

---

Gradu Amaierako Lana / Trabajo Fin de Grado  
Medikuntzako Gradua / Grado en Medicina

---

# **Importancia del inicio del tratamiento precoz en la Enfermedad de Pompe Clásica de Inicio Infantil. Experiencia de un centro terciario de referencia**

Egilea / Autora:  
**Marta Alaia Montes Zubia**

Zuzendaria / Director:  
**Javier de las Heras Montero**

© 2022, Marta Alaia Montes Zubia



## ÍNDICE

1.	INTRODUCCIÓN	1
1.1	ENFERMEDAD DE POMPE INFANTIL (IOPD)	3
1.1.1	Clínica	3
1.1.2	Diagnóstico	3
1.1.3	Tratamiento	6
1.1.4	Evolución	7
2.	OBJETIVOS	8
3.	MATERIAL Y MÉTODOS	8
4.	RESULTADOS	10
4.1	PRESENTACIÓN DE CASOS CLÍNICOS	10
4.1.1	Paciente 1	10
4.1.2	Paciente 2	11
4.2	DISTINTAS ETAPAS DEL PROCEDIMIENTO DIAGNÓSTICO E INICIO DEL TRATAMIENTO ESPECÍFICO	11
4.3	RESULTADOS CLÍNICOS Y BIOQUÍMICOS SEGÚN LA EDAD AL INICIO DEL TRATAMIENTO (< 3 MESES DE EDAD FRENTE A < 1 MES DE EDAD)	12
4.3.1	Función cardíaca.	12
4.3.2	Desarrollo motor y deambulaci3n	13
4.3.3	Desarrollo pondoestatural y estado de los aparatos respiratorio y digestivo.	13
4.3.4	Parámetros bioquímicos	14
5.	DISCUSIÓN	15
6.	CONCLUSIONES	20
7.	BIBLIOGRAFÍA:	22

## 1. INTRODUCCIÓN

La Enfermedad de Pompe, también conocida como Glucogenosis tipo II (GSD II), es un trastorno poco frecuente de depósito lisosomal causado por una deficiencia de la enzima lisosomal alfa-glucosidasa ácida (GAA), también llamada maltasa ácida. Se trata de un trastorno de herencia autosómica recesiva causado por una variante patogénica en ambas copias del gen *GAA* localizado en el brazo largo del cromosoma 17 (1).

La enzima GAA degrada el glucógeno del interior de los lisosomas a glucosa mediante la hidrólisis de los enlaces alfa-1,4- y alfa-1,6-glucosídicos (2). La deficiencia de la enzima conduce a la acumulación progresiva de glucógeno en los miocitos del músculo esquelético, cardíaco, bulbar y liso que provoca miopatía, debilidad respiratoria, discapacidad física y muerte prematura (3).

Se estima que el número de personas que padecen esta enfermedad oscila entre 5.000 y 10.000 en todo el mundo, aunque es difícil saber con exactitud la cifra real al tratarse de una enfermedad rara. Se calcula que la Enfermedad de Pompe podría presentarse en 1 de cada 40.000 recién nacidos en todo el mundo afectando por igual a ambos sexos (4).

Existen dos fenotipos clínicos: la Enfermedad de Pompe Infantil (IOPD por sus siglas en inglés) considerada como la forma clásica y la Enfermedad de Pompe de aparición tardía (LOPD por sus siglas en inglés). La actividad enzimática se correlaciona con el genotipo y está ausente o es mínima en pacientes con fenotipo de inicio infantil (dos mutaciones patogénicas, una en cada alelo *GAA*), reduciéndose de forma variable en aquellos con fenotipo de inicio tardío, los cuales tienen al menos una variación de secuencia que permite la síntesis normal o de bajo nivel de GAA (5).

La forma más grave de este trastorno es la IOPD en la cual hay muy poco residuo enzimático (<1% generalmente). Estos pacientes portan mutaciones que alteran todas las formas de GAA, lo que provoca una baja expresión y actividad enzimática (1). La IOPD se caracteriza por una miocardiopatía hipertrófica severa que puede detectarse incluso antes del nacimiento (6), así como una profunda debilidad muscular en los primeros meses de vida que provoca un retraso severo en el desarrollo motor y compromiso de la función respiratoria. En ausencia de tratamiento los pacientes

fallecen antes de los dos primeros años de vida. Existe un pequeño porcentaje de pacientes con miocardiopatía no grave durante el primer año de vida; esta forma se conoce como IOPD no clásica (1).

La LOPD, por su parte, incluye a todos los pacientes con enfermedad de Pompe que no tienen una presentación infantil típica (miocardiopatía hipertrófica) (3). Generalmente, los pacientes con LOPD suelen presentar niveles de actividad enzimática GAA de entre el 2% y el 40% de los valores normales (7).

Esta forma juvenil y del adulto se trata de una enfermedad debilitante progresiva con afectación temprana de la musculatura respiratoria y ausencia de manifestaciones cardíacas graves. La mayoría de los pacientes con LOPD presentan debilidad que comienza cuando son adultos (3). El hallazgo clínico principal es la miopatía esquelética (debilidad de los músculos proximales de cinturas, extremidades inferiores y tronco) con un curso más prolongado que conduce a insuficiencia respiratoria (8).

En comparación con la forma infantil, la LOPD se considera un fenotipo más leve de la enfermedad, probablemente debido a una mayor actividad enzimática residual. No obstante, esta variante también implica un impacto significativo en la morbilidad, la calidad y la esperanza de vida. Los pacientes pueden tener dificultades con actividades motoras gruesas como caminar, correr, subir escaleras, levantarse de una posición sentada o tratar de levantarse después de estar acostado. Estos síntomas se manifiestan a menudo de 7 a 10 años antes del diagnóstico definitivo y en un rango de edad promedio de 35 años (3).

Además, algunos pacientes pueden presentar insuficiencia respiratoria precipitada por infección, aspiración o intervención quirúrgica como manifestación inicial de la enfermedad. Con la progresión de la enfermedad, puede sobrevenir una mayor afectación de los músculos de las extremidades superiores e insuficiencia respiratoria, siendo ésta la principal causa de muerte. La miocardiopatía hipertrófica es un hallazgo raro en la LOPD. Las anomalías eléctricas predominan como patología cardíaca. También son relativamente comunes las taquiarritmias supraventriculares y ventriculares que afectan hasta al 29% de los pacientes (3).

## **1.1 ENFERMEDAD DE POMPE INFANTIL (IOPD)**

### **1.1.1 Clínica**

Como ya se ha mencionado, la IOPD se presenta con una miocardiopatía hipertrófica severa detectable incluso antes del nacimiento (6), así como una profunda debilidad muscular en los primeros meses de vida en ausencia de tratamiento.

Los hallazgos clínicos se manifiestan a una edad promedio de aproximadamente cuatro meses en pacientes con IOPD (3) y pueden presentar síntomas a diferentes niveles:

- Cardíaco: cardiomegalia (92%) y miocardiopatía hipertrófica progresiva.
- Respiratorio: dificultad respiratoria (78%), infecciones respiratorias frecuentes y desórdenes respiratorios durante el sueño.
- Musculoesquelético: debilidad muscular progresiva (63%), hipotonía profunda y retraso en Hitos Motores.
- Gastrointestinal: macroglosia, hepatomegalia, dificultades de alimentación (57%) y fallo de medro (53%) (9).

### **1.1.2 Diagnóstico**

En muchas ocasiones, la Enfermedad de Pompe se diagnostica tras la exclusión de otras patologías más comunes generándose un retraso en el diagnóstico que resulta muy peligroso y a menudo fatal en la evolución clínica de estos pacientes. Es de vital importancia realizar un diagnóstico temprano y el consiguiente tratamiento precoz puesto que, sin éste, puede producirse la muerte durante el primer año de vida (1).

El diagnóstico de IOPD ha de sospecharse en un neonato/lactante con miocardiopatía hipertrófica severa. La debilidad muscular e hipotonía profunda suelen desarrollarse durante los primeros meses de vida en ausencia de tratamiento y en raras veces están presentes desde el nacimiento.

La actividad de la enzima GAA se puede medir en leucocitos de sangre periférica o en cartón de gota de sangre seca (DBS por sus siglas en inglés) en laboratorios clínicos de diagnóstico bioquímico/genético (10). Esta medición puede verse alterada por la actividad de otra alfa-glucosidasa (la maltasa glucoamilasa) que enmascara la

deficiencia de GAA (1). Por esta razón, se recomienda la adición de acarbosa, un inhibidor competitivo que bloquea dicha interferencia y mejora la sensibilidad de la prueba (11).

La medición de la actividad enzimática alfa-glucosidasa GAA en DBS constituye una prueba de primer nivel sólida y rápida para la detección de pacientes con sospecha de Enfermedad de Pompe. En ocasiones, si los resultados de la prueba DBS son indeterminados, la medición de la actividad de GAA en otro tejido (fibroblasto de piel o músculo) puede ser útil.

La baja o nula actividad enzimática GAA medida en DBS ha de confirmarse mediante pruebas bioquímicas en diferentes tejidos y/o mediante un análisis genético para completar el diagnóstico (1).

La secuenciación de genes es la mejor prueba para confirmar el diagnóstico ya que está disponible de forma rutinaria, es menos invasiva, puede proporcionar información sobre el genotipo y el fenotipo del paciente y puede ayudar a predecir el estado del Material Inmunológico de Reacción Cruzada (CRIM por sus siglas en inglés) (cantidad de producción endógena residual de GAA) (11).

Por esta razón, ante cualquier neonato/lactante con una baja actividad de la enzima GAA se debe realizar una secuenciación genética del gen *GAA* para determinar su riesgo de deficiencia de GAA (10). Dado que la Enfermedad de Pompe es un trastorno autosómico recesivo, los pacientes afectados constan de una mutación en homocigosis o dos mutaciones diferentes en heterocigosis compuesta (1).

El diagnóstico prenatal es posible mediante análisis de ADN si se conoce la variante patogénica en la familia. Si no se conoce el defecto genético, la actividad de alfa-glucosidasa se puede medir en amniocitos cultivados o muestras de vellosidades coriónicas (12).

Existen otros parámetros inespecíficos que pueden verse alterados en esta enfermedad. En este sentido, son frecuentes las siguientes alteraciones analíticas: aumento de creatina quinasa (CK), de lactato deshidrogenasa (LDH), de aspartato aminotransferasa (AST) y de alanina aminotransferasa (ALT). Los niveles de tetrasacárido de glucosa (Glc4) se encuentran elevados en orina en pacientes con IOPD

y constituyen un potencial biomarcador en enfermedades por almacenamiento de glucógeno (1).

En la evaluación inicial de estos pacientes también puede incluirse la medición del péptido natriurético de tipo B (BNP), radiografía de tórax y ecocardiograma. El electrocardiograma muestra un intervalo PR corto con complejos QRS muy anchos en todas las derivaciones, lo que sugiere hipertrofia biventricular.

Es importante destacar la relevancia del estado de CRIM (Material Inmunológico de Reacción Cruzada). Los pacientes CRIM negativo (CRIM-) son aquellos que no expresan proteína GAA y carecen de residuo enzimático. Dado que el sistema inmunitario de estos individuos no ha estado en contacto con la proteína, la infusión de alfa-glucosidasa ácida humana recombinante (rhGAA) suele generar una respuesta inmunitaria mantenida con anticuerpos a títulos altos. Dichos anticuerpos neutralizantes son capaces de bloquear la efectividad del tratamiento produciendo un declive clínico abrupto y la muerte de estos pacientes.

Por su parte, los pacientes CRIM positivo (CRIM +), al disponer de cierto grado de residuo enzimático, no suelen desarrollar respuesta inmune frente al fármaco. No obstante, en ocasiones sí que generan títulos de anticuerpos anti-rhGAA con un desenlace fatal, al igual que ocurre en el caso de los pacientes CRIM-.

Podemos estudiar el estado de CRIM demostrando la ausencia de la proteína GAA mediante la técnica Western Blot a partir de fibroblastos de la piel o de linfocitos de sangre periférica.

Actualmente, existe la posibilidad de conocer el estado de CRIM mediante predicción genética. Esto es gracias a la existencia de distintas bases de datos capaces de asociar las mutaciones que presenta cada paciente a un fenotipo CRIM + o CRIM-.

La base de datos de variantes GAA específica de la Enfermedad de Pompe (<http://www.pompevariantdatabase.nl>) es una base de datos de código abierto que enumera las diferentes variantes enzimáticas GAA asociadas a la Enfermedad de Pompe y aporta información sobre el fenotipo clínico y estado CRIM previstos para cada variante (13)



### 1.1.3 Tratamiento

El diagnóstico temprano y el inicio urgente del tratamiento son esenciales para los pacientes con IOPD (14). Cualquier retraso en el inicio del tratamiento puede ser significativo, incluso en los casos en los que se cree haber identificado precozmente a estos pacientes o en los que éstos parecen estar en buenas condiciones clínicas. Resulta crucial iniciar el tratamiento antes de que aparezca la hipotonía pues el daño del músculo esquelético es irreversible (14).

La terapia enzimática sustitutiva (TES) con alfa-glucosidasa ácida humana recombinante (rhGAA), disponible comercialmente desde 2006, ha mejorado los resultados clínicos y elevado las tasas de supervivencia (15, 16). A pesar de ello, en muchos casos los resultados clínicos no son óptimos, ya que muchos pacientes con IOPD tratados con TES presentan hipotonía grave (requiriendo apoyo respiratorio y nutricional con ventilación invasiva y gastrostomía) e incapacidad para caminar (15, 17).

El resultado del tratamiento depende en gran medida de la edad de inicio y es fundamental comenzar antes de que se produzca un daño muscular irreversible. Además, se ha demostrado que los pacientes con IOPD que comienzan TES < 3 meses de edad tienen mejores tasas de supervivencia y mejores resultados clínicos que los pacientes que comienzan TES  $\geq$  3 meses de edad (18).

Si bien la TES no es curativa, es el único tratamiento que ha demostrado modificar el curso de la enfermedad en estos pacientes hasta la fecha. Sin embargo, cabe destacar que, en el caso de la Enfermedad de Pompe, las guías de manejo clínico no están del todo actualizadas, habiéndose publicado las últimas en el año 2016.

Según estas guías, se debe ofrecer terapia enzimática sustitutiva (TES) con rhGAA a los pacientes con IOPD utilizando una dosis de 20 mg/kg cada dos semanas en infusión intravenosa (3).

Como ya se ha explicado, en pacientes con IOPD el estado del material inmunológico de reacción cruzada (CRIM) es un predictor importante de la respuesta a la TES. El desarrollo de anticuerpos neutralizantes anti-rhGAA tras el inicio de la TES puede

influir en la biodisponibilidad de la enzima recombinante conduciendo a un desenlace fatal en estos niños.

En los pacientes CRIM-, la rhGAA es reconocida como una proteína extraña por parte del sistema inmunitario, dando como resultado el desarrollo de títulos altos de anticuerpos neutralizantes que hacen que la TES sea ineficaz.

En este sentido, las guías clínicas de 2016 establecen que antes de comenzar la TES, se debe estudiar el estado de CRIM de los pacientes con IOPD. Aquellos CRIM- deben tratarse con ITI (Inducción de Tolerancia Inmune) mediante la combinación de rituximab, metotrexato e inmunoglobulinas antes de iniciar la TES para tratar de evitar el desarrollo de títulos altos de anticuerpos anti-rhGAA (3).

#### **1.1.4 Evolución**

La Enfermedad de Pompe siempre es progresiva y los síntomas empeoran con el paso del tiempo. Cuanto menor es la edad de aparición de la clínica, más rápido es el índice de evolución de la IOPD.

En ausencia de tratamiento, la historia natural de la IOPD es letal y la muerte ocurre dentro de los dos primeros años de vida (19), generalmente como resultado de una insuficiencia cardiorrespiratoria (20).

Con la introducción de la TES en 2006 no hay duda de que la supervivencia de estos niños mejora con respecto a la historia natural de la enfermedad y la hipertrofia ventricular izquierda mejora notablemente. Sin embargo, la morbi-mortalidad de estos pacientes sigue siendo altísima con un 60% de supervivencia a 5 años, de los cuales cerca de la mitad de este porcentaje requieren ventilación mecánica (20).

Recientemente la Universidad de Duke, centro con experiencia en la Enfermedad de Pompe, ha publicado un estudio sobre la evolución de pacientes CRIM- tratados con TES en función de si han recibido o no terapia de inducción de tolerancia inmune (ITI) previa y según el momento de inicio del tratamiento: antes de 4 semanas de vida; entre 4 y 15 semanas de vida y después de las 15 semanas de vida (21).

Los resultados muestran cómo el grupo de pacientes que no recibió ITI previa a la TES fue el de peor evolución y mayores tasas de mortalidad. Dentro de este grupo, a los 25 meses todos los pacientes precisaban ventilación mecánica.

El grupo de pacientes que comenzó tratamiento (ITI+TES) antes de las 4 semanas de vida fue el de mejor evolución clínica, demostrando la gran importancia tanto de la terapia de inducción de tolerancia inmune (ITI) previa a la TES como del inicio de tratamiento muy precoz.

## **2. OBJETIVOS**

La finalidad del presente estudio es:

1. Analizar las diferentes etapas en el procedimiento diagnóstico e inicio del tratamiento específico en dos pacientes con IOPD seguidos en la Unidad Metabólica del Hospital Universitario Cruces.
2. Comparar los resultados clínicos y bioquímicos en función de la edad de inicio de la TES (< 1 mes de edad vs. < 3 meses de edad).

## **3. MATERIAL Y MÉTODOS**

En esta revisión retrospectiva de dos casos clínicos realizada en la Unidad de Metabolismo (CSUR, Metab-ERN) del Hospital Universitario Cruces, los datos cronológicos sobre los diferentes pasos en el procedimiento de diagnóstico e inicio del tratamiento se recopilaron de las historias clínicas. Con el fin de comparar la evolución en función de la edad de inicio del tratamiento específico (<1 mes de edad vs. <3 meses de edad), también se recogieron datos longitudinales retrospectivos sobre valoraciones clínicas de eficacia y parámetros bioquímicos de las historias clínicas.

Como bases de datos se emplearon Pubmed y Uptodate para la búsqueda de información, utilizando palabras clave como “Enfermedad de Pompe”, “estado de CRIM” y “alfa-glucosidasa ácida” entre otras. De los resultados obtenidos con las palabras clave, se filtraron los artículos por años de publicación y disponibilidad del artículo. La selección de los artículos obtenidos se realizó leyendo el resumen de cada uno y ampliando la lectura del artículo completo en aquellos que contenían información de utilidad.

Para las evaluaciones clínicas de la eficacia, se calculó el índice de masa ventricular izquierda (IMVI) ( $\text{g/m}^2$ ) mediante ecocardiografía bidimensional, en modo M y Doppler y se evaluó el desarrollo motor mediante la Escala Motora Infantil de Alberta (AIMS por sus siglas en inglés) (22).

El protocolo del estudio se realizó de acuerdo con las directrices éticas de la Declaración de Helsinki revisada en 1975 (23) y aprobado por el Comité de Ética de Investigación del País Vasco (CEIm-E), código de aprobación ética: PI2021168, fecha de aprobación 15 de septiembre de 2021. Se obtuvo el consentimiento informado por escrito de los padres de los participantes del estudio.

Los criterios de inclusión para el estudio fueron:

- Diagnóstico establecido de IOPD dentro de los primeros tres meses de vida confirmado tanto por la prueba de actividad de la enzima GAA como por el análisis genético mutacional.
- Asistencia regular a sus visitas de seguimiento clínico programadas en la Unidad Metabólica del Hospital Universitario Cruces, España.
- Voluntad de participar en el estudio.

Dos pacientes cumplieron los criterios de inclusión: la Paciente 1 inició tratamiento específico a los 2 meses y 20 días de edad (<3 meses de edad) y el Paciente 2 a los 18 días de edad (<1 mes de edad).

Ambos pacientes recibieron exactamente el mismo esquema de tratamiento, con inducción de tolerancia inmune (ITI) profiláctica y TES con rhGAA. El régimen ITI incluía una dosis semanal de rituximab ( $375 \text{ mg/m}^2$  vía intravenosa) durante cuatro semanas, tres ciclos de metotrexato ( $0,4 \text{ mg/kg}$  vía subcutánea u oral; tres dosis por ciclo con las tres primeras infusiones de TES) e inmunoglobulina intravenosa mensual (IG) ( $400 \text{ mg/kg}$ ) durante un período de 6 meses que se inició junto con TES como lo describieron recientemente Desai et al. (24). En este protocolo, rituximab se administra antes de la primera infusión de IG para evitar una posible reducción de la vida media de rituximab debido a una infusión de IG anterior. Ambos pacientes han recibido TES con alglucosidasa alfa a una dosis de  $40 \text{ mg/kg}$  cada 2 semanas desde el inicio del tratamiento (**Figura 1**).

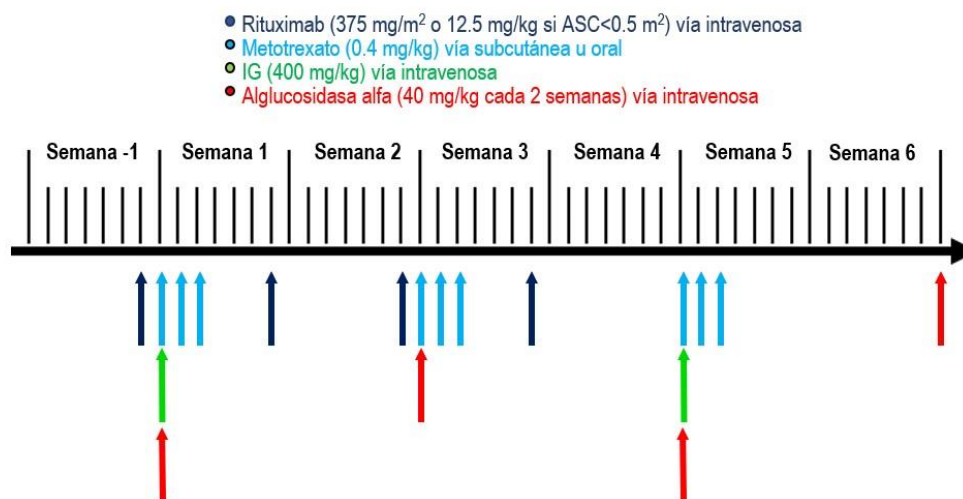


Figura 1. Esquema de las primeras 6 semanas del régimen de tratamiento utilizado para los participantes del estudio que incluye inducción de inmunotolerancia junto con terapia enzimática sustitutiva. Área de superficie corporal (ASC); inmunoglobulina (IG).

## 4. RESULTADOS

### 4.1 PRESENTACIÓN DE CASOS CLÍNICOS

#### 4.1.1 Paciente 1

La Paciente 1 nació de padres no consanguíneos a las 37 semanas de edad gestacional y con peso normal al nacer (3,61 kg). Se trata de una hija única sin antecedentes de interés en la familia. En la revisión de los 2 meses de edad se observó una no ganancia ponderal con respecto al mes previo, probablemente por problemas con la lactancia materna. Además, se detectó leucocituria en una bolsa perineal. La lactante fue derivada a Urgencias siendo finalmente ingresada para valorar la adherencia a la lactancia materna. Durante el ingreso se observó un soplo sistólico I-II/VI y una sutil hepatomegalia (que no se han vuelto a observar desde entonces). Posteriormente se vio que la CK y las transaminasas hepáticas estaban elevadas (CK: 515 U/L; ALT: 85 U/L; AST: 145 U/L) y un ecocardiograma reveló una miocardiopatía hipertrófica grave. La lactante se encontraba asintomática, no presentando macroglosia ni hipotonía y siendo el examen neurológico normal. La medición de GAA en DBS y en leucocitos de sangre periférica mostró una actividad enzimática GAA

significativamente reducida [GAA en DBS = indetectable; GAA en leucocitos de sangre periférica = 0,1 nmol/h/mg (rango normal: 1,8 a 11,3)]. El análisis genético del gen *GAA* mediante secuenciación de nueva generación (NGS por sus siglas en inglés) presentó dos variantes en heterocigosis compuesta, la c.573C>A (p.Tyr191\*) (clasificación de la variante: sustitución; gravedad prevista: muy grave; estado CRIM previsto: negativo) y la variante c.1075+2T>C.

#### **4.1.2 Paciente 2**

El Paciente 2 nació de padres no consanguíneos de origen nepalí a las 41 semanas de edad gestacional y con peso normal al nacer (3,6 kg). En su primer día de vida ingresó en la sala de neonatología por dificultad respiratoria transitoria e hiperbilirrubinemia no conjugada. En la exploración física se escuchó un soplo cardíaco y la ecocardiografía reveló una miocardiopatía hipertrófica grave. Presentaba CK elevada y niveles de ALT ligeramente elevados (CK: 1146 U/L; ALT: 59 U/L), con AST dentro de la normalidad (AST: 115 U/L). El recién nacido se encontraba asintomático, no presentaba macroglosia, hipotonía ni hepatomegalia y el examen neurológico era normal. Se observó una actividad muy reducida de GAA [GAA en DBS = 0,7  $\mu$ mol/L/h (rango normal: 7 a 37); GAA en leucocitos de sangre periférica = indetectable]. El análisis molecular por NGS mostró que el paciente presentaba tres variantes de secuencia *GAA*, dos heredadas de su padre, c.505C>A (p.Leu169Met) (variante de clasificación: sustitución; gravedad prevista: potencialmente menos severa; estado CRIM previsto: positivo) y c.1636+5G>A (p.?) (variante clasificación: sustitución; severidad prevista: muy severa; estado CRIM previsto: desconocido); y una heredada de su madre, c.1579\_1580del (p.Arg527Glyfs\*3) (variante de clasificación: deleción; gravedad prevista: muy grave; estado CRIM previsto: desconocido).

## **4.2 DISTINTAS ETAPAS DEL PROCEDIMIENTO DIAGNÓSTICO E INICIO DEL TRATAMIENTO ESPECÍFICO**

En la **Tabla 1** se muestran los diferentes pasos cronológicos del procedimiento de diagnóstico e inicio del tratamiento. En ambos pacientes el tiempo desde la primera

observación de la miocardiopatía hipertrófica grave hasta el inicio del tratamiento específico fue muy similar (18 y 17 días).

**Tabla 1. Cronología de las distintas etapas del procedimiento diagnóstico e inicio del tratamiento específico.**

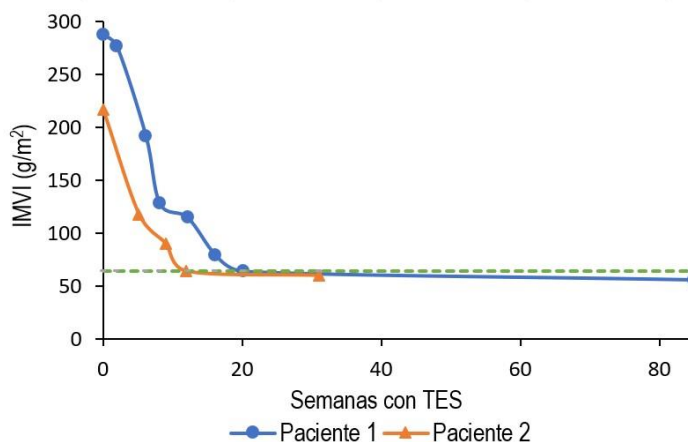
	Paciente 1 (Edad)	Paciente 2 (Edad)
Se observa miocardiopatía hipertrófica severa	2 meses y 2 días	1 día
Se contacta Unidad Metabólica de referencia	2 meses y 3 días	4 días
Resultado de actividad enzimática GAA en DBS	2 meses y 10 días	7 días
Solicitud de fármaco a Comité de Farmacia	2 meses y 13 días	7 días
Resultado actividad enzimática GAA en leucocitos sangre periférica	2 meses y 14 días	12 días
Resultado del estudio genético	2 meses y 16 días	14 días
Colocación de catéter venoso central	2 meses y 17 días	17 días
Inicio tratamiento específico (ITI+TES)	2 meses y 20 días	18 días

Gota de sangre seca (DBS); alfa-glucosidasa ácida (GAA); inducción de tolerancia inmune (ITI); terapia enzimática sustitutiva (TES).

### **4.3 RESULTADOS CLÍNICOS Y BIOQUÍMICOS SEGÚN LA EDAD AL INICIO DEL TRATAMIENTO (< 3 MESES DE EDAD FRENTE A < 1 MES DE EDAD)**

#### **4.3.1 Función cardíaca.**

Ambos pacientes presentaban una miocardiopatía hipertrófica grave al inicio del estudio. El IMVI (índice de masa del ventrículo izquierdo) inicial fue de 287 g/m<sup>2</sup> en la Paciente 1 y de 216 g/m<sup>2</sup> en el Paciente 2, siendo el límite superior del rango normal para los lactantes de 64 g/m<sup>2</sup> (25). La **Figura 2** muestra la evolución del IMVI tras el inicio del tratamiento con TES. La miocardiopatía hipertrófica se resolvió antes en el paciente que inició TES antes del mes de edad (12 semanas frente a 20 semanas después del inicio del tratamiento).



**Figura 2.** Evolución del índice de masa ventricular izquierda (IMVI) tras el inicio de TES en la Paciente 1 (empezó TES < 3 meses) (línea azul) y en el Paciente 2 (empezó TES < 1 mes) (línea naranja). La línea discontinua horizontal indica el límite del rango normal de IMVI (g/m<sup>2</sup>) en lactantes sanos (64 g/m<sup>2</sup>) (25). Índice de masa ventricular izquierda (IMVI); terapia enzimática sustitutiva (TES).

### 4.3.2 Desarrollo motor y deambulación

Ambos pacientes han tenido un desarrollo psicomotor adecuado, siempre dentro de los percentiles de normalidad de AIMS (Alberta Infant Motor Scale). La Paciente 1 que inició TES < 3 meses de edad, puntuó entre los percentiles 5 y 10 en todas las determinaciones entre los 4 y los 16 meses de edad. Sin embargo, el Paciente 2 que comenzó TES < 1 mes de edad, obtuvo una puntuación ligeramente superior al percentil 50 al inicio y midió entre el percentil 75 y 90 en la revisión más reciente a los 9 meses de edad. Desde el punto de vista del desarrollo, la Paciente 1 adquirió la sedestación estable a los 8 meses de edad y caminaba de forma independiente a los 15 meses. El Paciente 2 adquirió la deambulación autónoma a los 10,5 meses de edad.

### 4.3.3 Desarrollo pondoestatural y estado de los aparatos respiratorio y digestivo.

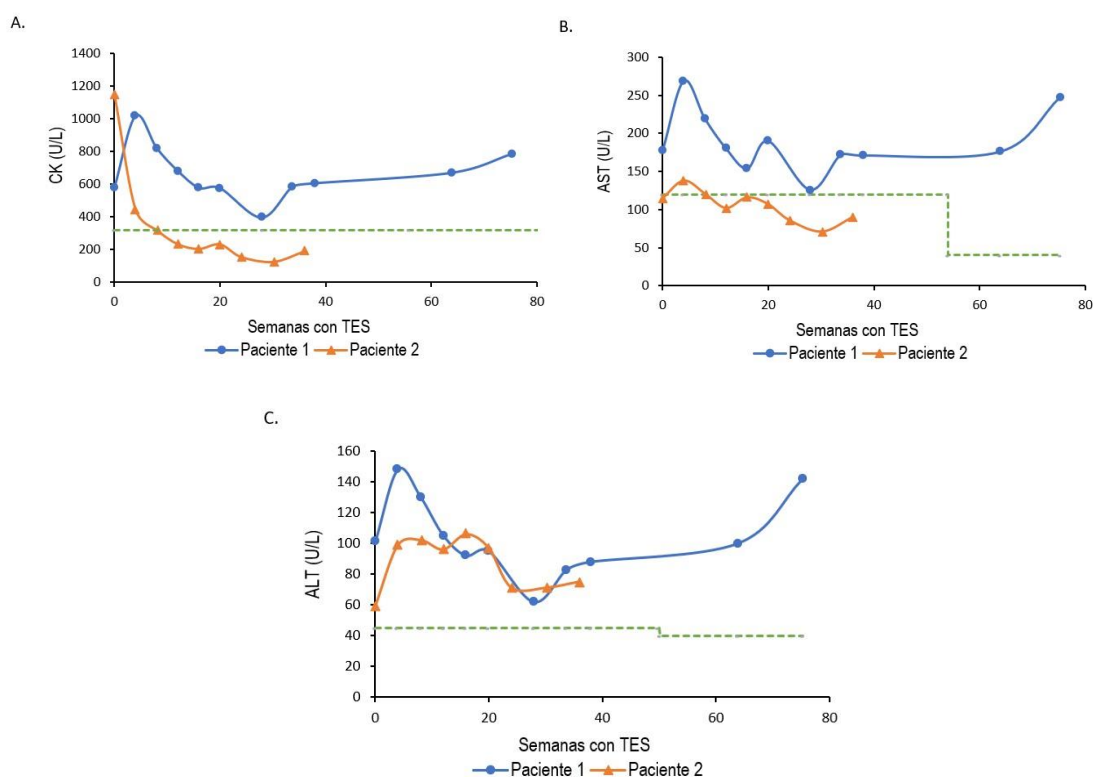
Ambos pacientes han presentado un crecimiento adecuado siguiendo sus curvas de talla y peso dentro de la normalidad para su edad y sexo. Los dos niños han permanecido asintomáticos, siguiendo una dieta por vía oral adecuada para su edad, sin necesidad de soporte respiratorio ni asistencia nutricional. Ninguno de ellos ha sufrido una infección respiratoria significativa.



### 4.3.4 Parámetros bioquímicos

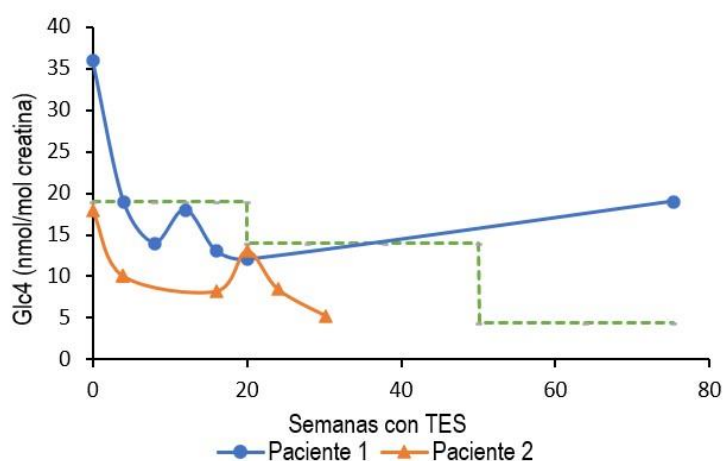
#### 4.3.4.1 Niveles de CK y transaminasas hepáticas

La Paciente 1 que inició TES < 3 meses de edad, presentó niveles basales de CK, AST y ALT altos que se han mantenido persistentemente elevados. Sin embargo, el Paciente 2 que inició TES < 1 mes de edad, presentó niveles basales de CK y ALT altos con AST dentro del rango normal. Sus niveles de CK se normalizaron a las 8 semanas de iniciar el tratamiento y aún presenta niveles de ALT ligeramente elevados (**Figura 3**).



**Figura 3. Evolución de los niveles séricos de CK, AST y ALT después del inicio de TES en la Paciente 1 (empezó TES < 3 meses de edad) (línea azul) y en el Paciente 2 (empezó TES < 1 mes de edad) (línea naranja).** (A) Evolución de los niveles séricos de CK. La línea discontinua horizontal indica el límite superior del rango normal (320 U/L, edad de 0 a 9 años). (B) Evolución de los niveles séricos de AST. La línea discontinua horizontal indica el límite superior del rango normal (120 U/L, edad < 12 meses; 41 U/L, edad > 12 meses). (C) Evolución de los niveles séricos de ALT. La línea discontinua horizontal indica el límite superior del rango normal (45 U/L, edad < 12 meses; 40 U/L, edad 1 a 11 años). Creatina quinasa (CK); aspartato aminotransferasa (AST); alanina aminotransferasa (ALT); terapia enzimática sustitutiva (TES).

En la **Figura 4** se muestra la evolución de los niveles de Glc4 en orina. La Paciente 1 que inició tratamiento específico < 3 meses de edad, normalizó los niveles de Glc4 en orina a las 4 semanas del inicio del tratamiento y volvió a presentar niveles elevados de Glc4 en orina en la determinación más reciente (a las 75 semanas del inicio de la TES). El Paciente 2 que inició tratamiento específico < 1 mes de edad, ha presentado todos los niveles de Glc4 dentro de la normalidad.



**Figura 4. Evolución de los niveles de tetrasacárido de glucosa (Glc4) en orina después del inicio de TES en la Paciente 1 (empezó TES < 3 meses de edad) (línea azul) y en el Paciente 2 (empezó TES < 1 mes de edad) (línea naranja).** La línea discontinua horizontal indica el límite superior del rango normal (19 mmol/mol creatinina, edad 0 a 6 meses; 14,0 mmol/mol creatinina, edad 6 a 12 meses; 4,4 mmol/mol creatinina, edad > 12 meses (26)). Tetrasacárido de glucosa (Glc4); terapia enzimática sustitutiva (TES).

#### 4.3.4.2 Anticuerpos IgG anti-rhGAA

No se han detectado anticuerpos anti- $\alpha$ -glucosidasa alfa IgG en ninguno de los dos pacientes, realizándose la última determinación en la Paciente 1 a los 17 meses después del inicio de TES y en el Paciente 2 a los 7 meses después de comenzar el tratamiento.

## 5. DISCUSIÓN

Las características clínicas de la Enfermedad de Pompe Clásica de Inicio Infantil (hipotonía, debilidad muscular, insuficiencia respiratoria, dificultades de alimentación y problemas cardíacos) no son específicas de este trastorno. Este hecho unido a que se trata de una patología rara y poco frecuente conducen, en muchas ocasiones, a un

peligroso retraso en su diagnóstico con un promedio de 3 meses después del inicio de los síntomas (27).

Dado que el resultado del tratamiento depende en gran medida de la edad de inicio del mismo, es de vital importancia el diagnóstico temprano de esta enfermedad. En este sentido, es crucial comenzar la TES antes de que se produzca un daño muscular irreversible, lo que significa que la TES debe iniciarse lo antes posible (14) como sugiere la evolución de los dos pacientes de este estudio.

En centros sanitarios donde el cribado neonatal (NBS por sus siglas en inglés) no incluye el estudio de la Enfermedad de Pompe, la precocidad en su diagnóstico depende de distintos factores: el conocimiento de su forma de presentación clínica (miocardiopatía hipertrófica) y la experiencia personal de cada sanitario en el manejo de esta patología que le permita tenerla presente en el diagnóstico diferencial.

Muchos profesionales médicos no familiarizados con la IOPD, asocian la enfermedad con una combinación de miocardiopatía e hipotonía. Es importante señalar que no se puede descartar el diagnóstico de IOPD por la ausencia de hipotonía. De hecho, ninguno de nuestros pacientes presentó hipotonía y es precisamente antes de que aparezca ésta cuando se debe iniciar la TES.

La serendipia también puede jugar un papel crucial a la hora de diagnosticar la Enfermedad de Pompe como es el caso de nuestros dos pacientes a estudio. Ambos se encontraban asintomáticos cuando se les realizó un ecocardiograma tras escuchar un soplo cardíaco y se hallaban en un medio hospitalario por una enfermedad banal.

Los dos pacientes procedían de dos hospitales diferentes sin Unidad Metabólica específica. Detectada una miocardiopatía hipertrófica severa, se despertó la sospecha clínica de posible Enfermedad de Pompe y se contactó inmediatamente con nuestra unidad, Unidad Metabólica de referencia en un hospital de tercer nivel.

Es muy frecuente en las enfermedades raras y por tanto en la Enfermedad de Pompe que el paciente y sus familiares pierdan mucho tiempo de consulta en consulta hasta finalmente contactar con un centro experto y poder establecer el diagnóstico definitivo (28). En nuestros dos casos este contacto fue ágil debido a la fluida relación entre nuestra Unidad de Metabolismo y los diferentes Centros de Atención Primaria y Hospitales de nuestra área geográfica ya que habitualmente desde el Hospital

Universitario Cruces se imparten actividades educativas sobre errores congénitos del metabolismo y su manejo.

En centros con experiencia en la Enfermedad de Pompe, la mediana de tiempo desde que se obtiene el resultado genético y el estado de CRIM hasta que se inicia el tratamiento con TES es de 15 días aproximadamente. Esto se debe a razones administrativas, económicas y de recursos (17).

En el caso de nuestros dos pacientes, mientras esperábamos el resultado genético que confirmase el diagnóstico de IOPD, dado que es fundamental el inicio precoz del tratamiento y puesto que la sospecha de IOPD era muy alta (miocardiopatía hipertrófica grave, niveles elevados de CK y transaminasas y muy baja actividad DBS GAA), se trató de agilizar al máximo el proceso.

Se convocó una reunión de urgencia con el Comité de Farmacia encargado de aprobar estos tratamientos especiales en enfermedades raras y se obtuvo una rápida aprobación. Paralelamente, se programó la cirugía para la colocación de un catéter venoso central.

En este punto, una vez confirmado el diagnóstico, se colocó el catéter y se inició el tratamiento tan pronto como se recibió la confirmación genética. Se decidió tratar a ambos pacientes con ITI profiláctica previamente al inicio de TES, sin conocer el estado de CRIM de cada uno.

Como ya se ha explicado, en los pacientes con IOPD, el estado de CRIM es un predictor importante de la respuesta a la TES. En ausencia de una terapia ITI profiláctica, los pacientes CRIM- que tienen dos mutaciones deletéreas y no expresan la proteína GAA, generalmente desarrollan títulos altos de anticuerpos anti-rhGAA mantenidos en el tiempo, lo que lleva a un empeoramiento clínico abrupto que a menudo es fatal (29). Aunque los pacientes CRIM+ con algo de proteína GAA residual por lo general no desarrollan anticuerpos anti-rhGAA, hay algunas excepciones en las que sí se produce una respuesta inmune sostenida contra el fármaco que conduce a un similar deterioro clínico e incluso a la muerte (30).

El tratamiento ITI profiláctico generalmente se recomienda para pacientes CRIM-, ya que ha demostrado un gran éxito en la inducción de tolerancia inmunológica en pacientes con IOPD (17, 31).

No obstante, viendo que el tratamiento ITI es seguro (17) y con el fin de iniciar la TES lo antes posible y no correr el riesgo, aunque sea bajo, de que un paciente CRIM+ desarrolle anticuerpos anti-rhGAA, decidimos tratar a nuestros dos pacientes inmediatamente después de establecer el diagnóstico, prescindiendo en ambos casos de realizar un análisis Western Blot para determinar el estado de CRIM. Como decíamos antes, aplicamos ITI profiláctica previamente a iniciar el tratamiento con TES, independientemente del estado de CRIM, como sugieren Owens et al. (30). Nuestros pacientes han tolerado la terapia ITI sin ningún evento adverso.

En este sentido, hay antecedentes publicados respecto a que la mayoría de los pacientes con IOPD desarrollan anticuerpos anti-rhGAA a una edad media de 1,8 meses en ausencia de tratamiento ITI (32). Otro estudio en pacientes con IOPD que recibieron tratamiento ITI profiláctico mostró que 4/7 pacientes permanecieron libres de anticuerpos y 3/7 pacientes desarrollaron anticuerpos a las 23, 31 y 39 semanas después del inicio del tratamiento, dos de los cuales requirieron otro ciclo de ITI (17). Nuestros pacientes no han desarrollado anticuerpos anti-rhGAA hasta el momento.

Como resultado de todo ello, la confirmación diagnóstica y el inicio del tratamiento específico se realizaron con bastante rapidez en nuestros dos pacientes: la Paciente 1 comenzó a los 2 meses y 20 días de edad y el Paciente 2 a los 18 días de edad. De hecho, nuestro segundo paciente comenzó el tratamiento específico incluso antes que un niño diagnosticado recientemente por NBS que comenzó a los 21 días de vida (33).

En cuanto a la cirugía programada para la colocación del catéter venoso central se suscitó la duda de en qué momento llevar a cabo este procedimiento ya que los pacientes con IOPD padecen una marcada miocardiopatía hipertrófica, un mayor riesgo de arritmia y, por consiguiente, un alto riesgo anestésico. Se dudó entre colocar el catéter venoso central antes del inicio de ITI+TES o hacerlo después de algunas infusiones de TES que mejorasen la miocardiopatía hipertrófica.

Sin embargo, se ha visto que las muertes resultantes de la arritmia durante los procedimientos anestésicos en niños con IOPD se correlacionan con  $IMVI > 350 \text{ g/m}^2$  (34). Ninguno de nuestros dos pacientes presentaba un  $IMVI > 350 \text{ g/m}^2$ : el IMVI inicial en la Paciente 1 era de  $287 \text{ g/m}^2$  y en el Paciente 2 de  $216 \text{ g/m}^2$ . Además, el régimen ITI+TES comprendía múltiples infusiones intravenosas y extracciones de

sangre particularmente durante el primer mes de tratamiento (**Figura 1**). Por consiguiente, se decidió colocar el catéter venoso central antes de iniciar el tratamiento específico, siguiendo las recomendaciones anestésicas para pacientes con IOPD detalladas en el trabajo de Wang et al. (34).

En cuanto a la dosis estándar recomendada de TES (20 mg/kg cada dos semanas según las Guías de 2016), recientemente se ha publicado que una dosis más alta de alglucosidasa alfa es segura y mejora los resultados en niños con IOPD (35, 36). Por nuestra parte, como sugieren Chien et al. (35), decidimos tratar a nuestros dos pacientes con una dosis inicial alta de alglucosidasa alfa (40 mg/kg cada dos semanas), en lugar de arriesgarnos a un empeoramiento clínico y tener que aumentar la dosis, ya que el daño muscular es irreversible en esta enfermedad rápidamente progresiva. Ninguno de nuestros dos pacientes ha experimentado reacciones asociadas a la infusión del TES hasta la fecha.

Respaldando esta idea, el reciente estudio de cohorte multicéntrico publicado por Ditters et al. apoya también el uso de dosis altas de TES (40 mg/kg cada dos semanas) al mejorar la supervivencia en comparación con los pacientes con IOPD tratados con la dosis estándar recomendada de TES (20 mg/kg cada dos semanas) (37).

Existe un porcentaje de pacientes con IOPD que a pesar del tratamiento con TES aún presenta hipotonía severa (requiriendo soporte respiratorio y nutricional), así como incapacidad para caminar (15, 17). Sin embargo, nuestros dos pacientes han mostrado una evolución satisfactoria ya que hasta el momento se han mantenido asintomáticos, presentando una puntuación dentro de la normalidad en AIMS y no han requerido asistencia respiratoria ni nutricional.

En este estudio queremos remarcar la importancia de iniciar la TES lo antes posible, ya que el paciente que inició tratamiento antes del primer mes de vida presentó una evolución aún mejor que la paciente que inició tratamiento antes del tercer mes de vida. El lactante tratado desde el 18 día de vida experimentó una normalización más temprana de la miocardiopatía hipertrófica y de la CK, lo cual no es frecuente entre los supervivientes de IOPD (32).

La principal limitación del presente estudio es el tamaño de la muestra. Esto es debido a la rareza de la enfermedad siendo muy limitado el número de pacientes con

diagnóstico de IOPD. Sin embargo, creemos que dos pacientes con IOPD de un solo centro con exactamente el mismo régimen de tratamiento y el mismo seguimiento clínico y bioquímico es un número bastante representativo. Decidimos realizar un estudio unicéntrico para evitar la heterogeneidad en las pautas de tratamiento y seguimiento de diferentes centros, lo cual habría dificultado la obtención de conclusiones. También reconocemos que, además de la edad al inicio del tratamiento, las diferencias en los resultados del tratamiento pueden verse influenciadas por otros factores como son el genotipo, el estado CRIM o la actividad enzimática residual. Aunque en este estudio presentamos un seguimiento a corto plazo, se aprecian diferencias en la evolución de los dos pacientes. No obstante, un seguimiento estrecho a largo plazo es fundamental.

## **6. CONCLUSIONES**

En este estudio, mostramos resultados clínicos y bioquímicos satisfactorios en dos pacientes con IOPD después del inicio temprano del tratamiento antes de los 3 meses de vida con terapia inmunomoduladora inicial (ITI) previa a TES a dosis altas desde el principio.

El resultado favorable observado en ambos pacientes entendemos que es consecuencia de:

- El inicio temprano del tratamiento específico con TES.
- El empleo de la terapia de inmunomodulación ITI profiláctica.
- La dosis alta (40 mg/kg cada dos semanas) de TES desde el principio.

En resumen, la Enfermedad de Pompe debe formar parte del diagnóstico diferencial ante un neonato/lactante con miocardiopatía hipertrófica severa, aún en ausencia de hipotonía. En este sentido, es importante recalcar el hecho de que la ausencia de hipotonía no descarta el diagnóstico; es más, se debe comenzar el tratamiento de estos pacientes antes de que aparezcan los síntomas musculares. En el caso de empezar a tratar a estos pacientes cuando ya presentan síntomas musculares, éstos probablemente vivirán, pero con muchísimas comorbilidades (ventilación mecánica, silla de ruedas, asistencia nutricional, etc.).

Este estudio pone de manifiesto una vez más la gran importancia que tienen el diagnóstico y tratamiento tempranos en la Enfermedad de Pompe. Lo ideal sería comenzar el tratamiento antes del primer mes de vida, ya que la evolución de estos pacientes cambia completamente y el pronóstico vital de estos niños mejora notablemente. En Navarra ya está aprobado incluir este trastorno en el Programa de Cribado Neonatal y sería muy interesante valorar su inclusión en otras Comunidades Autónomas.

Por último, se debe invertir tiempo y recursos en la investigación de esta enfermedad ya que produce graves incapacidades y una elevada mortalidad.



## 7. BIBLIOGRAFÍA:

1. Taverna S, Cammarata G, Colomba P, Sciarrino S, Zizzo C, Francofonte D, et al. Pompe disease: pathogenesis, molecular genetics and diagnosis. *Aging (Albany NY)*. 2020;12(15):15856-74.
2. Raben N, Plotz P, Byrne BJ. Acid alpha-glucosidase deficiency (glycogenosis type II, Pompe disease). *Curr Mol Med*. 2002;2(2):145-66.
3. 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. *Canadian Journal of Neurological Sciences / Journal Canadien des Sciences Neurologiques*. 2016;43(4):472-85.
4. Martiniuk F, Chen A, Mack A, Arvanitopoulos E, Chen Y, Rom WN, et al. Carrier frequency for glycogen storage disease type II in New York and estimates of affected individuals born with the disease. *Am J Med Genet*. 1998;79(1):69-72.
5. Kroos M, Hoogeveen-Westerveld M, van der Ploeg A, Reuser AJ. The genotype-phenotype correlation in Pompe disease. *Am J Med Genet C Semin Med Genet*. 2012;160c(1):59-68.
6. Gupta P, Shayota BJ, Desai AK, Kiblawi F, Myridakis D, Messina J, et al. A Race Against Time—Changing the Natural History of CRIM Negative Infantile Pompe Disease. *Frontiers in Immunology*. 2020;11.
7. 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(Suppl 1):S14-s23.
8. ENGEL AG. ACID MALTASE DEFICIENCY IN ADULTS: STUDIES IN FOUR CASES OF A SYNDROME WHICH MAY MIMIC MUSCULAR DYSTROPHY OR OTHER MYOPATHIES 1. *Brain*. 1970;93(3):599-616.
9. Kishnani PS, Steiner RD, Bali D, Berger K, Byrne BJ, Case LE, et al. Pompe disease diagnosis and management guideline. *Genet Med*. 2006;8(5):267-88.

10. Smith LD, Bainbridge MN, Parad RB, Bhattacharjee A. Second Tier Molecular Genetic Testing in Newborn Screening for Pompe Disease: Landscape and Challenges. *Int J Neonatal Screen*. 2020;6(2).
11. Winchester B, Bali D, Bodamer OA, Caillaud C, Christensen E, Cooper A, et al. Methods for a prompt and reliable laboratory diagnosis of Pompe disease: report from an international consensus meeting. *Mol Genet Metab*. 2008;93(3):275-81.
12. Colomer MC. Enfermedad de POMPE. Nuevas perspectivas terapéuticas. *ELSEVIER*. 2007;26:84-6.
13. de Faria DOS, t Groen S, Hoogeveen-Westerveld M, Nino 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.
14. Yang CF, Yang CC, Liao HC, Huang LY, Chiang CC, Ho HC, et al. Very Early Treatment for Infantile-Onset Pompe Disease Contributes to Better Outcomes. *J Pediatr*. 2016;169:174-80.e1.
15. Kishnani PS, Corzo D, Leslie ND, Gruskin D, van der Ploeg A, Clancy JP, et al. Early Treatment With Alglucosidase Alfa Prolongs Long-Term Survival of Infants With Pompe Disease. *Pediatric Research*. 2009;66(3):329-35.
16. Kishnani PS, Corzo D, Nicolino M, Byrne B, Mandel H, Hwu WL, et al. Recombinant human acid  $\alpha$ -glucosidase. Major clinical benefits in infantile-onset Pompe disease. 2007;68(2):99-109.
17. Banugaria SG, Prater SN, Patel TT, Dearmey SM, Milleson C, Sheets KB, et al. Algorithm for the early diagnosis and treatment of patients with cross reactive immunologic material-negative classic infantile pompe disease: a step towards improving the efficacy of ERT. *PLoS One*. 2013;8(6):e67052.
18. Chien YH, van der Ploeg A, Jones S, Byrne B, Vellodi A, Leslie N, et al. Survival and Developmental Milestones Among Pompe Registry Patients with Classic Infantile-Onset Pompe Disease with Different Timing of Initiation of Treatment with Enzyme Replacement Therapy. *J Neuromuscul Dis*. 2015;2(s1):S61-s2.

19. van den Hout HM, Hop W, van Diggelen OP, Smeitink JA, Smit GP, Poll-The BT, et al. The natural course of infantile Pompe's disease: 20 original cases compared with 133 cases from the literature. *Pediatrics*. 2003;112(2):332-40.
20. Kishnani PS, Hwu WL, Mandel H, Nicolino M, Yong F, Corzo D. A retrospective, multinational, multicenter study on the natural history of infantile-onset Pompe disease. *J Pediatr*. 2006;148(5):671-6.
21. Li C, Desai AK, Gupta P, Dempsey K, Bhambhani V, Hopkin RJ, et al. Transforming the clinical outcome in CRIM-negative infantile Pompe disease identified via newborn screening: the benefits of early treatment with enzyme replacement therapy and immune tolerance induction. *Genet Med*. 2021;23(5):845-55.
22. Piper MC, Darrah J, Maguire TO, Redfern L. Motor assessment of the developing infant: Saunders Philadelphia; 1994.
23. Association WM. World Medical Association Declaration of Helsinki: Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects. *JAMA*. 2013;310(20):2191-4.
24. Desai AK, Rosenberg AS, Kishnani PS. The potential impact of timing of IVIG administration on the efficacy of rituximab for immune tolerance induction for patients with Pompe disease. *Clinical Immunology*. 2020;219:108541.
25. Vogel M, Staller W, Bühlmeier K. Left ventricular myocardial mass determined by cross-sectional echocardiography in normal newborns, infants, and children. *Pediatric Cardiology*. 1991;12(3):143-9.
26. Young SP, Zhang H, Corzo D, Thurberg BL, Bali D, Kishnani PS, et al. Long-term monitoring of patients with infantile-onset Pompe disease on enzyme replacement therapy using a urinary glucose tetrasaccharide biomarker. *Genet Med*. 2009;11(7):536-41.
27. Kishnani PS, Amartino HM, Lindberg C, Miller TM, Wilson A, Keutzer J. Timing of diagnosis of patients with Pompe disease: data from the Pompe registry. *Am J Med Genet A*. 2013;161a(10):2431-43.

28. Lagler FB, Moder A, Rohrbach M, Hennermann J, Mengel E, Gökce S, et al. Extent, impact, and predictors of diagnostic delay in Pompe disease: A combined survey approach to unveil the diagnostic odyssey. *JIMD Rep.* 2019;49(1):89-95.
29. Kishnani PS, Goldenberg PC, DeArme SL, Heller J, Benjamin D, Young S, et al. Cross-reactive immunologic material status affects treatment outcomes in Pompe disease infants. *Molecular Genetics and Metabolism.* 2010;99(1):26-33.
30. Owens P, Wong M, Bhattacharya K, Ellaway C. Infantile-onset Pompe disease: A case series highlighting early clinical features, spectrum of disease severity and treatment response. *J Paediatr Child Health.* 2018;54(11):1255-61.
31. Kazi ZB, Desai AK, Berrier KL, Troxler RB, Wang RY, Abdul-Rahman OA, et al. Sustained immune tolerance induction in enzyme replacement therapy-treated CRIM-negative patients with infantile Pompe disease. *JCI Insight.* 2017;2(16).
32. Prater SN, Banugaria SG, DeArme SM, Botha EG, Stege EM, Case LE, et al. The emerging phenotype of long-term survivors with infantile Pompe disease. *Genetics in medicine.* 2012;14(9):800-10.
33. Ficicioglu C, Ahrens-Nicklas RC, Barch J, Cuddapah SR, DiBoscio BS, DiPerna JC, et al. Newborn Screening for Pompe Disease: Pennsylvania Experience. *Int J Neonatal Screen.* 2020;6(4).
34. WANG LY-J, ROSS AK, LI JS, DEARMEY SM, MACKKEY JF, WORDEN M, et al. Cardiac arrhythmias following anesthesia induction in infantile-onset Pompe disease: a case series. *Pediatric Anesthesia.* 2007;17(8):738-48.
35. Chien YH, Tsai WH, Chang CL, Chiu PC, Chou YY, Tsai FJ, et al. Earlier and higher dosing of alglucosidase alfa improve outcomes in patients with infantile-onset Pompe disease: Evidence from real-world experiences. *Mol Genet Metab Rep.* 2020;23:100591.
36. Khan AA, Case LE, Herbert M, DeArme S, Jones H, Crisp K, et al. Higher dosing of alglucosidase alfa improves outcomes in children with Pompe disease: a clinical study and review of the literature. *Genet Med.* 2020;22(5):898-907.
37. Ditters IAM, Huidekoper HH, Kruijshaar ME, Rizopoulos D, Hahn A, Mongini TE, et al. Effect of alglucosidase alfa dosage on survival and walking ability

in patients with classic infantile Pompe disease: a multicentre observational cohort study from the European Pompe Consortium. *Lancet Child Adolesc Health*. 2022;6(1):28-37.