

Поздняя форма болезни Помпе: диагностические и терапевтические подходы

Claude Desnuelle

Центр нервно-мышечных болезней, Университетский госпитальный Центр; Медицинский факультет, Ницца, Франция

Перевод: Мария Олеговна Ковальчук

Контакты: Claude.Desnuelle.desnuelle.c@chu-nice.fr

Болезнь Помпе — клинически гетерогенное заболевание, в основе патогенеза которого лежит избыточное накопление гликогена лизосомами в результате мутации гена GAA и потери активности фермента кислой α -глюкозидазы. Неонатальная форма заболевания, проявляющаяся сердечной, дыхательной и печеночной недостаточностью, имеет неблагоприятный прогноз. Поздние, медленно прогрессирующие хронические формы, проявляющиеся в возрасте после 1 года жизни с преимущественным поражением скелетной и дыхательной мускулатуры, имеют более благоприятное течение. Понимание и уточнение тонкостей патофизиологических процессов при болезни Помпе, а также разработка заместительной энзимотерапии (ЗЭТ) вызвали новую волну интереса к данной патологии. При ранних формах ЗЭТ имеет достаточно высокую эффективность в отличие от пациентов с поздними формами, что объясняется уже имеющимися значительными нарушениями клеточных и тканевых функций в результате избыточного накопления гликогена. С целью улучшения прогноза при поздних формах заболевания требуется как можно более раннее назначение ЗЭТ, что возможно только при своевременной постановке диагноза. Основным и самым простым способом диагностики болезни Помпе является определение активности фермента по сухому кровяному пятну. Вопрос о том, следует ли проводить ЗЭТ всем пациентам с поздней формой заболевания, остается открытым.

Ключевые слова: гликогеноз 2-го типа, болезнь Помпе, миопатия, лизосомальные болезни, болезнь накопления гликогена, аутофагосома, аутофагия

Болезнь Помпе, или гликогеноз 2-го типа (OMIM: 232300) — редкое наследственное аутосомно-рецессивное заболевание, впервые описанное как неонатальная форма в 1932 г. голландским патологоанатомом Помпе, по имени которого заболевание получило свое название. Неонатальная форма проявляется кардиомиопатией, сочетающейся с дыхательной и печеночной недостаточностью, которые нередко приводят к летальному исходу. В 1963 г. биохимик Эром показал, что в основе нарушения метаболизма при болезни Помпе лежит лизосомальная ферментативная недостаточность кислой α -глюкозидазы (GAA, от англ. α -glucosidase acid). В 1969 г. было доказано существование и поздней формы заболевания, характеризующейся медленно прогрессирующим течением с преимущественным вовлечением скелетных и дыхательных мышц. В последние годы достигнуты значительные успехи в понимании патофизиологических механизмов болезни Помпе, а также в применении заместительной энзимотерапии (ЗЭТ). Эффективность ЗЭТ не вызывает сомнения при ранних формах в отличие от более поздних форм болезни, необходимость в терапии которых требует уточнения.

Болезнь Помпе — генетическое заболевание с распространенностью 1 на 146 тыс. новорожденных. С учетом всех форм заболевания независимо от пола, этнической принадлежности и географии его частота составляет 1 на 14–300 тыс. [1]. Мутация, ответственная за развитие болезни Помпе, располагается в гене

GAA, локализованном на 17q25.2–25 хромосоме. Она была расшифрована в 1989 г. и состоит из 20 экзонов, кодирующих последовательность из 952 аминокислот [2]. Белок-предшественник массой 110 КДа синтезируется в эндоплазматическом ретикулуме (рис. 1) и реплицируется под контролем белков-шаперонов. После завершения процесса гликозилирования в аппарате Гольджи промежуточный белок переносится в лизосомы, где происходит его распознавание с участием катионнезависимых рецепторов маннозо-6-фосфата (CI-MPR) и в конечном итоге протеолиз на 2 изоформы массой 76 и 90 КДа. Функция белка GAA состоит в расщеплении в кислой среде гликозидных связей α -1,4 и 1,6 гликогена с образованием глюкозы, которая затем активно транспортируется через мембрану лизосомы посредством специфического переносчика. Мутантные белки GAA разрушаются в цитозоле, в результате чего нарушается метаболизм гликогена и происходит его накопление в лизосомах. Клинические проявления в основном определяются патологическим накоплением гликогена, хотя патогенез заболевания этим не исчерпывается [3].

Трудности диагностики болезни Помпе

Ретроспективный анализ более чем половины случаев болезни Помпе у взрослых, выявленных во Франции за последние 10 лет, показал, что диагноз устанавливался в среднем с задержкой до 7,9 года от

момента обращения к врачу (неопубликованные данные Французского миологического общества — SFM, 2011 г.). Недооценка распространенности заболевания служит частой причиной неправильного диагноза или его отсутствия [4]. Поздняя форма, или болезнь Помпе с поздним дебютом (БППД), долго считалась относительно доброкачественной, однако в последнее время показано, что даже она может иметь тяжелое течение с быстрой инвалидизацией пациента. В этих случаях средний возраст летального исхода составляет 55 лет при среднем возрасте установления диагноза 38 лет [5]. Средняя продолжительность жизни пациента с БППД тяжелого течения от момента установления диагноза составляет 17 лет.

Диагностический алгоритм болезни Помпе базируется на биохимическом анализе активности GAA, с учетом клинических и параклинических данных. По аналогии с диагностическим тестом Гютри при фенилкетонурии с целью повышения выявляемости болезни Помпе на первом году жизни (т. е. дебютом до 12 мес после рождения — болезнь Помпе с ранним дебютом, БПРД) в ряде стран внедрены программы систематического скрининга новорожденных [6]. Тем не менее, отсутствие единого стандарта в профилактике лизосомальных болезней приводит к недостаточной диагностике БППД, асимптомно протекающих у новорожденных. Данный факт требует обсуждения и скорейшего внедрения своевременных диагностических тестов [7].

Симптомы болезни Помпе с поздним дебютом

Первые симптомы БППД могут появляться после первого года жизни, во взрослом и даже пожилом возрасте [8]. Разделение заболевания на подтипы в зависимости от возраста манифестации признано нецелесообразным [1, 9, 10], так как в большинстве случаев тщательный сбор анамнеза у взрослых и лиц пожилого возраста подтверждает наличие жалоб и симптомов уже в детском и подростковом возрасте. БППД характеризуется медленно прогрессирующим течением с преимущественным поражением скелетных мышц. У детей и подростков с БППД также часто наблюдаются нарушения со стороны сердца и печени. Дыхательная недостаточность является важной составляющей типичной клинической картины заболевания.

Для взрослых характерно наличие слабости проксимальных мышц конечностей и/или вовлечение параспинальных мышц с кифозом и слабостью аксиальных мышц (рис. 2). Заболевание прогрессирует медленно. Период, за который симптомы развиваются настолько, что заставляют обратиться к врачу, часто бывает весьма продолжительным, что определяет задержку в установлении диагноза на много лет. Нередко в анамнезе обнаруживаются указания на слабость и плохую переносимость нагрузок, низкие спортивные результаты, боли в поясничных мышцах, крампи и болевые ощущения в мышцах. Наличие и степень двигательного дефицита важны для оценки продолжитель-

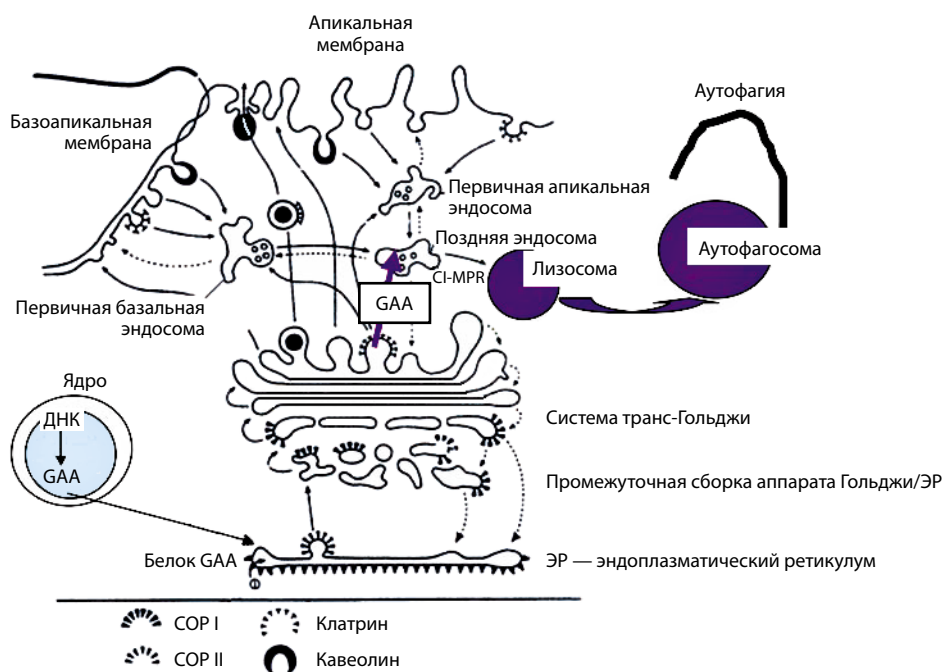


Рис. 1. Схема патофизиологических механизмов при болезни Помпе. В норме кодируемый геном GAA белок GAA синтезируется в эндоплазматическом ретикулуме, его конечная сборка завершается в аппарате Гольджи, затем путем внутриклеточного транспорта посредством CI-MPR белок переносится в лизосому. Дисфункция фермента GAA вследствие мутации гена GAA приводит к накоплению гликогена в лизосоме, появлению аутофагосом, далее к нарушению сократительной способности мышечного волокна и в конечном итоге к гибели клетки

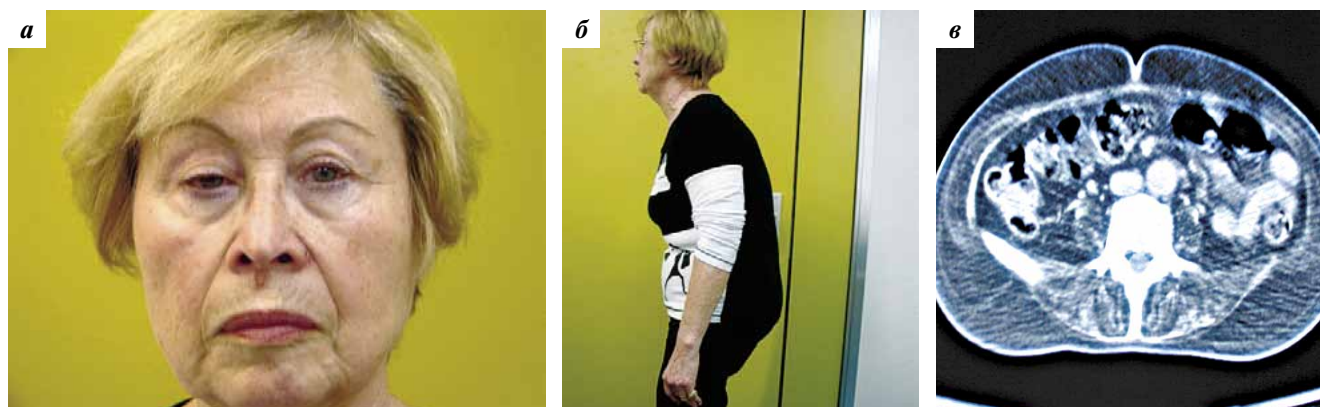


Рис. 2. Клинические проявления БППД: а — асимметричный птоз; б — аксиальная гипотония с тенденцией к стойкому сохранению неестественного положения туловища (по типу камптокормии), грудной кифоз и статическая компенсация в виде подгибания колен; в — томоденситометрия, демонстрирующая значительную фиброзно-жировую дегенерацию параспинальных лумбальных мышц

ности заболевания независимо от возраста пациента. Помимо вышеперечисленных жалоб, врача должны насторожить следующие ранние признаки дыхательных нарушений: одышка при нагрузке или ортопноэ, нарушение дыхания во сне (апноэ во время сна), утренние цефалгии, частые легочные инфекционные заболевания, дневная сонливость. Дебют заболевания с дыхательных нарушений наблюдается в 30 % случаев [1]. Слабость скелетной мускулатуры и дыхательные нарушения чаще всего не связаны. Так, амбулаторные пациенты могут нуждаться в ночной дыхательной поддержке, тогда как больные, прикованные к инвалидному креслу, имеют нормальную дыхательную функцию. Другие проявления могут быть сопутствующими, и их часто трудно ассоциировать с болезнью Помпе, если симптомы остаются изолированными, например, птоз (см. рис. 2), снижение слуха, случайно обнаруженная гиперКФКемия (креатинфосфокиназа — КФК) [11]. Часто встречается эктазия церебральных артерий [12]. При поздних формах церебральная аневризма, макроглоссия или гепатомегалия с повышением трансаминаз встречаются редко. Описаны желудочно-кишечные расстройства в виде хронической диареи, рвоты и постпрандиальные абдоминальные боли.

У самых молодых пациентов с БППД наблюдают картину мышечной дистрофии с нарастающим моторным дефицитом, задержкой ходьбы или регрессом приобретенных навыков, псевдогипертрофии икроножных мышц [13]. У подростков основными проявлениями являются, как правило, прогрессирующая миопатия поясная с мышечной слабостью, отставанием лопаток и/или сколиозом. Возможно наличие гипертрофической кардиомиопатии. Изменения со стороны сердца редко бывают первыми симптомами, но усугубляют дыхательную недостаточность. Гепатомегалия и/или повышение трансаминаз в исключительных случаях могут быть единственным признаком, обнаруженным при обычном осмотре. Описаны случаи гипоакузии, обычно связываемой с сенсорной

тугоухостью или ретрокохлеарным уровнем поражения. Это позволяет заподозрить вовлечение центральной нервной системы (ЦНС) также в результате накопления гликогена при болезни Помпе [14].

Дифференциальный диагноз БППД включает: мышечные дистрофии, врожденные миопатии, болезнь Данаона, метаболические миопатии (избыток липидов, гликогена или митохондриопатии), спинальную амиотрофию, полимиозит и миозит с включениями (особенно у лиц старшего возраста).

Биохимическое исследование активности GAA — основа диагностики болезни Помпе

В клинической практике основная задача — выявление симптомов, позволяющих своевременно заподозрить болезнь Помпе. Достаточная информированность и настороженность врача в отношении болезни Помпе, при совокупности вышеописанных симптомов облегчает диагностику. Наличие изолированных симптомов значительно осложняет диагностический поиск.

Стандартные исследования

Ни одно из стандартных клинических исследований, используемых в диагностике нервно-мышечных болезней, не является абсолютным при болезни Помпе: электромиография (ЭМГ) игольчатыми электродами в лучшем случае выявляет признаки первично-мышечного уровня поражения; уровень КФК обычно повышается в 2–5 раз, но может быть и нормальным. Обнаружение на электрокардиограмме (ЭКГ) увеличения амплитуды QRS, укорочение интервала P–Q заставляет предположить наличие кардиомиопатии; эхокардиография выявляет расширение левого желудочка. Как и при всех других миопатиях, снижение форсированной жизненной емкости легких (ФЖЕЛ) при спирометрии, а также силы диафрагмы, оцениваемой более тонкими методами, указывает на рестриктивную дыхательную недостаточность. При этом показатели ФЖЕЛ в положении лежа хуже, чем в положении сидя.

Магнитно-резонансная томография (МРТ) скелетных мышц

Достаточно информативным методом исследования при болезни Помпе является МРТ мышц. Томоденситометрия или МРТ в T1-режиме позволяют легко оценить трофику мышц и выявить специфические области, где мышцы подвергнута фиброзно-жировой дегенерации, что характерно для мышечных дистрофий. Исследование R.Y. Carlier и соавт. [15] показало, что при подозрении на болезнь Помпе показана МРТ всего тела, так как это существенно облегчает диагностику, выявляя характерный паттерн мышечных нарушений, включая поражение языка и аксиальной мускулатуры, а также мышц, удерживающих лопатку, и зубчатых мышц, крупных приводящих мышц бедер и ягодичных мышц. Полученные данные помогают оценить степень тяжести мышечных нарушений, а при назначении терапии могут быть использованы в оценке ее эффективности.

Накопление гликогена в мышцах было исследовано при спектроскопии ядерного магнитного резонан-

са *C13* [16], которая также дала обнадеживающие результаты в оценке динамики состояния пациентов на фоне терапии.

Как и при других болезнях накопления гликогена, использование рекомбинантного ферментативного аналога, меченного F18 в PetScan, позволяет изучать кинетику распределения лекарственных препаратов [17]. Две последние методики не включены в стандарт диагностики и являются экспериментальными.

Биопсия мышц

Исследование мышечного биоптата при болезни Помпе долгое время считалось основным методом диагностики. Биопсия обнаруживает вакуольную миопатию лизосомальной природы при определении активности кислой фосфатазы при гистоферментативном исследовании, а также накопление гликогена, подтверждаемое положительной PAS-реакцией (рис. 3).

При электронной микроскопии в вакуолях выявляются плотные тельца, цитоплазматические осколки

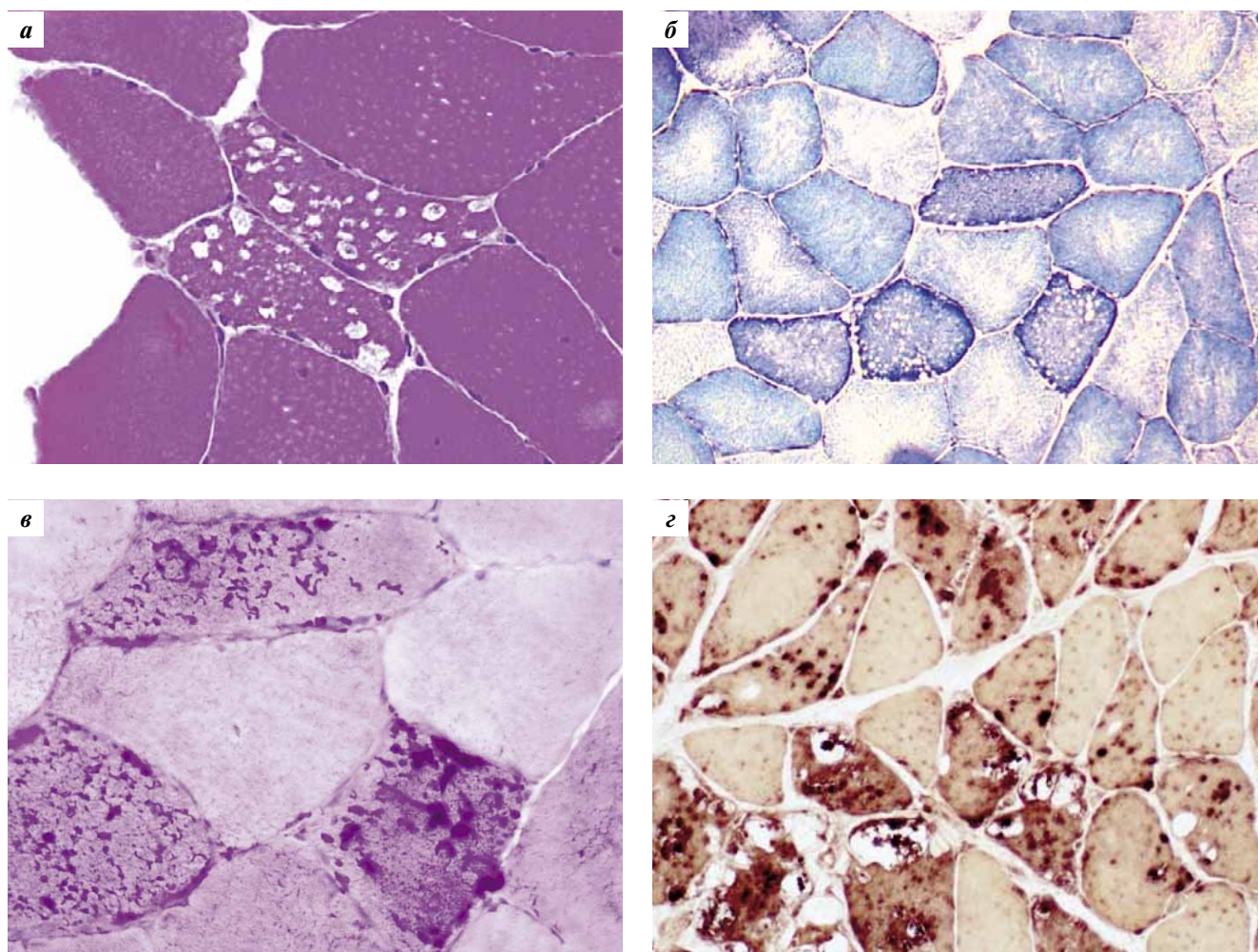


Рис. 3. Патоморфологические изменения в биоптате мышцы при болезни Помпе: а — вакуолизация мышечных волокон, окраска гематоксилином и эозином; б — преобладание вакуолей в волокнах I-го типа при гистохимическом типировании по NADH; в — накопление гликогена в вакуолях при PAS-реакции; г — вакуоли, увеличенные в размерах, подтверждающие ферментативную активность кислой фосфатазы. Обращает на себя внимание локальность повреждения, на представленных срезах изменения видны в нескольких волокнах

и мультиламеллярные структуры. Также обнаруживаются скопления аутофагированного материала типа липофуцина, пролиферация аппарата Гольджи или аномальная экспрессия кавеолина [18]. Гистологические изменения в пораженных мышцах не всегда соответствуют тяжести заболевания. В связи с особой чувствительностью некоторых мышц к дефициту GAA, последние могут быть существенно уменьшены в объеме или даже полностью атрофированы.

Достаточно частые случаи ложноотрицательных результатов понизили диагностический рейтинг гистологического исследования, но при этом оно сохраняет свою актуальность в рамках дифференциального диагноза.

Биохимическое исследование активности GAA при болезни Помпе

В основе биохимической диагностики болезни Помпе лежит исследование активности фермента GAA при помощи естественных или синтетических субстратов в кислой среде [1]. Сегодня для проведения реакции практически не используются культура фибробластов кожи, гомогенат мышечного биоптата и очищенные лейкоциты. Взаимодействие белка GAA с другими ферментами (например, мальтазой глюкоамилазой — MGA), присутствующих в нейтрофилах, может стать причиной ложноотрицательных результатов. Поэтому для диагностики берут очищенные лимфоциты, а в исследуемую среду добавляют ингибиторы MGA (акарбозу) [19]. Результаты подлежат обязательному сравнению с одновременно полученными данными контрольной группы. При соблюдении обязательных методологических условий ферментативная активность GAA у ребенка, страдающего болезнью Помпе, должна быть ниже 1%. Как правило, степень снижения активности GAA менее выражена у подростков и взрослых, страдающих болезнью Помпе. Следует отметить, что корреляции между ферментативной активностью и выраженностью симптомов не обнаружено.

В последнее время преимущественно используется флуорометрический метод, который позволяет с высокой достоверностью неинвазивно оценивать биохимическую активность GAA [20, 21]. Анализу подлежит проба крови, нанесенная на промокательную бумагу в виде капли диаметром 3 мм (так называемый метод сухого кровяного пятна, от англ. dot blood sample, DBS) с последующим флуорометрическим анализом. Преимущество DBS состоит в том, что образцы не требуют специальных условий при транспортировке (их можно переслать по почте) и хранении (могут храниться при комнатной температуре без изменения активности анализируемого фермента). Одно из условий при оценке результатов — обязательное учитывание границ референтных значений для сопоставления данных, полученных из разных лабораторий. Результаты, полученные при флуометрии DBS, выражаются

в единицах пмоль/ч. Обязательным является подтверждение данных при исследовании очищенных лимфоцитов.

Поиск генетических мутаций

Для развития фенотипических изменений необходимо, чтобы обе аллели GAA были носителями патогенной мутации. Патогенность большинства описанных мутаций установлена на клеточных моделях и обусловлена аномалией срачивания или нарушением биосинтеза белков вследствие нестабильности РНК мессенджеров (РНКм). Современные методы молекулярной биологии позволяют предсказать степень тяжести болезни, которая коррелирует с остаточным уровнем активности фермента [22]. Например, часто наблюдаемые в голландской популяции мутации p.G176Ax45 и делеция в экзоне 18 (p.G828-A882-del, c.282-246del) соответствуют тяжелому течению болезни. Клиническую гетерогенность заболевания могут определять и другие факторы, что иллюстрирует существование пациентов-носителей мутации c.-32-13T>G/null (null для любой мутации GAA ведет к полной утрате ферментативной активности), носителем которой являются от 42 до 68 % больных БППД. Некоторые мутации обнаружены лишь у пациентов с БПРД, другие — исключительно при БППД [23]. Помимо причинного гена на течение и клиническую картину болезни Помпе могут влиять и другие генетические факторы. Например, известно, что генетический полиморфизм ангиотензинпревращающего фермента (АПФ) влияет на свойства мышечной ткани. С учетом различий в клинических проявлениях со стороны скелетных мышц при БПРД и БППД было показано, что DD-генотип АПФ ассоциируется с ранним началом болезни ($p = 0,041$), высокими цифрами КФК ($p = 0,024$), наличием мышечных болей ($p = 0,014$), более тяжелым и быстро прогрессирующим течением болезни ($p = 0,037$) [24]. Ряд авторов подчеркивает селективность поражаемых органов: часто встречаемая мутация c.-32-13T>G ассоциирована с кардиопатией [25]. Сегодня идентифицировано более 150 мутаций гена GAA (регистр CCHMC-Human mutation Database, Pagon et al., www.ncbi.nlm.nih.gov/). Описано следующее этническое распределение: мутации c552del-p.G309g, p.M539T-p.G219R, p.G828-N882del и p.E176-fsX4 обнаружены в европейской популяции; мутация p.D64E характерна для азиатской популяции, а мутация p.R854X преимущественно встречается у африканских народностей (Database Erasmus University, www.pompecenter.nl).

Терапевтические возможности

Еще совсем недавно терапия болезни Помпе ограничивалась симптоматическим лечением и профилактикой осложнений. В ряде стран опубликованы пересмотренные рекомендации по ведению пациентов с болезнью Помпе: в США — ACMG Practice Guidelines [9] и рекомендации AANEM (Американская Ассоциа-

ция по нервно-мышечным болезням и электродиагностической медицине) [26], в Бразилии — Бразильский Консенсус [27], а также в Италии [10] и Бельгии (*National Guidelines*, 2011).

Согласно международному консенсусу авторы перечисленных выше рекомендаций ставили перед собой задачу установления критериев диагностики болезни Помпе, с учетом кардиологических, легочных симптомов, скелетно-мышечных проявлений, особенностей питания, а также комплекса исследований, необходимых для проведения ЗЭТ. Обязательным также является включение каждого выявленного случая в международный регистр Помпе (www.pomperegistry.com), с регулярным отчетом о состоянии пациента, получившего лечение.

С развитием ЗЭТ изменился взгляд на использование в реабилитации пациентов с болезнью Помпе кинезиологических методик, повышающих фармакологическую диффузию препарата в мышце и уменьшающих моторный дефицит. Комбинация диетотерапии, физической нагрузки и ЗЭТ показала свою эффективность в ходе продолжительных исследований [28]. Для профилактики хрупкости костей в результате деминерализации детям необходимо дополнительное назначение кальция. В свете современных представлений о механизмах заболевания сегодня основной упор делается на возможности патогенетической фармакотерапии.

Патофизиологические основы заместительной энзимотерапии

Как только сложилась научная концепция болезни накопления, факт отложения гликогена при болезни Помпе как причина нарушения нормальной жизнедеятельности клеток разных тканей и мышечных волокон в частности ни у кого не вызывает сомнения. Как указывалось ранее, при БППД мышечные симптомы являются ведущими, что проявляется слабостью и атрофией мышц. С морфологической точки зрения, как только уровень активности α -глюкозидазы (в зависимости от вида ткани) падает ниже критического, отложения гликогена становятся агрессивными для структур клетки. На экспериментальной модели летучей мыши *GAA-KO* была прослежена последовательность патологических изменений в мышечной ткани по мере прогрессирования болезни [29, 30]. Выявленные изменения также были подтверждены у человека с использованием флуоресцентной конфокальной микроскопии, позволяющей дифференцировать лизосомы и аутофагосомы при обработке материала антителами анти-LAMP2 и анти-LC3. Так, на начальной стадии появляются небольшие лизосомальные вакуоли, нагруженные гликогеном, которые располагаются в разных отделах мышечного волокна. По мере прогрессирования заболевания лизосомы становятся все более объемными, появляются аутофагосомы, что

приводит к структурной реорганизации клетки. Долгое время считалось, что разрыв лизосом, переполненных гликогеном, служит основной причиной патологических изменений мышечных волокон при болезни Помпе. Сегодня активно обсуждается участие в патогенезе болезни аутофагии. Аутофагия — процесс деградации долго живущих белков и поврежденных органелл клетки. Различают 3 основных типа аутофагии — микроаутофагию, макроаутофагию и шаперонзависимую аутофагию. В свете рассматриваемых процессов основное значение имеют первые 2 типа аутофагии, причем при болезни Помпе даже в большей степени макроаутофагия. При микроаутофагии, являющейся нормальным физиологическим процессом, лизосома избирательно захватывает макромолекулы и обломки клеточных мембран, происходит их переваривание. Этот процесс особенно актуален при нехватке в клетке энергии или строительного материала (например, при голодании).

При макроаутофагии участок цитоплазмы (часто содержащий отдельные органоиды) окружается мембранным компартментом, напоминающим цистерну эндоплазматической сети; в последующем это образование отделяется от остальной цитоплазмы 2 мембранами. Описанные 2 мембранных образования, содержащие удаляемые органеллы и цитоплазму, получили название аутофагосомы. Аутофагосомы соединяются с лизосомами, образуя аутофаголизосомы, в которых органеллы и остальное содержимое аутофагосом перерабатываются. Результаты экспериментальных и клинических исследований показали, что при БППД основную роль в патогенезе играет не столько накопление гликогена в лизосомах с последующим их разрушением, сколько существенное нарушение процесса аутофагоцитоза [31]. На экспериментальных моделях показана большая вовлеченность мышечных волокон 2-го типа (быстрые волокна). Данная избирательность менее очевидна у человека. Видоизменение аутофагосом и прогрессирование аутофагоцитоза усугубляет мышечную атрофию. Считается, что уменьшение мышечного объема и атрофия вследствие вышеописанной деструкции мышечных волокон вносят существенный вклад в снижение функциональных и двигательных возможностей (до 60 %). Как только ферментативный дефицит становится абсолютным, все клетки и ткани оказываются вовлеченными в процесс избыточного накопления гликогена. Данная модель является краеугольной для понимания границ регенераторных возможностей по мере прогрессирования болезни [32]. Но как определить для конкретного пациента стадию заболевания на клеточном уровне, и что мы знаем о регенераторном потенциале мышцы на развернутых стадиях болезни?

Показано, что аутофагоцитоз, играющий значительную роль при поздних формах болезни Помпе, практически не встречается при неонатальных формах [33].

Более того, оказалось, что у детей аутофагоцитоз проявляется через 6 мес от начала ЗЭТ. Встает вопрос о роли ЗЭТ в запуске аутофагоцитоза при активном снижении содержания в тканях гликогена. Должны ли мы развивать теорию о том, что неонатальные и формы «после года» имеют разные патогенетические механизмы? Сегодня нет данных, подтверждающих данное предположение, но при этом нельзя исключить того, что при БПРД восстановление обмена гликогена с помощью ЗЭТ включает транзитный механизм аутофагоцитоза.

На молекулярном уровне нарушение функционального состояния клетки отражается многочисленными структурными изменениями. Присутствие мультивезикулярных телец в культурах фибробластов пациентов с болезнью Помпе свидетельствует о разрушении в аппарате Гольджи. Данные изменения ассоциированы с модификациями в распределении рецепторов CI-MPR [34], соседствующего с маркером LC3 аутофагосом. Это указывает на организационные перестройки транспортной системы аппарата Гольджи и распределения лизосом, перегруженных гликогеном. Последнее необходимо учитывать при ЗЭТ, так как эффективность вводимого фермента определяется способностью рецептора интегрировать его в лизосомы. Что следует ожидать от ЗЭТ в случае, если рецепторы отсутствуют?

В ходе изучения патогенеза болезни Помпе и, следовательно, понимания тактики терапии, встает целый ряд вопросов. Первостепенным является вопрос о том, насколько болезнь Помпе однородное заболевание. Не менее важны и другие вопросы: к каким метаболическим последствиям приводит аутофагоцитоз; насколько обратимы патологические процессы при прогрессирующем аутофагоцитозе; имеются ли и насколько эффективны регенераторные возможности мышечных волокон в случае ЗЭТ; существуют ли иные терапевтические подходы, основанные на регуляции внутриклеточного транспорта и устранения аномалий, сопряженных с процессом аутофагоцитоза? Независимо от важности перечисленных проблем для понимания патогенеза болезни Помпе клиницист должен твердо знать, что залогом успеха лечения служат ранние диагностика и начало ЗЭТ (до того, как разовьются структурные клеточные нарушения).

Терапевтические возможности при болезни Помпе

Сегодня ЗЭТ рекомбинантным ферментом GAA (rhGAA) является единственным доступным способом лечения, одобренным международными медицинскими сообществами США (FDA, 2006) и Европы (EMA, 2006). Продвижению ЗЭТ способствовала демонстрация адсорбции «лечебного гликопротеина» рецепторами клеточной мембраны, ответственными за эндоцитоз. Фермент, добавленный в культуру фибробластов пациентов, способствует очищению клеток от накопленного гликогена. Принцип ЗЭТ состоит в замещении

in situ недостающего фермента гликопротеином, созданным при помощи генной инженерии. Введенный внутривенно заместительный гликопротеин соединяется с рецептором CI-MPR, который обеспечивает его внедрение в лизосому. Для получения фермента было предложено 2 способа: 1-й — синтез рекомбинантного GAA фермента начинается после включения дополнительного гена человека, ответственного за выработку кислой α -глюкозидазы (GAA) в клетки яичников китайского хомячка (CHO) [35]; 2-й — путем экспрессии ферментативной активности α -глюкозидазы в молоке трансгенных кроликов (tgGAA) с последующим выделением из него и очисткой rhGAA [36]. Тестируемые на моделях животных полученные ферменты показали одинаковую проникающую способность, в адекватных дозах уменьшая избыток гликогена в лизосомах сердца, скелетной и гладкой мускулатуры, а также в печени. При использовании фермента для лечения модельных мышей было показано, что в зависимости от вводимой дозы эффект деградации гликогена был разным для мышцы сердца, печени и скелетных мышц [37]. При введении GAA-/- модельным мышам rhGAA по 20 мг/кг/нед в течение 5 мес показано, что скелетная мышца усваивает значительно меньше фермента по сравнению с сердцем и печенью. Содержание гликогена падало меньше чем на 50 % или не менялось вовсе. Увеличение дозы до 100 мг/кг/нед приводит к клиренсу гликогена из скелетных мышц приблизительно на 75 %, а в тканях сердца гликоген практически не определяется. Учитывая, что на далеко зашедших стадиях болезни практически отсутствуют внутриклеточные системы прелизосомального транспорта и транспорта в аппарате Гольджи (рис. 4) обсуждается вопрос о биодоступности рецепторов CI-MPR, определяющих проникновение rhGAA в лизосому.

При использовании у человека более эффективным оказался фермент, полученный при синтезе яичниками хомячков [38] и именно этот рекомбинантный фермент (α -глюкозидаза) был рекомендован для клинического использования. В конечном итоге данные исследований на животных позволили определить оптимальную дозировку препарата для человека — 20 мг/кг внутривенно, 1 раз в 2 нед.

Эффективность ЗЭТ при БПРД уже известна несколько лет. Результаты лечения ЗЭТ при БПРД стали доступны начиная с 2010 г. Показан драматичный эффект у пациентов с гипертрофической кардиомиопатией [39]. В большинстве случаев в течение нескольких недель наблюдается нормализация работы желудочков сердца и уменьшение их объема по данным эхографии. Выживаемость — главный показатель эффективности лечения пациентов. При естественном течении БПРД смерть обычно наступает в течение года, в то время как при назначении ЗЭТ все пациенты за тот же срок наблюдения остались живы [40]. Большинство юных пациентов в результате лечения отметили улучшение

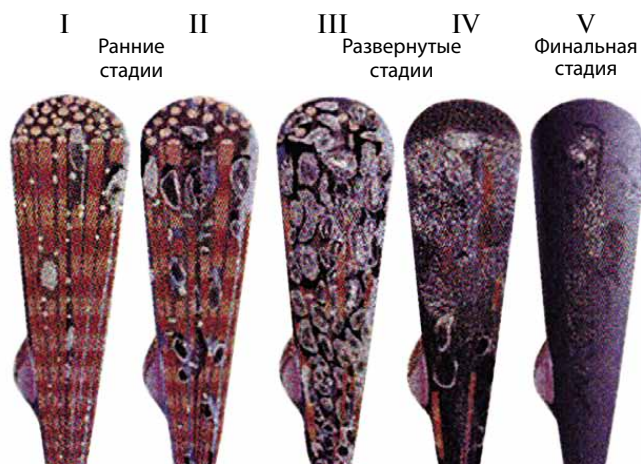


Рис. 4. Процесс изменения размеров лизосом с последующим разрушением клеточных структур мышечного волокна по мере прогрессирования болезни Помпе (схема по Raben и соавт., 2007). На ранних (I и II) стадиях выделяются вакуоли с гликогеном, затем увеличенные в объеме лизосомы компримируют сократительные структуры. На развернутой (III и IV) стадии болезни нарушается нормальная архитектура клетки, нарушаются сократительные структуры и система внутриклеточного транспорта вследствие появления аутофагосом и развития аутофагоцитоза. На финальной (V) стадии исчезают все клеточные структуры, не оставляя шансов для процесса регенерации клетки

моторных функций, не требовали вентиляционной поддержки и смогли освоить навыки сидения, стояния, а также ходьбы. Все исследователи единодушны в том, что чем раньше начато лечение, тем выше его эффективность [1]. Однако далеко не все дети одинаково откликаются на ЗЭТ. В ряде случаев описаны нарушения речи и снижение слуха. Выявлены пациенты устойчивые к терапии, что может быть связано с появлением антител против рекомбинантного фермента (статус резистентности за счет перекрестной иммунологической реакции) [41]. При неонатальных формах возможно повреждение ЦНС, связанное с тем, что независимо от продления жизни при ЗЭТ вводимый фермент не проникает через гематоэнцефалический барьер.

Клинические исследования α -глюкозидазы при поздней форме болезни Помпе

Целесообразность использования ЗЭТ при БППД очевидна, но оценка ее эффективности еще требует дополнительных исследований. Доступны данные клинических исследований по лечению БППД с использованием разных доз ЗЭТ (α -глюкозидазы), проводившихся с 2010 г.

Исследование LOTS

Основные результаты получены в ходе международного клинического мультицентрового плацебо-контролируемого исследования LOTS, проведенного в США и Европе, продолжавшегося 78 нед. В исследовании участвовали 90 пациентов в возрасте старше 8 лет, не утративших навыков самостоятельного пере-

движения (ходьба на расстояние не менее 40 м в течение 6 мин), показатели ФЖЕЛ у которых в положении сидя составляли от 30 до 80 % от нормы и снижались на 10 % и более в положении лежа [42].

Основными параметрами оценки эффекта ЗЭТ были: тест ходьбы на 40 м в течение 6 мин (6MWT) и ФЖЕЛ в положении сидя. Дополнительные критерии включали оценку силы скелетных мышц, двигательных функций при ходьбе по лестнице Уолтона; исследование биохимических параметров (уровень КФК и уровень антител против rhGAA), оценку качества жизни. Результаты показали статистически достоверное улучшение основных параметров. Следует отметить, что улучшение теста 6MWT отмечено в первые 26 нед терапии, причем в последующие 52 нед анализируемые показатели удерживались на достигнутом уровне.

В группе плацебо и группе пациентов, получавших лечение, побочные эффекты наблюдались примерно с одинаковой частотой и были в основном связаны с процедурой перфузии (23 % в группе плацебо против 20 % получавших лечение). В обеих группах у 5–8 % пациентов также отмечались головные боли, местные катаральные реакции со стороны носовой полости и глотки. В отдельных случаях наблюдались крапивница, покраснение лица, гипергидроз, ощущение «стеснения в груди», рвота, повышение или снижение артериального давления. У 3 (5 %) пациентов на фоне терапии развилась тяжелая анафилактическая реакция. Один пациент, с ранее выявленной артерио-базиллярной аневризмой, получавший лечение, умер вследствие нарушения мозгового кровообращения.

До лечения ни у одного пациента не было выявлено специфических антител против фермента (IgG anti-GAA). На фоне лечения во всех случаях обнаруживались антитела. Время развития сероконверсии в среднем составляло 4 нед, время достижения максимального индивидуального уровня титра антител в среднем было 12 нед; средний уровень повышения титра антител составил 1:6400 при разбросе от 1:200 до 1:819 200. Не выявлено связи между титром антител и двигательными возможностями по тесту 6MWT или показателями ФЖЕЛ.

Открытые обсервационные исследования

Остальные результаты по оценке эффективности ЗЭТ получены в ходе открытых обсервационных исследований. У 44 пациентов, страдающих БППД разной степени тяжести, наблюдавшихся в течение 12 мес, отмечено значительное улучшение по тесту Говерса, уровню КФК и тесту 6MWT [43]. Другие показатели, использованные также в исследовании LOTS, не изменялись. В наблюдении 36 пациентов на фоне терапии в течение 3 лет отмечено значительное улучшение двигательных возможностей по тесту 6MWT и показателям ФЖЕЛ в первые 12 мес, стабилизация показателей

к 24-му месяцу и ухудшение показателей к 36-му месяцу наблюдения [44]. Переносимость лечения была хорошей, отмечались незначительные неспецифические транзиторные побочные эффекты. Титр антител варьировал от 1/1600 до 1/12 800, и только у 2 пациентов он оказался чрезмерно повышенным — 1/204 800 и 1/809 200. Два пациента выбыли из исследования — 1-й в связи с отсутствием эффекта, 2-й — в связи с чрезмерным повышением титра антител.

В другом исследовании длительностью 36 мес под наблюдением находились 24 пациента (7 подростков и 17 взрослых), у которых получены схожие результаты тестов 6MWT и лестницы Уолтона, а также отмечена стабилизация дыхательных показателей, подтвердившая данные предыдущих исследований [45].

В продолжавшемся 3 года открытом исследовании 5 пациентов в возрасте от 5,9 до 15,2 года с преимущественным вовлечением скелетных мышц выявлены стабилизация дыхательной функции, увеличение мышечной силы при отсутствии побочных реакций, связанных с перфузией [46]. Только у 2 пациентов титр антител IgG против рекомбинантного фермента был выше 1/6000, а в остальных случаях не превышал 1/1000.

Также проводился корреляционный анализ снижения силы мышц с показателями функционального состояния и выраженностью жировой инфильтрации мышц по данным МРТ до и после лечения. Наблюдение за 11 пациентами с БППД в возрасте 11,2–54,2 года продолжалось 2 года и подтвердило улучшение показателей 6MWT (на 11 % в первые 6 мес и на 8 % в последующие месяцы наблюдения) [47]. Выявлена положительная корреляция между силой и объемом мышц для передних мышц бедра и голени. Против ожидания объем жировой ткани в тестируемых мышцах в целом увеличился за время наблюдения, несмотря на прирост силы.

Международный регистр болезни Помпе

По данным Международного регистра болезни Помпе в 2004–2009 гг. в регистр были внесены 742 пациента, причем 520 (70 %) из них имели БППД; ЗЭТ была назначена 578 (78 %) больных [48]. В представленной базе данных нет сведений об эффективности и переносимости лечения, а также течении болезни.

Новые терапевтические разработки

Приведенные выше результаты подтверждают эффективность α -глюкозидазы у больных с БППД в виде улучшения двигательной и дыхательной функций. Полученных результатов недостаточно для окончательного суждения о том, насколько ЗЭТ останавливает прогрессирование болезни или дает лишь временное улучшение состояния.

Следует помнить, что при ЗЭТ в единичных случаях может развиваться такая тяжелая побочная реакция, как анафилактический шок.

Пациентам, не имеющим клинических проявлений, но которым при скрининге был поставлен диагноз болезни Помпе в рамках семейного случая, не рекомендуется проведение ЗЭТ. Таким пациентам следует регулярно оценивать ФЖЕЛ в положении сидя и лежа. При первых симптомах и своевременной диагностике болезни Помпе рекомендуется начинать ЗЭТ как можно скорее. Лечение необходимо проводить под наблюдением врача. Основной задачей ЗЭТ является сохранение функциональных возможностей пациента и профилактика повреждений основных механизмов метаболизма клетки.

Нерешенным остается вопрос в отношении пациентов с грубыми двигательными и тяжелыми дыхательными нарушениями. Сегодня доступны результаты только 1 открытого исследования, выявившего тенденцию к улучшению/стабилизации состояния у 5 инвалидизированных пациентов, передвигающихся в коляске и имеющих тяжелые дыхательные нарушения, наблюдавшихся в течение года [49]. Несмотря на то, что это исследование не позволяет дать однозначных рекомендаций, необходимо информировать пациента о существующих терапевтических подходах и предложить ему проведение пробного лечения в течение года с регулярной коррекцией терапии и контролем состояния (оценкой дыхательной функции и двигательных возможностей). Лечение следует продолжить только после объективного подтверждения улучшения состояния или по крайней мере его стабилизации.

ЗЭТ — относительно новый метод лечения болезни Помпе. В связи с этим вопрос о длительности лечения стоит сегодня перед каждым пациентом, получающим терапию. Не последнюю роль в решении этого вопроса играет соотношение стоимость/эффективность ЗЭТ при БППД.

Для своевременного предотвращения возможной анафилактической реакции ЗЭТ следует проводить с соблюдением максимальных мер предосторожности. Начальная скорость введения — 1 мг/кг/ч, с последующим увеличением на 2 мг/кг/ч каждые 30 мин, до максимально допустимой скорости введения 7 мг/кг/ч. Во Франции перед лечением обязательным считается внесение пациента в регистр с последующим предоставлением каждые 6 мес данных о его состоянии.

Возможны ли альтернативные подходы в лечении болезни Помпе?

Повышение дозы заместительного фермента способствует увеличению силы скелетных мышц?

Вопрос о том, насколько эффективны повышенные дозы α -глюкозидазы относительно общепринятых в лечении пациентов с разными формами и на разных стадиях болезни Помпе с целью увеличения силы скелетных мышц, сегодня остается открытым. Показано, что у пациентов с инфантильными формами введение

10 мг/кг/нед α -глюкозидазы достаточно эффективно уменьшает депо гликогена, особенно в мышечных волокнах 1-го типа. Максимально раннее назначение препарата в указанной дозе способствует предотвращению клеточной деструкции при дефиците фермента GAA. Однако сегодня в педиатрической практике чаще используют дозу 20 мг/кг/нед, несмотря на то, что нет сравнительных данных по использованию разных доз ни при БПРД, ни при поздних формах. Для выработки общих рекомендаций необходимы дополнительные исследования с разными дозами α -глюкозидазы.

Насколько важно раннее назначение лечения с момента выявления первых симптомов?

Мнение о том, что при наличии симптомов терапию следует начинать как можно раньше, высказывается во всех публикациях. В связи с этим необходимо разработать четкий и простой алгоритм ранней диагностики болезни Помпе. Особого внимания требует разработка критериев диагностики и лечения медленно прогрессирующих форм БППД. Для этого необходимо проведение долгосрочных сравнительных исследований с оценкой естественного течения болезни, особенно с учетом ее фенотипической гетерогенности.

Использовать ли дополнительные методы, облегчающие проникновение rhGAA в лизосомы?

Для облегчения проникновения rhGAA в лизосомы клетки исследуется возможность использования молекул белков-шаперонов [50]. Положительно влияя на внутриклеточный транспорт, шапероны способствуют восстановлению эффективности ферментативной активности, что подтвердилось при обнаружении их синергического эффекта с ЗЭТ *in vitro* и *in vivo* при комбинированном использовании с ЗЭТ [51]. Клиническое исследование II фазы было начато, но, к сожалению, прекращено через несколько месяцев.

Среди прочих подходов лечения лизосомальных болезней накопления и болезни Помпе в частности заслуживает упоминания разрабатываемая пероральная терапия, направленная на уменьшение объема патологического субстрата и получившая название субстратредукционной терапии (от англ. substrate-reduction therapy, SRT). В основе SRT лежит снижение синтеза патологического субстрата, с восстановлением баланса синтеза/деградация [52]. Сегодня SRT уже используется при болезни Гоше 1-го типа.

Пересматривать ли методику создания рекомбинантного фермента?

Работы по синтезу новых форм ферментов для лечения болезни Помпе активно продолжаются. Сегодня апробируются новые молекулы для использования в клинической практике.

Является ли ЗЭТ единственным методом лечения?

В последнее время активно ведутся доклинические исследования разных векторов — средств доставки трансгенов в клетку [53, 54]. Векторы типа AAV и лентивируса продемонстрировали хорошую способность восстанавливать активность фермента. Параллельно с этим на модельных летучих мышах *GAA-KO* показана еще большая эффективность вектора AAV1 в восстановлении нарушенной дыхательной функции, причем даже на далеко зашедших стадиях болезни. Клинические исследования данного вектора находятся в стадии планирования. Следует помнить, что целью любой генной терапии является восстановление функции белка, в то время как коррекция уже имеющихся последствий метаболических нарушений в мышечной ткани представляется еще более сложной задачей, также, как и объективизация достигнутого улучшения.

Заключение

Многолетний опыт работы с пациентами с болезнью Помпе позволяет сделать вывод: независимо от фенотипической гетерогенности заболевание имеет единый генез. На основании клинического статуса различают: неонатальную форму, или БПРД — болезнь Помпе с ранним дебютом, и позднюю форму или БППД — болезнь Помпе с поздним дебютом. Данные формы различаются полиорганностью поражения, включая скелетные мышцы, более тяжелым течением при БПРД и преимущественным поражением мышц и медленно прогрессирующим течением при БППД. Ключевым методом диагностики болезни Помпе является определение активности фермента GAA по методике DBS. Генетическое исследование не является обязательным для диагностики, но необходимо для выявления носителя и медико-генетического консультирования (рис. 5). Полученные в последнее время данные о патофизиологических механизмах заболевания подтверждают, что накопление гликогена в лизосомах вследствие биаллельной мутации в гене *GAA* приводит к целому каскаду событий: увеличению в объеме («раздуванию») и разрыву лизосом, дезорганизации внутриклеточного транспорта и межмембранных взаимодействий. Запускается процесс аутофагоцитоза, происходит перенасыщение клетки убихитиновыми белками и в конечном итоге клетка погибает.

Форма БППД проявляется преимущественно симптомами со стороны скелетной мускулатуры, но при этом не следует забывать о накоплении гликогена и в других тканях, например в сердечной мышце, что также вносит вклад в фенотип болезни. Клиницисты должны помнить о возможном существовании иных, еще не описанных фенотипов. Так, поражение ЦНС не характерно для БППД. При этом в мышинной модели *GAA-KO* болезни Помпе избыточное накопление гликогена обнаруживается и в нейронах ЦНС (мозжечке, спинном мозге).



Рис. 5. Алгоритм скрининга болезни Помпе

и чувствительных ганглиях) [55]. У человека схожие изменения обнаружены в шейном утолщении спинного мозга, что может оказывать влияние на дыхательные функции и определять новые, еще не описанные формы заболевания. Повышение выживаемости при инфантильных формах на фоне ЗЭТ способствует детальному изучению поведенческих и двигательных функциональных нарушений в рамках данной патологии.

Благодаря внедрению в клиническую практику ЗЭТ, эффективность которой сегодня очевидна, особенно при инфантильных формах, качество жизни пациентов с болезнью Помпе значительно улучшилось. Остаются проблемы с объективизацией эффективности ЗЭТ, особенно при медленном прогрессировании болезни. Сложившаяся ситуация требует общей переоценки возможностей терапии нервно-мышечных болезней. Следует конкретно определять задачи лечения. Вопрос о том, должны ли мы удовлетворяться только стабили-

зацией состояния при ЗЭТ или вправе ожидать улучшения состояния, остается открытым. В свете современных представлений о патогенезе болезни Помпе очевидно, что лишь раннее лечение при условии сохранности клеточных структур, может гарантировать пациентам сохранность удовлетворительного (или даже нормального) функционального состояния. Любые положительные результаты требуют подтверждения в плацебоконтролируемых исследованиях. Все вышесказанное относится ко всем первично-мышечным болезням, для которых ведутся поиски лечения. Насколько возможно восстановление сократительных свойств мышцы при генетических нарушениях метаболизма и насколько целесообразно разрабатывать патогенетическую терапию и лечение, направленное на активацию регенераторных возможностей (например, с использованием клеточной терапии), — все эти вопросы являются предметом дальнейшего изучения.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Van der Ploeg A.T., Reuser A. Pompe's disease. *Lancet* 2008;372:1342–53.
2. Hoeflsloot L.H., Hoogeveen-Westerveld M., Reuser A.J. et al. Characterization of the

- human lysosomal alpha-glucosidase gene. *Biochem J* 1990;272(2):493–7.
3. Fukuda T., Ewan L., Bauer M. et al. Dysfunction of endocytic and autophagic

- pathways in a lysosomal storage disease. *Ann Neurol* 2006;59:700–8.

4. Hobson-Webb L.D., Kishnani P.S. How common is misdiagnosis in late-onset

- Pompe disease? *Muscle Nerve* 2012; 45(2):301–2.
5. Güngör D., de Vries J.M., Hop W.C. et al. Survival and associated factors in 268 adults with Pompe disease prior to treatment with enzyme replacement therapy. *Orphanet J Rare Diseases* 2011;6:34–42.
6. Marsden D., Levy H. Newborn screening of lysosomal storage disorders. *Clin Chem* 2010;56(7):1071–9.
7. Desnuelle C., Salvati L. Challenges in diagnosis and treatment of late-onset Pompe disease. *Curr Opin Neurol* 2011;4(5):443–8.
8. Laforêt P., Nicolino M., Eymard P.B. et al. Juvenile and adult-onset acid maltase deficiency in France: genotype-phenotype correlation. *Neurology* 2000;55(8):1122–8.
9. Kishnani P.S., Steiner R.D., Bali D. et al. Pompe disease diagnosis and management guideline. *Genet Med* 2006;8:267–88.
10. Bembi B., Cerini E., Danesino C. et al. Diagnosis of glycogenosis type II. *Neurology* 2008;71(23 Suppl 2):4–11.
11. Hagemans M.L., Winkel L.P., van Doorn P.A. et al. Clinical manifestation and natural course of late-onset Pompe's disease in 54 Dutch patients. *Brain* 2005; 128(Pt 3):671–7.
12. Sacconi S., Bocquet J.D., Chanalet S. et al. Abnormalities of cerebral arteries are frequent in patients with late-onset Pompe disease. *J Neurol* 2010;257(10):1730–3.
13. Winkel L.P., Hagemans M.L., van Doorn P.A., et al. The natural course of non-classic Pompe's disease; a review of 225 published cases. *J Neurol* 2005; 252(8):875–84.
14. Van Capelle C.I., Goedegebure A., Homans N.C. et al. Hearing loss in Pompe disease revisited: results from a study of 24 children. *J Inherit Metab Dis* 2010; 33(5):597–602.
15. Carlier R.Y., Laforêt P., Wary C. et al. Whole-body muscle MRI in 20 patients suffering from late onset Pompe disease: Involvement patterns. *Neuromuscul Disord* 2011;21(11):791–9.
16. Wary C., Laforêt P., Eymard B. et al. Evaluation of muscle glycogen content by ¹³C NMR spectroscopy in adult-onset acid maltase deficiency. *Neuromuscul Disord* 2003;13(7–8):545–53.
17. Phenix C.P., Colobong K. et al. Imaging of enzyme replacement therapy using PET. *Proc Natl Acad Sci USA* 2010; 107(24):10842–7.
18. Nascimbeni A.C., Fanin M., Tasca E. et al. Molecular pathology and enzyme processing in various phenotypes of acid maltase deficiency. *Neurology* 2008; 70(8):617–26.
19. Winchester B., Bali D., Bodamer O.A. et al. Pompe Disease Diagnostic Working Group Methods for a prompt and reliable laboratory diagnosis of Pompe disease: report from an international consensus meeting. *Mol Genet Metabolism* 2008;93:275–81.
20. Chamoles N., Ghavami A., Pinto B.M. et al. Direct multiplex assay of lysosomal enzymes in dried blood spots for newborn screening. *Clin Chem* 2004;50(10):1785–96.
21. Lukacs Z., Nieves Cobos P., Mengel E. et al. Diagnostic efficacy of the fluorometric determination of enzyme activity for Pompe disease from dried blood specimens compared with lymphocytes-possibility for newborn screening. *J Inherit Metab Dis* 2010;33(1):43–50.
22. Hermans M.M., van Leenen D., Kroos M.A. et al. Twenty-two novel mutations in the lysosomal alpha-glucosidase gene (GAA) underscore the genotype-phenotype correlation in glycogen storage disease type II. *Hum Mutat* 2004; 23(1):47–56.
23. Kroos M.A., Pomponio R.J., Hagemans M.L. et al. Broad spectrum of Pompe disease in patients with the same c.-32-13T>G haplotype. *Neurology* 2007; 68(2):110–5.
24. De Filippo P., Ravaglia S., Bembi B. et al. The angiotensin-converting enzyme insertion/deletion polymorphism modifies the clinical outcome in patients with Pompe disease. *Genet Med.* 2010;12(4):206–11.
25. Van der Beck N.A., Soliman O.I., van Capelle C.I., et al. Cardiac evaluation in children and adults with Pompe disease sharing the common c.-32-13T>G genotype rarely reveals abnormalities. *J Neurol Sci* 2008;275(1–2):46–50.
26. Cupler E.J., Berger K.I., Leshner R.T. et al. Consensus treatment recommendations for late-onset Pompe disease. *Muscle Nerve* 2012;45(3):319–33.
27. Llerena J.C., Horovitz D.M., Marie S.K. et al. Brazilian Network for Studies in Pompe Disease (ReBrPOM). The Brazilian consensus on the management of Pompe disease. *J Pediatr* 2009;155(4 Suppl):47–56.
28. Slonim A.E., Bulone L., Goldberg T. et al. Modification of the natural history of adult-onset acid maltase deficiency by nutrition and exercise therapy. *Muscle Nerve* 2007;35(1):70–7.
29. Raben N., Takikita S., Pittis M.G. et al. Deconstructing Pompe disease by analyzing single muscle fibers: to see a world in a grain of sand. *Autophagy* 2007;3:546–52.
30. Raben N., Hill V., Shea L. et al. Suppression of autophagy in skeletal muscle uncovers the accumulation of ubiquitinated proteins and their potential role in muscle damage in Pompe disease. *Hum Mol Genet* 2008;15;17(24):3897–908.
31. Shea L., Raben N. Autophagy in skeletal muscle: implications for Pompe disease. *Int J Clin Pharmacol Ther* 2009;47(Suppl 1): 42–7.
32. Hesselink R.P., Schaart G., Wagenmakers A.J. et al. Age-related morphological changes in skeletal muscle cells of acid alpha-glucosidase knockout mice. *Muscle Nerve* 2006;33:505–13.
33. Raben N., Ralston E., Chien Y.H. et al. Differences in the predominance of lysosomal and autophagic pathologies between infants and adults with Pompe disease: implications for therapy. *Mol Gen Metab* 2010;101:324–31.
34. Cardone M., Porto C., Tarallo A. et al. Abnormal mannose-6-phosphate receptor trafficking impairs recombinant alpha-glucosidase uptake in Pompe disease fibroblasts. *Pathogenesis* 2008;11(1):6:6–22.
35. Bijvoet A.G., van der Kamp E.H., Kroos M.A. et al. Generalized glycogen storage and cardiomegaly in a knockout mouse model of Pompe disease. *Hum Mol Genet* 1998;7(1):53–62.
36. Van der Hout H., Reuser A.J., Vulto A.G. et al. Recombinant human α -glucosidase from rabbit milk in Pompe patients. *Lancet* 2000;356:397–8.
37. Raben N., Danon M., Gilbert A.L. et al. Enzyme replacement therapy in the mouse model of Pompe disease. *Mol Genet Metab* 2003;80(1–2):159–69.
38. Mc Vie-Wyllie A.J., Lee K.L., Qiu H. et al. Biochemical and pharmacological characterization of different recombinant acid alpha-glucosidase preparations evaluated for the treatment of Pompe disease. *Mol Genet Metab* 2008;94(4):448–55.
39. Klinge L., Straub V., Neudorf U. et al. Safety and efficacy of recombinant acid alpha-glucosidase (rhGAA) in patients with classical infantile Pompe disease: results of a phase II clinical trial. *Neuromuscul Disord* 2005;15(1):24–31.
40. Kishnani P.S., Corzo D., Nicolino M. et al. Recombinant human acid [alpha]-glucosidase: major clinical benefits in infantile-onset Pompe disease. *Neurology* 2007;68:99–109.
41. Kishnani P.S., Goldenberg P.C., DeArme S.L. et al. Cross-reactive immunologic material status affects treatment outcomes in Pompe disease infants. *Mol Genet Metab* 2010;99(1):26–33.
42. Van der Ploeg A.T., Clemens P.R., Corzo D. et al. A Randomized Study of Alglucosidase Alfa in Late-Onset Pompe's Disease. *N Engl J Med* 2010;362:1396–406.
43. 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. *J Neurol* 2010;257:91–7.
44. Regnery C., Kornblum C., Hanisch F. et al. 36 months observational clinical study of 38 adult Pompe disease patients under alglucosidase alfa enzyme replacement therapy. *J Inherit Metab Dis* 2012;31:141–9.
45. Bembi B., Pisa F.E., Confalonieri M. et al. Long-term observational, non-randomized study of enzyme replacement therapy in late-onset glycogenosis type II. *J Inherit Metab Dis* 2010;33(6):727–35.

46. Van Capelle C.I., 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. *Neuromuscul Disord* 2010;20(12):775–82.
47. Ravaglia S., Pichiecchio A., Ponzio M. et al. Changes in skeletal muscle qualities during enzyme replacement therapy in late-onset type II glycogenosis: temporal and spatial pattern of mass vs. strength response. *J Inherit Metab Dis* 2010;33(6):737–45.
48. Byrne B.J., Kishnani P.S., Case L.E. et al. Pompe disease: design, methodology, and early findings from the Pompe Registry. *Mol Gen Metab* 2011;103:1–11.
49. Orlikowski D., Pellegrini N., Prigent H. et al. Recombinant human acid alpha-glucosidase (rhGAA) in adult patients with severe respiratory failure due to Pompe disease. *Neuromuscul Disord* 2011; 7:477–82.
50. Porto C., Cardone M., Fontana F. et al. The pharmacological chaperone N-butyldeoxynojirimycin enhances enzyme replacement therapy in Pompe disease fibroblasts. *Mol Ther* 2009;17(6):964–71.
51. Panrenti G., Andria G. Pompe disease: from new views on pathophysiology to innovative therapeutic strategies. *Curr Pharmaceut Biotechnol* 2011;12:902–15.
52. Platt F.M., Jeyakumar M. Substrate reduction therapy. *Acta Paediatr Suppl* 2008;97(457):88–93.
53. Angelini C., Semplicini C. Metabolic myopathies: the challenge of new treatments. *Curr Opin Pharmacol* 2010;10(3):338–45.
54. Richard E., Douillard-Guilloux G., Caillaud C. New insights into therapeutic options for Pompe disease. *IUBMB Life* 2011;63(11):979–86.
55. Bembi B., Cerini E., Danesino C. et al. Management and treatment of glycogenosis type II. *Neurology* 2008; 2:71(23 Suppl 2):12–36.