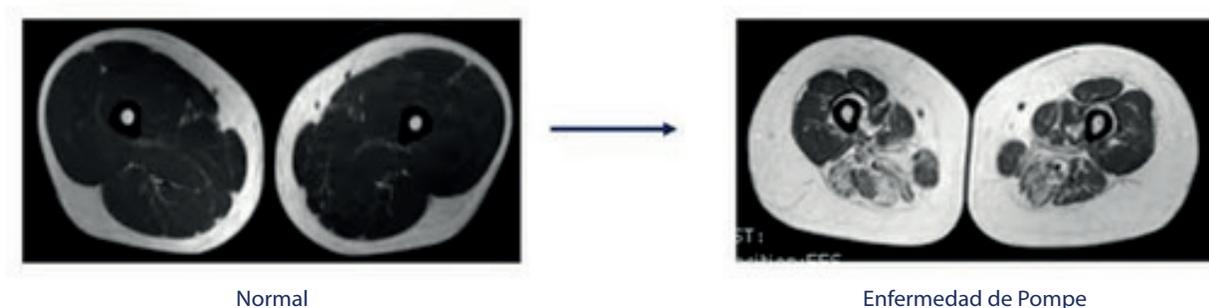


Figura 2. Resonancia muscular. En estas imágenes de resonancia muscular observamos la infiltración grasa en los músculos aductores mayores, comparada con una resonancia normal

Fuente: cortesía Prof. Jordi Díaz-Manera.

Gota seca en papel filtro

Ante la sospecha de EP, la prueba más fácil y confiable es la de la gota seca en papel filtro (DBS), utilizado como primera elección para el tamizaje. Por lo general, se utilizan 2 métodos para el análisis de estas muestras: fluorimetría o espectrometría de masas, ambas disponibles para el diagnóstico, aun en pruebas de tamizaje para recién nacidos. Puede producirse una prueba de DBS falso positivo, debido a una extracción y un muestreo de sangre incorrectos, como también producto de circunstancias ambientales como altas temperaturas durante el transporte (4).

El examen detallado de la actividad de la enzima en sangre puede revelar la presencia de otras alfa glucosidasas como la maltasa glucoamilasa (MGA), la cual puede enmascarar la deficiencia de GAA. Esta interferencia de la enzima MGA fue la mayor limitación en ensayos previos, que conducían a resultados falsos negativos. El uso de acarbosa para la inhibición competitiva de la MGA en los nuevos ensayos elimina este problema (5).

Linfocitos purificados

La prueba de linfocitos purificados se utiliza por la ausencia de MGA en estas células, sin embargo, este método aún podría dar algunos datos falsos negativos si la muestra está contaminada con neutrófilos (12). Por ello, se utiliza con más frecuencia la medición de la actividad de la enzima GAA en cultivo de fibroblastos de piel o en muestras de biopsia muscular.

Cultivo de fibroblastos en piel

En relación con la actividad enzimática de GAA en cultivo de fibroblastos de piel, esta muestra debe ser tomada por personal idóneo con experiencia en este método, pero además, el ensayo enzimático se realiza solo después de cultivar los fibroblastos, lo que puede tardar de 4 a 6 semanas, con un retraso significativo en el diagnóstico; por esta razón, ya no se utiliza como primera elección diagnóstica, pero sí como prueba confirmatoria luego de un DBS positivo (4).

Cultivo de linfocitos en sangre periférica

En la enfermedad de Pompe, hay una acumulación generalizada de glucógeno en todos los tejidos y también en las células sanguíneas. Hace algunos

años se observó que la acumulación de glucógeno estaba presente en los linfocitos, en los cuales se observaba vacuolización en el frotis de sangre periférica (BSE) (13).

Estudios recientes demostraron que la evaluación de linfocitos vacuolados en la BSE es una herramienta confiable en el diagnóstico diferencial de miopatías autofágicas (14). Sin embargo, los resultados de la BSE deben confirmarse mediante la detección de la deficiencia enzimática o el análisis genético.

Actividad enzimática GAA en muestras de tejido

GAA muscular

Aunque es más invasiva que las muestras de piel, la biopsia de tejido muscular nos da información en cuanto a los hallazgos de patología, y además va a determinar la actividad residual de la enzima (15). Se debe tener especial precaución en la toma de la muestra, dado que una parte de la biopsia se envía a histología y la otra parte debe ser apropiadamente congelada para la medición de la actividad de la enzima (12).

Las investigaciones han demostrado que el test de GAA muscular es una prueba fiable para detectar la deficiencia de GAA y que los grados de deficiencia de la enzima determinan el curso de la enfermedad. Los valores superiores al 35% de los rangos de referencia sugieren enfermedad de Pompe, mientras que una reducción de la actividad GAA en fibroblastos o músculo por debajo del 30% es consistente con el diagnóstico de LOPD (16).

Finalmente, hay que enfatizar que ante la sospecha de enfermedad de Pompe, tanto en niños como en adultos, se debe hacer la prueba de secuenciación del gen de la enzima de la alfa glucosidasa ácida para confirmar el diagnóstico. La figura 3 muestra el algoritmo sugerido para el diagnóstico de la EP.

Diagnóstico molecular en la enfermedad de Pompe

Puesto que las variantes afectan directamente el cuadro clínico, y el diagnóstico temprano es esencial para prevenir y reducir el daño orgánico asociado con la progresión de la enfermedad (17), el consenso europeo de EP establece como estándar de oro para el diagnóstico, la combinación del ensayo enzimático con secuenciación genética (18).

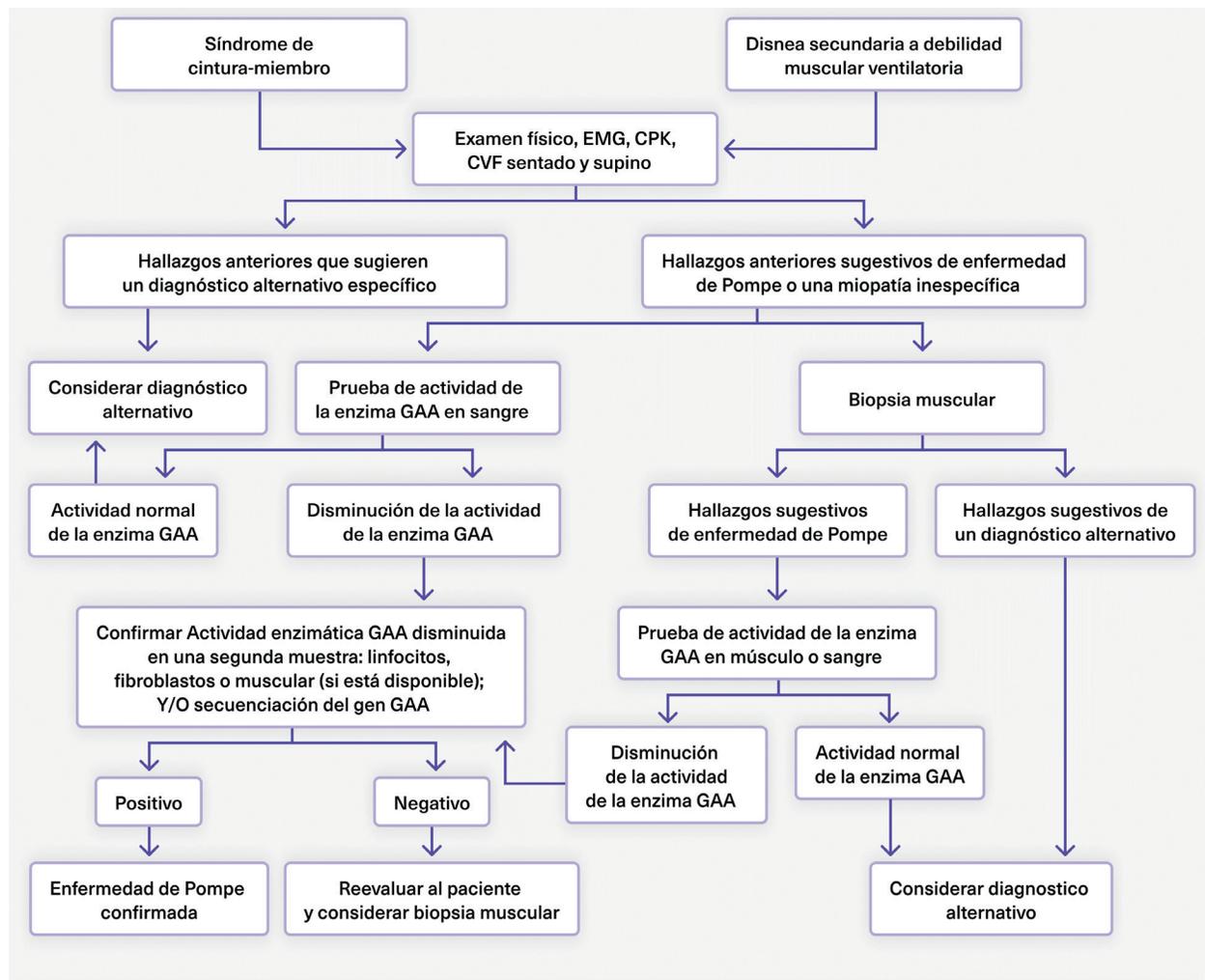


Figura 3. Algoritmo diagnóstico de la enfermedad de Pompe

EMG: electromiografía, CPK: creatinfosfoquinasa, CVF: capacidad vital forzada, GAA: alfa-glucosidasa ácida.

Fuente: tomado y adaptado de (7).

La EP es un trastorno autosómico recesivo, lo que requiere la existencia de una variante patogénica en ambas copias del gen GAA para que se manifieste la enfermedad (19,20,21). El gen GAA se localiza en el brazo largo del cromosoma 17 (17q25.2–q25.3) (22), tiene una longitud de w28 kb y contiene 20 exones. El primer de estos no codificante, contiene secuencias no traducidas de 5' y está separado del segundo exón por un intrón de w2.7-kb. El primer codón de inicio, ATG, se encuentra 32 nucleótidos corriente abajo del comienzo del exón 2, donde se inicia la codificación de una proteína de 952 aminoácidos, con un peso molecular de 110 -kDa (22,23,24).

Si se considera que el gen GAA es responsable de la producción de proteína α - glucosidasa ácida, la aparición de variantes patogénicas (VP) a lo largo de este gen se verá directamente reflejada en los valores enzimáticos, lo que es evidencia de una deficiencia de la enzima GAA y una actividad enzimática anormal (25), influye en la gravedad de las manifestaciones y contribuye a la variación observada en la edad de presentación y en la tasa de progresión (25,26,27,28,29,30).

Gracias a la implementación del *screening* neonatal para EP en algunos países y al registro de las variantes genéticas (<http://www.pompevariantdatabase>).

nl/) (31), cada día se cuenta con más información sobre las variantes en el gen GAA. En la actualidad, se han informado 911 variantes genéticas en el gen GAA, de las cuales el 71% se asocia con la presentación de la enfermedad; en un 52% de estas se ha logrado establecer un fenotipo clínico específico; el 29% restante se consideran variantes de significado clínico incierto (VUS) (32). Estas corresponden a mutaciones puntuales o a pequeñas y grandes deleciones e inserciones, donde se puede afectar la funcionalidad y la estabilidad de la proteína, ya sea por modificaciones en el proceso de corte y empalme (*splicing*), que ocasiona la alteración en la transcripción del ARN y en la posterior síntesis de proteínas, o genera modificaciones postraduccionales, incluida la glicosilación, el tráfico lisosómico y la naturaleza proteolítica de GAA (33,34).

De conformidad con lo mencionado anteriormente sobre el gen GAA identificado como gen altamente polimórfico, con varias variantes neutrales, los estudios moleculares se convirtieron en una herramienta común para confirmar el diagnóstico de EP e identificar las variantes asociadas a la enfermedad (32). La secuenciación de Sanger y la secuenciación de nueva generación por secuenciación de nueva generación (NGS) se vuelven el método más eficaz para la identificación de variantes de un solo nucleótido en el gen GAA (35).

A partir de que la EP es un trastorno autosómico recesivo, si mediante la secuenciación no se identificó una VP o una variante probablemente patogénica (VPP) en homocigosis, o dos variantes diferentes en cada uno de los alelos —como en la heterocigosis compuesta, donde se requiere además la confirmación mediante un estudio de segregación en familiares (36,37) con el fin de demostrar que las dos variantes están en alelos diferentes—, el paso por seguir es evaluar ganancias o pérdidas de información genética en el gen GAA, para lo cual las técnicas indicadas son en primera instancia el estudio de amplificación de sonda dependiente de ligadura múltiple (MLPA) o la realización de un CGH array (35). Cuando los procedimientos estándar son insuficientes para validar el diagnóstico de EP, se pueden hacer análisis de diagnóstico molecular extendidos, como un ensayo de empalme genérico, análisis de minigén, análisis de matriz de polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) y secuenciación de Sanger dirigida (38).

El espectro mutacional de GAA con estas técnicas de diagnóstico molecular es muy heterogéneo, la

mayoría de las variantes genéticas se han reportado como exclusivas de una familia o se encuentran en una pequeña población (39,40). Otras variantes son más frecuentes o comunes y se pueden observar en diferentes grupos étnicos: en afroamericanos la variante más frecuente es p.R854X (27,41,42), en población China es la variante p.D645E A (39), en los Países Bajos del 525T y c.925G> A, y en los pacientes taiwaneses la VP más común es c.1935C> A (43,44). El defecto más frecuente en población caucásica con enfermedad de inicio tardío es la variante intrónica, que ocasiona una alteración en el *splicing* y conduce a la omisión del exón 2 (c.-32-13T> G IVS1) (45), lo que genera niveles bajos (10-20%) de los valores enzimáticos normales (46,47,48). Además, se ha demostrado en un subconjunto de estos pacientes que el alelo mutante IVS1 contiene un modificador genético (c510C> T; una variante sinónima) que reduce aún más la cantidad de enzima activa (49). En Colombia no existen datos específicos sobre la prevalencia de la EP. Hasta el 2013 se informaron 24 casos, así como las mutaciones p.E176fsx45, p.L355P, p.W746R, p.G828_N882del y p.R854X (50,51).

Aunque no hay una correlación estricta entre el genotipo y el fenotipo, la presencia de mutaciones sin sentido en ambos alelos da como resultado una proteína truncada que se asocia con la EP clásica de inicio infantil (IOPD) (52). Se ha determinado además que la asociación de dos variantes: c.1726G> A y c.2065G> A, a menudo presentes en cis, da lugar a una pseudodeficiencia de GAA. El c.1726G> A afecta tanto a la cantidad de GAA como a su actividad catalítica, mientras que c.2065G> A reduce ligeramente la funcionalidad de GAA (26,53,54,55).

Otro aspecto importante de los hallazgos moleculares reportados en la EP es el relacionado con el estado del material inmunológico de reacción cruzada (CRIM), que funciona como un predictor de la respuesta a la terapia de reemplazo enzimático (TRE) (56). En los pacientes que se identifican con un estado CRIM negativo (CRIM-), no se sintetiza proteína GAA debido a la presencia de alelos GAA nulos. Por tanto, la rhGAA se reconoce como una proteína extraña por el sistema inmunológico en estos pacientes, que resulta en el desarrollo de niveles altos de títulos de anticuerpos neutralizantes, lo cual hace que la terapia sea ineficaz (56,57).

Un estudio llevado a cabo en 243 niños de diversas etnias, con diagnóstico de EP de inicio infantil,

mostró que 61 (25,1%) eran CRIM– (56). Las mutaciones identificadas con mayor frecuencia fueron p. Arg854X y c.525delT. La mayoría de los pacientes eran homocigotos o heterocigotos, compuestos para mutaciones sin sentido o cambio de marco de lectura, que daban como resultado codones de parada prematuros o deleciones de múltiples exones. No se identificaron mutaciones sin sentido en los pacientes CRIM. Sin embargo, un paciente CRIM– fue homocigoto para una mutación puntual que abolió la metionina iniciadora (c.1A> G; p. Met1?). Por el contrario, la mayoría de los pacientes CRIM–positivos (CRIM+) tenían una o dos mutaciones de deleción sin sentido o en marco de lectura que predecían la síntesis de alguna proteína GAA. Ninguno de los pacientes CRIM+ presentó la misma combinación de mutaciones de los pacientes CRIM– (56).

Asesoramiento genético y diagnóstico prenatal

La enfermedad por acumulación de glucógeno tipo II es una enfermedad hereditaria autosómica recesiva. Los padres del probando suelen ser portadores y el riesgo de recurrencia es del 25%.

Todos los casos y sus familiares deben recibir asesoramiento genético; el diagnóstico prenatal de fetos de alto riesgo y el diagnóstico genético previo al implante debe aplicarse a las familias en las que se ha identificado la variante patógena.

Debido a la presencia de alelos pseudodefektuosos (C.1726G> A o c.2065G> A), el análisis genético debe ser la primera opción para el diagnóstico prenatal, en tanto que la detección de variantes patogénicas claras en la familia, la comprensión del estado portador de los alelos defectuosos falsos y la combinación con la actividad de la enzima GAA son obligatorias.

Si en el paciente no se encuentran dos variantes patogénicas claras, puede elegirse la medición de la actividad enzimática GAA para proporcionar un diagnóstico prenatal, comprender el estado de los alelos de pseudodefecto e interpretar los resultados con cuidado (57).

El diagnóstico prenatal de rutina se suele llevar a cabo mediante biopsia de las vellosidades coriónicas entre las 11 y las 13 semanas de gestación, o con amniocentesis entre las 17 y las 22 semanas de gestación, para obtener células fetales (57). Los resultados del diagnóstico prenatal no pueden predecir

la edad de aparición, el curso clínico o la gravedad de los fetos portadores de genes variantes patógenos con enfermedad de Pompe después del nacimiento.

Tamizaje neonatal

El diagnóstico precoz, especialmente el diagnóstico presintomático y la terapia de reemplazo enzimático (TRE) precoz pueden mejorar significativamente el pronóstico de la enfermedad de acumulación de glucógeno infantil tipo II.

El tamizaje de recién nacidos utiliza principalmente espectrometría de masas en tándem o método de fluorescencia para detectar la actividad enzimática GAA de muestras en papel filtro con sangre seca (57,58). Para aquellos que dan positivo en las pruebas de detección, se recomienda recolectar leucocitos o linfocitos de sangre periférica para la determinación de la actividad de la enzima GAA. Si la actividad de la enzima GAA está disminuida, se debe realizar asesoramiento genético, evaluación clínica multidisciplinaria y análisis de mutación del gen GAA al mismo tiempo, para confirmar el diagnóstico y el subtipo.

Diagnóstico diferencial

Debido a la heterogeneidad de la presentación, la forma tardía (LOPD) tanto en niños como en adultos puede simular otros trastornos neuromusculares, y el diagnóstico diferencial incluye una amplia gama de miopatías, así como enfermedades de la neurona motora y de la unión neuromuscular.

La LOPD debe diferenciarse de las siguientes enfermedades: distrofia muscular de cinturas, distrofia muscular de Becker, síndrome escapuloperoneal, miastenia gravis, atrofia muscular espinal, polimiositis, enfermedad por acumulación de glucógeno tipo IIIa, tipo IV, tipo V y tipo VII, enfermedad de Danon y miopatía mitocondrial, entre otras. (5, 58,59,60,61) (tabla 2).

La IOPD, por su parte, debe diferenciarse de las siguientes enfermedades: atrofia muscular espinal infantil tipo 1, distrofia muscular congénita, fibrosis elástica endocárdica, miocarditis, miocardiopatía tipo hipertrófica primaria, hipotiroidismo congénito, enfermedad de acumulación de glucógeno tipo IIIa y tipo IV, deficiencia primaria de carnitina, enfermedad de Danon, miopatía mitocondrial y síndrome de Prader-Willi, entre otras (15,61).

Tabla 2. Diagnóstico diferencial de Pompe de inicio tardío

Tipo de trastorno	Diagnósticos
Distrofias	<ul style="list-style-type: none"> · Distrofia muscular de cinturas · Distrofinopatías (distrofia muscular de Duchenne y de Becker) · Miopatía miofibrilar · Distrofia miotónica tipo 2 · Síndromes escapuloperoneales · Enfermedad de Danon · Miopatía ligada a X con autofagia excesiva · Distrofia muscular facioescapulohumeral
Miopatías inflamatorias	<ul style="list-style-type: none"> · Polimiositis · Miositis por cuerpos de inclusión
Miopatías congénitas	<ul style="list-style-type: none"> · Miopatía nemalínica · Miopatía centronuclear · Miopatía de cuerpos hialinos · Otras miopatías congénitas
Otras miopatías metabólicas	<ul style="list-style-type: none"> · Glucogenosis tipo III · Glucogenosis tipo IV · Enfermedad de McArdle (Inicio tardío) · Miopatía mitocondrial · Miopatías por trastorno de lípidos
Trastornos de neurona motora	<ul style="list-style-type: none"> · Atrofia muscular espinal tipo II y III · Enfermedad de Kennedy · Esclerosis amiotrófica lateral
Trastorno de unión neuromuscular	<ul style="list-style-type: none"> · Miastenia gravis · Síndromes miasténicos congénitos · Síndrome de Lambert-Eaton

Fuente: modificado de (7).

Contribuciones de las autoras. Alba Lucía Marentes-Cubillos: herramientas diagnósticas: conceptualización, escritura (borrador original, correcciones y edición); Sandra Carrillo-Villa: herramientas diagnósticas: conceptualización, escritura (borrador original, correcciones y edición); Andrea del Pilar López-Cáceres: diagnóstico genético: conceptualización, escritura (borrador original, correcciones y edición); Maria Paula Mesa-Mosquera: diagnóstico genético: conceptualización, escritura (borrador original, correcciones y edición).

Implicaciones éticas. De igual manera, tampoco tenemos ninguna implicación ética, ya que es un artículo de revisión.

Financiación. Declaramos que no tuvimos ningún tipo de financiación para el desarrollo del presente artículo.

Conflicto de intereses. Las autoras declaran que no tienen conflictos de interés en la escritura o publicación del artículo.

Agradecimientos. Al profesor Edoardo Malfatti, MD, del Departamento de Neurología del Hospital de la Pitié-Salpêtrière en París, Francia, y al profesor Jordi Díaz-Manera, MD, de la Unidad de Enfermedades Musculares (ENM) del Servicio de Neurología del Hospital de la Santa Creu i Sant Pau (HSCSP) de Barcelona, España.

Referencias

1. Simona T, Giuseppe C, Paolo C. Pompe disease: pathogenesis, molecular genetics and diagnosis. *Aging* 2020, Vol. 12, No. 15. <https://doi.org/10.18632/aging.103794>
2. Toscano A, Rodolico C, Musumeci O. Multisystem late onset pompe disease (LOPD): an update on clinical aspects. *Ann Transl Med.* 2019; 7:284. <https://doi.org/10.21037/atm.2019.07.24>
3. Musumeci O, la Marca G, Spada M, Mondello S, Danesino C, Comi GP, Pegoraro E, Antonini G, Marrosu G, Liguori R, Morandi L, Moggio M, Massa R, et al, and Italian GSD II group. LOPD study: looking for an early diagnosis in a late-onset pompe disease high-risk population. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2016; 87:5-11. <https://doi.org/10.1136/jnnp-2014-310164>

4. Musumeci O and Toscano A. Diagnostic tools in late onset Pompe disease (LOPD). *Ann Transl Med* 2019;7(13):286. <https://doi.org/10.21037/atm.2019.06.60>
5. Al-Lozi M, Amato A, Barohn R. Diagnostic criteria for late-onset (childhood and adult) pompe disease. *Muscle nerve* 40:149–160, 2009. <https://doi.org/10.1002/mus.21393>
6. Müller-Felber W, Horvath R, Gempel K, Podskarbi T, Shin Y, Pongratz D, Walter MC, Baethmann M, Schlotter-Weigel B, Lochmüller H, Schoser B. Late onset pompe disease: clinical and neurophysiological spectrum of 38 patients including long-term follow-up in 18 patients. *Neuromuscul Disord.* 2007; 17:698–706. <https://doi.org/10.1016/j.nmd.2007.06.002>
7. Kassardjian CD, Engel AG, Sorenson EJ. Electromyographic findings in 37 patients with adult-onset acid maltase deficiency. *Muscle Nerve* 2015;51:759–61. <https://doi.org/10.1002/mus.24620>
8. Hirschhorn R, Reuser AJJ. Glycogen storage disease type II: acid a–glucosidase (acid maltase) deficiency. In: Valle D, Beaudet AL, Vogelstein B, Kinzler KW, Antonarakis SE, Ballabio A, editors. *The online metabolic and molecular bases of inherited disease*, chap. 135. Scriver's OMMBID Website. <http://www.ommbid.com/>
9. Amato AA. Acid maltase deficiency and related myopathies. *Neurol Clin* 2000;18:151–165. [https://doi.org/10.1016/S0733-8619\(05\)70182-1](https://doi.org/10.1016/S0733-8619(05)70182-1)
10. Díaz-Manera J, Walter G, Volker Straub. Skeletal muscle magnetic resonance imaging in Pompe disease. *Muscle & Nerve.* 2020;1–11. <https://doi.org/10.1002/mus.27099>
11. Lollert A, Stihl C, Hötter AM, Mengel E, König J, Laudemann K, Gökce S, Düber C, Staatz G. Quantification of intramuscular fat in patients with late-onset pompe disease by conventional magnetic resonance imaging for the long-term follow-up of enzyme replacement therapy. *PLoS One.* 2018; 13:e0190784. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0190784>
12. Winchester B, Bali D, Bodamer OA, et al. Methods for a prompt and reliable laboratory diagnosis of Pompe disease: Report from an international consensus meeting. *Mol Genet Metab* 2008;93:275–81. <https://doi.org/10.1016/j.ymgme.2007.09.006>
13. Anderson G, Smith VV, Malone M, et al. Blood film examination for vacuolated lymphocytes in the diagnosis of metabolic disorders; retrospective experience of more than 2500 cases from a single centre. *J Clin Pathol* 2005;58:305–310. <https://doi.org/10.1136/jcp.2005.027045>
14. Pascarella A, Terracciano C, Farina O, et al. Vacuolated PAS-positive lymphocytes as a hallmark of Pompe disease and other myopathies related to impaired autophagy. *J Cell Physiol* 2018;233:5829–37. <https://doi.org/10.1002/jcp.26365>
15. Kishnani PS, Steiner RD, Bali D, Berger K, Byrne BJ, Case LE, et al. Pompe disease diagnosis and management guideline. *Genet Med* 2006;8:267–288. <https://doi.org/10.1097/01.gim.0000218152.87434.f3>
16. van der Ploeg AT, Reuser AJ. Pompe's disease. *Lancet* 2008; 372, No. 9646, 1342–53. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(08\)61555-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(08)61555-X)
17. Chien YH, Hwu WL, Lee NC. Pompe disease: Early diagnosis and early treatment make a difference. *Pediatr Neonatol.* 2013;54(4):219–27. <https://doi.org/10.1016/j.pedneo.2013.03.009>
18. van der Ploeg AT, Kruijshaar ME, Toscano A, Laforêt P, Angelini C, Lachmann RH, et al. European consensus for starting and stopping enzyme replacement therapy in adult patients with Pompe disease: a 10-year experience. *Eur J Neurol.* 2017;24(6):768–e31. <https://doi.org/10.1111/ene.13285>
19. Reuser AJJ, van der Ploeg AT, Chien YH, Llerena J, Abbott MA, Clemens PR, et al. GAA variants and phenotypes among 1,079 patients with Pompe disease: Data from the Pompe Registry. *Hum Mutat.* 2019;40(11):2146–64. <https://doi.org/10.1002/humu.23878>
20. Sun A. Lysosomal storage disease overview. *Ann Transl Med.* 2018;6(24):476.–476. <https://doi.org/10.21037/atm.2018.11.39>
21. Schoser B. Pompe disease: what are we missing? *Ann Transl Med.* 2019;7(13):292–292. <https://doi.org/10.21037/atm.2019.05.29>
22. Kuo WL, Hirschhorn R, Huie ML, Hirschhorn K. Localization and ordering of acid alpha–glucosidase (GAA) and thymidine kinase (TK1) by fluorescence in situ hybridization. *Hum Genet.* 1996;97(3):404–6. <https://doi.org/10.1007/BF02185782>
23. Raben N, Nichols RC, Boerkoel C, Plotz P. Genetic defects in patients with glycogenosis type II (acid maltase deficiency). *Muscle Nerve.* 1995;18(14 S):S70–4. <https://doi.org/10.1002/mus.880181415>
24. Martiniuk F, Bodkin M, Tzall S, Hirschhorn R. Isolation and Partial Characterization of the Structural Gene for Human Acid Alpha Glucosidase. *DNA Cell Biol.* 1991;10(4):283–92. <https://doi.org/10.1089/dna.1991.10.283>
25. Kroos M, Hoogveen–Westerveld M, van der Ploeg A, Reuser AJJ. The genotype–phenotype correlation in Pompe disease. *Am J Med Genet Part C Semin Med Genet.* 2012;160 C(1):59–68. <https://doi.org/10.1002/ajmg.c.31318>

26. Kroos MA, Mullaart RA, Van Vliet L, Pomponio RJ, Amartino H, Kolodny EH, et al. p.[G576S; E689K]: Pathogenic combination or polymorphism in Pompe disease? *Eur J Hum Genet.* 2008;16(8):875–9. <https://doi.org/10.1038/ejhg.2008.34>
27. Montagnese F, Barca E, Musumeci O, Mondello S, Migliorato A, Ciranni A, et al. Clinical and molecular aspects of 30 patients with late-onset Pompe disease (LOPD): unusual features and response to treatment. *J Neurol.* 2015;262(4):968–78. <https://doi.org/10.1007/s00415-015-7664-0>
28. Montalvo ALE, Bembi B, Donnarumma M, Filocamo M, Parenti G, Rossi M, et al. Mutation profile of the GAA gene in 40 Italian patients with late onset glycogen storage disease type II. *Hum Mutat.* 2006;27(10):999–1006. <https://doi.org/10.1002/humu.20374>
29. Kroos MA, Pomponio RJ, Hagemans ML, Keulemans JLM, Phipps M, DeRiso M, et al. Broad spectrum of Pompe disease in patients with the same c.-32-13T→G haplotype. *Neurology.* 2007;68(2):110–5. <https://doi.org/10.1212/01.wnl.0000252798.25690.76>
30. Burton BK, Kronn DF, Hwu WL, Kishnani PS. The initial evaluation of patients after positive newborn screening: Recommended algorithms leading to a confirmed diagnosis of pompe disease. *Pediatrics.* 2017;140(July). <https://doi.org/10.1542/peds.2016-0280D>
31. Niño MY, in 't Groen SLM, Bergsma AJ, van der Beek NAME, Kroos M, Hoogeveen-Westerveld M, et al. Extension of the Pompe mutation database by linking disease-associated variants to clinical severity. *Hum Mutat.* 2019;40(11):1954–67. <https://doi.org/10.1002/humu.23854>
32. de Faria DOS, in 't Groen SLM, Hoogeveen-Westerveld M, Niño MY, van der Ploeg AT, Bergsma AJ, et al. Update of the Pompe variant database for the prediction of clinical phenotypes: Novel disease-associated variants, common sequence variants, and results from newborn screening. *Hum Mutat.* 2021;42(2):119–34. <https://doi.org/10.1002/humu.24148>
33. Zampieri S, Buratti E, Dominissini S, Montalvo AL, Pittis MG, Bembi B, et al. Splicing mutations in glycogen-storage disease type II: Evaluation of the full spectrum of mutations and their relation to patients phenotypes. *Eur J Hum Genet.* 2011;19(4):422–31. <https://doi.org/10.1038/ejhg.2010.188>
34. Raben N, Plotz P, Byrne B. Acid α -Glucosidase Deficiency (Glycogenosis Type II, Pompe Disease). *Curr Mol Med.* 2005;2(2):145–66. <https://doi.org/10.2174/1566524024605789>
35. Tarnopolsky M, Katzberg H, Petrof BJ, Sirrs S, Sarnat HB, Myers K, et al. Pompe Disease: Diagnosis and Management. Evidence-Based Guidelines from a Canadian Expert Panel. *Can J Neurol Sci.* 2016;43(4):472–85. <https://doi.org/10.1017/cjn.2016.37>
36. Tsai ACH, Hung YW, Harding C, Koeller DM, Wang J, Wong LJC. Next generation deep sequencing corrects diagnostic pitfalls of traditional molecular approach in a patient with prenatal onset of Pompe disease. *Am J Med Genet Part A.* 2017;173(9):2500–4. <https://doi.org/10.1002/ajmg.a.38333>
37. Musumeci O, Thieme A, Claeys KG, Wenninger S, Kley RA, Kuhn M, et al. Homozygosity for the common GAA gene splice site mutation c.-32-13T→G in Pompe disease is associated with the classical adult phenotypical spectrum. *Neuromuscul Disord.* 2015 Sep 1;25(9):719–24. <https://doi.org/10.1016/j.nmd.2015.07.002>
38. Schouten JP, McElgunn CJ, Waaijer R, Zwijnenburg D, Diepvens F, Pals G. Relative quantification of 40 nucleic acid sequences by multiplex ligation-dependent probe amplification. *Nucleic Acids Res.* 2002 Jun 15;30(12):e57–e57. <https://doi.org/10.1093/nar/gnf056>
39. in 't Groen SLM, de Faria DOS, Iuliano A, van den Hout JMP, Douben H, Dijkhuizen T, et al. Novel GAA Variants and Mosaicism in Pompe Disease Identified by Extended Analyses of Patients with an Incomplete DNA Diagnosis. *Mol Ther – Methods Clin Dev.* 2020;17(June):337–48. <https://doi.org/10.1016/j.omtm.2019.12.016>
40. Wan L, Lee CC, Hsu CM, Hwu WL, Yang CC, Tsai CH, et al. Identification of eight novel mutations of the acid α -glucosidase gene causing the infantile or juvenile form of glycogen storage disease type II. *J Neurol.* 2008;255(6):831–8. <https://doi.org/10.1007/s00415-008-0714-0>
41. Herzog A, Hartung R, Reuser AJJ, Hermanns P, Runz H, Karabul N, et al. A cross-sectional single-centre study on the spectrum of Pompe disease, German patients: Molecular analysis of the GAA gene, manifestation and genotype-phenotype correlations. *Orphanet J Rare Dis.* 2012;7(1). <https://doi.org/10.1186/1750-1172-7-35>
42. Becker JA, Vlach J, Raben N, Nagaraju K, Adams EM, Hermans MM, et al. The African origin of the common mutation in African American patients with glycogen-storage disease type II [3]. *Am J Hum Genet.* 1998;62(4):991–4. <https://doi.org/10.1086/301788>
43. Adams EM, Becker JA, Griffith L, Segal A, Plotz PH, Raben N. Glycogenosis type II: A juvenile-specific mutation with an unusual splicing pattern and a shared mutation in African Americans. *Hum Mutat.* 1997;10(2):128–34. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1098-1004\(1997\)10:2<128::AID-HUMU5>3.0.CO;2-G](https://doi.org/10.1002/(SICI)1098-1004(1997)10:2<128::AID-HUMU5>3.0.CO;2-G)
44. Shieh JJ, Lin CY. Frequent mutation in Chinese patients with infantile type of GSD II in Taiwan: Evidence for a founder effect. *Hum Mutat.* 1998;11(4):306–12. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1098-1004\(1998\)11:4<306::AID-HUMU8>3.0.CO;2-S](https://doi.org/10.1002/(SICI)1098-1004(1998)11:4<306::AID-HUMU8>3.0.CO;2-S)

45. Lin CY, Shieh JJ. Molecular study on the infantile form of Pompe disease in Chinese in Taiwan. *Zhonghua Min Guo Xiao Er Ke Yi Xue Hui Za Zhi*. 1996;37(2):115–121. PMID: 8935410
46. Hule ML, Chen AS, Tsujino S, Shanske S, Dimauro S, Engel AG, et al. Aberrant splicing in adult onset glycogen storage disease type II (GSDII): Molecular identification of an IVS1 (- 13T→G) mutation in a majority of patients and a novel IVS10 (+ 1GT → CT) mutation. *Hum Mol Genet*. 1994;3(12):2231–6. <https://doi.org/10.1093/hmg/3.12.2231>
47. Boerkoel CF, Exelbert R, Nicastrì C, Nichols RC, Miller FW, Plotz PH, et al. Leaky splicing mutation in the acid maltase gene is associated with delayed onset of glycogenosis type II. *Am J Hum Genet*. 1995;56(4):887–97. PMID: 7717400
48. Raben N, Nichols RC, Martiniuk F, Plotz PH. A model of mRNA splicing in adult lysosomal storage disease (glycogenosis type II). *Hum Mol Genet*. 1996;5(7):995–1000. <https://doi.org/10.1093/hmg/5.7.995>
49. Dardis A, Zanin I, Zampieri S, Stuani C, Pianta A, Romanello M, et al. Functional characterization of the common c.-32-13T>G mutation of GAA gene: Identification of potential therapeutic agents. *Nucleic Acids Res*. 2014;42(2):1291–302. <https://doi.org/10.1093/nar/gkt987>
50. Bergsma AJ, in 't Groen SLM, van den Dorpel JJA, van den Hout HJMP, van der Beek NAME, Schoser B, et al. A genetic modifier of symptom onset in Pompe disease. *EBioMedicine* [Internet]. 2019;43:553–61. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2019.03.048>
51. Niño MY, Mateus HE, Fonseca DJ, Kroos MA, Ospina SY, Mejía JF, et al. Identification and Functional Characterization of GAA Mutations in Colombian Patients Affected by Pompe Disease. In: Brown G, Morava E, Peters V, Gibson KM, Zschocke J, editors. *JIMD Reports – Case and Research Reports*, 2012/4. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2013. p. 39–48. https://doi.org/10.1007/978-3-642-2138-1_38
52. Puentes-Tellez MA, Lerma-Barbosa PA, Garzón-Jaramillo RG, Suarez DA, Espejo-Mojica AJ, Guevara JM, et al. A perspective on research, diagnosis, and management of lysosomal storage disorders in Colombia. *Heliyon*. 2020;6(3). <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e03635>
53. Huie ML, Chen AS, Brooks SS, Grix A, Hirschhorn R. A de novo 13 nt deletion, a newly identified C647W missense mutation and a deletion of exon 18 in infantile onset glycogen storage disease type II (GSDII). *Hum Mol Genet*. 1994 Jul;3(7):1081–1087. <https://doi.org/10.1093/hmg/3.7.1081>
54. Kumamoto S, Katafuchi T, Nakamura K, Endo F, Oda E, Okuyama T, et al. High frequency of acid α -glucosidase pseudodeficiency complicates newborn screening for glycogen storage disease type II in the Japanese population. *Mol Genet Metab*. 2009;97(3):190–5. <https://doi.org/10.1016/j.ymgme.2009.03.004>
55. Tajima Y, Matsuzawa F, Aikawa SI, Okumiya T, Yoshimizu M, Tsukimura T, et al. Structural and biochemical studies on Pompe disease and a "pseudodeficiency of acid α -glucosidase." *J Hum Genet*. 2007;52(11):898–906. <https://doi.org/10.1007/s10038-007-0191-9>
56. Bali DS, Goldstein JL, Banugaria S, Dai J, Mackey J, Rehder C, et al. Predicting cross-reactive immunological material (CRIM) status in Pompe disease using GAA mutations: Lessons learned from 10 years of clinical laboratory testing experience. *Am J Med Genet Part C Semin Med Genet*. 2012;160 C(1):40–9. <https://doi.org/10.1002/ajmg.c.31319>
57. Taglia A, Picillo E, D'Ambrosio P, Cecio MR, Viggiano E PL. Genetic counseling in Pompe disease. *Acta Myol*. 2011;30(3):179–181. PMID: 22616199
58. Llerena Junior JC, Nascimento OJM, Oliveira ASB, et al. Guidelines for the diagnosis, treatment and clinical monitoring of patients with juvenile and adult pompe disease. *Arq Neuropsiquiatr*. 2016;74(2):166–176. <https://doi.org/10.1590/0004-282X20150194>
59. Giraldo BO, Cornejo Ochoa JW, Arango D. Enfermedad de pompe: descripción de las características clínicas y de laboratorio de una familia colombiana. *Acta Neurológica Colomb*. 2011;27(4):231–236.
60. Al Jasmi F, Al Jumah M, Alqarni F, et al. Diagnosis and treatment of late-onset Pompe disease in the Middle East and North Africa region: Consensus recommendations from an expert group. *BMC Neurol*. 2015;15(1):1–17. <https://doi.org/10.1186/s12883-015-0412-3>
61. Leslie N BL. Pompe Disease. 2007 agosto 31 [actualizado 2017 mayo 11]. En: Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, Wallace SE, Bean LJH, Mirzaa G, Amemiya A, editors. *GeneReviews*® [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle.