

UFBA

Universidade Federal da Bahia
Instituto de Ciências da Saúde

KARINY MARIA SILVA FERREIRA

PROCESSOS INTERATIVOS
DOS ÓRGÃOS E SISTEMAS
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO • ICS • UFBA



**RESPOSTA AO USO DA TERAPIA DE REPOSIÇÃO
ENZIMÁTICA NA DOENÇA DE POMPE:
REVISÃO SISTEMÁTICA COM
METANÁLISES**

Salvador
2014



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PROCESSOS
INTERATIVOS DOS ÓRGÃOS E SISTEMAS**



KARINY MARIA SILVA FERREIRA

**RESPOSTA AO USO DA TERAPIA DE REPOSIÇÃO ENZIMÁTICA NA DOENÇA DE
POMPE: REVISÃO SISTEMÁTICA COM
METANÁLISES**

Salvador
2014



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PROCESSOS
INTERATIVOS DOS ÓRGÃOS E SISTEMAS**



KARINY MARIA SILVA FERREIRA

**RESPOSTA AO USO DA TERAPIA DE REPOSIÇÃO ENZIMÁTICA NA DOENÇA DE
POMPE: REVISÃO SISTEMÁTICA COM
METANÁLISES**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas, do Instituto de Ciências da Saúde, da Universidade Federal da Bahia, como requisito final para a obtenção do grau de Mestre em Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas.

Orientadora: Profa. Dra. Maria Betânia Pereira Toralles

Coorientador: Prof. Dr. Carlos Maurício Cardeal Mendes

Salvador
2014

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema Universitário de Bibliotecas (SIBI/UFBA),
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Ferreira, Kariny Maria Silva

Resposta ao uso da Terapia de Reposição Enzimática na
Doença de Pompe: revisão sistemática com metanálises./

Kariny Maria Silva Ferreira. -- Salvador, 2014.

103 f. : il

Orientadora: Profa. Dra. Maria Betânia Pereira Toralles.

Coorientador: Prof. Dr. Carlos Maurício Cardeal Mendes.

Dissertação (Mestrado - Programa Pós-graduação em
Processos Interativos de Órgãos e Sistemas) --
Universidade Federal da Bahia, Universidade Federal
da Bahia, 2014.

1. Doença de Pompe. 2. Terapia de Reposição Enzimática.
3. Metanálises. I. Toralles, Maria Betânia Pereira.
II. Mendes, Carlos Maurício Cardeal. III. Título.

UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE



TERMO DE APROVAÇÃO DA DEFESA PÚBLICA DA DISSERTAÇÃO

KARINY MARIA SILVA FERREIRA

**REPOSTA AO USO DA TERAPIA DE REPOSIÇÃO ENZIMÁTICA NA DOENÇA DE
POMPE: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA COM METANÁLISE**

Salvador, Bahia, 01 de dezembro de 2014

COMISSÃO EXAMINADORA:

PROFA DRA MARIA BETÂNIA PEREIRA TORALLES (Orientador)

PROF DR CARLOS MAURÍCIO CARDEAL MENDES (Examinador Interno)

PROFA DRA EMÍLIA KATIANE EMBIRUÇU DE ARAÚJO LEÃO (Examinador Externo)

À minha super mãe, **Célia Maria**, por se fazer sempre presente no coração.

Ao meu querido pai, **Manoel Ferreira**, por tanto carinho, auxílio e compreensão.

Ao meu irmão, **Aristeu Neto**, pelo amor fraterno.

Ao meu amado **Fillipe**, pelas horas de incentivo, dedicação, companheirismo e afeto.

AGRADECIMENTOS

À **Profa. Dra. Maria Betânia Pereira Toralles**, orientadora deste trabalho, pela paciência, a confiança e o respeito que se fizeram presentes em nosso convívio.

Ao **Prof. Dr. Carlos Maurício Cardeal Mendes**, por ser mais que um “coorientador”. Agradeço pela gentileza de participar dos meus dias através de apoio e ensinamentos; mas acima de tudo, pela paciência e pelo incentivo constante.

À **Dra. Carolina Fischinger Moura de Souza**, médica Geneticista, pelo prestigioso “SIM” diante do meu convite. Uma pena não a ter por perto.

À **Dra. Janeusa Rita Leite Primo Chagas**, médica Neuropediatra, pela presença constante em minha vida profissional.

À **Dra. Emília Katiane Embiruçu de Araújo Leão**, médica Neuropediatra, pela receptividade e gentileza a cada convite que lhe foi feito.

Aos **meus amigos e colegas**, pela substancial presença nos diferentes momentos, mas acima de tudo pela compreensão do contexto e, em especial, às “Amigas PIOS” por todas as vivências compartilhadas. Essa amizade ganhou espaço.

À equipe do **Programa de Pós-graduação em Processos Interativos dos Órgãos e Sistema do Instituto de Ciências da Saúde / UFBA**, pelo auxílio e apoio no desenvolvimento de toda a pós-graduação.

A todos, os de perto e os de longe, que contribuíram de alguma maneira para a conclusão deste trabalho.

**A tarefa não é tanto ver aquilo que ninguém viu,
mas pensar o que ninguém ainda pensou sobre aquilo que todo mundo vê.**

Arthur Schopenhauer

FERREIRA, Kariny Maria Silva. **Resposta ao uso da Terapia de Reposição Enzimática na Doença de Pompe**: revisão sistemática com metanálises. 103 fls. 2014. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2014.

RESUMO

Contexto: A Doença de Pompe, também conhecida como Doença de Depósito do Glicogênio tipo II ou Deficiência de maltase ácida, caracteriza-se pelo acúmulo de glicogênio intralisossomal devido à atividade insuficiente da enzima alfa-glucosidase ácida. Isso acarreta disfunções principalmente nos tecidos musculares cardíaco, respiratório e esquelético. É considerada uma doença rara com padrão de herança autossômico recessivo, cuja incidência total é estimada em 1:40.000 nascimentos vivos. A apresentação clínica é bastante diversificada e pode se manifestar em qualquer idade. Inicialmente, não existia nenhum tratamento específico para a Doença de Pompe e as medidas estavam voltadas para cuidados paliativos. Em 2006, a Terapia de Reposição Enzimática (TRE) com alfa-glucosidase ácida foi aprovada como tratamento específico dessa patologia. **Objetivo:** Avaliar a eficácia do tratamento com TRE em pacientes com Doença de Pompe através de uma revisão sistemática com metanálises. **Método:** A revisão sistemática foi realizada a partir de buscas nas bases de dados eletrônicas, com restrição do ano de publicação em 2006, e nas listas de referências dos artigos selecionados. Foram incluídos estudos observacionais prospectivos que avaliaram determinadas variáveis relacionando-as com a eficácia da TRE a partir da evolução dos doentes antes e após o tratamento. As variáveis utilizadas foram: teste de caminhada de 6 minutos (TC6M), capacidade vital forçada (CVF), nível sérico de creatinoquinase (CK) e índice de massa ventricular esquerda (IMVE). **Resultados:** Foram identificados 14 estudos para inclusão nas metanálises. Individualmente, poucos estudos mostraram diferença estatisticamente significativa: 1 estudo primário na variável TC6M no referente à diferença média; e 2 na variável IMVE em ambas as metanálises nos cálculos de diferença média e diferença média padronizada. No referente à medida resumo, esta também se apresentou estatisticamente significativa no TC6M e no IMVE no referente à diferença média e diferença média padronizada. Nenhum viés de publicação foi encontrado. **Conclusões:** O impacto da intervenção nas medidas representativas das variáveis, no geral, foi considerado de pequena magnitude (TC6M e CK com pequena magnitude; CVF sem efeito e IMVE com média magnitude). Porém, o IMVE assumiu o maior valor, correspondendo à magnitude média. Outros estudos devem continuar sendo realizados porque apesar das diferenças identificadas entre os mesmos, o impacto clínico considerado como melhora, por menor que seja, merece destaque ao influenciar na sintomatologia do quadro grave da doença e no contexto o qual o paciente com a Doença de Pompe está inserido.

Palavras-chaves: Doença de Pompe. Terapia de Reposição Enzimática. Metanálises.

FERREIRA, Kariny Maria Silva. **Response to the use of Enzyme Replacement Therapy in Pompe Disease**: systematic review with meta-analyzes. 103 pages. 2014. Thesis (Master's degree) - Institute of Health Sciences, Federal University of Bahia, Salvador, 2014.

ABSTRACT

Context: Pompe Disease, also known as glycogen storage disease type II or acid maltase deficiency, which is characterized by intralysosomal glycogen accumulation due to insufficient activity of acid alpha-glucosidase enzyme. This leads to malfunctions, especially in cardiac muscle tissue, respiratory and skeletal. It is considered a rare disease with autosomal recessive inheritance, the overall incidence is estimated at 1: 40,000 live births. The clinical presentation is quite diverse and can be manifested at any age. Initially, there was no specific treatment for Pompe Disease and the measures were aimed at palliative care. In 2006, Enzyme Replacement Therapy (ERT) with acid alpha-glucosidase was approved as specific treatment of this pathology. **Objective:** To evaluate the efficacy of ERT in patients with Pompe Disease through a systematic review with meta-analyzes. **Method:** A systematic review was conducted from searches of electronic databases, with year restriction publication in 2006, and in the reference lists of articles selected. Prospective observational studies were included that evaluated certain variables relating them to the efficacy of ERT from the outcome of patients, before and after the treatment. The variables used were: 6-minute walk test (6MWT), forced vital capacity (FVC), serum creatine kinase (CK) and left ventricular mass index (LVMI). **Results:** Fourteen studies were identified for the inclusion if the meta-analyzes. Individually, few studies showed a statistically significant difference: one primary study in 6MWT variable with regard to the average difference; and two in LVMI variable in both meta-analyzes in the mean difference calculations and standardized mean difference. In relation to the summary measure, this also shows statistically significant in the 6MWT and LVMI in relation to the mean difference and standardized mean difference. No publication bias was introduced. **Conclusions:** The impact of the intervention on the representative measures of variables, in general, was considered of small magnitude (6MWT and CK with small magnitude; FVC void and LVMI with average magnitude). However, especially LVMI, wich took the greatest amount corresponding to the average magnitude. Other studies should continue to be made because despite the differences identified between them, the clinical impact regarded as improvement, even being small, deserves to influence the symptoms of severe cases of the disease and in the context which the patient with Pompe disease is inserted.

Keywords: Pompe Disease. Enzyme Replacement Therapy. Meta-analyzes.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1	Reação Enzimática	16
Figura 2	Padrão de herança autossômica recessiva	18
Figura 3	Estrutura correspondente a parte de uma molécula do glicogênio.....	22
Quadro 1	Tipos de Glicogenoses de acordo com a denominação, enzima defeituosa e tecidos atingidos	23
Quadro 2	Incidência de Doença de Pompe em diferentes populações.....	26
Quadro 3	Testes complementares para diagnóstico da Doença de Pompe	34
Quadro 4	Estratégias de busca empregadas nas bases de dados eletrônicas...	48
Figura 4	Fluxograma de classificação dos estudos identificados	52
Quadro 5	Validade interna dos estudos incluídos nas metanálises	61
Gráfico 1	Indicadores metanalíticos das diferenças médias do TC6M em pacientes com Doença de Pompe em relação à TRE	63
Gráfico 2	Gráfico de funil representando os estudos utilizados no TC6M com relação às diferenças médias	65
Gráfico 3	Indicadores metanalíticos das diferenças médias padronizadas do TC6M em pacientes com Doença de Pompe em relação à TRE.....	66
Gráfico 4	Gráfico de funil referente aos estudos utilizados no TC6M com relação às diferenças médias padronizadas.....	67
Gráfico 5	Indicadores metanalíticos das diferenças médias da CVF em pacientes com Doença de Pompe em relação à TRE	68
Gráfico 6	Indicadores metanalíticos das diferenças médias padronizadas da CVF em pacientes com Doença de Pompe em relação à TRE.....	68
Gráfico 7	Gráfico dos indicadores metanalíticos das diferenças médias do nível sérico de CK em pacientes com Doença de Pompe em relação à TRE.....	69
Gráfico 8	Gráfico de funil representando os estudos utilizados na avaliação de CK com relação às diferenças médias	70

Gráfico 9	Indicadores metanalíticos das diferenças médias padronizadas do nível sérico de CK em pacientes com Doença de Pompe em relação à TRE.....	71
Gráfico 10	Gráfico de funil referente aos estudos utilizados na avaliação de CK com relação às diferenças médias padronizadas.....	72
Gráfico 11	Indicadores metanalíticos das diferenças médias do IMVE nos estudos em pacientes com Doença de Pompe em relação à TRE.....	73
Gráfico 12	Gráfico de funil representando os estudos utilizados na avaliação do IMVE com relação às diferenças médias.....	74
Gráfico 13	Indicadores metanalíticos das diferenças médias padronizadas do IMVE nos estudos em pacientes com Doença de Pompe em relação à TRE.....	75
Gráfico 14	Gráfico de funil referente aos estudos utilizados no IMVE com relação às diferenças médias padronizadas.....	76
Quadro 6	Medida-resumo padronizada por variável de estudo	81

ABREVIATURAS

AAF	Avaliação das atividades funcionais
Ad	Adenovírus
AMD	Deficiência de maltase ácida
CK	Creatinoquinase
CRIM	<i>Cross reactive immunologic material</i>
CV	Capacidade vital
CVF	Capacidade Vital Forçada
DDG	Doença de Depósito do Glicogênio
DDL	Doença de Depósito Lisossômico
DECS	Descritores em Ciências da Saúde
DHL	Desidrogenase láctica
DM	Diferenças médias
DMH	Doença metabólica hereditária
DMP	Diferenças médias padronizadas
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DP	Doença de Pompe
DSB	<i>Dried blood spot</i>
ECG	Eletrocardiograma
ECO	Ecocardiograma
EIM	Erros Inatos do Metabolismo
EMA	<i>European Medicines Agency</i>
EMG	Eletromiografia
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>

FEV ₁	Volume expiratório forçado
FSS	Escala de Severidade de Fadiga
GAA	Alfa-glucosidase ácida
Glc ₄	Tetrassacarídeo urinário
GSD	Glicogenoses
Hex ₄	Hexassacarídeo urinário
IgG	Imunoglobulina G
IMC	Índice de massa corpórea
IMVE	Índice de massa ventricular esquerda
kDa	Kilodalton
M6P	Receptor manose-6-fosfato
MeSH	<i>Medical Subject Headings</i>
MRC	<i>Medical Research Council</i>
PRISMA	<i>Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses</i>
rhGAA	Alfa-glucosidase ácida recombinante humana
TC6M	Teste de caminhada de 6 minutos
TFB	Teste de função do braço
TFMR	Treinamento da força muscular respiratória
TGO	Transaminase glutâmica oxalacética
TGP	Transaminase glutâmica pirúvica
TRE	Terapia de Reposição Enzimática
VAA	Vírus adeno-associado
WGM	Walton Gardner-Medwin
WS	Escore de Walton

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	16
2.1 ERROS INATOS DO METABOLISMO	16
2.2 GLICOGENOSES	21
2.3 GLICOGENOSE TIPO II.....	24
2.3.1 Considerações sobre a descoberta da Doença de Pompe	25
2.3.2 Epidemiologia	26
2.3.3 Aspectos genéticos	26
2.3.4 Complexo enzimático da alfa-1,4-glucosidase	27
2.3.5 Fisiopatologia da Doença de Pompe	28
2.3.6 Quadro clínico	29
2.3.6.1 <i>Manifestações clínicas da forma infantil da Doença de Pompe</i>	30
2.3.6.2 <i>Manifestações clínicas da forma tardia da Doença de Pompe</i>	31
2.3.7 Diagnóstico da GSDII	32
2.3.7.1 <i>Diagnóstico clínico</i>	32
2.3.7.2 <i>Diagnóstico enzimático</i>	34
2.3.7.3 <i>Diagnóstico molecular</i>	35
2.3.8 Tratamento	36
2.3.8.1 <i>Geral</i>	36
2.3.8.2 <i>Terapia de Reposição Enzimática (TRE)</i>	37
2.3.8.3 <i>Gênico</i>	39
2.3.9 Monitoramento recomendado	40
3 OBJETIVOS	43

3.1 OBJETIVO GERAL	43
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	43
4 MÉTODO.....	44
4.1 TIPO DE ESTUDO.....	44
4.2 TIPO DE EXPOSIÇÃO AVALIADA.....	44
4.3 AMOSTRA	44
4.3.1 Tipos de estudos selecionados	44
4.3.2 Tipos de participantes dos estudos	45
4.4 DESFECHOS CLÍNICOS ESTUDADOS.....	46
4.5 LOCALIZAÇÃO DOS ESTUDOS.....	46
4.5.1 Fontes de estudos	46
4.5.2 Estratégias de busca para as bases de dados eletrônicas	47
4.6 AVALIAÇÃO DA ELEGIBILIDADE DOS ESTUDOS	48
4.7 EXTRAÇÃO DOS DADOS	48
4.8 ANÁLISES ESTATÍSTICAS.....	49
5 RESULTADOS.....	51
5.1 RESULTADOS DA BUSCA DE ESTUDOS PRIMÁRIOS	51
5.1.1 Estudos excluídos.....	53
5.1.2 Descrição dos artigos incluídos nas metanálises.....	53
5.1.2.1 <i>Teste de caminhada de 6 minutos</i>	53
5.1.2.2 <i>Capacidade vital forçada</i>	56
5.1.2.3 <i>Nível sérico de creatinaquinase</i>	56
5.1.2.4 <i>Índice de massa ventricular esquerda</i>	57
5.2 QUALIDADE DOS ESTUDOS INCLUÍDOS (VALIDADE INTERNA).....	61
5.3 RESULTADOS DOS DESFECHOS ESTUDADOS	62

5.3.1 Metanálise realizada da variável teste de caminhada de 6 min	63
5.3.2 Metanálise realizada da variável capacidade vital forçada.....	67
5.3.3 Metanálise realizada do nível sérico de creatinoquinase.....	69
5.3.4 Metanálise realizada da variável índice de massa ventricular esquerda.....	73
6 DISCUSSÃO.....	77
6.1 PRINCIPAIS ACHADOS E LIMITAÇÕES DOS ESTUDOS INCLUÍDOS.....	78
6.2 LIMITAÇÕES DAS METANÁLISES REALIZADAS	84
6.3 APLICABILIDADE NA PRÁTICA CLÍNICA.....	84
6.4 APLICABILIDADE CIENTÍFICA.....	85
6.5 DIREÇÕES FUTURAS	86
7 CONCLUSÕES	87
REFERÊNCIAS	89
ANEXOS	
ANEXO A - Formulário para avaliação dos critérios de inclusão	99
ANEXO B - Formulário para coleta de dados dos estudos incluídos nas Comparações...100	
ANEXO C - Formulário de coleta de dados das variáveis estudadas	101
ANEXO D - Formulário para avaliação da qualidade dos estudos.....	102

1 INTRODUÇÃO

Entre as afecções decorrentes dos erros inatos do metabolismo, a Doença de Depósito do Glicogênio tipo II (também reconhecida como Glicogenose tipo II ou Doença de Pompe) é apontada como uma das doenças de depósito lisossômico (DDL)¹. Caracteriza-se pelo acúmulo de glicogênio nos lisossomos em consequência de alterações na atividade da enzima alfa-1,4-glucosidase ácida (GAA, maltase ácida) que hidrolisa glicogênio e maltose em glicose²⁻⁴. Essa doença rara é herdada de forma autossômica recessiva, cuja incidência total está estimada em 1:40.000 nascidos vivos⁵.

O acometimento dessa doença ocorre em diferentes células e tecidos, principalmente nas células das musculaturas lisa, esquelética e cardíaca; levando comumente a manifestações clínicas em quatro sistemas: respiratório, musculoesquelético, cardíaco e gastrointestinal^{2, 3, 5}.

A apresentação clínica da Doença de Pompe (DP) é extremamente variável e as características se diferenciam de acordo com a idade de início dos primeiros sintomas e a velocidade de progressão da doença⁶. Isto resulta na classificação em forma infantil (*infantile-onset Pompe Disease*) e forma tardia da Doença de Pompe (*late-onset Pompe Disease*)⁷.

Na forma infantil da doença, os pacientes apresentam comprometimento cardíaco importante, o que tende a ser fatal levando ao óbito antes dos dois anos de vida. Na forma tardia, os pacientes apresentam comprometimento muscular em graus variados e o envolvimento do diafragma pode levar a óbito por insuficiência respiratória.

No processo de investigação diagnóstica da Doença de Pompe, doravante também representada pela sigla DP, a anamnese e o exame físico geral, com ênfase no exame neurológico, devem ser detalhados determinando a distribuição e as características da fraqueza muscular apresentada de forma comparativa e simétrica⁸. Na investigação complementar pode ser utilizado: pesquisa de linfócitos vacuolados no sangue periférico, dosagem de creatinoquinase (CK), avaliação das enzimas hepáticas (transaminase glutâmica oxalacética – TGO e transaminase glutâmica pirúvica – TGP), avaliação de cromatografia de oligossacarídeos na urina como hexassacarídeos (Hex₄) e tetrassacarídeo (Glc₄), exame de eletromiografia (EMG), radiografia de tórax, eletrocardiograma (ECG) e ecocardiograma (ECO). Entre os testes confirmatórios da doença está a análise enzimática ou genética⁹.

Anteriormente, o tratamento da Doença de Pompe estava voltado para medidas de suporte à sintomatologia apresentada e sendo meramente paliativo. Era utilizado cuidado com a dieta adequada, prática de atividade física, fisioterapia, farmacoterapia de acordo com sintomatologia, ou até mesmo suporte respiratório e dispositivo para deambular em casos mais evoluídos^{9, 10}. O tratamento específico da DP teve início em abril de 2006, quando a Terapia de Reposição Enzimática (TRE) com alfa-glucosidase ácida recombinante humana (rhGAA) foi

aprovada e se tornou o primeiro tratamento doença-específico para um transtorno muscular hereditário¹¹.

Com o passar do tempo, outras abordagens terapêuticas para Doença de Pompe vem sendo propostas a exemplo de terapias à base de moléculas pequenas, terapia gênica, redução do substrato, ou mesmo manipulação das vias celulares comprometidas¹².

Devido à estreita associação da Terapia de Reposição Enzimática (TRE) com os benefícios apontados na evolução dos pacientes com Doença de Pompe que utilizam tal terapia, principalmente no primeiro ano de vida, tornou-se necessário observar e acompanhar a evolução das diferentes formas da doença. E a observação de instrumentos viáveis de mensuração e comparação também se apresentou como uma ferramenta importante para avaliar a utilização da TRE de forma segura e eficaz a longo prazo^{13, 14}.

Nesse contexto da Doença de Pompe, vimos a oportunidade e a importância de apresentar informações relacionadas com a evolução de pacientes submetidos à Terapia de Reposição Enzimática. Isso ocorreu a partir da análise de variáveis mensuradas de acordo com a utilização dessa terapia.

As informações apresentadas através de medidas de avaliação quantitativa sobre o acompanhamento de pacientes com Doença de Pompe submetidos à terapia enzimática ainda são restritas. Destarte, a apresentação de modificações observadas em determinadas variáveis aqui selecionadas, assim como a explanação sobre a doença, busca propiciar melhor entendimento sobre a patologia e a eficácia do tratamento específico utilizando a TRE.

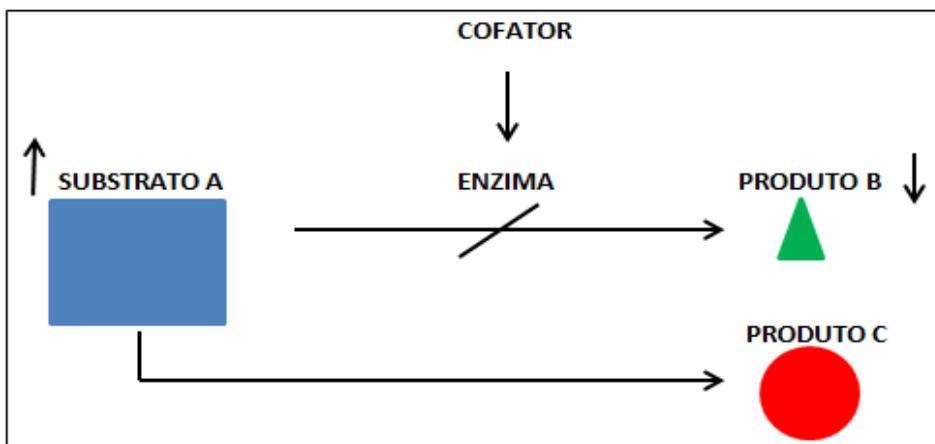
2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 ERROS INATOS DO METABOLISMO

Os Erros Inatos do Metabolismo (EIM) ou Erros Metabólicos Hereditários são doenças geneticamente determinadas resultantes de um defeito orgânico específico, geralmente enzimático, capaz de ocasionar a modificação em alguma via metabólica a partir da interrupção de tal via. Diante disso, haverá alguma falha de síntese (anabolismo), degradação (catabolismo), transporte ou armazenamento de moléculas no organismo^{15, 16}.

Tais distúrbios do metabolismo são considerados a causa das Doenças Metabólicas Hereditárias (DMH) cujo bloqueio da via específica ocasionará o mau funcionamento de uma enzima e produzirá, como consequência, por sua vez, o acúmulo de substâncias normalmente presentes em pequena quantidade (acúmulo de substrato da etapa anterior à interrompida), ou a deficiência de um produto final específico esperado da reação, ou ainda desvio da rota metabólica com formação de outro produto final nocivo^{16, 17} (Figura 1). São estas alterações metabólicas que causam disfunção de órgãos e tecidos, que por sua vez geram os sintomas presentes nas diversas DMH.

Figura 1- Reação Enzimática



Fonte: Adaptado de BRUSTOLIN¹⁸.

Historicamente, no início do século XX, ano de 1908, o médico inglês Archibald Garrod utilizou o termo Erros Inatos do Metabolismo (EIM) para se referir a situações clínicas que ele acreditou serem consequentes a defeitos em vias metabólicas. Numa época em que se conhecia pouco sobre gene e enzimas, a primeira doença estudada foi a Alcaptonúria. Esta doença se caracteriza por atrite aguda e, bioquimicamente, por aumento da excreção de ácido homogentísico – um ácido capaz de tornar a urina escura após algumas horas de exposição ao

ar. Posteriormente, ele descreveu o albinismo, a cistinúria e a pentosúria benigna, que também deveriam ser Erros Inatos do Metabolismo¹⁹. É válido ressaltar que na década de 40, a partir do conceito “um gene-uma enzima” proposto por Beadle et al., uma relação mais precisa entre a Bioquímica e a Genética foi estabelecida¹⁵. Destarte, numa época em que a doença era vista como consequência de fatores externos ao indivíduo, a possibilidade de singularidade metabólica individual foi bastante inovadora¹⁹.

À medida que se aprofunda o conhecimento em geral acerca das alterações metabólicas, aumenta o número de erros inatos conhecidos. Atualmente, admite-se a existência de cerca de 500 doenças metabólicas hereditárias com o grupo de EIM representando cerca de 10% de todas as doenças genéticas^{15, 17}.

A incidência dos EIM é individualmente rara, todavia a ocorrência em conjunto se torna expressiva com uma incidência de 1/1.000 recém-nascidos vivos, causando cumulativamente um importante agravo à saúde¹⁷. Infere-se que os números baixos podem estar relacionados não somente à raridade dos distúrbios, mas também à subestimação do diagnóstico¹⁵.

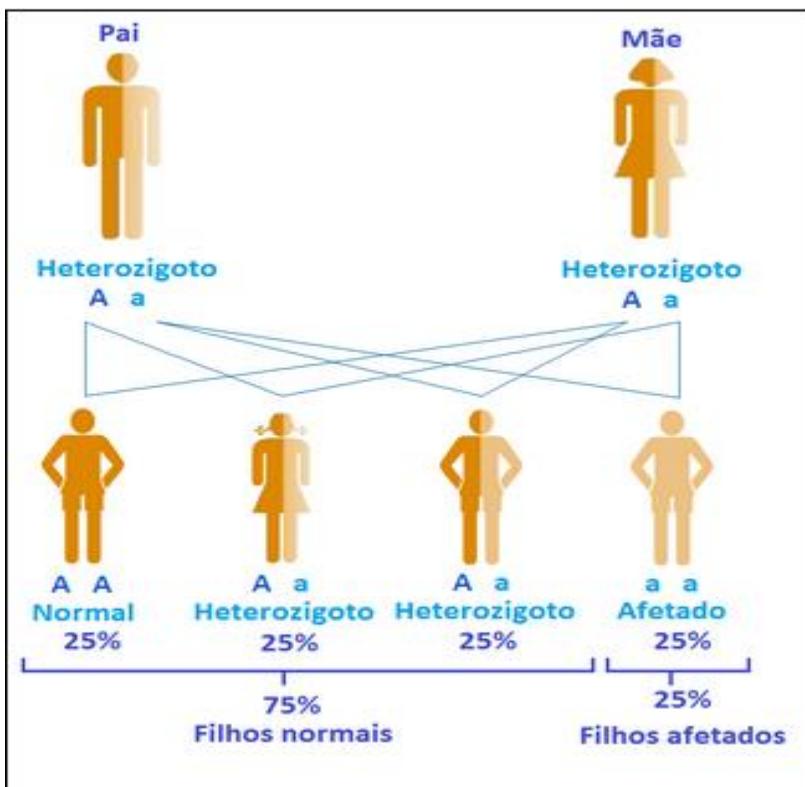
No Brasil, a estimativa da prevalência de algumas patologias isoladas aponta para os seguintes resultados: Fenilcetonúria variando de 1:12.000 e 1:15.000, Doença da urina de xarope de bordo de 1:43.000, e Deficiência de biotinidase com prevalência de 1:125.000 recém-nascidos vivos¹⁵.

Tomando em consideração o tipo de herança genética, a maioria dos EIM ocorre por mutações no genoma nuclear e com padrão de transmissão por herança mendeliana (herança recessiva ou dominante, autossômica ou ligada ao X); mas também são transmitidas por mutação presente no DNA mitocondrial, de origem materna¹⁹.

A herança autossômica recessiva é decorrente de mutação que afeta o produto de ambas as cópias de um único gene. Nesse tipo de herança, que ocorre apenas nos homocigotos, é necessário que as duas cópias do gene tenham mutação para que a doença ocorra. Isto geralmente acontece quando um filho herda um alelo com uma mutação do pai e outro com uma mutação da mãe.

No caso dos pais não serem afetados, significa que cada um deles tem uma cópia do gene normal e outra com mutação (portador heterocigoto). O risco de cada um dos filhos herdar um alelo recessivo de cada genitor é de 50%. E cada filho deste casal apresenta 25% de probabilidade de herdar as cópias com mutação (alelos recessivos) do pai e da mãe, e assim, desenvolver o erro inato do metabolismo²⁰ (Figura 2).

Figura 2- Padrão de herança autossômica recessiva



Fonte: GARCIA²¹.

Diante da diversidade de alterações metabólicas apresentadas, os EIM são classificados de diferentes formas na literatura. Uma delas, considerada abrangente e didática, busca apresentar características que permitem uma maior aplicação clínica¹⁵, conforme a seguinte categorização:

Categoria 1 – está relacionada com as situações nas quais apenas um órgão ou um único sistema orgânico sofre alterações. Nessa categoria os sintomas são uniformes e favorecem a definição do diagnóstico;

Categoria 2 – as alterações estão relacionadas com um grupo de doenças no qual o defeito bioquímico compromete uma via metabólica comum a diversos órgãos, como as doenças lisossomais, ou restrito a um órgão apenas, porém com manifestações humorais e sistêmicas, como a hiperamonemia nos defeitos do ciclo da ureia. As patologias dessa categoria apresentam grande diversidade clínica, muitas vezes dificultando o diagnóstico.

A diversidade de alterações da Categoria 2 permite dividir as doenças metabólicas hereditárias que a compõem em três grupos de acordo com as características fisiopatológicas e fenótipo clínico:

Grupo I: Distúrbios de síntese ou catabolismo de moléculas complexas;

Grupo II: Erros inatos do metabolismo intermediário que culminam em intoxicação aguda ou crônica;

Grupo III: Deficiência na produção ou utilização de energia.

Destacando as doenças do grupo III tem-se como exemplo as glicogenoses, e dentre elas, a Doença de Pompe.

A apresentação do quadro clínico nos portadores de erros inatos do metabolismo é diversificada, chegando a abranger diferentes sinais e sintomas de acordo com o tipo de erro metabólico; e podendo ocorrer a qualquer momento antes do nascimento, no período neonatal, na infância, nos pré-escolares, e, mais raramente, na adolescência e na vida adulta¹⁹.

De modo geral, as manifestações clínicas dos EIM costumam ser divididas em quatro grandes grupos¹⁸:

1. Sintomas agudos no período neonatal;
2. Sintomas agudos e frequentemente intermitentes, de apresentação tardia (dos 29 dias de vida até a vida adulta);
3. Quadros específicos envolvendo deterioração progressiva do órgão ou sistema acometido (doenças degenerativas cerebrais, hepatopatias progressivas, síndromes altamente específicas como a Homocistinúria, etc);
4. Quadros crônicos gerais e inespecíficos (retardo mental por acúmulo de substâncias tóxicas e retardo de crescimento por evitação alimentar de substâncias tóxicas).

Entre os sintomas apresentados por portadores de Erros Inatos do Metabolismo, caracterizando uma apresentação bastante inespecífica, estão: vômitos, diarreia, desidratação, distúrbios hidroeletrólíticos, hipoglicemia, icterícia, letargia, hipotonia, recusa alimentar, visceromegalias, retardo de crescimento, odores anormais, hidropsia fetal, manifestações neurológicas a exemplo de convulsões e coma, dentre outros^{15, 22}. Existem também alguns dados da história que podem levar a pensar na possibilidade de uma doença metabólica hereditária diante da ausência de outra causa definida: história recorrente familiar, história de consanguinidade dos pais, dificuldade de ganho de peso ou perda de habilidades adquiridas anteriormente¹⁷.

A heterogeneidade clínica, bioquímica e genética dos EIM é ampla tornando o diagnóstico clínico correto das DMH difícil. Dessa forma, duas perguntas são fundamentais no estudo de erros inatos do metabolismo: quando suspeitar e quais exames complementares

solicitar²³. Acredita-se que a familiarização dos diferentes profissionais com os sintomas dos EIM permitirá uma suspeita seguida de investigação o quanto antes. E diante do diagnóstico e do tratamento adequado instituído poderá reduzir significativamente a morbidade e a mortalidade de pacientes afetados. Nesse contexto, de uma maneira geral, a avaliação laboratorial primária através da triagem neonatal tem um papel fundamental^{16, 24}.

A triagem neonatal corresponde a uma iniciativa de saúde pública de base populacional para identificar os recém-nascidos que estão em risco para doença genética e outras desordens congênitas que incluem doenças hematológicas, endócrinas, metabólicas ou infecciosas. Através dos testes de triagem neonatal é possível separar a população em dois grupos: aqueles que podem ter uma doença daqueles que podem não tê-la. No Brasil, corresponde à maior iniciativa do Sistema Único de Saúde (SUS) na área de genética²⁵.

No processo de investigação clínica, a solicitação de exames complementares adequados pode iniciar por simples testes de urina que, apesar de não serem diagnósticos, direcionarão a suspeita. Outros exames que também podem ser úteis: hemograma, gasometria venosa, eletrólitos, lactato, glicemia em jejum, amônia, transaminases hepáticas, colesterol e triglicérides, piruvato, ureia, creatinina, ácido úrico e os demais relacionados a sinais e sintomas apresentados¹⁵.

A cromatografia de açúcares e de aminoácidos na urina e no sangue é um exame útil que faz parte dos testes iniciais. E após o surgimento da espectrometria de massa em *tandem* para análise quantitativa de aminoácidos e acilcarnitinas foi possível a identificação de inúmeras doenças em uma única amostra caracterizando uma mudança importante para o processo de investigação^{24, 25}.

De uma maneira geral, a ocorrência de um teste positivo na triagem e/ou de uma suspeita clínica deve ser investigada por métodos diagnósticos complementares para confirmação do resultado primário. A confirmação pode ocorrer através da determinação da atividade da enzima que se suspeita deficiente, ou da quantificação de aminoácidos, ou mesmo da identificação do defeito molecular com exames mais especializados^{15, 16}.

O tratamento adequado dos EIM depende muito das características da doença em questão, cujo principal objetivo terapêutico é reestabelecer o equilíbrio metabólico utilizando diversas estratégias²⁶.

O sucesso no tratamento está diretamente relacionado com a introdução precoce das medidas viáveis a cada quadro. As principais estratégias empregadas no manejo são: tratamento de acometimentos agudos; utilização de dieta alimentar através da restrição dietética do substrato; bloqueio na formação ou mesmo remoção de metabólico tóxico; reposição do produto

deficiente; estímulo da atividade da enzima deficiente; Terapia de Reposição Enzimática; transplante de órgãos e terapia gênica^{18, 26, 27}.

É preciso ressaltar a individualidade do tratamento que deve ser dado a cada Erro Inato do Metabolismo reconhecendo que muitos ainda estão sem tratamento específico²⁷. Diante disso, o diagnóstico e o tratamento dos EIM são um grande desafio, que precisa de um manejo adequado a partir da abordagem de uma equipe multidisciplinar²⁶.

2.2 GLICOGENOSES

As Glicogenoses (GSD), também conhecidas como Doenças de Depósito do Glicogênio (DDG), são patologias de herança autossômica recessiva, conseqüentes a alterações do metabolismo (anabolismo ou catabolismo) do glicogênio a partir de defeitos enzimáticos específicos envolvidos nas rotas de degradação ou síntese^{28- 30}. Elas fazem parte de um dos quatro grupos principais de Erros Inatos do Metabolismo dos carboidratos: Glicogenoses (doenças de acúmulo de glicogênio), Galactosemias (distúrbios do metabolismo da galactose), Defeitos do metabolismo da frutose e Hipoglicemia por hiperinsulinemia persistente²⁹.

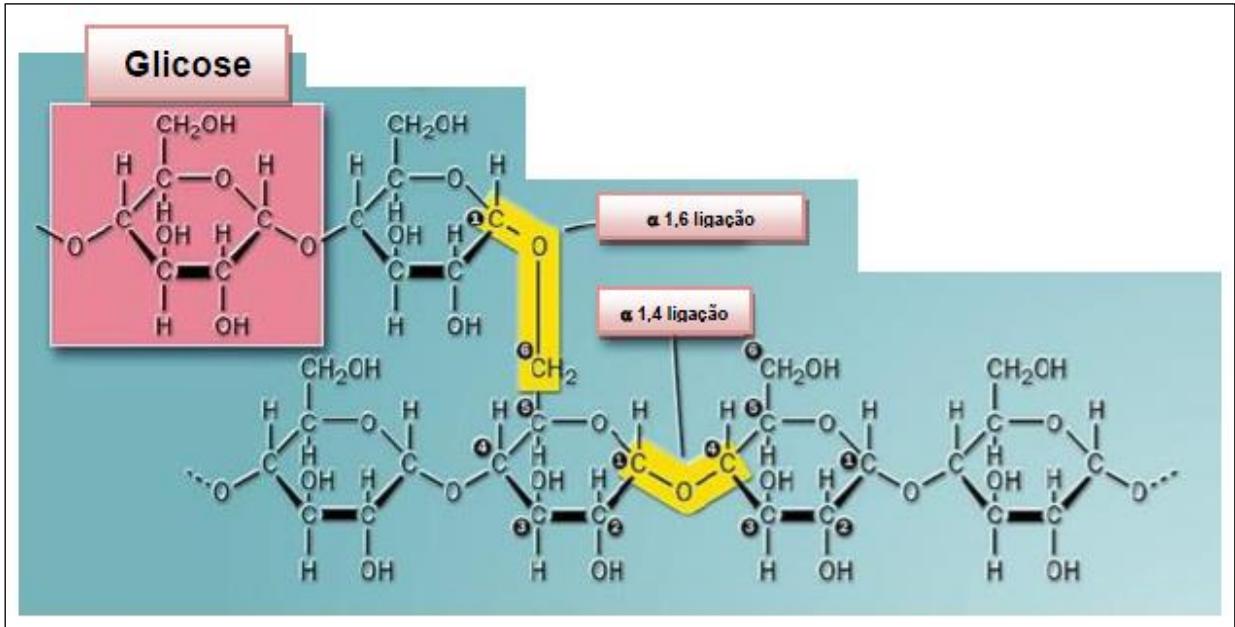
Em 1857, Claude Bernard isolou o glicogênio do fígado pela primeira vez descrevendo as propriedades químicas e fisiológicas. Desde então, diferentes tipos de doenças de armazenamento do glicogênio no fígado e demais tecidos vem sendo reconhecidas e apresentadas³¹.

Os defeitos metabólicos geram manifestações de acordo com a localidade do comprometimento. Na Glicogenose hepática o quadro clínico é marcado por hepatomegalia; hipoglicemia; “face de boneca”; fadiga; e aumento de triglicérides, ácido úrico e lactato. E caso o acúmulo seja do glicogênio muscular, tem-se um quadro com fraqueza muscular, câibras e sinais miopáticos progressivos^{27, 29}.

O glicogênio é um polissacarídeo (molécula complexa e ramificada) de grande importância para o funcionamento adequado do metabolismo humano; e constituindo-se como principal componente de reserva energética das células animais²⁸. Ele é composto de moléculas de glicose ligadas em cadeia por ligações 1,4 com pontos de ramificação através de ligações 1,6³² (Figura 3). De acordo com a necessidade metabólica do organismo, a via glicogênica será responsável pela formação de glicogênio ao passo que a glicogenólise provocará a degradação e síntese de glicose^{28, 29}. O glicogênio pode ser encontrado predominantemente no fígado e no músculo com papel distinto. O muscular é essencial somente para o músculo e ao ser

metabolizado nesse local fornece energia para a contração muscular; enquanto que o glicogênio hepático regula a glicemia e fornece substrato energético para outros órgãos-síntese²⁸.

Figura 3- Estrutura correspondente a parte de uma molécula do glicogênio



Fonte: SANTOS³¹.

Considerando o processo de reação “em cascata” de degradação do glicogênio (catabolismo), fosforilases no fígado e músculo partem a ligação 1,4 com formação de moléculas livres de glicose-1-fosfato a partir do glicogênio. Essa cisão das ligações 1,4 ocorre próximo das ramificações 1,6. Logo, três resíduos de glicose são removidos em bloco pela oligo 1,4 a 1,4 glicano-transferase e a ligação 1,6 é rompida pela enzima desramificadora (amilo-1,6-glucosidase) resultando na liberação de glicose. Em adição a essas vias principais, o glicogênio também pode ser degradado nos lisossomos pela maltase ácida. Se os lisossomos são deficientes nesta enzima, o glicogênio contido dentro deles não é acessível à degradação pelas enzimas citoplasmáticas como as fosforilases³².

No complexo enzimático do metabolismo do glicogênio, qualquer alteração em uma das enzimas presentes na rota enzimática será capaz de desencadear um comprometimento clínico caracterizando uma das GSD. Várias são as doenças consequentes das alterações no metabolismo do glicogênio e em sua maioria decorrem do acúmulo desse polissacarídeo, que se apresenta com estrutura normal ou anormal^{31, 32}.

Considerando que, muitas vezes, os números atribuídos às Glicogenoses divergem entre os autores, admite-se que a denominação dos diferentes tipos deve ser feita baseada na descrição do defeito enzimático específico e dos órgãos comprometidos na glicogenose a qual está se referindo³². São classificadas em doze tipos diferentes e os subtipos são descritos devido a diferentes características clínicas, bioquímicas e genéticas³¹.

A seguir, será apresentado o Quadro 1 com as denominações, a enzima deficiente e os principais tecidos comprometidos em cada tipo de Glicogenose³³.

Quadro 1- Tipos de Glicogenoses de acordo com a denominação, enzima defeituosa e tecidos atingidos

TIPO	DENOMINAÇÃO	ENZIMA DEFEITUOSA	TECIDOS ATINGIDOS
0	Glicogenose A	Glicogênio sintetase	Fígado e músculo
Ia	D. de von Gierke	Glicose-6-fosfatase	Fígado, rins e intestino
IaSP		Subunidade catalítica	Fígado, músculos e intestino
Ib		Translocase 1	Fígado, músculos e intestino
Ic		Translocase 2	Fígado, músculos e intestino
Id		Translocase 3	Fígado, músculos e intestino
II	D. de Pompe	α -1,4-glucosidase glucosidase lisossômica	Coração, músculos e intestino
III	D. de Cori	Amilo-1,6-glucosidase	Fígado, músculos e coração
IV	D. de Andersen	Amilo-(1,4 - 1,6)-transglucosidase	Fígado
V	D. de McArdle	Fosforilase do glicogênio do músculo	Músculos
VI	D. de Hers	Fosforilase do glicogênio do fígado	Fígado
VII		Fosfofrutoquinase do músculo	Músculos
VIII		Fosforilase hepática inativa	Fígado e cérebro
IX		Fosforilase quinase	Fígado e músculos
X		Fosforilase quinase dependente de AMP-cíclico	Fígado e músculos
XI		Desconhecida	Fígado e rins

Fonte: Adaptado de NUNES³³.

A estimativa global de casos de Glicogenoses está entre 1:20.000 a 1:25.000 nascidos vivos²⁷. Segundo dados apresentados, as formas mais comuns de GSD são os tipos I, II, III e IV, que juntas correspondem a mais de 90% dos casos³¹.

O conhecimento das vias metabólicas viabiliza a suspeita diagnóstica frente aos sinais e sintomas apresentados pelo indivíduo, assim como os avanços nas técnicas histológicas e bioquímicas podem viabilizar a antecipação do diagnóstico preciso seguido do tratamento antecipado dessas desordens hereditárias ligadas ao metabolismo de armazenamento do glicogênio²⁸. A confirmação diagnóstica se torna possível a partir da realização de biópsia hepática e do estudo enzimático ou da análise da mutação²⁷.

O tratamento das Glicogenoses estará voltado para os comprometimentos apresentados em associação com demais medidas: controle dietético, transplante hepático e Terapia de Reposição Enzimática²⁷.

2.3 GLICOGENOSE TIPO II

A Glicogenose tipo II (GSDII; OMIM 232300) é uma doença neuromuscular caracterizada pelo armazenamento inadequado de glicogênio nos lisossomos devido à deficiência da enzima alfa-glucosidase ácida – chave da via de degradação do glicogênio lisossômico³⁴. Ela também pode ser reconhecida como Doença de depósito do glicogênio tipo II, Deficiência de alfa-glucosidase ácida, Glicogenose generalizada, Doença de Pompe (DP), Cardiomegalia glicogênica difusa, Deficiência de maltase ácida (AMD) e Deficiência de alfa-1,4-glucosidase³⁵.

A Doença de Pompe corresponde a um Erro Inato do Metabolismo do grupo das Glicogenoses; porém, apresenta características distintas das demais. Trata-se de uma Glicogenose em que o acúmulo de glicogênio ocorre primariamente nos lisossomos, conforme descrito anteriormente, e não no citoplasma³⁶. Assim, essa patologia pode ser apontada como uma Doença de Depósito Lisossômico (DDL)¹.

As Doenças de Depósito Lisossômico constituem um importante grupo de doenças genéticas hereditárias decorrentes de mutações em genes diferentes que causarão uma deficiência enzimática específica. Elas compartilham uma característica comum: o acúmulo de substratos, que normalmente são degradados nos lisossomos, resultando da deficiência de uma atividade protéica particular, ou, excepcionalmente, de atividades não lisossomais. De acordo com o tipo de substrato acumulado, tais doenças são categorizadas como mucopolissacaridoses,

lipídoses, oligossacarídoses e glicogenoses. Nesta última, encontra-se a Doença de Pompe, que é apontada como a mais grave³⁷.

A Doença de Pompe também pode ser considerada uma miopatia metabólica, uma vez que a alteração fisiopatológica subjacente é mais evidente ao nível do músculo esquelético com predomínio de fraqueza muscular proximal progressiva³⁴. Na evolução da doença, é possível observar uma variação do quadro clínico que ocorre desde um quadro rapidamente progressivo e frequentemente fatal quando não diagnosticado e tratado precocemente; a um quadro de progressão mais lenta dos sintomas. Em geral, a evolução é progressiva e debilitante^{34, 38}.

Diante das características do quadro clínico apresentado, principalmente no referente à idade de apresentação dos sintomas, é possível distinguir duas formas clínicas: a forma infantil, que ocorre no primeiro ano de vida com uma evolução rápida marcada pelo comprometimento cardíaco; e a forma de início tardio que acomete doentes numa fase acima do primeiro ano de vida e numa evolução lenta do quadro³⁹.

2.3.1 Considerações sobre a descoberta da Doença de Pompe

Em 1932, a Doença de Pompe foi descrita pela primeira vez pelo patologista holandês Johannes Pompe, diante do caso de um bebê de sete meses de idade cujo óbito deveu-se à hipertrofia idiopática grave do coração de forma abrupta⁴⁰⁻⁴². Demonstrou que não só o coração foi comprometido, como também houve desordem do glicogênio se acumulando em grandes quantidades dentro de vacúolos de todos os tecidos examinados⁴². A partir da descoberta das vias de metabolismo do glicogênio e da definição de lisossomo como organela celular foi definida a base metabólica da Doença de Pompe⁴³. Seguindo as descrições, em 1954, a doença foi classificada como *Doença de armazenamento de glicogênio tipo II*. E em 1963 tornou-se a primeira doença identificada de armazenamento lisossômico⁴⁰.

A partir de 1967 foram testadas as primeiras preparações de enzimas terapêuticas em pacientes com Doença de Pompe. Inicialmente, foi utilizado enzima derivada de placenta humana e *Aspergillus niger*, porém não sendo bem sucedidas. Mais tarde, foi reconhecida a presença de receptores específicos nas células para a captação de enzimas lisossomais exógenas, e estes denominados de receptor manose-6-fosfato (M6P) no caso do músculo e do fígado⁴³.

Na década de 90, duas formas diferentes de α -glucosidade ácida com M6P foram produzidas através de técnicas de DNA recombinante: uma forma obtida de leite de fêmeas de coelho transgênico e outra forma enzimática obtida a partir de cultura de células de ovário de hamster. E em 2006, o uso da TRE com α -glucosidade ácida foi iniciado a partir da aprovação para utilização na Doença de Pompe⁴³.

2.3.2 Epidemiologia

A Doença de Pompe é considerada uma doença rara, cuja incidência total é estimada em aproximadamente 1:40.000 nascimentos vivos^{5, 44}. A apresentação clínica é extremamente variável e de acordo com a classificação é possível observar: a forma infantil da Doença de Pompe (*infantile-onset Pompe disease*) que ocorre no 1º ano de vida com uma frequência estimada em 1:138.000; e a forma tardia (*late-onset Pompe disease*), que se apresenta mais frequente, em torno de 1:57.000, acometendo crianças, jovens e adultos^{36, 42}. Na distribuição populacional a incidência da Doença de Pompe difere entre as populações com variação geográfica e étnica^{36, 44} (Quadro 2).

Quadro 2- Incidência da Doença de Pompe em diferentes populações

POPULAÇÃO	INCIDÊNCIA
Afro-americanos	1:14.000
Holanda	1:40.000 (combinada)
	1:138.000 (infantil)
	1:57.000 (tardia)
EUA	1:40.000 (combinada)
Sul da China / Tailândia	1:50.000
Europeus	1:100.000 (infantil)
	1:60.000 (tardia)
Austrália	1:145.000
Portugal	1:600.000

Fonte: Adaptado de SILVA⁴⁵.

2.3.3 Aspectos genéticos

A Doença de Pompe é uma patologia hereditária com transmissão autossômica recessiva de expressão variável⁵.

O gene *GAA*, composto por 20 éxons distribuídos por 28kb de sequência genômica, está localizado no braço longo (q) do cromossoma 17 entre as posições de 25.2 e 25.3 (17q25.2-q25.3). Ele é responsável por codificar a enzima alfa-glucosidase e esta por catalisar a hidrólise das ligações alfa-1,4 e 1,6 do glicogênio. Logo, o comprometimento genético causado por

mutação no gene *GAA* resulta em deficiência funcional da hidrolase lisossomal alfa-glucosidase ácida (*GAA*, maltase ácida) e consequente acúmulo de glicogênio em muitos órgãos e tecidos, sendo músculo estriado e coração os mais acometidos. É o único gene em que as mutações são conhecidas por causar GSDII. Dessa forma, a genotipagem pode auxiliar no diagnóstico a partir da análise de mutações identificadas nesse gene^{36, 46}.

Em 1990, as mutações desse gene foram relatadas pela primeira vez. Atualmente, mais de 300 diferentes mutações e variações na sequência do gene foram identificadas, o que leva a heterogeneidade clínica da doença^{47, 48}. Diferentes tipos de mutações têm sido descritos e entre elas estão os tipos *missense*, *nonsense*, pequenas ou grandes inserções/ deleções e local de mutações de *splicing*⁴⁶. De acordo com registros em banco de dados do Pompe Center, a mutação c.-32-13T> G é apontada como a variação de sequência patogênica mais comum na Doença de Pompe⁴⁵.

As mutações resultam em diminuição na atividade enzimática da *GAA* abaixo de um limiar crítico para a ação de maneira adequada, o que provoca acúmulo de glicogênio nos lisossomos e por consequente levando às manifestações clínicas da doença⁴⁶. As formas mais suaves da doença podem estar relacionadas com mutações menos graves e deficiência parcial de alfa-glucosidase⁴⁵. Isso pode ser relacionado com a evolução dos quadros onde a forma infantil pode expressar atividade da enzima praticamente ausente e a forma tardia até 30% da atividade residual⁴⁹. Assim, a Doença de Pompe certamente apresenta relação fenótipo-genótipo e a natureza das mutações do gene da alfa-glucosidase ácida é, em grande parte, decisiva para o grau de deficiência da enzima e a severidade do comprometimento clínico da doença⁵⁰. Porém, considera-se que nos casos de deficiência enzimática parcial é difícil prever o fenótipo da doença correlacionando exclusivamente com as mutações genéticas⁵¹.

2.3.4 Complexo enzimático da alfa-1,4-glucosidase ácida

A enzima lisossômica alfa-1,4-glucosidase ácida (maltase ácida, alfa glucosidase ácida - *GAA*) está relacionada com a degradação de polímeros de glicogênio dentro dos vacúolos celulares à medida que catalisa a hidrólise das ligações alfa-1,4 e alfa-1,6 do glicogênio em pH ácido^{14, 35, 51}. Diante do seu comprometimento, a ponto de alterar a atividade desta enzima, haverá o acúmulo de glicogênio lisossomal nos diferentes tecidos, resultando em diferentes fenótipos clínicos²⁻⁴. Em valores normais a atividade dessa enzima está na faixa entre 45-160 nmol/mg/h⁵².

A enzima *GAA* é uma proteína de 952 aminoácidos e massa molecular estimada de 110 kDa codificada pelo gene *GAA*. Essa proteína é sintetizada como uma forma de polipeptídeo

precursor que é glicosilada e fosforilada no retículo endoplasmático e aparelho de Golgi; e, posteriormente, será transportada para os lisossomos por receptores de manose-6-fosfato. No lisossomo, sob ação proteolítica, a enzima ainda é modificada resultando em isoformas maduras de 76 e 70 kDa. A enzima ativa hidrolisa as ligações glicosídicas α -1,4 e α -1,6 de glicogênio e libera as unidades de glicose que serão carreadas pelo organismo^{46, 53}.

Acredita-se que, em geral, o amplo espectro de gravidade e progressão da Doença de Pompe está inversamente relacionado com o nível de atividade residual da enzima GAA^{51, 54}. Na forma infantil, a atividade da GAA encontra-se drasticamente abaixo dos limites de detecção (<1%), ou mesmo ausente, levando ao acúmulo rápido de glicogênio no organismo e resultando em doença rapidamente progressiva até mesmo fatal; enquanto que naqueles pacientes com a forma tardia, cuja deficiência da enzima é pouco detectável e habitualmente abaixo de 30%, a progressão da doença é mais lenta^{36, 55}.

2.3.5 Fisiopatologia da Doença de Pompe

Na Doença de Pompe, a enzima comprometida que provoca o quadro da doença é a enzima lisossomal alfa-glucosidase ácida. Ela é responsável pela degradação do glicogênio dentro do ambiente ácido do lisossomo^{28, 56}.

Os lisossomos são pequenas estruturas de diâmetro variável que funcionam como centros de reciclagem no interior das células eucarióticas. Logo, eles utilizam enzimas digestivas para quebrar moléculas complexas em moléculas simples, que podem ser posteriormente transportadas de novo para o citoplasma a fim de serem reutilizadas pelas células⁴⁵.

A autofagia corresponde ao principal mecanismo dinâmico responsável pelo transporte das macromoléculas para os lisossomos, onde serão degradadas e recicladas⁵⁶⁻⁵⁸. Este processo se inicia quando a autofagia envolve o rearranjo de membranas celulares formando vesículas autofágicas (autofagossomas) capazes de sequestrar os componentes endógenos não funcionais ou danificados, bem como substâncias exógenas e microorganismos que conseguem penetrar a membrana celular. Na sequência, para a autofagia realizar uma função biológica, as vesículas autofágicas precisam fundir com os lisossomos para formar o autofagolisossomo incorporando seu conteúdo e membrana aos lisossomos⁵⁹. No interior dos lisossomos existe uma série de enzimas e cada uma é responsável pela degradação de uma determinada ligação molecular com formação de moléculas simples a serem transportadas (passiva ou ativamente) de volta para o citoplasma⁴⁵.

No caso da Doença de Pompe, as mutações no gene *GAA* podem alterar a sequência de aminoácidos que compõem a enzima alfa-glucosidase ácida acarretando no comprometimento

da atividade enzimática. Tal enzima, que é responsável por degradar o glicogênio nos lisossomos, quando se encontra ausente ou deficiente provoca o acúmulo anormal de glicogênio no interior dos lisossomos. Estes, por sua vez, sofrem aumento de tamanho e culminam com disfunção e desintegração seguida de derrame de glicogênio para o citoplasma da fibra muscular. O acúmulo de glicogênio é capaz de provocar alterações estruturais e funcionais progressivas das células afetadas diante dos níveis tóxicos nos lisossomos, o que leva à doença multissistêmica ou até mesmo à morte precoce^{46, 60}.

Evidências recentes apontam que a autofagia encontra-se ativa de forma muito proeminente nos doentes de Pompe constituindo um componente patológico importante na evolução da doença. Porém, o mecanismo de indução da autofagia nas fibras musculares não está totalmente esclarecido^{45, 58}. O processo autofágico parece ser responsável por maior grau de lesão das fibras musculares esqueléticas do que os lisossomos aumentados de tamanho em regiões que não apresentam processo autofágico tão proeminente^{45, 61}. Alguns autores indicam, claramente, que o acúmulo de glicogênio no músculo esquelético não se limita aos lisossomos, mas também é encontrado em vacúolos autofágicos com produtos de degradação citoplasmática⁶².

2.3.6 Quadro clínico

A Doença de Pompe apresenta um amplo espectro clínico à medida que células e tecidos são comprometidos. A sintomatologia torna-se mais complexa de acordo com o acometimento de diferentes órgãos em graus variados, a exemplo da ausência ou presença de comprometimento cardíaco^{6, 63}. Esse acometimento ocorre principalmente nas células das musculaturas lisa, esquelética e cardíaca levando comumente a manifestações clínicas em quatro sistemas: respiratório, musculoesquelético, cardíaco e gastrointestinal^{2, 3, 5}.

A classificação da Doença de Pompe também é variável, mas sendo possível distinguir e classificar de acordo com a faixa etária do aparecimento, o envolvimento dos órgãos e a severidade dos sintomas e dos prognósticos, incluindo variados graus de miopatia⁶⁴⁻⁶⁶. Conforme descrito anteriormente, amplamente há uma classificação utilizada em duas categorias: uma forma infantil (*infantile-onset Pompe disease*) e outra forma tardia (*late-onset Pompe disease*)⁶. Entretanto, alguns autores utilizam também como terminologia para a forma não infantil da doença a categorização de uma forma juvenil (início abaixo dos 16 anos) e uma forma do adulto; ao invés de reagruparem esses dois fenótipos dentro de uma única categoria da doença denominada de início tardio^{34, 67}.

O músculo é o principal elemento comprometido nessa patologia causando o quadro de fraqueza muscular (miopatia)⁷. As miopatias são doenças estruturais e/ou funcionais do músculo que podem ocorrer por diversas etiologias. Como forma de guiar a identificação da doença, é preciso determinar se a miopatia é hereditária ou adquirida. No caso da miopatia na Doença de Pompe, ela pode ser apontada entre as miopatias metabólicas primárias e hereditárias, que são doenças raras causadas por defeito bioquímico dos sistemas energéticos musculares envolvendo o metabolismo de carboidratos (glicogenoses)⁸.

2.3.6.1 Manifestações clínicas da forma infantil da Doença de Pompe

A forma infantil da Doença de Pompe é considerada a forma mais grave e o seu comprometimento apresenta-se, frequentemente, logo ao nascimento ou durante os primeiros meses de vida. Ela inclui como variantes a forma infantil clássica e a forma não clássica³.

A forma infantil clássica da Doença de Pompe pode ocorrer em crianças logo após o nascimento ou nos primeiros meses de vida. Estes doentes apresentam normalmente como características: cardiomiopatia grave (hipertrófica ou dilatada), hipotonia generalizada, atraso motor, déficit de crescimento, problemas de alimentação e insuficiência cardiorespiratória⁶⁸⁻⁷⁰. E num processo de evolução rápida e progressiva, os pacientes podem evoluir a óbito no primeiro ano de vida quando não iniciado tratamento^{51, 71}.

A forma infantil não clássica também apresenta sintomas ainda no primeiro ano de vida, porém a diferença com relação à forma clássica está na progressão da doença, onde aquela apresenta evolução mais lenta e menos severa, com comprometimento cardíaco menos grave^{39, 51}.

Observando a evolução natural da forma infantil, os estudos apontam que os sintomas se iniciam, em média, por volta de 1,6 meses; o diagnóstico ocorre por volta de 5,3 meses e a evolução para óbito ocorre nos primeiros 8 meses de vida quando não instituído tratamento^{5, 72}.

Os movimentos espontâneos declinam à medida que há deterioração muscular; e isso costuma estar relacionado aos níveis de atividade residual da GAA, uma vez que os bebês com atividade enzimática indetectável (<1%) apresentam maior gravidade do quadro com evolução rápida e fatal⁶. Tal deficiência grave da enzima, normalmente, gera o quadro clínico e, por conseguinte a morte precoce^{71, 73}. O óbito tende a ocorrer devido ao enfraquecimento do diafragma e dos outros músculos respiratórios, associado ao acúmulo de secreções e a cardiopatia, levando ao quadro de falência cardiorrespiratória até o primeiro ano de vida ou mesmo a morte numa idade média de 6 a 8 meses⁷⁴.

Esses pacientes também podem apresentar outros sinais e sintomas: macroglossia, arreflexia, hepatomegalia, déficit de sucção e deglutição, déficit pondero-estatural, insuficiência respiratória progressiva e retardo no desenvolvimento motor^{36, 42, 75}.

No diagnóstico da forma infantil da Doença de Pompe é preciso pensar em outras patologias como diagnóstico diferencial: Distrofia muscular congênita; Doença de Danon; Glicogenoses tipos III e IV (Doença de Cori e Doença de Andersen); Hipotireoidismo; Atrofia muscular espinhal tipo I; Doenças mitocondriais; Deficiência de carnitina; Cardiomiopatia hipertrófica idiopática, Fibroelastose endocárdica e Miocardite^{3, 45}.

É necessário ressaltar que diante de um bebê hipotônico (flácido) deve ser investigada a coexistência de cardiomegalia hipertrófica e hepatomegalia, uma vez que correspondem a um forte indicativo da forma infantil da Doença de Pompe^{36, 75}. Diante do atraso no desenvolvimento neuropsicomotor, o bebê que não consegue sentar ou ficar em pé e andar, pode sinalizar a perda de força muscular⁷⁴.

2.3.6.2 Manifestações clínicas da forma tardia da Doença de Pompe

A forma tardia da doença pode se manifestar a qualquer momento desde a infância até a idade adulta por volta da sexta ou sétima década de vida; o que compreende pacientes entre a infância, os jovens e os adultos⁷⁶⁻⁷⁸.

A heterogeneidade dos sintomas é observada à medida que alguns pacientes apresentam uma baixa taxa de evolução da Doença de Pompe, enquanto outros evoluem para um estágio grave com rápida deterioração da força muscular e insuficiência respiratória^{34, 49, 73}. Essa forma afeta predominantemente a musculatura esquelética como uma miopatia proximal lentamente progressiva e está associada com morbidade significativa, ou até mesmo mortalidade, com ou sem insuficiência respiratória^{68, 70, 79}.

Dentre os sintomas mais proeminentes em adultos com a doença está a fraqueza muscular progressiva. A apresentação mais comum é a fraqueza proximal de membros inferiores e musculatura de tronco, o que resulta em prejuízo da função motora e dificuldade na realização de atividades diárias como caminhar ou subir escadas; assim como a fraqueza muscular respiratória. Com o decorrer do tempo, entre os pacientes de início tardio não tratado, a tendência é evoluir para necessidade de uso de cadeira de rodas pela incapacidade de deambulação e utilização de assistência ventilatória devido dificuldades respiratórias; o que ocorre numa porcentagem significativa da população. Aqui, a fraqueza dos músculos respiratórios pode ser apontada como sintoma mais debilitante e letal^{2, 61, 80}. Além disso, a fadiga

também é um problema comum e incapacitante muitas vezes referido pelos pacientes nos diferentes estágios da Doença de Pompe⁶³.

A partir dos estudos, a ocorrência de outros sintomas na apresentação clínica também é relatada, a exemplo de: dificuldades mastigatórias, dificuldades de deglutição, perda de peso, refluxo gastroesofágico, ptose e escoliose^{10, 81, 82}. O envolvimento cardíaco pode estar presente nessa forma tardia, embora não na medida em que é observado na maioria dos pacientes com a forma infantil⁷⁹. A ruptura de aneurismas das artérias cerebrais decorrente do acúmulo de glicogênio nas células da musculatura lisa da parede dos vasos também foi relatada^{79, 83}.

A diferença da forma tardia para a forma infantil está relacionada com o fato de aquela ter o envolvimento cardíaco de maneira esporádica e apresentar uma evolução mais lenta e variável no que diz respeito à apresentação clínica e progressão da doença^{71, 76, 77}.

A evolução lenta do quadro clínico nos pacientes com diagnóstico de forma tardia pode ser justificada pela quantidade de atividade residual de GAA que se encontra de baixa a moderada (1-30%)⁶. Em geral, estudos realizados consideraram que a taxa de progressão da doença está inversamente proporcional à idade do seu início⁴, enquanto outros apontam que a gravidade da doença está mais relacionada com a duração do início dos sintomas, e não com a idade de seu início⁸⁴. Diante da evolução do quadro e dos sintomas apresentados na forma tardia da DP, existem alguns diagnósticos que devem ser considerados como diferenciais: Distrofia muscular de Duchene; Distrofia muscular de Becker; Doença de Danon; Doenças de depósito de glicogênio III, IV, V, VI, VII; Miopatia mitocondrial; Distrofia muscular cintura-membros; Distrofia miotônica tipo II; Polimiosite; Miastenia gravis; Atrofia muscular espinhal; Síndrome de espinha rígida; Síndrome escápulo-peroneal e Artrite reumatóide^{5, 45}.

2.3.7 Diagnóstico da GSDII

2.3.7.1 Diagnóstico clínico

A suspeita clínica da Doença de Pompe é considerada difícil devido à inespecificidade da apresentação clínica, com sinais e sintomas variando de sutis a atenuados; e à raridade da doença⁵.

A hipótese diagnóstica deve ser considerada, principalmente, em lactentes com miocardiopatia, além das miopatias progressivas, especialmente as de cinturas e dos músculos respiratórios em qualquer idade⁶⁴.

Nesse momento de investigação diagnóstica, a anamnese seguida de exame físico se torna de grande importância. No exame físico deve ser dada ênfase ao comprometimento

muscular determinando a distribuição e as características da fraqueza de forma comparativa e simétrica. Torna-se fundamental a determinação do início, da duração e da evolução dos sintomas; assim como, a investigação de casos na família. Também deve ser questionado sobre sintomas em outros órgãos e sistemas que podem estar comprometidos na doença, a exemplo do cardiorrespiratório⁴⁰.

Considerando que a miopatia proximal é a apresentação clínica mais comum na Doença de Pompe de início tardio, na maioria das vezes a investigação dos doentes é realizada com avaliação muscular com eletromiografia (EMG), estudos de condução nervosa e eventualmente biópsia muscular⁴⁵.

No contexto de investigação diagnóstica, a biópsia muscular permite a análise histopatológica do tecido muscular esquelético e a determinação da atividade enzimática da alfa-glucosidase. Entretanto, na análise histopatológica é preciso ressaltar que o mesmo indivíduo pode apresentar níveis diferentes de comprometimento com relação à presença de acúmulo de glicogênio e miopatia vacuolar, ou até mesmo análise normal apesar de estar acometido. Logo, a seleção do músculo e o local a ser biopsiado podem afetar o resultado. Sendo assim, uma biópsia normal jamais exclui o diagnóstico de Doença de Pompe^{5, 45}.

A insuficiência respiratória também pode estar presente em alguns casos logo no início da apresentação e os testes de função pulmonar podem ser úteis numa suspeita de Doença de Pompe. Diante disso, a determinação da capacidade vital forçada (CVF) deve ser realizada sempre que possível^{40, 45}.

Como investigação complementar é possível lançar mão de: pesquisa de linfócitos vacuolados no sangue periférico; dosagem de creatinoquinase (CK), que se apresenta elevada principalmente na forma infantil; avaliação das enzimas hepáticas (transaminase glutâmica oxalacética – TGO e transaminase glutâmica pirúvica – TGP), que podem se encontrar elevadas principalmente na forma adulta; avaliação de cromatografia de oligossacarídeos na urina como hexassacarídeos (Hex₄), sendo que o principal Hex₄ excretado é o tetrassacarídeo (Glc₄); e exame de eletroneuromiografia, onde os achados miopáticos estão presentes em todas as formas, mas podendo ser normal na forma adulta. Além desses, os exames cardíacos como eletrocardiograma (ECG) e ecocardiograma (ECO) são importantes diante da possibilidade de cardiomiopatia hipertrófica. A radiografia de tórax (com cardiomiopatia importante na forma infantil) também pode sinalizar características da doença⁴⁵.

Deve ser recomendada sempre a realização de um segundo teste confirmatório na Doença de Pompe baseado na análise enzimática ou genética a fim de evitar o erro diagnóstico. Afinal, o erro diagnóstico acarretaria em sérias consequências frente às implicações para a

família e, principalmente, para o indivíduo acometido. Logo, o diagnóstico da Doença de Pompe não pode ser realizado apenas baseado em exames laboratoriais, marcadores biológicos ou biópsia muscular. Os exames específicos devem ser sempre considerados no processo de investigação diagnóstica: teste de determinação do grau de atividade da enzima alfa-glucosidase ácida e/ou demonstração de mutações no gene dessa enzima^{40, 50}. Segue conforme o Quadro 3.

Quadro 3- Testes complementares para diagnóstico da Doença de Pompe

PARÂMETROS LABORATORIAIS NÃO ESPECÍFICOS
CK (plasma)
TGO (plasma)
TGP (plasma)
LDH (plasma)
HEX ₄ (urina)
Glc ₄ (urina)
TESTES CONFIRMATÓRIOS
Determinação do grau de atividade da α -glucosidase ácida em cultura de fibroblastos cutâneos
Deteção de mutações patogênicas nos alelos do gene da α -glucosidase ácida

Fonte: Adaptado de SILVA⁴⁵.

O tempo necessário para estabelecimento do diagnóstico é de suma importância na Doença de Pompe. Quanto mais rápido for estabelecido o diagnóstico definitivo e iniciado o tratamento com TRE, melhores serão os resultados obtidos na evolução da doença⁴⁵.

2.3.7.2 Diagnóstico enzimático

O diagnóstico definitivo da Doença de Pompe ocorre a partir da demonstração da redução ou ausência da atividade enzimática da maltase ácida nos leucócitos em vários tecidos. Caracteristicamente, no caso dos indivíduos com a forma infantil da doença, a atividade da enzima encontra-se <1%; ao passo que nos indivíduos com a forma tardia da Doença de Pompe, a atividade enzimática está reduzida, mas mesmo assim superior à da forma infantil e com valor entre 1-30%^{5, 6, 88}.

Atualmente, o teste de escolha para confirmação de uma suspeita de Doença de Pompe é a determinação da atividade da enzima específica em amostras de sangue. Porém, diante da necessidade de um segundo teste laboratorial para confirmação diagnóstica, pode ser utilizado: dosagem da atividade da alfa-glucosidase ácida em cultura de fibroblastos da pele, que está diminuída nestes casos, mas também pode estar diminuída mesmo em pessoas normais; ou através da biópsia muscular e hepática que evidencia o acúmulo de gliocogênio nas fibras musculares; ou análise mutacional do DNA^{85, 86, 87}. Nesse contexto, a dosagem da atividade enzimática no sangue através de gotas secas em papel de filtro (dried blood spot - DSB) tem sido adotada pela rapidez e conveniência do teste minimamente invasivo⁸⁸.

2.3.7.3 Diagnóstico molecular

O diagnóstico molecular pode ser complementar ao diagnóstico enzimático a partir da análise da mutação no gene da alfa-glucosidase ácida envolvido^{45, 60}. Ressaltando que a grande variedade de mutações existentes dificulta tal análise, mesmo frente ao reconhecimento das mutações mais comuns^{47, 48}.

A análise de atividade enzimática permanece o teste de diagnóstico de escolha para os indivíduos com a Doença de Pompe, mas o teste de identificação mutacional também tem usos importantes. Ele, particularmente, é útil para a identificação de indivíduos portadores de uma determinada mutação de caráter hereditário conhecido. Além disso, também é importante entre os indivíduos com a Doença de Pompe de início tardio devido à potencial possibilidade de existir uma sobreposição entre a existência de atividade residual da enzima GAA e o doente ser heterozigoto. Sendo assim, a análise molecular do gene *GAA* pode ser necessária para confirmar o diagnóstico no caso do indivíduo ainda ser assintomático⁵.

No processo de avaliação do estado imunológico (*CRIM status*) do doente, é possível detectar a quantificação da proteína nativa (α -glucosidase ácida) através de um método baseado em anticorpos (Western Blot) a partir de uma cultura de fibroblastos. Esta quantificação da proteína é importante para determinar se o doente de Pompe apresenta material imunológico com reatividade cruzada (CRIM), uma vez que o estado de CRIM pode afetar a resposta terapêutica à reposição enzimática. Esse teste é apontado como específico, sensível, e de grande importância para o prognóstico e para a resposta terapêutica à TRE⁴⁵. A presença de anticorpos inibitórios tem sido previamente observada, embora de maneira incomum em pacientes usando TRE para tratar outras DDL como Gaucher e Fabry⁸⁹.

A formação de anticorpos é altamente dependente do estado de CRIM do paciente, e este, por sua vez, depende da mutação do gene codificador da α -glucosidase ácida específica.

Pacientes que apresentam duas mutações deletérias e completa ausência de GAA, conforme avaliado por Western Blot, são considerados como material imunológico com reação cruzada negativo (CRIM-negativo). No caso dos pacientes que apresentam níveis detectáveis de proteína GAA através do Western Blot, eles são considerados CRIM-positivo⁹⁰⁻⁹².

De acordo com a determinação do estado de CRIM do paciente, é observado que a maioria dos pacientes com CRIM-positivo tem sustentado resposta terapêutica à TRE, ao passo que os pacientes CRIM-negativo, quase que uniformemente, apresentam um rápido declínio da clínica ao aumentar os títulos de anticorpos IgG contra a enzima recombinante. Portanto, o CRIM pode servir como um modelo para avaliar o impacto de terapias destinadas à tolerância imunológica^{91, 92}.

2.3.8 Tratamento

2.3.8.1 Geral

Na Doença de Pompe é imperativo determinar o diagnóstico de forma precoce a fim de adequar o manejo da doença e, conseqüentemente, os resultados. Historicamente, durante décadas, a base do tratamento para todas as formas da DP estava voltada para medidas de suporte, ou seja, tentava-se minimizar o efeito das manifestações da doença de forma paliativa, assim como prevenir ou tratar as complicações^{9, 10, 55}.

Com o passar do tempo, outras abordagens terapêuticas vem sendo propostas e, atualmente, frente à aprovação da Terapia de Reposição Enzimática ainda se faz necessário reconhecer a importância dos tratamentos de suporte anteriormente utilizados. Eles se demonstraram eficazes na melhoria da capacidade funcional e da qualidade de vida, mesmo diante de limitações. Isso inclui prática de atividade física e/ou fisioterapia; dieta adequada; instituição de farmacoterapia adequada; ou mesmo suporte respiratório e dispositivo para deambular em casos mais evoluídos^{14, 45}.

A prática de exercício ajuda a prevenir a atrofia muscular. Em particular, o exercício físico aeróbico contribui para redução da glicogenólise muscular, possibilitando um aumento da utilização de ácidos graxos como principal fonte de energia. Um regime dietético adequado também é sugerido utilizando as baixas doses de hidratos de carbono e as elevadas doses de proteínas, associadas à suplementação com L-alanina. Nesse caso, a reduzida ingestão de hidratos de carbonos contribui para menor acúmulo intra e extra-lisossomal de glicogênio, enquanto que a elevada quantidade de proteína e L-alanina leva ao aumento da síntese protéica e redução do catabolismo protéico, uma vez que os aminoácidos ramificados são usados como substrato energético alternativo^{43, 45, 46}. Dessa forma, a combinação de exercício físico regular e

regimes dietéticos especiais devem ser sempre considerados em associação com a TRE por demonstrarem melhoria na qualidade de vida e na função motora dos pacientes com DP, e podendo atrasar a progressão da doença^{42, 43, 45}.

Diante do importante comprometimento respiratório que ocorre entre os pacientes de Pompe, podendo ocasionar até mesmo a morte, o treinamento da força muscular respiratória (TFMR) também é uma intervenção utilizada e com base em exercícios que tem como alvo a fraqueza muscular respiratória. Resultados de estudos apontam que é possível aumentar a força muscular respiratória mesmo em pacientes com comprometimento importante na linha de base (período considerado imediatamente anterior ao início da TRE) nos pacientes com Doença de Pompe de início tardio⁹³.

2.3.8.2 *Terapia de Reposição Enzimática (TRE)*

Atualmente, o tratamento da Doença de Pompe é feito através da Terapia de Reposição Enzimática (TRE), que tem como objetivo a reposição da enzima alfa-glucosidase que se encontra ausente ou deficiente nesses pacientes. Em abril de 2006 ocorreu a aprovação de comercialização da TRE pela *European Medicines Agency (EMA)* e pela *Food and Drug Administration (FDA)* baseada em estudos realizados previamente^{13, 61, 88}. E a TRE tornou-se o primeiro tratamento doença-específico para um transtorno muscular hereditário, que no caso da Doença de Pompe consiste na administração intravenosa de enzima exógena alfa-glucosidase ácida recombinante humana (rhGAA)^{11, 40}.

A utilização da Terapia de Reposição Enzimática começou em 1973 quando a enzima alfa-glucosidase ácida placentária altamente purificada foi administrada por infusão intravenosa considerando a capacidade dos lisossomos de internalizar proteínas exógenas por endocitose. Nesse período, as tentativas iniciais encontraram problemas de imunogenicidade, além da disponibilidade da enzima purificada ser limitada. Em 1979, o gene para GAA foi identificado no cromossomo 17. Posteriormente, na década de 90, novas técnicas de DNA recombinante tornaram-se disponíveis permitindo a produção de alfa-glucosidase ácida recombinante humana e, por conseguinte, a realização de ensaios clínicos⁴⁰. Duas formas diferentes de alfa-glucosidase ácida contendo receptor MP6 foram desenvolvidas: uma obtida a partir de leite de fêmeas de coelho transgênico, e outra derivada de cultura de células ováricas de hamsters de laboratório; ambas demonstrando características farmacodinâmicas e resultados clínicos muito semelhantes⁴⁵.

Inicialmente, em 1999, a forma enzimática obtida a partir de leite de fêmeas de coelho transgênico tornou-se disponível para TRE e os ensaios clínicos iniciais estavam voltados para

avaliação e acompanhamento principalmente de recém-nascidos com a forma infantil da doença^{49, 95}. O primeiro ensaio clínico em pacientes infantis apontou redução da hipertrofia cardíaca associada a melhorias na função cardíaca e pulmonar, na força muscular, assim como na motilidade⁷⁴. Esses resultados também foram encontrados em estudos com rhGAA derivada de células de ovário de hamster chinês⁹⁵. Lembrando que em 2000 a TRE com alfa-glucosidase ácida recombinante para uso humano a partir de leite de fêmeas de coelho foi descontinuada, mantendo-se a investigação e produção desta enzima através da cultura das células ováricas dos hamsters⁴⁵. Diante de resultados bem sucedidos nos diferentes estudos realizados, a TRE com alfa-glucosidase foi aprovada para o tratamento da Doença de Pompe⁴⁷.

A TRE é o único tratamento específico aprovado para a DP que atua na fisiopatologia através da reposição da enzima deficiente no organismo. Esse tratamento é capaz de modificar o curso natural da doença, alterando a evolução e melhorando as manifestações clínicas^{96, 97}.

A resposta terapêutica à alfa-*glucosidase* ácida é esperada quando há a administração de uma quantidade de enzima capaz de ultrapassar o valor do limiar no sangue. A dose terapêutica recomendada é de 20mg/kg de peso por via intravenosa através de uma bomba de infusão em regime de administração quinzenal para ambas as formas da doença. Ao contrário do esperado, não é necessário fazer uma reposição completa da deficiência enzimática, pois a atividade igual ou superior a 30% do normal já é apontada como suficiente para prevenir e possivelmente regredir as manifestações clínicas da Doença de Pompe^{10, 90}.

A absorção receptor-mediada da enzima lisossomal exógena é a base fundamental da Terapia de Reposição Enzimática para Doença de Pompe, assim como para muitas outras doenças de depósito lisossômico. Nesse caso da DP, a rhGAA é uma proteína precursora grande contendo receptores de manose-6-fosfato, e este possibilita a enzima se ligar a receptores na superfície da célula. Dentro da célula, se comporta como um precursor endógeno capaz de desencadear as demais funções esperadas^{98, 99}.

Estudos consideram que a Doença de Pompe não ocorre simplesmente pelo armazenamento de glicogênio no interior dos lisossomos, mas sim como consequência de perturbação de diferentes mecanismos de sinalização celular complexos¹⁰⁰.

Os efeitos favoráveis da TRE têm sido relatados nas diferentes formas da Doença de Pompe. Os melhores resultados terapêuticos são encontrados quando o tratamento é instituído aos primeiros sintomas atribuíveis à doença, preferencialmente quando existe uma arquitetura preservada das fibras musculares, ou seja, antes do dano muscular irreversível devido ao acúmulo de glicogênio⁶⁹. Frente a isso, o consenso de tratamento para Doença de Pompe considera que pacientes assintomáticos com sinais objetivos sutis da doença e pacientes

sintomáticos no momento do diagnóstico devem iniciar o tratamento com a Terapia de Reposição Enzimática (TRE) o quanto antes⁴⁰.

Em geral, a TRE é bem tolerada entre os doentes e podendo ser considerada uma terapêutica segura. A maioria das reações adversas à TRE é caracterizada como leve ou moderada, estando relacionada com o processo de infusão da enzima alfa-glucosidase por ocorrerem durante ou até 6h após a infusão. Entre as reações adversas apresentadas pelos doentes estão: eritema, taquicardia, crise hipertensiva, queda de saturação de oxigênio, exantema, prurido^{45, 101, 102}. Esses comprometimentos, normalmente, respondem à redução da taxa de infusão ou até mesmo à suspensão, mas com posterior reinício da infusão assim que os sintomas desaparecem. A administração de fármacos anti-histamínicos e/ou corticoesteróides pode ser utilizada para tratar ou prevenir tais reações^{43, 90, 98}.

2.3.8.3 Gênico

Acredita-se que quanto maior o conhecimento dos mecanismos genéticos e metabólicos envolvidos nessa patologia, melhor a compreensão da etiopatogenia e conseqüentemente melhor a orientação terapêutica específica futura^{45, 48}.

A abordagem da terapia gênica para Doença de Pompe foi utilizada pela primeira vez em estudos *in vitro* com dois vetores (adenovírus - Ad e vírus adeno-associado - VAA), ambos expressando a GAA humana e que possuem vantagens e desvantagens na utilização^{46, 56}.

Os vetores baseados em adenovírus são um dos sistemas de transferência de gene melhor caracterizado, e sendo amplamente utilizados em estudos de biologia básica. O que chama atenção da terapia baseada em VAA é a natureza não patogênica desse vírus, assim como a habilidade dele para infectar ambas as células em processo de divisão ou não. Além disso, o elevado grau de tropismo para músculo esquelético e a resposta imune pequena fazem do VAA um elemento adequado para terapia de distúrbios musculares. Aqui, o transgene é associado ao genoma do hospedeiro proporcionando uma expressão estável dos genes terapêuticos⁵⁶.

O papel imunomodulador da terapia gênica pode ser extremamente importante para o tratamento em pacientes com Doença de Pompe, principalmente naqueles considerados CRIM-negativos. Afinal, o tratamento com VAA foi utilizado em conjunto com a TRE para induzir tolerância para a rhGAA⁵⁶.

Outra abordagem considerada no que diz respeito à Doença de Pompe é a regulação positiva do gene do receptor de manose-6-fosfato (M6P) na tentativa de aumentar o número de receptores sobre as superfícies das células e conseqüente aumento da absorção de determinada enzima⁹².

2.3.9 Monitoramento recomendado

A partir da introdução da alfa-glucosidase, a perspectiva sobre a Doença de Pompe vem sofrendo alterações de forma progressiva. E diante do comprometimento sistêmico que ocorre nessa patologia, uma equipe multidisciplinar deve estar envolvida na avaliação clínica e no acompanhamento do doente a fim de melhorar a expectativa de vida e, acima de tudo, a qualidade de vida^{13, 98}. Entre os componentes da equipe é importante a presença de geneticista, cardiologista, neurologista, fonoaudiólogo, terapeuta ocupacional, pneumologista, ortopedista e fisioterapeuta, entre outros, de acordo com a evolução do quadro e a disponibilidade nos serviços de assistência^{13, 38, 40}.

Após a confirmação do diagnóstico da DP, antes mesmo de iniciar a TRE, deve ser realizada uma série de avaliações complementares para determinar o grau de comprometimento da doença. Estas avaliações servirão para posterior análise da eficácia da TRE mediante comparação do estado evolutivo da doença a partir do seu uso.

A velocidade e o grau de progressão da doença são extremamente variáveis entre os pacientes acometidos pela DP. E essas diferenças exigem que o conjunto de exames e avaliações seja adaptado de acordo com a sintomatologia apresentada por cada um dos acometidos. Sendo assim, com base nos exames de monitoramento que o doente é capaz de realizar no momento de avaliação inicial, deve ser elaborado um protocolo de acompanhamento personalizado^{5, 41, 90}.

Em geral, durante todo o tratamento, o doente deverá ser reavaliado anualmente para observar se há benefício na manutenção da TRE. As avaliações funcionais e motoras devem ser repetidas a cada 3 meses para crianças menores de 5 anos e anualmente para crianças mais velhas e adultos, ou sempre que apresentar alteração negativa da função. Também deve ser considerado o teste para detecção de anticorpos IgG a cada três meses nos pacientes submetidos a TRE nos primeiros 2 anos, uma vez que o desenvolvimento de anticorpos contra a GAA acaba condicionando de forma negativa a resposta terapêutica à TRE⁴⁵.

A realização de novas avaliações padronizadas ainda é necessária para uma melhor compreensão dos padrões de resposta ao tratamento com Terapia de Reposição Enzimática (atual tratamento específico instituído), em crianças e adultos com Doença de Pompe⁹⁸. Afinal, o entendimento do curso natural da doença, torna-se cada vez mais importante para determinar o diagnóstico precoce e a indicação do tratamento⁶⁹.

A TRE tem sido considerada de grande importância no tratamento da DP diante dos resultados obtidos e apontados como benefícios em alguns estudos: melhora na função da musculatura comprometida, aumento da sobrevida e redução da mortalidade^{38, 41}.

Ressaltando que a DP apresenta caráter hereditário autossômico recessivo e a possibilidade de mutações *de novo* é muito baixa, os progenitores de um doente de Pompe são portadores. Logo, deve ser disponibilizado aconselhamento genético a todos os casais com filhos diagnosticados com essa doença e aos próprios doentes^{5, 45}.

Diante desse contexto, objetiva-se buscar dados relativos aos efeitos da Terapia de Reposição Enzimática no doente de Pompe a partir da análise de variáveis utilizadas como avaliação no decorrer do uso dessa terapia.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a eficácia do tratamento com Terapia de Reposição Enzimática (TRE) a partir da análise de variáveis de interesse estudadas em pacientes com diagnóstico da Doença de Pompe no decorrer do uso dessa terapia.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ✓ Analisar as mudanças ocorridas em determinadas medidas de avaliação realizadas através de testes específicos nos pacientes com Doença de Pompe que foram submetidos à Terapia de Reposição Enzimática.

- ✓ Analisar os critérios que são apontados na avaliação da eficácia do tratamento instituído.

4 MÉTODOS

4.1 TIPO DE ESTUDO

Revisão sistemática com metanálises de estudos observacionais prospectivos.

4.2 TIPO DE EXPOSIÇÃO AVALIADA

Foi avaliada a eficácia da Terapia de Reposição Enzimática com alfa-glucosidase ácida através da análise de medidas obtidas em variáveis específicas ao longo da utilização dessa terapia em pacientes diagnosticados com Doença de Pompe; e considerando o início da utilização a partir da aprovação em 2006. Secundariamente, foram apresentadas algumas características da população estudada no referente à idade de início da doença, à gravidade dos sintomas, à idade do diagnóstico e ao início da TRE.

4.3 AMOSTRA

Com o propósito de selecionar apenas estudos considerados relevantes para a revisão sistemática e, conseqüentemente, para as metanálises; e na tentativa de garantir a homogeneidade na combinação dos efeitos das variáveis estudadas, assim como a validade do método, foram definidos critérios para a inclusão e exclusão dos estudos.

4.3.1 Tipos de estudos selecionados

Foram selecionados os estudos observacionais prospectivos com o objetivo de avaliar a eficácia da TRE utilizada entre pacientes com Doença de Pompe; e desde que esses estudos contemplassem variáveis passíveis de comparação. Dentre as variáveis de interesse nas metanálises estavam: teste de caminhada de 6 minutos (TC6M), capacidade vital forçada (CVF), nível sérico de creatinoquinase (CK) e índice de massa ventricular esquerda (IMVE).

De acordo com os estudos, foram selecionados aqueles que apresentavam medidas referentes à evolução dos pacientes antes e após a intervenção com a terapia enzimática. E entre eles, utilizavam a todo o momento a nomenclatura relacionada à eficácia e segurança dessa terapia.

Após a identificação de estudos que atendiam aos critérios de inclusão estabelecidos inicialmente, os estudos foram organizados de acordo com as características apresentadas pela população e as variáveis utilizadas para avaliação da eficácia da Terapia de Reposição Enzimática.

Diante da dificuldade em obter estudos com medidas padronizadas para as diferentes variáveis estudadas, decidiu-se por utilizar a medida padrão que permitisse a inclusão do maior número de estudos para cada uma das variáveis de referência. Com tudo isso, também foram buscados nos diferentes estudos dados primários que permitissem a conversão de medidas correlacionadas para viabilizar comparação.

Foram considerados inelegíveis os artigos cuja forma de realizar o teste de avaliação da variável era divergente daquela realizada pelos demais artigos; estudos com variáveis apresentando unidade de medida divergente daquela apresentada pelos demais e sem viabilidade de conversão; artigos com resultados incompletos por apresentação extremamente resumida; artigos nos quais as medidas foram apresentadas apenas em figuras com pouca precisão dos valores a serem considerados; artigos cujo acesso não foi gratuito nas bases de dados eletrônicas; e aqueles artigos cujos valores correspondentes às variáveis não foram obtidos mesmo após tentativa de contato com os autores via e-mail. Vale ressaltar que houve também um dos artigos que apresentou informações relevantes no resumo, mas ao ser analisado por completo foi verificado que as variáveis utilizadas nas avaliações não correspondiam a nenhuma das selecionadas para análise, e este foi removido.

4.3.2 Tipos de participantes dos estudos

Os estudos incluídos nas metanálises apresentavam pacientes com diagnóstico confirmado de Doença de Pompe submetidos a TRE com alfa-glucosidase ácida por determinado período de tempo. Os pacientes estavam distribuídos entre as duas formas clínicas da doença (forma infantil e forma tardia da Doença de Pompe) de acordo com a abordagem de cada estudo.

O agrupamento dos estudos ocorreu baseado nas variáveis destacadas e, comumente, foram considerados faixa etária dos pacientes acometidos e grau de comprometimento do quadro clínico.

A partir da observação das características apresentadas nos testes realizados pelos doentes antes da terapia (considerando o período de entrada no estudo) e posteriormente à terapia foi possível verificar a progressão da doença no decorrer do tempo instituído em cada estudo.

Dessa forma, o estudo foi incluído desde que possuísse os dados desejados completos ou que viabilizasse o acesso, mesmo de maneira indireta, para fins de apresentação e, conseqüentemente, comparação.

4.4 DESFECHOS CLÍNICOS ESTUDADOS

Neste estudo, a eficácia da Terapia de Reposição Enzimática foi o desfecho principal analisado a partir da comparação entre variáveis de interesse apresentadas. Os doentes com diagnóstico confirmado de Doença de Pompe foram submetidos à intervenção terapêutica em questão (TRE) e avaliados pelo menos em dois momentos diferentes: o momento que precedeu ao início da terapia enzimática (considerado “linha de base” ou “antes da TRE”) e o momento depois da intervenção terapêutica com TRE. Este último correspondeu a períodos diferentes considerando uma sequência temporal pré-estabelecida em cada estudo (período de utilização da TRE). Sendo assim, as quatro variáveis foram comparadas da seguinte maneira entre os artigos: comparação entre as médias de valores representativos do grupo de doentes de cada estudo antes e depois da utilização da terapia enzimática; e, comparação entre os valores das diferenças médias padronizadas obtidas para cada variável avaliada.

Os estudos encontrados na literatura apresentavam metodologias diferentes, contudo buscaram-se parâmetros em que as variáveis fossem analisadas de uma maneira mais uniforme.

No processo de avaliação da eficácia, as variáveis apontadas como desfechos avaliados foram: a distância percorrida no teste de caminhada de 6 minutos (TC6M) para medir a resistência funcional; o percentil preditivo da capacidade vital forçada (CVF) para medir a força muscular respiratória; o nível sérico de creatinoquinase (CK) e o índice de massa ventricular esquerda (IMVE).

4.5 LOCALIZAÇÃO DOS ESTUDOS

Inicialmente foi realizada uma busca eletrônica criteriosa por meio da avaliação dos títulos e resumos, com posterior análise detalhada dos artigos completos que parecessem preencher os critérios de inclusão. A avaliação dos estudos foi realizada apenas por um revisor.

4.5.1 Fontes de estudos

As fontes de informação utilizadas para a identificação e a seleção de estudos primários foram: bases de dados eletrônicas, lista de referência de estudos selecionados e comunicação pessoal com os autores.

As buscas foram iniciadas a partir das seguintes bases de dados eletrônicas de informação científica: PUBMED, MEDLINE, SCIELO e BIREME/LILACS. Em seguida, as

listas de referências de todos os artigos relevantes identificados após busca eletrônica foram analisadas.

A pesquisa não foi limitada a artigos de revistas científicas, sendo consideradas as publicações em anais de congresso, teses e dissertações. Porém, nas metanálises, a investigação incluiu apenas artigos completos *peer-reviewed* como forma de assegurar a validade externa. A busca manual não foi utilizada.

Também foi realizada tentativa de comunicação pessoal com autores (via e-mail) para obter possíveis informações não apresentadas numa publicação ou mesmo esclarecimentos de alguns dados apresentados de forma pouco clara, porém sem retorno.

4.5.2 Estratégias de busca para as bases de dados eletrônicas

A busca de artigos foi realizada no período de 2 meses, em junho e julho de 2014, onde os artigos utilizados no processo de comparação de dados respeitaram a restrição do ano de aprovação da Terapia de Reposição Enzimática para o tratamento da Doença de Pompe em 2006. No tocante ao idioma, as buscas foram restritas a artigos publicados em inglês, português e espanhol.

Foram utilizadas como palavras-chaves no texto (Text words), *Medical Subject Headings* (MeSH) e Descritores em Ciências da Saúde (DECS): “Glycogen Storage Disease Type II”, “Generalized glycogenosis”, “Glycogenosis type II”, “Pompe disease”, “Acid Maltase Deficiency Disease”, “Deficiency Disease alpha-1,4-glucosidase lysosomal” e “Acid Alpha-Glucosidase Deficiency”, combinados com os termos “clinical trial” e “enzyme therapy” ou “survival” ou “safety” ou “effectiveness”; assim como “clinical trial” e “recombinant human acid alpha glucosidase”; além de seus respectivos sinônimos em português (Doença de Depósito do Glicogênio tipo II, Doença do Armazenamento de Glicogênio tipo II, Glicogenose Generalizada, Glicogenose 2, Doença de Pompe, Doença da Deficiência de Maltase Ácida, Doença da Deficiência de alfa-1,4-Glucosidase Lisossômica e Deficiência da alfa-Glucosidase Ácida) associado a ensaio clínico, terapia enzimática, sobrevivência, segurança, eficácia, alfa-glucosidase ácida recombinante humana. A sintaxe foi adaptada para cada base de dados consultada.

No Quadro 4 estão as estratégias de pesquisa utilizadas nas diferentes bases de dados eletrônicas pesquisadas. Foram apresentadas apenas as estratégias que resultaram em artigos aparentemente relacionados à pergunta da pesquisa.

Quadro 4- Estratégias de busca empregadas nas bases de dados eletrônicas

Base de Dados	Estratégias de busca empregadas
PUBMED	1. Glycogen Storage Disease Type II* AND clinical trial AND enzyme therapy 2. Glycogen Storage Disease Type II* AND recombinant human acid alpha glucosidase 3. Glycogen Storage Disease Type II* AND clinical trial AND enzyme therapy AND safety
MEDLINE	1. Glycogen Storage Disease Type II* AND clinical trial AND enzyme therapy
SCIELO	1. Glycogen Storage Disease Type II* AND enzyme therapy
BIREME	1. Glycogen Storage Disease Type II* AND enzyme therapy

* Busca realizada utilizando todas as denominações da doença

4.6 AVALIAÇÃO DA ELEGIBILIDADE DOS ESTUDOS

Cada estudo encontrado foi avaliado levando em consideração o preenchimento dos critérios de inclusão já apresentados a partir do auxílio de um formulário padronizado (ANEXO A).

Neste processo de avaliação inicial dos artigos encontrados foi considerado: nomes dos autores; ano de publicação; tipo de desenho do estudo; tipos de participantes (caracterizados de acordo com a faixa etária: grupo de crianças até 2 anos e grupo de crianças acima de 2 anos/adolescentes/adultos); número de participantes; período de seguimento a partir do início da TRE; variáveis utilizadas como parâmetros para verificação da evolução dos pacientes; e medida de avaliação dessas variáveis.

4.7 EXTRAÇÃO DOS DADOS

Os dados considerados relevantes foram extraídos através de formulário estruturado que foi aplicado nos estudos selecionados de pacientes com Doença de Pompe submetidos à Terapia de Reposição Enzimática conforme apresentado no ANEXO B. De forma geral, foram coletados os seguintes dados:

- I. **Método:** país de origem do estudo; variáveis avaliadas; tipo de amostra; tamanho da amostra; semelhança entre os grupos; descrição dos métodos usados para diagnóstico da Doença de Pompe; utilização de técnicas padronizadas para aferição das variáveis abordadas; se houve treinamento dos profissionais envolvidos na coleta de dados; existência de semelhança entre os grupos quanto às características de utilização da TRE (dose, periodicidade e tempo total de utilização); e condição clínica inicial dos participantes.
- II. **Participantes:** critérios de inclusão; critérios de exclusão; número de participantes com Doença de Pompe submetidos a TRE; número de participantes não submetidos a TRE.
- III. **Desfechos:** lista dos desfechos estudados.

Os resultados dos desfechos clínicos dos estudos incluídos na revisão sistemática, e consequentemente nas metanálises, foram coletados através de um formulário padronizado (ANEXO C).

A extração de resultados dos diferentes estudos ocorreu após a avaliação crítica dos mesmos através da utilização da escala de Newcastle-Ottawa¹⁰³, através da qual o estudo deve atingir uma pontuação ≥ 4 , de um total máximo de 9 pontos, para que seja considerado de qualidade apropriada. Neste processo de avaliação foi utilizado um formulário padronizado (ANEXO D), que abordou pontos relacionados à **Seleção dos Sujeitos** (1. Representatividade da amostra exposta do estudo; 2. Seleção da amostra não exposta do estudo; 3. Meio de determinação da exposição; 4. Demonstração de que os resultados de interesse não estavam previamente determinados no início do estudo); **Comparabilidade entre as amostras** (1. Comparabilidade das amostras com base no desenho do estudo ou análise dos dados); e **Resultados do estudo** (1. Avaliação dos resultados; 2. Avaliação do tempo de seguimento; 3. Adequação das perdas de seguimento).

4.8 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

As metanálises foram realizadas no software estatístico R, versão 3.1.1 de 2014¹⁰⁴. As medidas de efeito de cada estudo incluído foram padronizadas através do método de *Hedges* para possibilitar a comparação das medidas-resumo de todas as variáveis analisadas. As diferenças médias que não foram fornecidas diretamente pelo estudo foram calculadas e padronizadas.

A existência de heterogeneidade nas metanálises foi avaliada com a aplicação da Estatística I^2 , confirmada através do teste de hipótese para a homogeneidade entre os estudos, do Teste Q de Cochran (ao nível de significância de 5%) e da inspeção visual do gráfico de floresta. Optou-se pelo modelo de efeitos fixos, uma vez que a estatística I^2 encontrada indicou elevada homogeneidade para todas as variáveis estudadas, com valores de p da estatística Q acima de 0,5. A análise de viés de publicação foi efetuada através da inspeção do gráfico de funil, sendo que este só foi construído para as metanálises com mais de cinco estudos. A estimativa da variância entre estudos, τ^2 , foi obtida através do método do estimador restrito da verossimilhança.

5 RESULTADOS

5.1 RESULTADOS DA BUSCA DE ESTUDOS PRIMÁRIOS

A busca realizada nas bases eletrônicas de informações científicas, associada também àquelas realizadas nas listas de referências dos estudos encontrados, resultou na localização de 171 estudos. Destes, não foram selecionados 127 por não preencherem, claramente, os critérios de inclusão a partir da avaliação dos títulos e resumos, ou por se apresentarem repetidos. Dentre os 44 artigos selecionados, 02 foram imediatamente excluídos: o artigo intitulado “Enzyme replacement therapy with recombinant human acid alpha glucosidase (rhGAA) in infantile onset Pompe disease (IOPD)” e o artigo “Placebo-controlled study of alglucosidase alfa in adults with Pompe disease”. Eles não foram encontrados disponíveis na íntegra nas bases de dados eletrônicas de acesso gratuito. Outros 11 também foram excluídos por razões metodológicas. Após avaliação detalhada do texto completo dos 31 estudos selecionados, mais 17 artigos foram excluídos, restando apenas 14 artigos para as metanálises. Nesses estudos foram abordados pacientes com diagnóstico confirmado de Doença de Pompe e submetidos à Terapia de Reposição Enzimática.

Através de comunicação pessoal com os autores, via eletrônica, foram solicitados dados referentes ao artigo “Placebo-controlled study of alglucosidase alfa in adults with Pompe disease” encontrado apenas como resumo, uma vez que foi identificado como potencialmente relevante para a realização de metanálise com ensaios clínicos. Porém, não foi obtido sucesso e tal metanálise não pode ser realizada diante da identificação de apenas outro artigo com dados apresentados de forma direta.

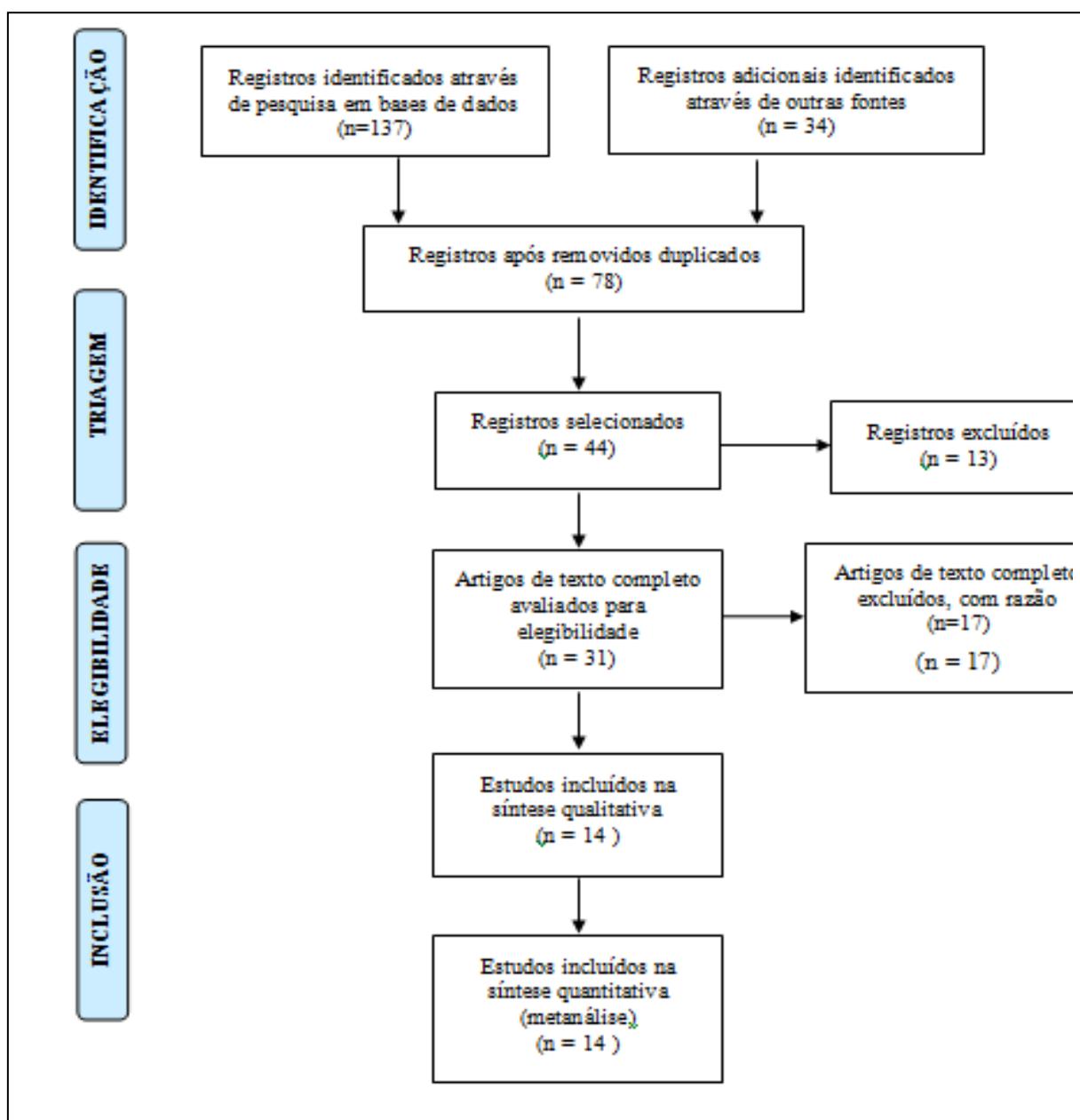
Quanto aos 14 estudos incluídos nas metanálises, foi possível observar que as variáveis abordadas entre eles apresentavam certo padrão de distribuição. Os participantes dos estudos que abordavam o teste de caminhada de 6 minutos (TC6M), a capacidade vital forçada (CVF) e o nível sérico de creatinoquinase (CK) estavam na faixa etária correspondente à classificação da forma tardia da Doença de Pompe. Ao contrário do que ocorreu na análise da variável do índice de massa ventricular esquerda (IMVE), cuja população avaliada estava na faixa pediátrica caracterizando a forma infantil da Doença de Pompe e onde o comprometimento cardíaco é marcadamente importante.

Em três dos artigos selecionados para metanálises^{55, 105, 106}, os resultados apresentados pelo grupo de pacientes dos estudos tratados com TRE foram comparados com indivíduos também diagnosticados com Doença de Pompe, mas que pertenciam a um grupo controle histórico que não recebeu a TRE. Nesses casos, a inclusão de um grupo placebo foi considerada antiética diante da evolução rapidamente fatal da doença e do fato de ensaios clínicos prévios

terem apresentado melhora da sobrevida, da função cardíaca e respiratória, além de atuação sobre o crescimento e desenvolvimento motor, quando utilizado tratamento com rhGAA^{107, 108}. Diferentes estudos no decorrer do período também apontaram tal melhora na população com a doença de início tardio¹⁰⁹.

O fluxograma representativo do processo de seleção dos estudos está registrado abaixo, na Figura 4, onde foi utilizado o guideline PRISMA¹¹⁰.

Figura 4 - Fluxograma de classificação dos estudos identificados



Fonte: Adaptado de MOHER¹¹⁰.

5.1.1 Estudos excluídos

Dezessete artigos foram excluídos das metanálises. Destes, dois estudos (12%)^{111, 112} correspondiam a ensaios clínicos multicêntricos, duplo-cego, placebo-controlado com randomização na razão 2:1. Entretanto, um artigo¹¹² correspondia à extensão do outro¹¹¹ não permitindo o processo de comparação entre as variáveis apresentadas por se tratar de uma mesma população e se diferenciando apenas no tempo de tratamento com TRE ou placebo. Um terceiro artigo⁸² (6%) foi excluído ao ser o único entre os selecionados a avaliar o índice de massa ventricular esquerda em adultos com Doença de Pompe, além dos valores apresentados se encontrarem correlacionados com diferentes períodos de terapia. Nove^{52, 63, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119} (52%) apresentavam as unidades de medidas das variáveis estudadas diferentes dos demais estudos selecionados e sem permitir transformação. Referente aos cinco demais artigos: um artigo¹²⁰ (6%) apresentava dados de variáveis estudadas bastante discrepantes por avaliar apenas pacientes gravemente acometidos e com deterioração importante do quadro; um artigo⁶⁰ (6%) com dados incompletos inviabilizando sua utilização; outro¹²¹ (6%) não apresentava nenhuma variável em comum com as estudadas, apesar de o resumo inicialmente sugerir avaliações; e dois outros artigos^{39, 122} (12%) apresentaram os valores em gráficos sem viabilidade de obtenção dos dados com precisão.

5.1.2 Descrição dos artigos incluídos nas metanálises de acordo com cada variável

5.1.2.1 Teste de caminhada de 6 minutos

No processo de comparação dos estudos, a variável utilizada como medida de avaliação, inicialmente, foi o teste de caminhada de 6 minutos (TC6M). Aqui serão apresentados os diferentes estudos onde essa variável foi passível de determinação e comparação. Os demais testes serão apresentados a cada comparação.

Angelini et al.¹⁴ apresentaram um estudo observacional com participação de 74 pacientes (33 masculinos e 41 femininos) em vários estágios de progressão da DP de início tardio submetidos à TRE. O uso da terapia enzimática ocorreu numa dose de 20mg/kg por via intravenosa a cada duas semanas por um período de 12 a 54 semanas. Os critérios considerados de inclusão foram: diagnóstico confirmado de DP; idade de início da doença ≥ 2 anos e presença de sinais ou sintomas da doença. Entre os desfechos estudados estavam: teste de caminhada de 6 minutos (TC6M) para função motora; capacidade vital forçada expressada como percentagem de valor preditivo (CVF) para função respiratória; escala de Walton Gardner-Medwin (WGM) para medir a incapacidade motora global; medida de função cardíaca com ecocardiograma;

índice de massa corpórea (IMC) e nível sérico de creatinoquinase (CK). Todos os testes foram realizados na linha de base e a cada seis meses. Houve o registro de perdas de seguimento ao longo do acompanhamento: 01 paciente saiu do estudo, 02 apresentaram piora da condição clínica geral decidindo não continuar e 01 paciente morreu de sepse após 34 semanas de tratamento. Também há relato de efeitos adversos leves acometendo 04 pacientes.

Bembi et al.⁴⁷ objetivaram avaliar o efeito da TRE a longo prazo em pacientes com Doença de Pompe de início tardio através de um estudo observacional, multicêntrico e não randomizado. A população era composta por 24 pacientes subdivididos entre 7 jovens e 17 adultos. Pacientes entre 7 e 65 anos de idade foram elegíveis para o estudo diante da presença real de fraqueza muscular ou dano funcional respiratório verificados através de avaliações específicas. Os critérios de exclusão foram: idade \geq 65 anos; presença de comorbidades que pudessem interferir nas medidas de resultados; e condições que pudessem determinar reações imunológicas adversas. O diagnóstico da doença foi confirmado por análise molecular. Os pacientes receberam 20mg/kg, por via intravenosa, de enzima recombinante em média a cada 15 dias. Os parâmetros avaliados periodicamente foram os seguintes: teste de caminhada de 6 minutos (TC6M) e escore de Walton (WS) para avaliação da função motora; capacidade vital (VC) e volume expiratório forçado (FEV₁); pCO₂ arterial matinal; enzimas musculares séricas (CK, DHL, TGO, TGP); índice de massa corpórea; eletrocardiograma (ECG); ecocardiograma (ECO); exame de imagem de tórax, coluna e músculo; e avaliação audiométrica. Com relação a eventos adversos, um paciente adulto apresentou broncoespasmo e rash facial após a terceira infusão; enquanto que um paciente jovem mostrou *rash* cutâneo após nove meses de TRE. Eles receberam pré-mediação com anti-histamínicos ou corticoesteróides antes da infusão subsequente.

Strothotte et al.⁹⁷ descreveram um estudo observacional e multicêntrico com 44 pacientes diagnosticados com Doença de Pompe de início tardio que utilizaram a Terapia de Reposição Enzimática com alfa-glucosidase na dose de 20mg/kg, por via intravenosa, num período de tratamento de 12 meses. O principal critério de inclusão foi o diagnóstico de Doença de Pompe de início tardio estabelecido por pelo menos dois métodos diferentes de confirmação bioquímica da deficiência da GAA em leucócitos, tecido muscular ou fibroblastos; e prova de mutação. No protocolo de avaliação incluíram diferentes variáveis: teste de função do braço (TFB); escala de Walton Gardner-Medwin (WGM); quatro testes de função cronometrada (teste de caminhada de 10 metros cronometrado, subida de quatro escadas, manobra de Gower modificada e teste de caminhada de 6 minutos); e testes sanguíneos para medidas de enzimas hepáticas e creatinoquinase (CK). A força muscular foi avaliada pela escala graduada Medical

Research Council (MRC). A função pulmonar também foi avaliada através do percentil preditivo da capacidade vital forçada (CVF) na posição de pé conforme descrito no método de avaliações clínicas apresentado no artigo. Porém, na descrição dos resultados o texto apresentou os valores e descreveu que a posição considerada foi sentada. A alfa-*glucosidase* teve uma boa tolerância no geral e os eventos adversos foram considerados de leve a moderado. Não foi observado perda uma vez que nenhum paciente abandonou ou foi desligado do estudo, assim como nenhum óbito foi registrado durante o período de seguimento. Os dados brutos apresentados foram utilizados apenas de acordo com a compatibilidade com as demais informações obtidas de outros estudos.

Ravaglia et al.¹²³ realizaram um estudo observacional com 11 pacientes com Doença de Pompe de início tardio, aos quais foi assegurado o recebimento de TRE se eles tivessem dano funcional objetivo definido como escore de Walton modificado ≥ 1 , ou diminuição $\geq 20\%$ na CVF. Os pacientes foram diagnosticados pela deficiência da GAA (pesquisada em linfócitos, fibroblastos, biópsia muscular) e confirmado por análise genética. Foram apontados como critérios de exclusão: a presença de comorbidades que pudessem influenciar nas medidas de resultado e a incapacidade autonomamente. A TRE foi utilizada com infusões de 20mg/kg intravenosas de alfa-*glucosidase* a cada 14 ± 4 dias por pelo menos dois anos. As seguintes medidas foram avaliadas na linha de base e a cada 6 meses: TC6M; escala de Walton; força muscular; CVF na posição em pé (medida em valores absolutos e em porcentagem de diminuição comparada com controles de correspondentes para idade/sexo, altura e peso corporal); nível sérico de CK e índice de massa corpórea. Nesse estudo houve exclusão de 4 pacientes das análises: 2 por conjunto de dados incompletos, 1 por interrupção da TRE diante de problemas médicos concomitantes e 1 por habilidade de deambulação comprometida.

Regnery et al.¹²⁴ desenvolveram um estudo sobre Terapia de Reposição Enzimática com alfa-*glucosidase* em 38 pacientes com idade entre 27-73 anos diagnosticados com Doença de Pompe de início tardio (20 femininos, 18 masculinos). O critério maior de inclusão foi o diagnóstico da doença estabelecido por pelo menos dois métodos diferentes de confirmação bioquímica da deficiência da enzima GAA em leucócitos, tecido muscular ou fibroblastos; e prova de mutação. Os pacientes foram avaliados periodicamente e receberam a medicação intravenosa na dose de 20mg/kg por um período de 36 meses. Entre as variáveis apresentadas de acordo com o método de avaliações estavam: escala de Walton Gardner-Medwin (WGM); teste de função do braço (TFB) e quatro testes de função cronometrada: teste de caminhada de 10 metros cronometrado, teste de subida de quatro escadas, manobra de Gower modificada e teste de caminhada de 6 minutos. A força muscular foi avaliada pelo teste muscular manual

utilizando a escala graduada Medical Research Council (MRC). A capacidade vital forçada (CVF) de avaliação da função pulmonar foi realizada através do percentil preditivo na posição de pé. Os testes sanguíneos incluíram medidas de enzimas hepáticas e creatinoquinase (CK). Houve também a descrição dos títulos de anticorpos da classe IgG (anti-recombinante humana GAA) entre os indivíduos; dos eventos adversos, em geral classificados de leve a moderado; e do uso de medicações anti-histamínicas e corticóides relacionados a tais eventos. Dois indivíduos descontinuaram o tratamento por evolução negativa do quadro e nove evoluíram a óbito.

5.1.2.2 Capacidade vital forçada

Nesse momento, a análise ocorreu entre estudos que apresentaram resultados sobre o teste de função pulmonar referente à capacidade vital forçada (CVF) através do percentil de valor preditivo (%). Os três artigos aqui selecionados foram anteriormente apresentados na metanálise referente à Comparação 1 e corresponderam a: Angelini et al.¹⁴; Strothotte et al.⁹⁷; e Regnery et al.¹²⁴.

5.1.2.3 Nível sérico de creatinoquinase

A terceira comparação ocorreu a partir de parâmetros laboratoriais correspondentes aos valores do nível sérico da creatinoquinase (CK) apresentados pelos pacientes com Doença de Pompe de início tardio. Nessa etapa, foi realizada a avaliação dos valores dessa variável antes e depois do tratamento com alfa-glucosidase ácida desde que a unidade de medida fosse a mesma apresentada pela maioria dos demais estudos, ou que permitisse a conversão para adequação e posterior comparação.

Três estudos incluídos nessa comparação já foram apresentados anteriormente por possuírem dados correspondentes às duas outras variáveis estudadas. Entre eles estão: Bembi et al.⁴⁷; Ravaglia et al.¹²³; e Regnery et al.¹²⁴. Os outros três estudos, de um total de seis, serão apresentados a seguir.

Merk et al.⁶⁷ relataram sobre quatro pacientes adultos, com idade entre 39 e 68 anos, que receberam a TRE por um período de 6 meses. Eles tiveram diagnóstico da Doença de Pompe realizado através de biópsia muscular há alguns anos e a severidade da doença se apresentou de grau variado, a exemplo da fraqueza muscular com comprometimento em diferentes níveis de intensidade. O tratamento com enzima foi utilizado por via intravenosa na dose de 20mg/kg, quinzenalmente. Não houve registros de ocorrência de reações alérgicas demonstrando boa

tolerância. Os parâmetros funcional e clínico foram apresentados longitudinalmente de acordo com a evolução de cada caso: índice de massa corpórea (IMC); creatinoquinase (CK); creatinina; desidrogenase láctica (DHL); aminotransferases (TGO e TGP); teste de caminhada de 6 minutos e testes de função pulmonar.

Vielhaber et al.¹²⁵ trouxeram registros sobre o acompanhamento de dois pacientes com diagnóstico de Doença de Pompe bioquimicamente confirmado. Tais pacientes apresentavam características semelhantes no referente à duração da doença, aos níveis de atividades diárias e à ausência de doenças adicionais. A enzima foi administrada via intravenosa na dose padronizada de 20mg/kg com intervalo de duas semanas e num total de 24 meses de tratamento sem interrupção. De acordo com os métodos de avaliação, o protocolo desse estudo incluiu: teste de força muscular com utilização da escala de classificação de Medical Research Council (MRC); avaliação das atividades funcionais (AAF) através de teste de caminhada de 6 minutos (TC6M), teste de subida de 4 escadas, teste de caminhada de 10 metros, manobra de Gower modificada, escala de Walton Gardner-Medwin (WGM); e teste de função pulmonar que foi realizado para avaliar a capacidade vital forçada (CVF). A alfa-glucosidase foi em geral bem tolerada, porém um dos pacientes necessitou utilizar regularmente medicação anti-histamínica antes da infusão por ter apresentado um episódio de rash cutâneo leve em dorso.

Papadimas et al.¹²⁶ apresentaram informações sobre as manifestações clínicas e o efeito do tratamento com TRE nos primeiros 5 pacientes gregos com a forma tardia da Doença de Pompe; e entre eles tinham duas irmãs. A faixa etária dos pacientes estava entre 40 e 73 anos. A utilização da terapia ocorreu na dose de 20mg/kg por via intravenosa a cada duas semanas e com diferentes períodos de utilização. O diagnóstico da doença foi confirmado através da observação da atividade da GAA deficiente em cultura de fibroblastos ou tecido muscular; e por análise de mutação. Os pacientes foram monitorados através da avaliação da escala de MRC, do TC6M, da escala de severidade de fadiga (FSS), dos testes sanguíneos, e das provas de função pulmonar.

5.1.2.4 Índice de massa ventricular esquerda

Diante do grau de comprometimento cardíaco importante observado nos pacientes com a forma infantil da Doença de Pompe, buscaram-se dados que estivessem relacionados com o comprometimento de tal órgão. Os artigos que se seguem foram utilizados na comparação da variável correspondente ao índice de massa ventricular esquerda (IMVE).

Cho et al.⁵⁴ estudaram sete casos de Doença de Pompe infantil e informaram as características clínicas e as bases moleculares desses pacientes após Terapia de Reposição

Enzimática pela primeira vez na Coreia. Entre os pacientes havia um par de irmãos, enquanto que os demais não apresentavam parentesco. O diagnóstico de três pacientes foi confirmado pela determinação enzimática da atividade da alfa-glucosidase ácida em leucócitos de sangue periférico. E os outros quatro pacientes, inicialmente, tiveram a suspeita da doença após exame histológico de músculos e, por conseguinte, foi confirmado via análise genética do gene da alfa-glucosidase ácida. Nem todos os pacientes foram submetidos a TRE por causa do período em que a medicação foi disponibilizada no país. Apenas quatro dos sete pacientes fizeram uso da enzima na dose de 20 mg/kg em semanas alternadas por um período de dois anos. Os achados clínicos e laboratoriais foram apresentados para cada paciente e correspondiam a: dados gerais de idade de início e do diagnóstico; sexo; achados clínicos iniciais; mutação de GAA; avaliações laboratoriais (níveis de CK, TGO, TGP e atividade da GAA); e elementos avaliados pelo ecocardiograma.

Nicolino et al.⁵⁵ conduziram um estudo para avaliar a segurança e a eficácia da alfa-glucosidase ácida em lactentes e crianças com Doença de Pompe em estágio avançado. Tratou-se de estudo aberto, multicêntrico com 21 pacientes entre 3 e 43 meses com atividade da alfa-glucosidase ácida mínima e índice de massa ventricular esquerda anormal pelo ecocardiograma. Os principais critérios de inclusão foram: aparecimento documentado dos sintomas da DP até os 12 meses de idade; atividade da GAA em fibroblastos da pele menor que 2% da média normal; idade entre 6 e 36 meses no momento da entrada no estudo; e índice de massa ventricular esquerda anormal. Foram considerados critérios de exclusão: sinais clínicos ou sintomas de falência cardíaca com fração de ejeção < 40%; anomalia congênita maior; doença orgânica intercorrente e tratamento prévio com TRE. Inicialmente, todos os pacientes foram tratados com 20 mg/kg da enzima por via intravenosa a cada duas semanas por um período mínimo de 52 semanas. Após pelo menos 26 semanas de tratamento, o aumento da dose para 40 mg/kg a cada duas semanas foi permitido se a condição clínica (motora, cardíaca ou respiratória) do paciente se deteriorou significativamente com relação à linha de base. A proporção de pacientes que sobreviveram ao longo do tratamento foi apontada como o desfecho primário da eficácia. Adicionalmente, a eficácia foi também avaliada por: dependência de ventilação invasiva e não invasiva, IMVE, fração de encurtamento (uma alternativa à fração de ejeção para descrever a função cardíaca sistólica), crescimento, desenvolvimento motor, independência funcional, atividade da GAA e conteúdo de glicogênio em tecido muscular de quadríceps. Com relação à avaliação da segurança da terapia, os pacientes foram observados e os sinais vitais registrados durante cada infusão e por 2 horas após. Os eventos adversos, incluindo as reações associadas à infusão, também foram continuamente monitorados em todos os pacientes.

Kishnani et al.⁹⁴ conduziram um estudo aberto, multinacional em centros nos Estados Unidos e na Europa avaliando a eficácia e a segurança da Terapia de Reposição Enzimática. Aqui, 8 pacientes foram matriculados e apresentavam as seguintes características: atividade da GAA menor que 1% da média normal em fibroblastos da pele, cardiomegalia e hipertrofia ventricular esquerda. Os critérios de exclusão utilizados foram: insuficiência respiratória; sinais e sintomas de falência cardíaca e uma fração de ejeção cardíaca < 40%; ou anomalia congênita maior; ou doença orgânica significativa. Nesse estudo foram utilizadas duas preparações de alfa-glucosidase ácida derivada de células de ovário de hamster chinês (CHO-1 E CHO-2). Inicialmente, os pacientes foram acompanhados por 17 a 52 semanas e receberam a infusão intravenosa da preparação 1 de GAA (CHO-1) na dose de 10mg/kg, semanalmente. Na fase de extensão, 6 dos 8 pacientes estavam vivos e utilizaram a preparação 2 da enzima (CHO-2) por um período de 17 a 54 semanas, somando um total de exposição a GAA, incluindo a extensão e uso de ambas as preparações, de 17 a 153 semanas. A dose da CHO-2 foi de 10-20mg/kg, semanalmente, ou 20 mg/kg a cada duas semanas. As medidas de avaliação da segurança incluíram eventos adversos, testes laboratoriais e títulos de anticorpos anti-rhGAA. E as avaliações da eficácia incluíram: índice de sobrevivência, uso de ventilador como suporte respiratório, parâmetros de ecocardiogramas, acompanhamento do crescimento e de funções motora e cognitiva.

Ansong et al.¹²⁷ acompanharam 19 pacientes com intervalo de idade entre 2 e 12 meses num estudo aberto de avaliação da segurança e da eficácia da TRE. Todos os pacientes tinham o diagnóstico confirmado da Doença de Pompe diante da atividade da GAA endógena menor que 1% da média normal em fibroblastos da pele. A utilização da TRE ocorreu na dose de 10mg/kg por semana ou 20-40 mg/kg a cada duas semanas por um período em média de acompanhamento de 6 meses (intervalo entre 2 e 30 meses). O processo de avaliação foi através de parâmetros de eletrocardiograma e ecocardiograma, periodicamente.

Levine et al.¹⁰⁶ estudaram oito crianças com DP infantil clássica que receberam GAA recombinante humana administrada por 52 semanas. Tratou-se de um estudo designado como ensaio multicêntrico conduzido por equipes nos Estados Unidos e na Europa. Os critérios de inclusão utilizados: atividade da GAA endógena em fibroblastos da pele menor que 1% do normal; índice cardiotorácico superior a 0,5 ao raio-X; e índice de massa ventricular esquerda de 65 g/m² ou mais, ou maior que dois desvios padrão acima da média normal.

Quanto aos critérios de exclusão: os pacientes eram excluídos se tivessem insuficiência respiratória na apresentação; história de dependência ventilatória; fração de ejeção cardíaca menor que 40%; ou uma anormalidade congênita maior ou doença orgânica significante

susceptível de diminuir a sobrevivência. Durante o período das 52 semanas todos os pacientes receberam infusões intravenosas de enzima na dose de 10mg/kg, semanalmente, exceto um dos pacientes que recebeu 20 mg/kg. A monitorização cardíaca ocorreu através de ecocardiogramas, eletrocardiogramas, radiografias torácicas e evolução cardíaca clínica. Houve também a avaliação de parâmetros não cardíacos: crescimento, dependência de suporte ventilatório, desenvolvimento motor, função cognitiva, audição, biópsia muscular para atividade da GAA e capacidade de glicogênio, e anticorpos anti-rhGAA no sangue. Os indicadores utilizados para monitorar a segurança foram: hemogramas completos de rotina, análise urinária e exame físico. Entre dados adicionais incluíram análises da mutação e registro de eventos adversos. Além disso, os pacientes que estavam vivos após a fase inicial de 52 semanas foram matriculados em um protocolo de extensão.

Kishnani et al.¹⁰⁵ compararam variáveis relacionadas à segurança e à eficácia da Terapia de Reposição Enzimática em 18 pacientes com Doença de Pompe infantil rapidamente progressiva. Os pacientes elegíveis para o estudo tinham sintomas documentados da doença, incluindo uma deficiência severa da atividade da GAA menor que 1% da média normal em fibroblastos da pele e cardiomiopatia hipertrófica. E eles não tinham idade superior a 26 semanas no período de registro no estudo. Os critérios de exclusão correspondiam a: insuficiência respiratória, anomalia congênita maior ou uma doença intercorrente significativa clinicamente não relacionada com a Doença de Pompe, ou qualquer tratamento prévio com GAA. A terapia consistiu na utilização da enzima na dose de 20 mg/kg em metade do grupo e 40 mg/kg na outra metade a cada duas semanas. As análises foram realizadas 52 semanas após o último paciente entrar no grupo randomizado para o tratamento. Nas avaliações da segurança no uso da terapia observou-se: avaliação sanguínea e urinária; ocorrência e período de desenvolvimento de anticorpos IgG anti-rhGAA; e incidência mais natureza de eventos adversos, incluindo reações associadas à infusão. A eficácia foi observada através da avaliação da sobrevivência, do uso de suporte ventilatório, da massa ventricular esquerda pelo ecocardiograma, do crescimento, da atividade de GAA muscular e do nível de glicogênio, do desenvolvimento motor e do nível de desabilidade apresentado.

As informações referentes aos eventos adversos apontam que 11 dos 18 pacientes no estudo apresentaram reações associadas à infusão, e estas foram consideradas de leve a moderada. Nenhuma reação foi severa e a mais comum foi o *rash* cutâneo. Em nenhum momento durante o estudo qualquer paciente precisou descontinuar a infusão por causa de reação. Todos os pacientes sobreviveram até os 18 meses de idade; porém, houve registro de um óbito não relacionado com o tratamento com rhGAA.

5.2 QUALIDADE DOS ESTUDOS INCLUÍDOS (VALIDADE INTERNA)

Os 14 estudos incluídos nas metanálises foram classificados como de qualidade apropriada ao atingirem de 4 a 6 pontos do total de 9 da Escala de Qualidade de Newcastle. A representatividade da amostra no tópico Seleção não contabilizou pontuação em nenhum dos estudos, uma vez que o número de pacientes acompanhados em cada estudo era extremamente variável e de acordo com os pacientes com Doença de Pompe matriculados nos serviços de saúde. A ausência de grupo-controle nos estudos selecionados para avaliação em paralelo, comparando os pacientes em tratamento com TRE e os pacientes com uso de placebo, também não gerou nenhuma pontuação no referente a esse tópico. Os estudos que apresentaram comparação entre pacientes tratados utilizando TRE e pacientes não tratados, a fizeram através da utilização de dados de um grupo-controle histórico. No Quadro 5 há a apresentação da pontuação de cada estudo incluído nas metanálises.

Quadro 5 - Validade interna dos estudos incluídos nas metanálises

ESTUDO	ESCALA DE QUALIDADE DE NEWCASTLE
ANGELINI et al. ¹⁴	5
BEMBI et al. ⁴⁷	6
STROTHOTTE et al. ⁹⁷	6
RAVAGLIA et al. ¹²³	5
REGNERY et al. ¹²⁴	5
MERK et al. ⁶⁷	5
VIELHABER et al. ¹²⁵	6
PAPADIMAS et al. ¹²⁶	5
CHO et al. ⁵⁴	6
NICOLINO et al. ⁵⁵	5
KISHNANI et al. ⁹⁴	5
ANSONG et al. ¹²⁷	6
LEVINE et al. ¹⁰⁶	4
KISHNANI et al. ¹⁰⁵	6

Nota: Pontuação (score): 0 a 3 pontos (baixa qualidade), 4 a 6 pontos (qualidade apropriada), 7 a 9 pontos (alta qualidade).

5.3 RESULTADOS DOS DESFECHOS ESTUDADOS

Dentre os 31 estudos selecionados para a revisão sistemática, 14 foram também utilizados para realização de metanálises.

Entre os 14 artigos incluídos nas metanálises, cinco artigos^{14, 47, 97, 123, 124} analisaram o teste de caminhada de 6 minutos (TC6M) como desfecho de avaliação da eficácia. E três destes artigos^{14, 97, 124} utilizaram também a avaliação da capacidade vital forçada (CVF) como referencial de avaliação. No referente à avaliação do nível sérico de creatinoquinase (CK), os artigos selecionados foram num total de seis^{47, 67, 123, 124, 125, 126}, sendo que três deles^{47, 123, 124} também foram citados nas duas outras variáveis previamente apresentadas. Com relação à quarta variável estudada, o índice de massa ventricular esquerda (IMVE), outros seis estudos^{54, 55, 94, 105, 106, 127} foram selecionados para metanálises.

Dos 275 pacientes com diagnóstico firmado de Doença de Pompe matriculados nos 14 estudos aqui abordados, 142 indivíduos (52%) eram do sexo masculino e 133 (48%) do sexo feminino. Considerando a classificação da doença em formas infantil e tardia, observa-se que 197 pacientes apresentavam a Doença de Pompe de início tardio e 78, a forma infantil.

Na análise dos indivíduos com Doença de Pompe de início tardio, foi possível observar que a média de idade dos primeiros sintomas variou de 2,5 a 36,2 anos; a média de idade do diagnóstico foi de 2,8 a 41,6 anos; e a média de idade no início da TRE foi de 12 a 53,4 anos. Nesses dados, dois estudos^{14, 97} não foram considerados por apresentarem informações incompletas.

O período de tratamento desses pacientes com alfa-glucosidase ácida ocorreu entre 6-54 meses de acordo com o estabelecido em cada estudo. A severidade dos sintomas apresentados foi diferente entre os doentes e o grau de fraqueza muscular, sintoma comumente relatado, também apresentou grau de variação. Os parâmetros de avaliação do grau de comprometimento geral apontados nos pacientes foram: uso de suporte ventilatório (invasivo ou não invasivo) e necessidade de suporte para deambular (muleta, andador ou cadeira de rodas). Observou-se que 55 pacientes (28%) necessitavam de algum tipo de suporte para deambular na linha de base; e 71 (36%) pacientes utilizavam suporte ventilatório, independentemente do tempo de utilização destes. As variáveis estudadas entre eles foram o Teste de caminhada de 6 minutos, a Capacidade vital forçada e o Nível de creatinoquinase.

Colocando em foco a apresentação dos pacientes com Doença de Pompe infantil, a variável estudada nessa população foi o índice de massa ventricular esquerda (IMVE) diante do comprometimento importante desse órgão. Os 6 artigos utilizados abordaram um total de 78

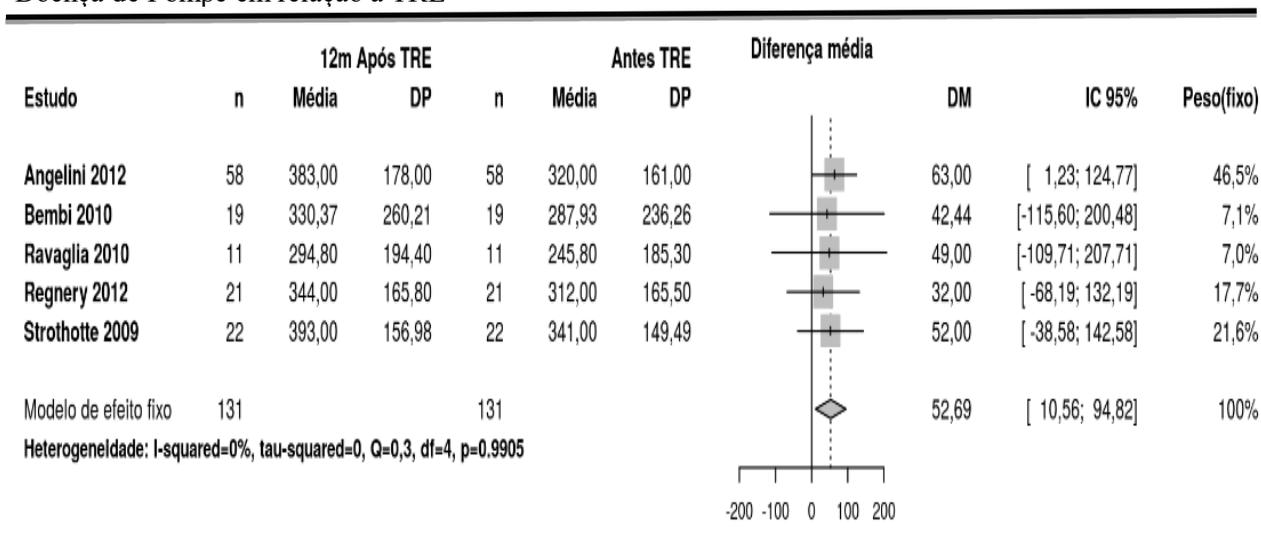
indivíduos (28%), conforme descrito acima, sendo 59% do sexo masculino e 41% do sexo feminino.

De acordo com o encontrado nos estudos, a média de idade nos primeiros sintomas variou de 1,6 a 5,8 meses; a média de idade no diagnóstico foi de 3,7 a 12,8 meses; e a média de idade no início da TRE foi de 4,6 a 15,7 meses. Em cinco estudos houve o relato de determinação da atividade da enzima alfa-glucosidase ácida < 1% em fibroblastos da pele. E somente um artigo⁵⁴ apresentou que tal teste diagnóstico foi em leucócitos do sangue. O tempo de uso da TRE nesses pacientes ocorreu entre 8-168 semanas.

Os resultados das avaliações do teste de hipótese de homogeneidade e das medidas metanalíticas (diferenças médias – DM e diferenças médias padronizadas – DMP) dos estudos utilizados em cada variável de interesse foram apresentados nos gráficos a seguir de acordo com os valores antes e após a TRE.

5.3.1 Metanálise realizada da variável teste de caminhada de 6 min (TC6M)

Gráfico 1- Indicadores metanalíticos das diferenças médias do TC6M nos estudos em pacientes com Doença de Pompe em relação à TRE



Legenda: n = número de indivíduos; TRE = Terapia de Reposição Enzimática; DP = desvio-padrão; DM = diferença média; IC = intervalo de confiança.

A variável abordada nessa primeira metanálise corresponde ao teste de caminhada de 6 minutos (TC6M) e seus resultados foram apresentados em metros (m). Essa metanálise realizada a partir de valores antes e após a Terapia de Reposição Enzimática com alfa-glucosidase ácida incluiu cinco estudos primários com pacientes diagnosticados com Doença de Pompe.

O gráfico de floresta apresentou visualmente a representação da diferença média de cada estudo marcada no centro do quadrado do referido estudo, enquanto que o intervalo de confiança foi representado pela linha que o atravessa. A diferença média representativa da metanálise foi visualizada pelo losango abaixo de todos os quadrados.

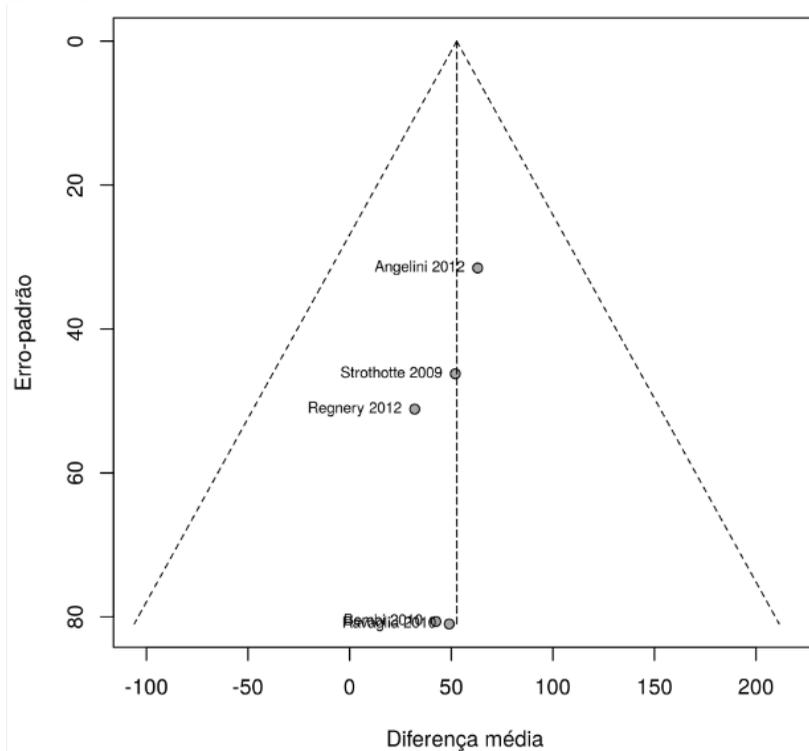
No teste de hipótese para homogeneidade não foi identificada heterogeneidade entre os estudos utilizados na metanálise realizada (I-squared=0%, tau-squared=0, Q=0,3, df=4, p=0,9905), sendo por isso utilizado o modelo de efeito fixo para obtenção da medida-resumo (DM = 52,69; IC95% [10,56; 94,82]).

No referente à análise do tamanho da amostra, o artigo de Angelini et al.¹⁴ representou o de maior peso (46,5%) nessa metanálise, assim como o de maior número de indivíduos (53); o que demonstrou uma relação direta entre esses indicadores.

Na observação dos intervalos de confiança, individualmente, foi possível identificar que em 4 estudos (BEMBI et al.⁴⁷; RAVAGLIA et al.¹²³; REGNERY et al.¹²⁴ e STROTHOTTE et al.⁹⁷) não houve diferença estatisticamente significativa com relação à variável estudada. Porém, nessa metanálise foi evidenciada uma diferença estatisticamente significativa no estudo de Angelini et al.¹⁴; e na medida-resumo de comparação entre todos os estudos selecionados (DM = 52,69; IC95% [10,56; 94,82]).

No gráfico de dispersão de funil (Gráfico 2), uma forma estatística de avaliar a existência de viés de publicação, não apresentou nenhum ponto de representatividade individual dos estudos além dos limites da forma geométrica de funil invertido. Isso demonstra a ausência de viés de publicação nessa análise.

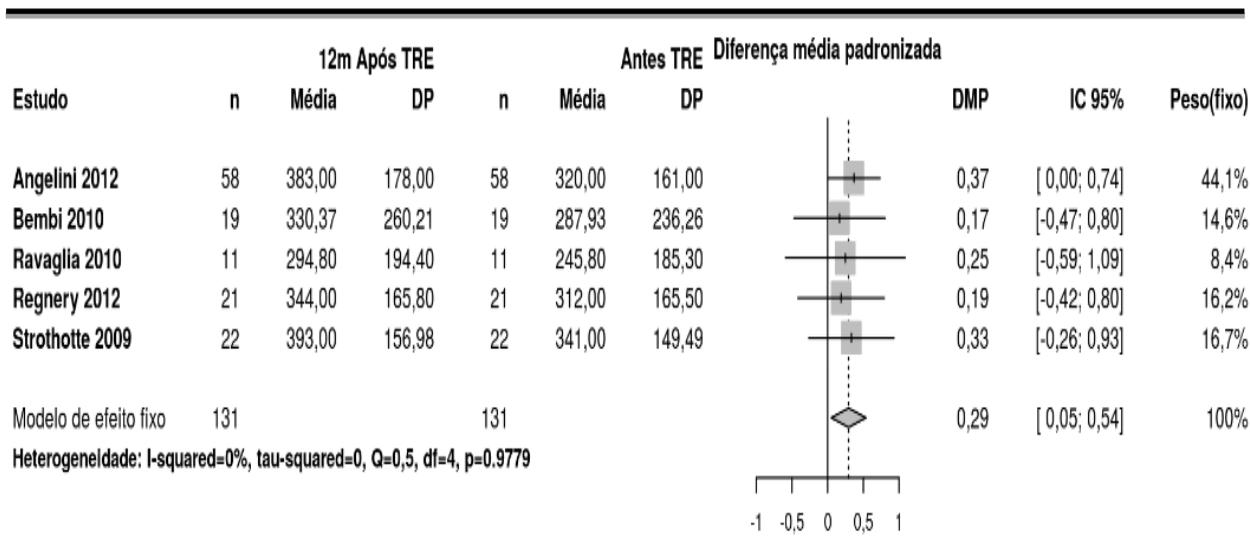
Gráfico 2- Gráfico de funil representando os estudos utilizados no TC6M com relação às diferenças médias



Considerando a dispersão do tamanho do efeito no eixo das abscissas em relação ao tamanho da amostra no eixo das ordenadas, os cinco diferentes estudos se apresentaram em torno da linha central (tamanho do efeito) de acordo com o poder estatístico e o tamanho amostral de cada um deles. Logo, o estudo de Ravaglia et al.¹²³, que apresentou o menor tamanho de amostra, encontrou-se próximo a base do gráfico e chegou a se confundir com o estudo de Bemi et al.⁴⁷ diante do valor da diferença média assumido por cada um deles (DM = 49; 42,4, respectivamente), tornando-os próximos.

Acompanhando os demais estudos, foi observado proximidade também, porém não tanto, entre dois outros estudos, Regnery et al.¹²⁴ e Strothotte et al.⁹⁷, fato compatível com a representatividade numérica das amostras de 21 e 22 indivíduos, respectivamente; mas com certa distância entre eles devido ao valor das diferenças médias (DM= 32; 52, respectivamente). O estreitamento maior da dispersão ocorreu no momento da apresentação gráfica do estudo de Angelini et al.¹⁴ que se encontrou na extremidade superior do gráfico; e representou o estudo de maior precisão e tamanho.

Gráfico 3- Indicadores metanalíticos das diferenças médias padronizadas do TC6M nos estudos em pacientes com Doença de Pompe em relação à TRE



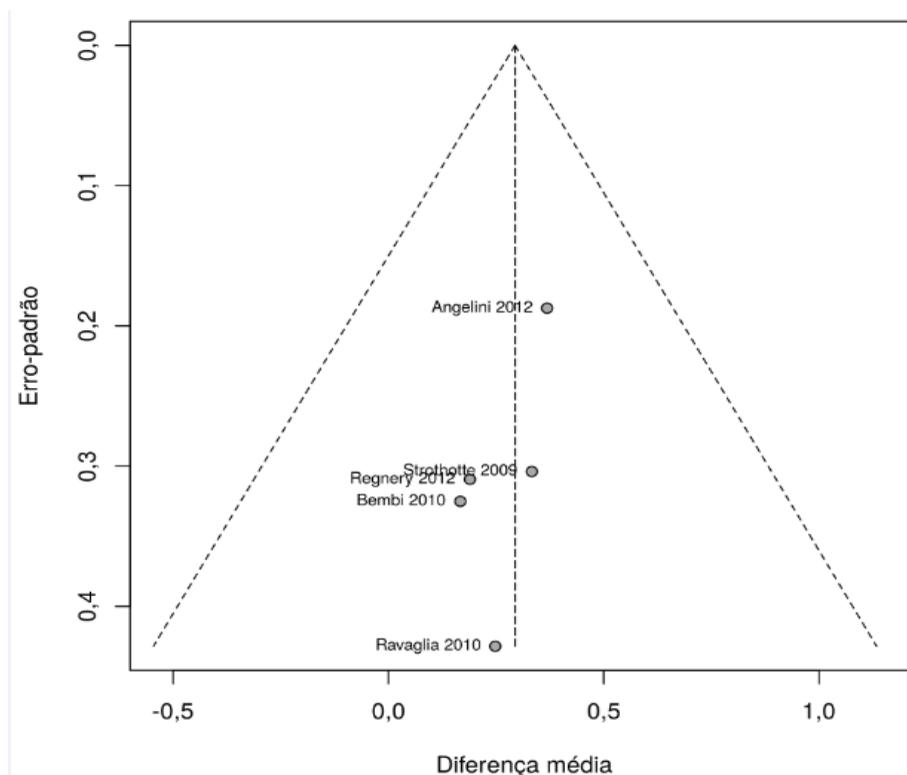
Legenda: n = número de indivíduos; TRE = Terapia de Reposição Enzimática; DP = desvio-padrão; DMP = diferença média padronizada; IC = intervalo de confiança.

Nesse momento, foram utilizados os dados referentes à mesma variável de TC6M em pacientes com Pompe, porém com apresentação do tamanho de efeito padronizado (diferença média padronizada). Essa padronização foi realizada através da utilização do desvio-padrão no denominador do cálculo. A heterogeneidade também não foi observada (I-squared=0%, tau-squared=0, Q=0,5, df=4, p=0,9779) e o modelo de efeito fixo para obtenção da medida-resumo foi o utilizado (DMP = 0,29; IC95% [0,05; 0,54]).

No tamanho da amostra, as informações foram mantidas por se tratarem dos mesmos estudos descritos anteriormente. Individualmente, nenhum dos 5 artigos em estudo apresentou diferença estatística significativa; ao contrário do observado no valor do tamanho de efeito correspondente à medida-resumo que assumiu diferença estatisticamente significativa (DMP = 0,29; [0,05; 0,54]).

Diante da padronização da diferença média, foi possível avaliar a magnitude do efeito através da convenção de Cohen que assume os seguintes valores (DMP = d ; $0,20 \leq d < 0,50$ = pequena magnitude; $0,50 \leq d < 0,80$ = média magnitude; e $d \geq 0,80$ = grande magnitude). Destarte, a TRE sob essa variável exerceu efeito de pequena magnitude.

Gráfico 4- Gráfico de funil referente aos estudos utilizados no TC6M com relação às diferenças médias padronizadas

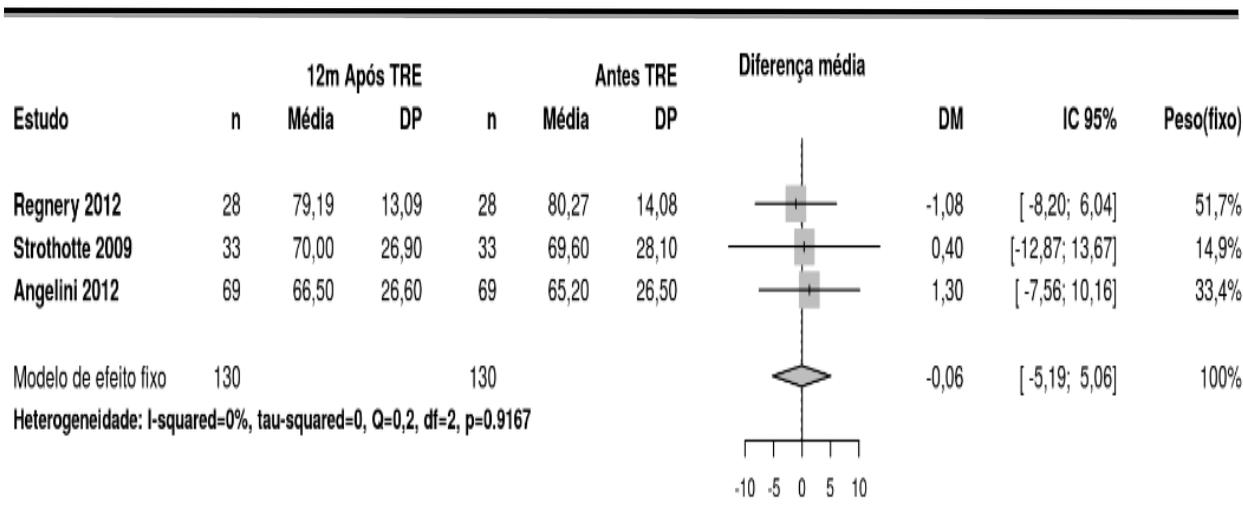


Esse gráfico de dispersão de funil com representação das diferenças médias padronizadas também não apresentou viés de publicação. E considerando a dispersão dos estudos, notou-se que os pontos representando cada estudo não se sobrepõem em nenhum momento diante da relação mantida entre tamanho da amostra e tamanho do efeito.

5.3.2 Metanálise realizada da variável capacidade vital forçada

A metanálise realizada com o teste de função pulmonar da capacidade vital forçada correlacionou valores em percentil preditivo do normal (%) obtidos antes e após a Terapia de Reposição Enzimática através de espirometria, com o indivíduo na posição em pé (Gráfico 5).

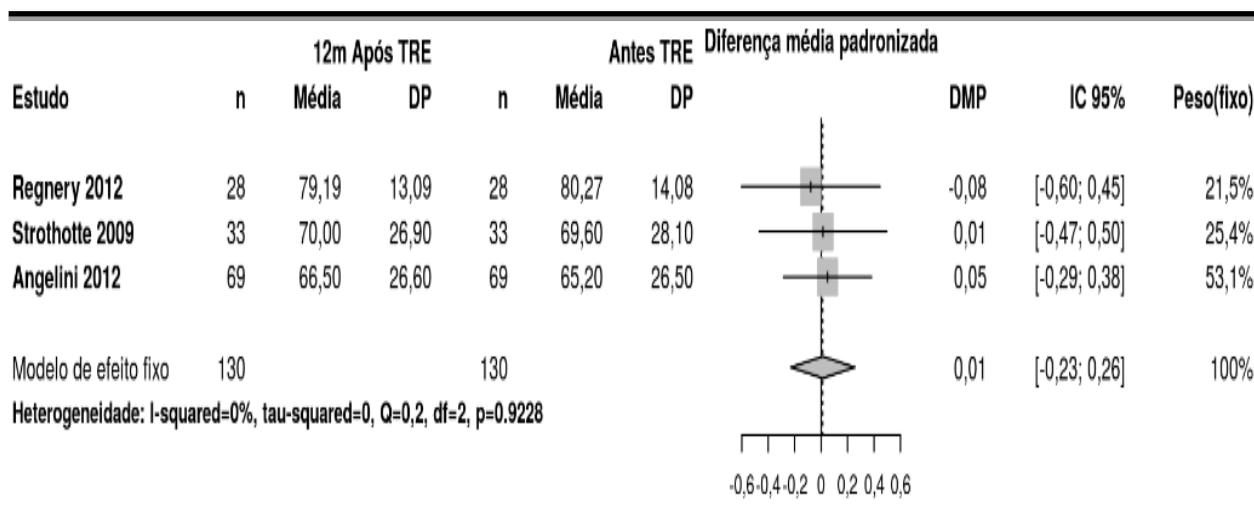
Gráfico 5- Indicadores metanalíticos das diferenças médias da CVF nos estudos em pacientes com Doença de Pompe em relação à TRE



Legenda: n = número de indivíduos; TRE = Terapia de Reposição Enzimática; DP = desvio-padrão; DM = diferença média; IC = intervalo de confiança.

Os três estudos primários não apresentaram heterogeneidade (I-squared=0%, tau-squared=0, Q=0,2, df=2, p=0,9167), sendo por isso utilizado o modelo de efeito fixo para obtenção da medida-resumo (DM = -0,06; IC95% [-5,19; 5,06]). Na observação dos intervalos de confiança individualmente, os três estudos não apresentaram diferença estatisticamente significativa com relação à variável estudada. E isso também pôde ser evidenciado na medida de efeito, que não apresentou diferença estatisticamente significativa (DM = -0,06; IC95% [-5,19; 5,06]).

Gráfico 6- Indicadores metanalíticos das diferenças médias padronizadas da CVF nos estudos em pacientes com Doença de Pompe em relação à TRE



Legenda: n = número de indivíduos; TRE = Terapia de Reposição Enzimática; DP = desvio-padrão; DMP = diferença média padronizada; IC = intervalo de confiança.

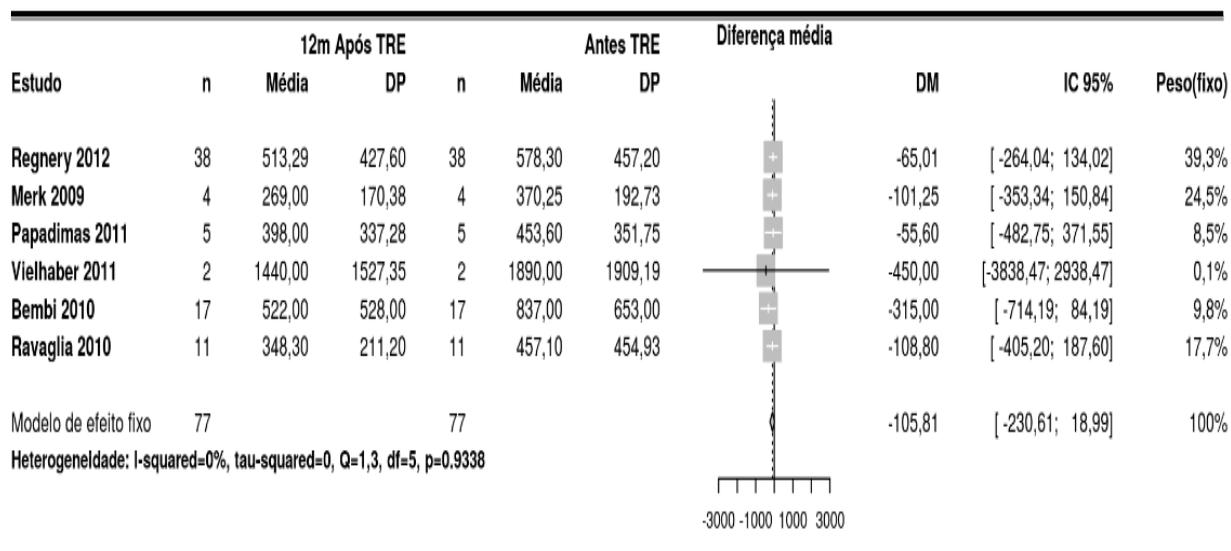
Na análise da capacidade vital forçada através de diferenças médias padronizadas, observou-se a correlação esperada entre o tamanho da amostra e o peso de cada estudo na metanálise. Um exemplo foi o estudo de Angelini et al (2012)¹⁴, que representou um peso de 53,1% nessa metanálise diante do tamanho da amostra igual a 69 indivíduos (total = 130). A heterogeneidade também não foi observada (I-squared=0%, tau-squared=0, Q=0,2, df=2, p=0,9228) e a medida-resumo foi realizada através do modelo de efeito fixo (DMP = 0,01; IC95% [-0,23; 0,26]).

Os três artigos utilizados não apresentaram diferença estatística significativa, assim como o tamanho de efeito. E considerando a análise de Cohen a diferença média padronizada do tamanho do efeito nesta metanálise (DMP = 0,01) encontrou-se fora dos intervalos estabelecidos para classificação da magnitude do efeito. Logo, não teve efeito.

5.3.3 Metanálise realizada do nível sérico de creatinoquinase (CK)

No gráfico infra, foram apresentados os dados da variável nível sérico de creatinoquinase (U/L) antes e após o uso de Terapia de Reposição Enzimática. O valor negativo das diferenças médias teve representatividade positiva, pois CK reduzida correspondeu a sinal de melhora.

Gráfico 7- Indicadores metanalíticos das diferenças médias do nível sérico de CK nos estudos em pacientes com Doença de Pompe em relação à TRE

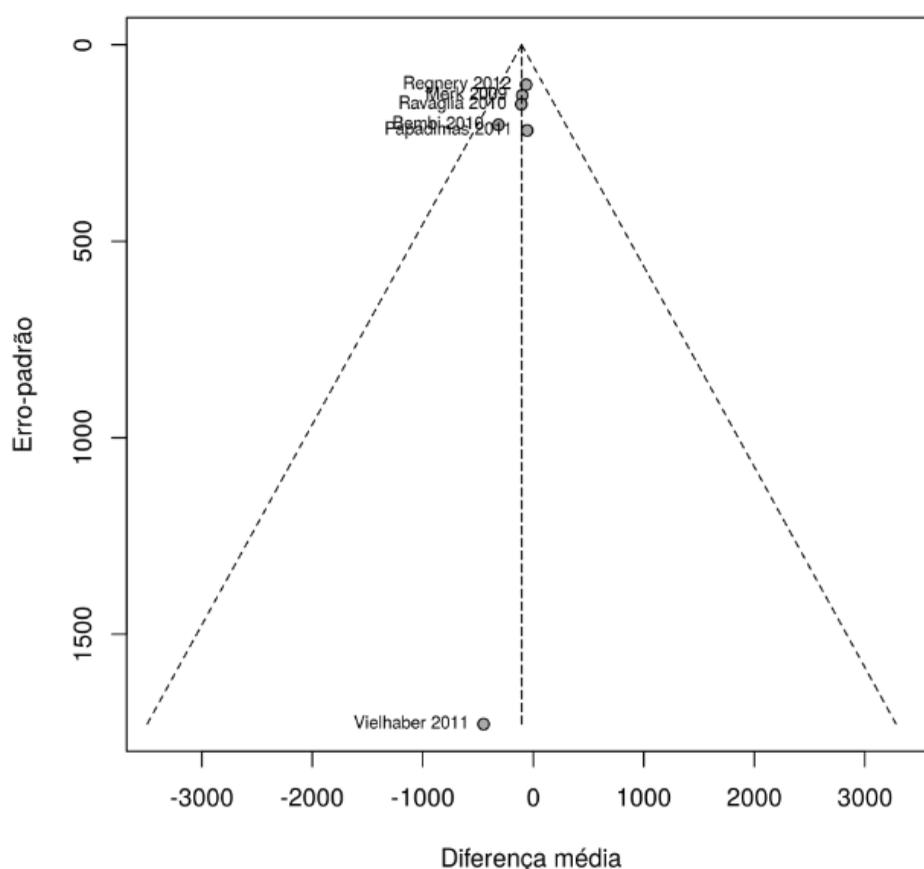


Legenda: n = número de indivíduos; TRE = Terapia de Reposição Enzimática; DP = desvio-padrão; DM = diferença média; IC = intervalo de confiança.

Essa metanálise não apresentou heterogeneidade (I-squared=0%, tau-squared=0, Q=1,3, df=5, p=0,9338) e o modelo de efeito fixo foi utilizado para obtenção da medida-resumo (DM = -105,81; IC95% [-230,61; 18,99]).

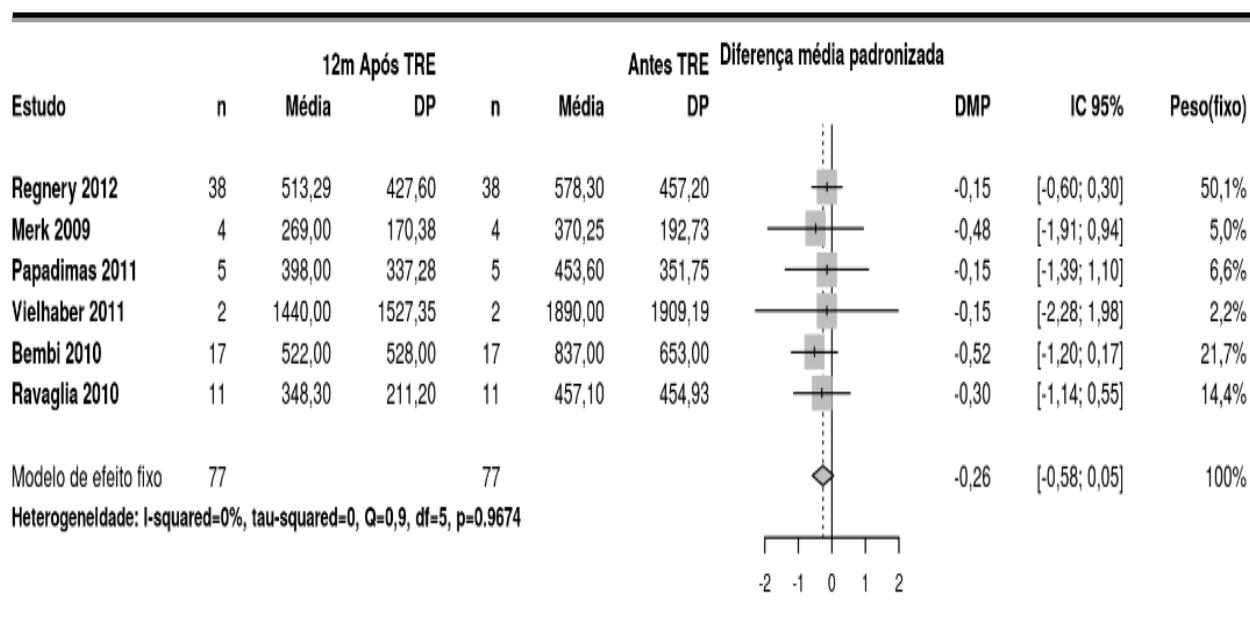
Com relação aos intervalos de confiança, os seis estudos e a medida de efeito não apresentaram diferença estatisticamente significativa. Além disso, foi possível observar uma relação inversa entre tamanho de amostra e intervalo de confiança nos seguintes estudos: estudo de Vielhaber et al.¹²⁵ apresentou o maior intervalo de confiança e o menor tamanho de amostra; ao contrário de Regnery et al.¹²⁴, que apresentou maior número de amostra (38 indivíduos) e intervalo de confiança menos alargado [- 264,04; 134,02]. Eles mantiveram também uma relação, sendo que direta, entre o tamanho da amostra e o peso individualizado desses dois estudos: o de maior amostra correspondeu ao de maior peso. Porém, os demais estudos não mantiveram uma relação entre o tamanho da amostra, o intervalo de confiança e o peso.

Gráfico 8- Gráfico de funil representando os estudos utilizados na avaliação de CK com relação às diferenças médias



A representação do gráfico de funil com as diferenças médias do nível de creatinoquinase antes e após a TRE também não apresentou viés de publicação (Gráfico 8). Na dispersão dos estudos, notou-se que apenas o estudo de Vielhaber et al.¹²⁵ se apresentou na base da figura, enquanto que os demais se concentraram próximo ao topo da figura numa sequência diferente do esperado quando se considerou o tamanho da amostra e o peso de cada estudo.

Gráfico 9- Indicadores metanalíticos das diferenças médias padronizadas do nível sérico de CK nos estudos em pacientes com Doença de Pompe em relação à TRE

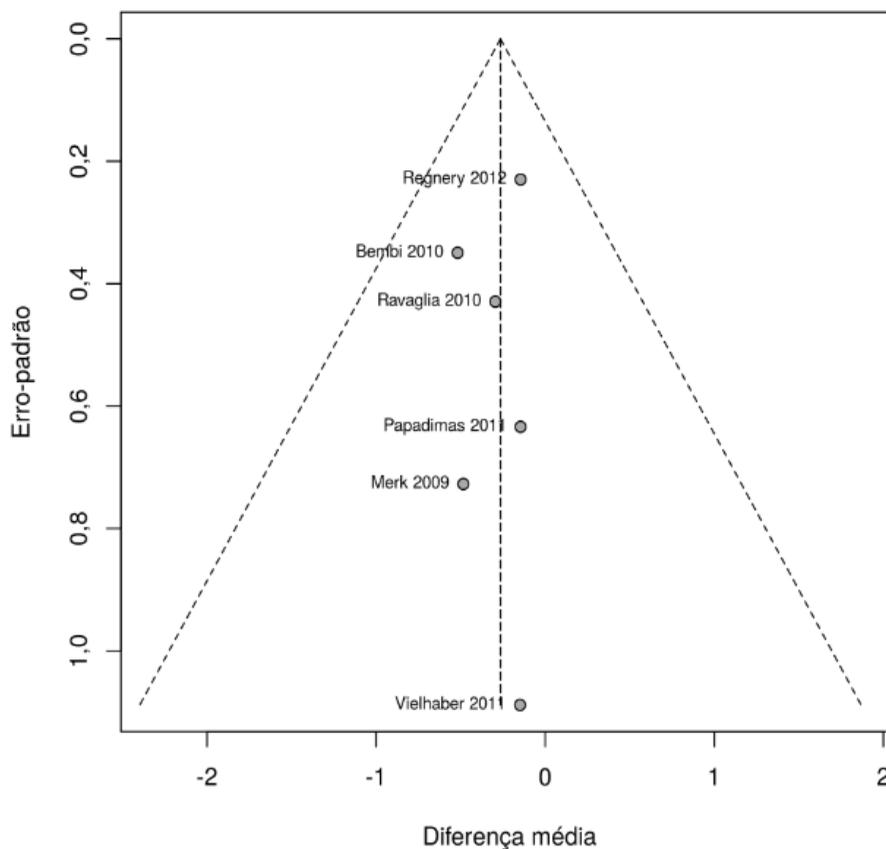


Legenda: n = número de indivíduos; TRE = Terapia de Reposição Enzimática; DP = desvio-padrão; DMP = diferença média padronizada; IC = intervalo de confiança.

A metanálise realizada também com o nível de creatinoquinase, sendo que com diferenças médias padronizadas, não identificou heterogeneidade entre os estudos (I-squared=0%, tau-squared=0, Q=0,9, df=5, p=0,9674). Através dos intervalos de confiança não foi evidenciada diferença estatisticamente significativa em todos os estudos, nem mesmo na medida de tamanho de efeito padronizado (DMP = 0,26; IC95% [-0,58; 0,05]).

Na interpretação da diferença média padronizada do tamanho do efeito, utilizando a análise de Cohen, esta metanálise apresentou-se de magnitude pequena. Ressaltando que o valor considerado da DMP (-0,26), é o absoluto, independente do sinal.

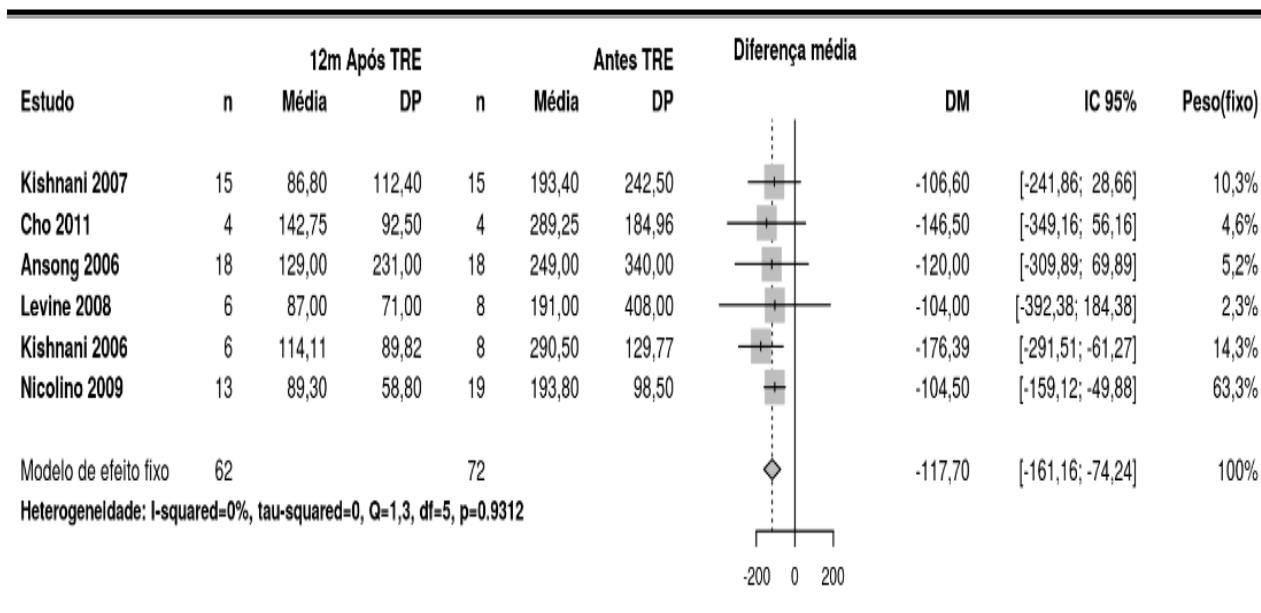
Gráfico 10- Gráfico de funil referente aos estudos utilizados na avaliação de CK com relação às diferenças médias padronizadas



Não foi observado viés de publicação nessa metanálise e as diferenças médias padronizadas se dispersaram pelo gráfico de funil mantendo uma relação entre as características dos estudos no referente ao tamanho da amostra e o peso do estudo. Assim, Vielhaber et al.¹²⁵ se manteve na base da figura ($n = 2$; peso = 2,2%); Regnery et al.¹²⁴ mais próximo ao topo ($n = 38$; peso = 50,1%); e os demais estudos se apresentaram no gráfico entre eles dois numa sequência crescente desses indicadores.

5.3.4 Metanálise realizada da variável índice de massa ventricular esquerda

Gráfico 11- Indicadores metanalíticos das diferenças médias do IMVE nos estudos em pacientes com Doença de Pompe em relação à TRE



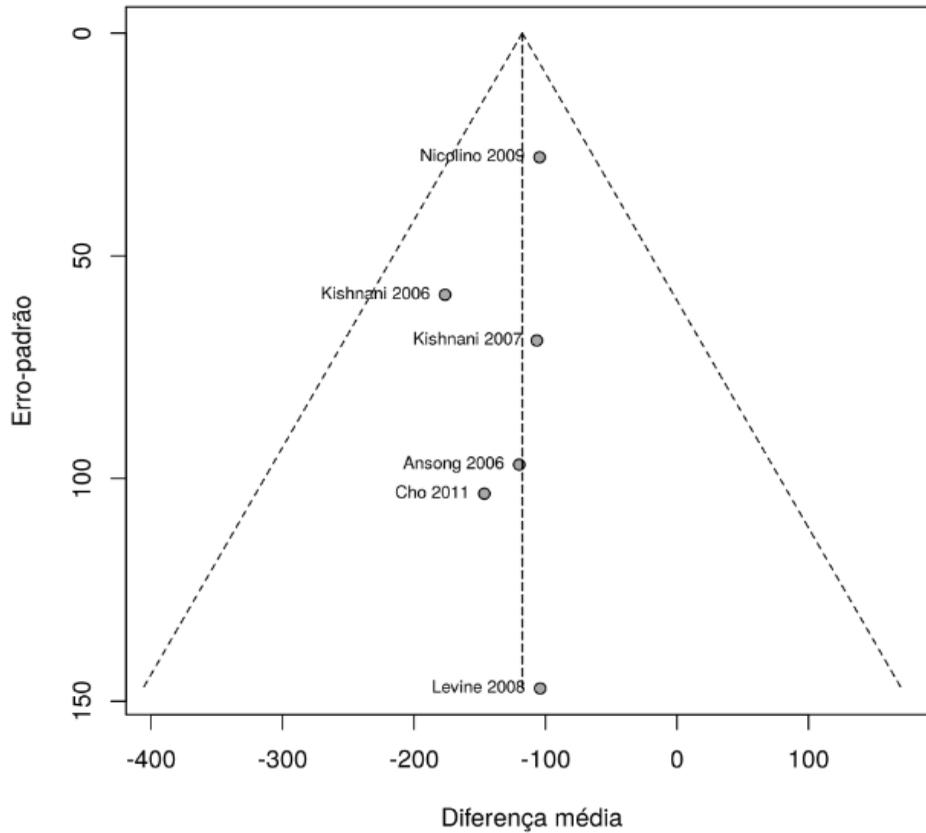
Legenda: n = número de indivíduos; TRE = Terapia de Reposição Enzimática; DP = desvio-padrão; DM = diferença média; IC = intervalo de confiança.

A metanálise dos seis estudos primários com medidas de IMVE feitas antes e após da TRE não identificou heterogeneidade entre eles (I-squared=0%, tau-squared=0, Q=1,3, df=5, p=0,9312), sendo utilizado o modelo de efeito fixo para obtenção da medida-resumo (DM = -117,70; IC95% [-161,16; -74,24]).

Entre as diferenças médias nos estudos, dois evidenciaram diferença estatisticamente significativa: Kishnani et al.⁹⁴ e Nicolino et al.⁵⁵. O mesmo ocorreu na avaliação da medida de efeito, onde também foi identificada diferença estatisticamente significativa.

Na apresentação dos intervalos de confiança e do peso dos seis estudos não houve uma relação direta entre eles.

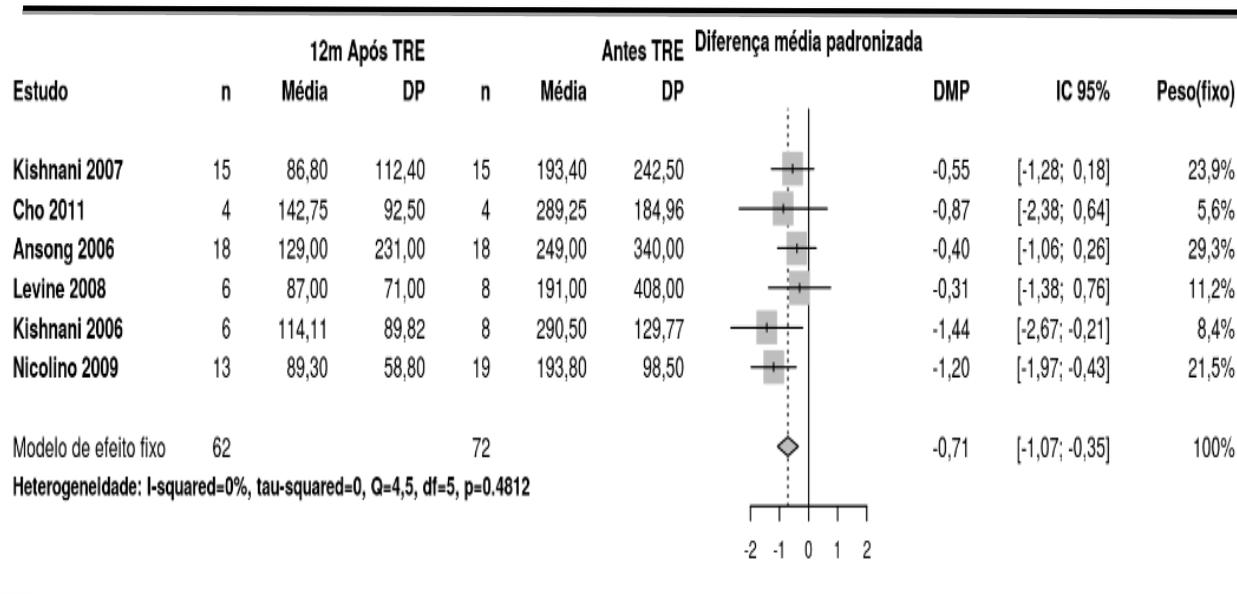
Gráfico 12- Gráfico de funil representando os estudos utilizados na avaliação do IMVE com relação às diferenças médias



A apresentação dos estudos primários através do ponto referente a cada um deles dentro da figura determinou a ausência de viés de publicação nessa metanálise.

A dispersão representativa desses estudos não pôde ser entendida através da utilização da relação entre o valor do peso de cada estudo na metanálise, o número da amostra e a homogeneidade.

Gráfico 13- Indicadores metanalíticos das diferenças médias padronizadas do IMVE nos estudos em pacientes com Doença de Pompe em relação à TRE



Legenda: n = número de indivíduos; TRE = Terapia de Reposição Enzimática; DP = desvio-padrão; DMP = diferença média padronizada; IC = intervalo de confiança.

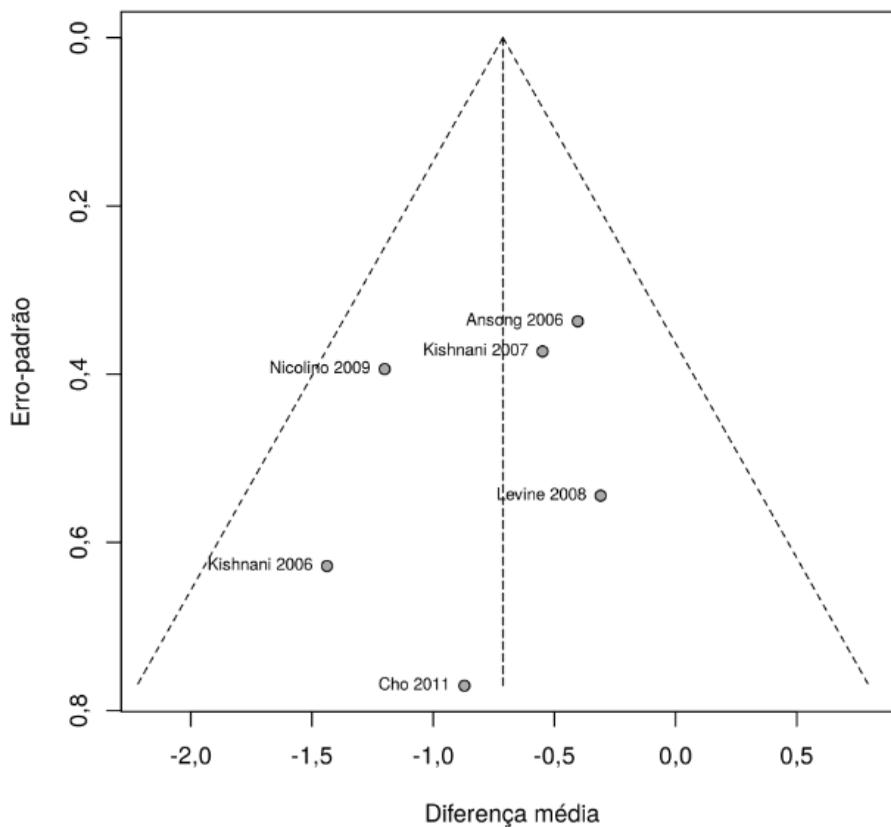
Na metanálise realizada através das diferenças médias padronizadas para comparação dos índices de massa ventricular esquerda antes e após TRE foram mantidos os 6 estudos primários.

Em função da homogeneidade observada (I-squared=0%, tau-squared=0, Q=4,5, df=5, p=0,4812), o modelo do efeito fixo foi utilizado para determinação da medida de efeito padronizada (DMP = -0,71; IC95% [-1,07; -0,35]).

Nos estudos de Kishnani et al.⁹⁴ e Nicolino et al.⁵⁵ permaneceu sendo identificada diferença média estatisticamente significante, ao contrário dos outros quatro estudos. Também foi identificada medida de efeito padronizada estatisticamente significante conforme DMP apresentada acima.

O coeficiente de Cohen, utilizado para avaliação do tamanho do efeito, assumiu a posição de média magnitude (DMP = -0,71), se diferenciando e merecendo destaque em relação às demais diferenças médias padronizadas das outras três variáveis (TC6M, CVF, CK).

Gráfico 14- Gráfico de funil referente aos estudos utilizados no IMVE com relação às diferenças médias padronizadas



Não observada a presença de viés de publicação de acordo com o gráfico acima. Ainda, a dispersão representativa dos estudos primários dentro da figura ocorreu de forma padronizada considerando os valores das medidas-resumo, o tamanho geral da amostra, o tamanho e peso de cada estudo e a homogeneidade.

6 DISCUSSÃO

6.1 PRINCIPAIS ACHADOS E LIMITAÇÕES DOS ESTUDOS INCLUÍDOS

A gravidade do comprometimento multissistêmico na Doença de Pompe associada à rápida evolução da doença aponta para a importância do diagnóstico precoce e da instituição terapêutica o mais breve possível¹¹.

No referente à terapia enzimática, estudos foram realizados antes mesmo de ela ter sido aprovada em 2006, a exemplo de um estudo piloto com quatro pacientes com a forma infantil clássica da DP. A terapia se demonstrou segura e com efeitos positivos observados após o período de utilização, merecendo destaque o aumento da expectativa de vida^{107, 128, 129}. À medida que foram expandindo os estudos, foram incluindo também a avaliação de pacientes com a forma tardia da doença diante do número de pacientes acometidos. E segundo relatos, o primeiro estudo com tal população acompanhou três jovens que receberam semanalmente infusões de α -glucosidase derivada de leite de coelho por um período de três anos, o que demonstrou efeito terapêutico¹³⁰.

Na sequência, estudos têm sido realizados para avaliar a eficácia clínica e a segurança do uso da TRE nas diferentes faixas etárias acometidas pela doença através de uma série de variáveis¹⁴.

Vale ressaltar que quando se busca evidências sobre eficácia de uma intervenção, os estudos que incluem ensaio clínico randomizado são considerados os mais adequados para analisar questões relacionadas a tal situação. Porém, durante a etapa de seleção dos estudos a serem incluídos nas metanálises houve uma grande limitação na utilização dos ensaios clínicos encontrados (total=3). Dentre esses, um dos estudos foi acessível apenas em forma de resumo e os outros dois eram complementares ao considerarem o processo de extensão do tempo de uso da terapia enzimática.

Um ponto limitante no desenvolvimento de ensaios clínicos foi justificado nos diferentes estudos pela questão antiética de submeter um grupo de pessoas com diagnóstico de Doença de Pompe a tratamento placebo, mesmo diante de uma terapia que já possui efeitos positivos na evolução de uma doença considerada potencialmente grave. Frente a isso, os estudos selecionados nesse trabalho foram utilizados como forma de obter uma medida de efeito “proxy” (aproximada), ao invés da medida verdadeira e pura; pois esta deve ser obtida através de ensaios clínicos.

Alguns estudos têm sido desenhados e desenvolvidos, porém não são considerados suficientes diante de uma doença que se apresenta de formas variadas, com rápida progressão do quadro e consequências debilitantes ou mesmo fatais. Um fato que ratificou tal situação foi

o número de publicações disponíveis nas bases de dados consultadas e o tipo de informações por elas abordadas.

Dos 44 estudos selecionados inicialmente, apenas 14 apresentavam informações que pudessem ser utilizadas como medidas de avaliação/comparação do efeito da terapia enzimática. Após a pesquisa inicial, a adequação dos componentes a serem estudados ocorreu de acordo com o tipo de informação que estava sendo apresentada em cada estudo na tentativa de viabilizar a realização de análise estatística. Sendo assim, o número de estudos analisados nas metanálises é pequeno, principalmente se considerado que o número de estudos excluídos na etapa final foi maior que o de selecionados.

Diante da existência de poucos estudos publicados, as metanálises foram realizadas considerando o máximo de informações da literatura mesmo com certa heterogeneidade da população acometida pela Doença de Pompe. Os pacientes estavam em vários estágios da doença, porém em nenhum estudo escolhido a população era exclusivamente de pacientes muito graves, e quando isso ocorreu o estudo foi excluído. Houve a tentativa de agrupamento dos doentes que puderam ser avaliados de acordo com a variável de interesse em questão e considerando certa homogeneidade no referente à média de idade no início da apresentação dos sintomas relacionados com a doença; à média de idade no período do diagnóstico e no momento de início da Terapia de Reposição Enzimática com alfa-glucosidase.

A maioria dos estudos selecionados para pesquisa da TRE em Pompe não houve a utilização de dois grupos em paralelo para comparação entre pacientes tratados e não tratados (uso de placebo) diante da questão ética envolvida, pois os indivíduos submetidos a TRE anteriormente apresentaram resultados favoráveis a tal terapia. Logo, na sua maioria, os estudos consideraram avaliações de variáveis no mesmo indivíduo antes e após o tratamento.

As variáveis de interesse abordadas como indicadores de análise da eficácia da TRE no presente estudo foram: teste de caminhada de 6 minutos (TC6M), capacidade vital forçada (CVF), nível sérico de creatinoquinase (CK) e índice de massa ventricular esquerda (IMVE).

Acreditando que os doentes receberam o tratamento com TRE de modo adequado e que as variáveis de interesse foram aferidas corretamente, a próxima etapa foi a análise dos resultados obtidos de cada estudo. Os resultados das 8 metanálises realizadas nesse estudo a partir da avaliação das 4 variáveis citadas serão apresentados contextualmente.

A busca de estudos com população de características semelhantes para agrupamento entre as variáveis considerou a importância do aumento do tamanho das amostras por combinação de estudos. Afinal, quanto maior o tamanho da amostra, considerando a manutenção de outros fatores, maior a probabilidade de se encontrar diferença estatisticamente

significante aliada à redução do grau de incerteza sobre os efeitos benéficos ou indesejáveis da intervenção realizada¹³¹.

A cada variável estudada, o tamanho da amostra total foi diferente de acordo com os estudos incluídos naquela análise. Porém, também foi possível observar um número de amostra diferente quando considerado o mesmo estudo devido à necessidade de adequação da amostra de acordo com o número de doentes capazes de realizar determinado teste em avaliação. Um exemplo disso pode ser observado no estudo de Regnery et al.¹²⁴ onde o tamanho da amostra apresentou o seguinte número de indivíduos de acordo com a variável em questão: TC6M (n=21), CVF (n= 28) e CK (n= 38).

A análise inicial dos dados primários de cada estudo foi realizada quantitativamente através da extração de dados contínuos que foram submetidos a um cálculo de diferença entre os valores médios observados antes e após a intervenção (tratamento com TRE). Essa diferença média (DM) representou a medida de efeito da intervenção em cada estudo para a variável em questão e pode ser apresentada também como tamanho/dimensão ou magnitude de efeito. Outra medida de efeito estudada foi a diferença média padronizada (DMP), onde a padronização, a partir da utilização do desvio-padrão no denominador do cálculo de diferença entre os valores médios, foi realizada a fim de viabilizar a comparação direta entre estudos usando o mesmo índice de efeito^{132, 133}.

As diferenças médias dos estudos incluídos em cada variável de interesse, sendo elas padronizadas ou não, forneceram uma medida-resumo durante o cálculo estatístico, também denominado de tamanho de efeito médio ponderado. Este foi analisado e seu resultado permitiu reconhecer a magnitude do efeito da intervenção (TRE) em cada variável.

A análise de magnitude do efeito da medida-resumo padronizada de cada variável foi realizada através da comparação com os valores pré-estabelecidos da análise de Cohen (DMP = d ; $0,20 \leq d < 0,50$ = pequena magnitude; $0,50 \leq d < 0,80$ = média magnitude; e $d \geq 0,80$ = grande magnitude)¹³⁴.

No momento em que a diferença média padronizada representativa de uma intervenção sobre a variável é obtida, esta estará codificando a informação quantitativa crítica nos estudos.

No contexto desse estudo, a medida-resumo padronizada de cada variável se classificou conforme especificada no Quadro 6:

Quadro 6- Medida resumo padronizada e magnitude por variável de estudo

VARIÁVEL	DMP	MAGNITUDE
TC6M	0,29	PEQUENA MAGNITUDE
CVF	0,01	SEM PODER DE EFEITO
CK	0,26	PEQUENA MAGNITUDE
IMVE	0,71	MÉDIA MAGNITUDE

Notou-se que a DMP da variável IMVE assumiu o maior valor, ao considerar valores absolutos, e se aproximou do intervalo de grande magnitude.

O intervalo de confiança apresentado a cada diferença média definiu os limites superior e inferior de um conjunto de valores com certa probabilidade de conter o valor verdadeiro do efeito da intervenção. Assim, o intervalo de confiança permitiu conhecer a precisão com que o estudo estima certo efeito, mas também possibilitou considerar se o achado é estatisticamente significativo para um dado nível de significância. Logo, se no intervalo de confiança estiver o valor nulo de efeito, o estudo será sem significância estatística (inconclusivo)¹³⁴. Quanto menor o tamanho da amostra, menor a chance de significância estatística frente a um intervalo de confiança alargado. Enquanto que estudos com amostras maiores tendem a apresentar menor intervalo de confiança com estimativas de efeito mais precisas¹³⁴.

Colocando em avaliação os estudos apresentados nas diferentes metanálises, foi observado que, individualmente, os estudos mostraram diferença estatisticamente significativa nas seguintes situações: estudo de Angelini et al.¹⁴ na variável TC6M com relação à diferença média; e dois estudos primários^{55,94} da variável IMVE em ambas as metanálises nos cálculos de diferença média e diferença média padronizada. Os demais estudos não apresentaram diferença estatisticamente significativa. Analisando a medida-resumo, esta também se apresentou estatisticamente significativa no TC6M e no IMVE no referente à diferença média e diferença média padronizada.

O peso fixo observado na análise da diferença média padronizada de cada variável apresentou em todos os estudos, individualmente, uma relação com o tamanho da amostra. E somente no caso da variável TC6M que apresentou tal relação em ambas as análises de diferença média e diferença média padronizada.

A avaliação de viés de publicação também foi realizada a partir da inspeção do gráfico de funil. Em todos os estudos foi observado ausência de viés de publicação e a representação gráfica permitiu a visualização de forma mais clara das características de cada estudo quando

considerado a diferença média padronizada distribuída em torno da medida-resumo padronizada da variável correspondente.

Em consonância com uma das variáveis estudadas neste trabalho, foi possível observar que a maioria dos estudos excluídos (13 dentre 16) abordava a CVF. Porém, nenhum deles pode ter seus valores utilizados diante das diferentes maneiras que os pesquisadores desenharam seus estudos e das formas de apresentação e análise dos dados. Ainda assim, outros dois artigos^{67, 120} tinham dados de variáveis analisadas nesse estudo, todavia, não puderam ser utilizados. Um estudo⁶⁷ apresentou desvio-padrão zero impossibilitando o cálculo de variabilidade, e o outro artigo¹²⁰ apresentou uma população gravemente comprometida pela Doença de Pompe ao ponto de modificar exageradamente os indicadores utilizados para avaliação. Optado por retirar os dois estudos e manter a utilização de estudos o mais homogêneos possível para um processo de comparação inserido num contexto em comum.

Na busca de estudos durante a etapa de revisão sistemática foi encontrado um artigo¹⁰⁹ cujo título fazia referência a uma revisão sistemática da literatura com Terapia de Reposição Enzimática em pacientes com Doença de Pompe de início tardio. No artigo houve a descrição de características de 21 estudos nele analisados com apresentação dos resultados clínicos qualitativamente (melhorou, diminuiu, permaneceu estável) de acordo com os resultados apresentados nas publicações originais. Foi apontado também que análises estatísticas não foram possíveis pela heterogeneidade das populações de pacientes e dos dados extraídos dos desfechos. Duas das variáveis apontadas no artigo de revisão estavam em comum com o atual trabalho (teste de caminhada de 6 minutos e nível de creatinoquinase).

No teste de caminhada de 6 minutos (TC6M), dos 21 estudos escolhidos pelo artigo de revisão¹⁰⁹, 10 apresentavam informações descritivas sobre a tendência de melhora observada nesses estudos e segundo informado não havia informações sobre os valores médios nos artigos originais. Porém, em contradição, 5 estudos^{14, 47, 97, 124, 126}, dentre esses 10, foram utilizados e apresentados através de duas metanálises com medidas de efeito (diferença média e da diferença média padronizada) obtidas dos valores nas publicações originais. Dentre esses 5 artigos da metanálise, somente um¹⁴ foi considerado estatisticamente significativo na avaliação, o que poderia representar a melhora relatada no estudo de revisão em questão.

Especulando também o nível sérico de creatinoquinase, o artigo de revisão sistemática¹⁰⁹ apontou que cerca de 11 estudos apresentaram informações a respeito dessa variável. Destes, 10 informaram decréscimo do valor representando melhora, e apenas um estudo¹²² apresentou aumento da CK. Nas metanálises do presente estudo, apenas 5 estudos^{47, 67, 124, 126, 127} foram aqui apresentados na avaliação de CK por permitirem a realização de análise

estatística a partir da apresentação de medidas quantitativas do antes e do após a terapia. Além destes, mais um estudo¹²⁵ também foi incluído na metanálise por apresentar tais informações, mesmo este tendo sido citado no texto de revisão como não tendo apresentado informações a respeito de CK. Ressaltando também que dois estudos foram desconsiderados nas metanálises: um estudo¹³⁰ devido ao ano de publicação ser anterior ao limite utilizado para inclusão de estudo na metanálise; e o outro estudo¹²⁰, por apresentar tais características relacionadas a uma população gravemente comprometida se diferenciando de forma importante dos demais. De acordo com a observação dos estudos selecionados: dois deles^{124, 126} apresentaram diretamente as médias com desvio padrão; três^{67, 125, 127} apresentaram dados brutos que permitiram cálculo adequado e padronização; e um deles⁴⁷ que, para fim de comparabilidade com os demais estudos, se assumiu os valores das medianas como sendo iguais aos das médias e os valores dos intervalos interquartis corresponderam aos valores para desvio-padrão.

No referente à capacidade vital forçada, a metanálise apontou que a diferença média e a diferença média padronizada não foram estatisticamente significantes; e diante da análise de Cohen foi considerada sem magnitude de efeito. Na observação de outros estudos, que não os apresentados nas metanálises de CVF, foi possível relacionar alguns deles^{49, 107, 114, 116} que apontaram para estabilização ou melhora do quadro clínico apresentado, assim como para declínio¹¹⁷, após o uso dessa terapia. Porém, os dados não estavam de acordo com a forma de avaliação de tal variável e se diferenciaram até mesmo na posição assumida pelo doente no momento da avaliação. Em contrapartida, o primeiro estudo placebo-controlado (*Placebo-controlled study of alglucosidase alfa in adults with Pompe disease*) com população de pacientes com a forma tardia da DP tratados com TRE demonstrou melhora da CVF em comparação com o grupo placebo; assim como outro ensaio clínico¹¹¹ seguinte considerou aumento significativo da CVF em pacientes tratados por 78 semanas. O estudo de extensão¹¹² até 104 semanas para o último ensaio clínico citado considerou que a função pulmonar dos pacientes se manteve estável.

A observação da população com a forma infantil da Doença de Pompe foi realizada através do índice de massa ventricular esquerda como variável de interesse nas metanálises. É preciso ressaltar que o comprometimento cardíaco assume o papel de principal agravo da doença na forma infantil, mesmo nos primeiros meses de vida, e que pode levar a óbito antes do segundo ano de idade. Aqui, a diferença média e a diferença média padronizada, ambas obtidas a partir dos valores das médias de cada estudo, foram estatisticamente significantes. Além do fato que a medida de efeito do IMVE foi a única considerada de média magnitude de acordo com comparativo na análise de Cohen. Demonstrou-se como um importante parâmetro de

investigação para verificação da eficácia da terapia enzimática em questão. Outros estudos^{74, 107, 135}, não incluídos nessa metanálise, também demonstraram redução da hipertrofia cardíaca.

Com tudo isso, percebe-se a necessidade de acompanhamento por longo período de tempo desses pacientes com Doença de Pompe em uso de TRE a fim de permitir a observação da doença e das alterações ocorridas no percurso do tratamento. Porém, um importante avanço ocorreria a partir de um protocolo de avaliação de indicadores de eficácia da terapia enzimática no acompanhamento de cada paciente – testes padronizados e acessíveis aos investigadores de diferentes centros de acompanhamento de tais doentes. Fato esse, corroborado por alguns autores^{126, 127}.

A necessidade de elucidação de uma série de questões em torno da patogênese, da apresentação e da evolução da doença, e essencialmente, do uso da TRE também devem ser consideradas.

6.2 LIMITAÇÕES DAS METANÁLISES REALIZADAS

No referente às principais limitações identificadas na execução destas metanálises, destacou-se a utilização de diferentes estratégias de medição para apresentação dos resultados de uma mesma variável, o que dificultou a comparabilidade direta através das medidas informadas numa determinada área de pesquisa. Outro fator limitador foi o envolvimento de apenas 1 revisor no processo de busca de estudos primários; além da não realização de busca manual para identificação de trabalhos não publicados, o que seria fundamental para evitar o viés de publicação.

6.3 APLICABILIDADE NA PRÁTICA CLÍNICA

Na prática clínica, embora os resultados destas metanálises tenham revelado diferenças não estatisticamente significantes na maioria dos estudos, a evolução grave da doença e a repercussão provocada na vida de todos os envolvidos com o paciente que apresenta DP tornam a questão clínica vulnerável à aceitação de qualquer tipo de modificação apontada como positiva.

Em virtude do comprometimento clínico importante, reforça-se a necessidade de um acompanhamento com diferentes profissionais familiarizados com a doença num serviço especializado, na tentativa de garantir um suporte favorável a uma boa evolução clínica.

Ademais, destacou-se a importância de um acompanhamento periódico com Nutricionista, Fisioterapeuta, Geneticista, Cardiologista, Neurologista, Fonoaudiólogo, Terapeuta ocupacional, Pneumologista, Ortopedista, entre outros.

Os pais também deverão ter acesso ao aconselhamento genético diante do risco de recorrência na família e, principalmente, da evolução do quadro. Assim, poderá ser buscada a atenção especial no cuidado do paciente com Doença de Pompe através da conscientização sobre a importância da adesão ao tratamento e do acompanhamento periódico em unidades especializadas, além das práticas de vida saudáveis adequadas às necessidades individuais. É preciso estar ciente também sobre as prováveis limitações impostas pela doença.

Outra questão importante está voltada para o alto custo da terapia enzimática. E isso se torna mais um componente para impulsionar o desenvolvimento de estudos que verifiquem a evolução da doença a partir da utilização de tal terapia.

6.4 APLICABILIDADE CIENTÍFICA

O poder de um experimento caracteriza-se pela probabilidade que ele tem de detectar um efeito do tratamento, quando este está presente. Diante disso, essas metanálises apresentaram evidência importante com relação à magnitude do efeito da terapia com GAA sobre a variável do IMVE, enquanto que o poder apresentado pelo tamanho de efeito das demais variáveis apresentou-se pequeno (pequena magnitude), ou até mesmo sem efeito no caso do tamanho de efeito médio ponderado padronizado da CVF.

Tomando como base as evidências apresentadas e diante das limitações éticas de desenvolvimento de estudos para avaliação da eficácia da TRE através do uso dessa terapia ou de placebo, os dados apresentados trazem uma perspectiva alentadora de que existe necessidade de manter a investigação de indicadores de forma padronizada em populações com características semelhantes. Assim, será possível verificar através de comparações o real efeito da terapia sobre a evolução dos doentes.

Em geral, a diferença média no TC6M, associada às diferenças média e média padronizada no IMVE, foi estatisticamente significante; e não estatisticamente significantes nas variáveis CVF e nível de CK. Isso representa que maiores investigações devem ser realizadas para reafirmação ou não desse padrão mediante um número maior de estudos com variáveis passíveis de comparação.

6.5 DIREÇÕES FUTURAS

Após revisão sistemática da literatura disponível, identificou-se a necessidade de realização de novos estudos nessa linha da metodologia de análise para viabilizar avaliação das medidas de magnitude de efeito de cada trabalho desenvolvido.

Mediante a limitação ética discutida, capaz de restringir a realização de ensaios clínicos, e considerando o valor científico de estudos observacionais para compreensão da eficácia da Terapia de Reposição Enzimática, os novos desenhos de estudo podem caracterizar uma linha de escolha e, de preferência, devem ser multicêntricos e com período de acompanhamento em uso de TRE alongado a fim de observar o efeito em longo prazo.

Para melhor avaliação da eficácia da terapia enzimática torna-se também necessário reavaliar as diferentes variáveis passíveis de mensuração para que a escolha delas ocorra de forma padronizada com protocolo de aplicabilidade. Isso levaria ao controle dos potenciais fatores de confundimento na medição das variáveis.

Ressalta-se ainda a importância da descrição detalhada da forma de avaliação e dos resultados obtidos para cada indicador utilizado, facilitando a compreensão da análise dentro do contexto do estudo. Postula-se que a qualidade da pesquisa é quem produz o efeito, e a comparação entre as pesquisas deve ocorrer em condições semelhantes. Logo, com a utilização das principais variáveis de forma padronizada será possível atribuir mais inferência estatística aos resultados obtidos.

7 CONCLUSÕES

- Esse estudo pode ser apontado como a primeira revisão sistemática com metanálises de avaliação da eficácia da Terapia de Reposição Enzimática na Doença de Pompe.
- O impacto da intervenção com TRE foi considerado de pequena magnitude diante dos resultados no teste de caminhada de 6 minutos (TC6M – DMP = 0,29) e no nível sérico de creatinoquinase (CK – DMP = 0,26).
- Na capacidade vital forçada (CVF), o impacto da TRE nessa variável mostrou-se sem efeito.
- No índice de massa ventricular esquerda (IMVE) foi considerada a única variável que apresentou o impacto de média magnitude (DMP=0,71); aproximando-se do valor correspondente a grande magnitude (DMP \geq 0,80).
- Os resultados específicos desse estudo mostraram que a variável de maior impacto para avaliação da eficácia da terapia em questão foi o IMVE. Porém, essa variável tem indicação maior na avaliação de indivíduos com a forma infantil da doença devido ao comprometimento cardíaco importante.
- Considera-se a necessidade de realização de outros estudos primários com utilização de uma metodologia de desenhos de estudo padronizada para melhor entendimento do processo de evolução da doença a partir do uso da terapia enzimática.
- É preciso ressaltar a dificuldade em realizar ensaios clínicos diante da questão antiética de utilizar um grupo de comparação com uso de placebo; pois, existem resultados favoráveis à utilização da terapia.
- Nesse estudo, a avaliação das variáveis contradiz, em parte, os diferentes estudos que abordam a eficácia da Terapia de Reposição Enzimática com alfa-glucosidase ácida, uma vez que na maioria deles a TRE se apresenta como eficaz e segura. Em geral, a maioria dos estudos publicados enfatizou qualquer tipo de melhoria, ou mesmo estabilização clínica, apresentada pelo doente.
- É necessário reconhecer que qualquer referência de melhora na observação da evolução do quadro no decorrer do uso da Terapia de Reposição Enzimática, por menor que seja,

merece destaque diante da gravidade do quadro clínico e do impacto social da doença. Destarte, o incentivo terapêutico para utilização da TRE deve ser continuado desde que não seja esquecida a manutenção do processo de acompanhamento e de investigação.

- É presumido que na existência de mais investimentos pode aumentar a eficácia dessa terapia e conseqüentemente redução dos custos na sua utilização.

REFERÊNCIAS

1. BALLABIO, A.; GIESELMANN, V. Lysosomal disorders: From storage to cellular damage. **Biochim. Biophys Acta**, Amsterdam, v. 1793, n. 4, p. 684–696, apr. 2009.
2. KISHNANI, P. S.; HOWELL, R. R. Pompe disease in infants and children. **J. Pediatr.**, S. Louis, v. 144, Suppl 5, p. S35-43, may 2004.
3. KISHNANI, P. S. et al. A retrospective, multinational, multicenter study on the natural history of infantile-onset Pompe disease. **J. Pediatr.**, S. Louis, v. 148, n. 5, p. 671-676, may 2006.
4. Van den HOUT, H. M. et al. The natural course of infantile Pompe's disease: 20 original cases compared with 133 cases from the literature. **Pediatrics**, Elk Grove Village IL, v. 122, n. 2, p. 332 – 340, aug. 2003.
5. KISHNANI, P. S. et al. Pompe disease diagnosis and management guideline. **Genet. Medicine**, Baltimore, v. 8, n. 5, p. 267-288, apr. 2006.
6. HIRSCHHORN, R.; REUSER, A. J. J. Glycogen storage disease type II: Acid alpha-glucosidase (acid maltase) deficiency. In: SCRIVER, C. et al. (Ed.). **Metabolic molecular bases inherited disease**. New York: MacGraw-Hill, 2001. v. 3, p. 3389-3420.
7. SLONIM, A. E. et al. Identification of two subtypes of infantile acid maltase deficiency. **J. Pediatr.**, S. Louis, v. 137, n. 2, p. 283-285, sept. 2000.
8. FIORINI, V. C. C. **Miopatias Hereditárias**. São Paulo: Medicante, 2009.
9. KATZIN, L. W.; AMATO, A. A. Pompe disease: a review of the current diagnosis and treatment recommendations in the era of enzyme replacement therapy. **J. Clin Neuromuscul. Dis.**, Hagerstownv, v. 9, n. 4, p. 421-31, oct. 2008.
10. Van der PLOEG, A. T.; REUSER, A. J. Pompe's disease. **Lancet**, London, v. 372, n. 9646, p. 1342-1353, jan. 2008.
11. GÜNGÖR, D. et al. Impact of enzyme replacement therapy on survival in adults with Pompe disease: results from a prospective international observational study. **Orphanet J. Rare Dis.**, London, 8, n. 49, p.1-7, dec. 2013.
12. PARENTI, G.; ANDRIA, G. Pharmacotherapy of Pompe disease. **Exp. Opinion Orphan Drugs**, England, v. 1, n. 6, p. 457-471, may 2013. Disponível em:< <http://informahealthcare.com/doi/abs/10.1517/21678707.2013.795855/>>. Acesso em: 18 out. 2013.
13. BEMBI, B. et al. Management and treatment of glycogenosis type II. **Neurology**, New York, v. 71, n. 23, Suppl 2, p. S12-36, jan. 2008.
14. ANGELINI, C. et al. Observational clinical study in juvenile-adult glycogenosis type 2 patients undergoing enzyme replacement therapy for up to 4 years. **J. Neurol.**, Berlin, v. 259, n. 5, p. 952-958, apr. 2012.

15. EL HUSNY, A. S.; FERNADES-CALDATO, M. C. Erros inatos do metabolismo: revisão de literatura. **Rev. Paraense Medicina**, Belém, v. 20, n. 2, p. 41-45, jun. 2006.
16. AMÂNCIO, F. A. M.; SCALCO, F. B.; COELHO, C. A. R. Investigação diagnóstica de erros inatos do metabolismo em um hospital universitário. **J. Bras. Patol. Med. Lab.**, Rio de Janeiro, v. 43, n. 3, p. 169-174, jun. 2007.
17. ARAÚJO, A. P. de Q. C. Doenças metabólicas com manifestações psiquiátricas. **Rev. Psiquiatr. Clin.**, São Paulo, v. 31, n. 6, p. 285-289, dez. 2004.
18. BRUSTOLIN, S. **Avaliação de um serviço pioneiro de informações sobre erros inatos do metabolismo no Brasil**. 2005. 108 p. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde)-Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2005.
19. DIAMENT, A.; KOK, F. Erros Inatos do Metabolismo: Generalidades. In: DIAMENT, A. et al. In: **Neurologia Infantil**. 5. ed. São Paulo: Cypel, 2010. p. 435-438.
20. NUSSBAUM, R. L.; MCINNES, R. R.; WILLARD, H. F. Padrões de herança monogênica. In: THOMPSON; THOMPSON. **Genética Médica**. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. p. 48-49.
21. GARCIA, D. F. **Erros inatos do metabolismo**. UNICEUMA, Maranhão, Set, 2012. Disponível em: <<http://meuanjogabriela.com.br/?p=294>>. Acesso em: 15 set. 2014.
22. SCHWARTZ, I. V. et al. Erros inatos do metabolismo. In: FERREIRA, J. P. et al. **Pediatria: diagnóstico e tratamento**. Porto Alegre: Artmed, 2005. p. 767-768.
23. VALADARES, E. R. Erros Inatos do Metabolismo. In: FONSECA, L. F. et al. **Compêndio de Neurologia Infantil**. Rio de Janeiro: MEDSI, 2002. p. 579-580.
24. OZBEN, T. Expanded newborn screening and confirmatory follow-up testing for inborn erros of metabolismo detected by tandem mass spectrometry. **Clin. Chem Lab Med.**, Berlin, v. 51, n. 1, p. 157-176, jan. 2013.
25. LEÃO, L. L.; AGUIAR, M. J. B. de. Triagem neonatal: o que os pediatras deveriam saber. **J. Pediatr.**, S. Louis, v. 84, n. 4 (Supl.), p. S80 – S90, feb. 2008.
26. SCHWARTZ, I. V.; SOUZA, C. F. M. de; GIUGLIANI, R. Tratamento de erros inatos do metabolismo. **J. Pediatr.**, S. Louis, v. 84, n. 4 (Supl), p. S8-S19, feb. 2008.
27. SOUZA, C. F. M. de et al. Erros Inatos do Metabolismo e Triagem Neonatal. In: VIEIRA, T.; GIUGLIANI, R. **Manual de genética médica para atenção primária à saúde**. Porto Alegre: Artmed, 2013. p. 65-75.
28. CARLOS, C. S. et al. Glicogenoses: uma revisão geral. **Biosci. J.**, Uberlândia, v. 30, n. 5, p. 1598-1605, sep. 2014.
29. GIUGLIANI, R.; SOUZA, C. F. M. de; SCHWARTZ, I. V. D. Erros Inatos do Metabolismo de Carboidratos. In: FONSECA, L. F. et al. In: GIUGLIANI, R.; SOUZA,

- C. F. M. de; SCHWARTZ, I. V. D. **Compêndio de Neurologia Infantil**. Rio de Janeiro: MEDSI, 2002. p. 605-612.
30. CHAVES, C. R. M. de M. Glicogenoses: um a revisão geral para o pediatra. **Rev. Pediatr. SOPERJ**, Rio de Janeiro, v. 10, n. 1. p. 35-37, jun. 2009.
 31. SANTOS, B. L. dos. **Glicogenose tipo I**: caracterização clínico-laboratorial de pacientes atendidos em Centro de Referência em Erros Inatos do Metabolismo. 2013. 105 f. Dissertação (Mestrado em Ciência da Saúde)- Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2013.
 32. RAMOS, J. L. A.; DIAMENT, A. Erros inatos do metabolismo dos carboidratos. In: DIAMENT, A. et al. **Neurologia Infantil**. 5. ed. São Paulo: Cypel, 2010. p. 520-526.
 33. NUNES, F. H. S. Doença de von Gierke: estudo de revisão. **Rev. Pediatr. SOPERJ.**, Rio de Janeiro, v. 10, n.1, p. 21-27, jun. 2009.
 34. ORLIKOWSKI, D. et al. Recombinant human acid alpha-glucosidase (rhGAA) in adult patients with severe respiratory failure due to Pompe disease. **Neuromuscul. Disord.**, Oxford, v. 21, n. 1, p. 477 – 482, jul. 2011.
 35. OMIM. **Glycogen Storage Disease II. GSD2**. Baltimore, c2018. Disponível em: <<http://omim.org/entry/232300/>>. Acesso em: 15 out. 2014.
 36. NEVES, F. L. et al. Doença de Pompe Juvenil: Estudo Retrospectivo de Casuística Clínica. **Acta Med. Port.**, Lisboa, v. 26, n. 4, p. 361– 370, may 2013.
 37. BOY, R.; SCHRAMM, F. R. Bioética da proteção e tratamento de doenças genéticas raras no Brasil: o caso das doenças de depósito lisossomal. **Cad. Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 25, n. 6, oct. 2009.
 38. BHENGU, L. et al. Clinical practice: Diagnosis and management of Pompe disease. **S. Afr. Med. J. SAMJ.**, Cape Town, v. 104, n. 4, p. 273-274, mar. 2014.
 39. CHIEN, Y. et al. Pompe Disease in Infants: Improving the Prognosis by Newborn Screening and Early Treatment. **Pediatrics.**, Evanston, v. 124, n. 6, p. 1116-1125, aug. 2009.
 40. CUPLER, E. J. et al. Consensus treatment recommendations for late-onset Pompe disease. **Muscle Nerve.**, Boston, v. 45, n. 3, p. 319-333, mar. 2012.
 41. Van der BEEK, N. A. M. E. et al. Rate of disease progression during long-term follow-up of patients with late-onset Pompe disease. **Neuromuscul. Dis.**, Oxford, v. 19, n. 2, p. 113-117, feb. 2009.
 42. DASOUKI, M. et al. Pompe disease: literature review and case series. **Neurol. Clin.** Philadelphia, v. 32,n. 3, p. 751-776, aug. 2014.
 43. ANGELINI, C.; SEMPLICINI, C. Enzyme Replacement Therapy for Pompe Disease. **Curr. Neurol. Neurosci. Rep.**, Philadelphia, v. 12, n. 1, p. 70-75, feb. 2012.

44. HAGEMANS, M. L. C. et al. Disease severity in children and adults with Pompe disease related to age and disease duration. **Neurology.**, Mineapolis, v. 64, n. 12, p. 2139-2141, jun. 2005.
45. SILVA, A. P. G. S. **Doença de Pompe**: a propósito de 2 casos do Hospital Pêro da Covilhã. 2012. 65 f. Dissertação (Mestrado em Ciência da Saúde), Universidade da Beira Interior, Covilhã, 2012.
46. PARENTI, G. Pompe disease: from new views on the pathophysiology to innovate therapeutic strategies. **Curr. Pharm. Biotechnol.**, Netherlands, v. 12, n. 6, p. 902-915, jun. 2011.
47. BEMBI, B. et al. Long-term observational, non-randomized study of enzyme replacement therapy in late-onset glycogenosis type II. **J. Inherit Metab. Dis.**, Lancaster, v. 33, n. 6, p. 727-735, dec. 2010.
48. MARIE, S. K. N. **Estudo das mutações no gene alpha-glicosidade ácida (gaa) na glicogenose Tipo II (GS II)**. USP, São Paulo, 2003. Disponível em:< <http://www.bv.fapesp.br/pt/auxílios /16468/estudo-das-mutacoes-no-gene-alpha-glicosidade-acida-gaa-na-glicogenose-tipo-ii-gs-ii/>>. Acesso em: 19 out. 2013.
49. Van CAPELLE, C. I. et al. Eight years experience with enzyme replacement therapy in two children and one adult with Pompe disease. **Neuromuscul. Dis.**, Oxford, v. 18, n. 6, p. 447-452, jun. 2008.
50. AL-LOZI, M. T. et al. Diagnostic criteria for late-onset (childhood and adult) Pompe disease. **Muscle Nerve.**, New York, v. 40, n. 1, p. 149-160, jul. 2009.
51. FUKUDA, T. et al. Acid Alpha-Glucosidase Deficiency (Pompe Disease). **Curr. Neurol. Neurosci. Rep.**, Philadelphia, v. 7, n. 1, p. 71-77, jan. 2007.
52. Van CAPELLE, C. I. et al. Effect of enzyme therapy in juvenile patients with Pompe disease: a three-year open-label study. **Neuromuscul. Dis.**, Oxford, v. 20, n. 12, p. 775-782, dec. 2010.
53. DOUILLARD-GUILLOUX, G. et al. Modulation of glycogen synthesis by RNA interference: towards a new therapeutic approach for glycogenosis type II. **Hum. Mol. Genet.**, Oxford, v. 17, n. 24, p. 3876-3886, dec. 2008.
54. CHO, A. et al. Infantile Pompe Disease: Clinical and Genetic Characteristics with an Experience of Enzyme Replacement Therapy. **J. Child Neurol.**, Littleton, v. 27, n. 3, p. 319-324, mar. 2012.
55. NICOLINO, M. et al. Clinical outcomes after long-term treatment with alglucosidase alfa in infants and children with advanced Pompe disease. **Genet. Med.**, Baltimore, v. 11, n. 3, p. 210-219, mar. 2009.

56. SCHOSER, B. et al. Therapeutic approaches in Glycogen Storage Disease Type II (GSDII) / Pompe disease. **Neurotherapeutics.**, Orlando, v. 5, n. 4, p. 569-578, oct. 2008.
57. RABEN, N. Suppression of autophagy permits successful enzyme replacement therapy in a lysosomal storage disorder – murine Pompe disease. **Autophagy**, Georgetown, v. 6, n. 8, p. 1078- 1089, nov. 2010.
58. RABEN, N. et al. Deconstructing Pompe Disease by Analyzing Single Muscle Fibers: To See a World in Grain of Sand. **Autophagy**, Georgetown, v. 3, n. 6, p. 546-552, apr. 2007.
59. RABEN, N. et al. Monitoring autophagy in lysosomal storage disorders. **Methods Enzymol.**, New York, v. 453, n. 1, p. 417-449, jun. 2009.
60. HOBSON-WEBB, L. D.; DEARMEY, S.; KISHNANI, P. S. The clinical and electrodiagnostic characteristics of Pompe disease with post-enzyme replacement therapy findings. **Clin. Neurophysiol.**, Limerick, v. 122, n. 11, p. 2312–2317, nov. 2011.
61. LLERENA, J. C. JR. et al. The Brazilian consensus on the management of Pompe disease. **J. Pediatr.**, St. Louis, v. 155, suppl. 4, p. S47-56, apr. 2009.
62. FUKUDA, T. et al. Autophagy and Lysosomes in Pompe Disease. **Autophagy**, Georgetown, v. 2, n. 4. p. 318 – 320, mar. 2006.
63. GÜNGÖR, D. et al. Enzyme replacement therapy and fatigue in adults with Pompe disease. **Mol. Genet. Metab.**, Orlando, v. 109, n. 2, p. 174-178, jun. 2013.
64. ENGEL, A. G. et al. The spectrum and diagnosis of acid maltase deficiency. **Neurology.**, New York, v. 23, n. 1, p. 95-106, jan. 1973.
65. VIEIRA, J. C. F.; CARNEIRO, F. M.; ASSÊNCIO-FERREIRA, V. J. Alteração de deglutição em um caso de glicogenose. **CEFAC.**, São Paulo, v. 6, n. 1, p. 34-39, jan. 2004.
66. KISHNANI, P. S. et al. The New Era of Pompe Disease: Advances in the Detection, Understanding of the Phenotypic Spectrum, Pathophysiology, and Management. **Am. J. Med. Genet. Part C (Semin. Med. Genet.)**, Hoboken, v. 160C, n. 1, p. 1-7, feb. 2012.
67. MERK, T. et al. Glycogen storage disease type II (Pompe disease) – influence of enzyme replacement therapy in adults. **Eur. J. Neurol.**, Oxford, v. 16, n. 2, p. 274-277, feb. 2009.
68. REED, U. R. Doenças neuromusculares. **J. Pediatr.**, Rio de Janeiro, v. 78, supl. 1, p. S89-S103, may 2002.
69. Van der BEEK, N. A. Pompe disease (glycogen storage disease type II): clinical features and enzyme replacement therapy. **Acta Neurol. Belg.**, Bruxelles, v. 106, n. 2, p. 82-86, apr. 2006.

70. CHIEN, Y. H.; HWU, W. L. A review of treatment of Pompe disease in infants. **Biologics.**, New Zealand, v. 1, n. 3, p. 195-201, sep. 2007.
71. ENGEL, A. G.; HIRSCHHORN, R. Acid maltase deficiency. In: ENGEL, A.; FRANZINI-ARMSTRONG, C. **Myology: basic and clinical.** New York: McGraw-Hill, 1994. p. 1533-1553.
72. RIGTER, T. et al. Severely impaired health status at diagnosis of Pompe disease: A cross-sectional analysis to explore the potential utility of neonatal screening. **Mol. Genet. Metab.**, Orlando, v 107, n. 3, p. 448-455, nov. 2012.
73. WOKKE, J. H. J. et al. Clinical features of late-onset Pompe disease: prospective cohorts study. **Muscle Nerve**, New York, v. 38, n. 4, p.1236-1245, oct. 2008.
74. Van den HOUT, J. M. et al. Long-term intravenous treatment of Pompe disease with recombinant human alpha-glucosidase from milk. **Pediatrics.**, United States, v. 113, n. 5, p. 448-57, may 2004.
75. PEREIRA, S. J.; BERDITCHEVSKY C. R.; MARIE S. K. Report of the first Brazilian infantile Pompe disease patient to be treated with recombinant human acid alpha-glucosidase. **J. Pediatr.** Rio de Janeiro, v. 84, n. 3, p. 272-275, may-jun. 2008.
76. HAGEMANS, M. L. et al. Clinical manifestation and natural course of late-onset Pompe's disease in 54 Dutch patients. **Brain**, London, v. 128, Pt.3, p. 671-677, mar. 2005.
77. MULLER-FELBER, W. et al. Late onset Pompe disease: clinical and neurophysiological spectrum of 38 patients including long-term follow-up in 18 patients. **Neuromuscul. Disord.**, Oxford, v. 17, n. 9-10, p. 698-706, oct. 2007.
78. GÜNGÖR, D. ET AL. Survival and associated factors in 268 adults with Pompe disease prior to treatment with enzyme replacement therapy. **Orphanet J. Rare Dis.**, London, v.1, n. 6, p. 6-34, jun. 2011.
79. KISHNANI, P. S. Methods of diagnosis of patients with Pompe disease: data from the Pompe registry. **Mol. Genet. Metab.**, Orlando, v. 113, n. 1-2, p. 84-91, sep.-oct. 2014.
80. Van der BEEK, N. A. 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.**, Amsterdam, v. 275, n. 1-2, p. 46-50, dec. 2008.
81. BARNES, D.; HUGHES, R. A.; SPENCER, G. T. Adult-onset acid maltase deficiency with prominent bulbar involvement and ptosis. **J. R. Soc. Med.**, London, v. 86, n. 1, p. 50, jan. 1993.
82. FORSHA, D. et al. Late-Onset Treatment Study Investigators. Cardiovascular abnormalities in late-onset Pompe disease and response to enzyme replacement therapy. **Genet. Med.** Baltimore, v. 13, n. 7, p. 625-631, jul. 2011.

83. KROSS, M. et al. The genotype-phenotype correlation in Pompe disease. **Am. J. Med. Genet. Part C (Semin. Med. Genet.)**, Hoboken, v.160C, n. 1, p. 59-68, feb. 2012.
84. WINKEL, L. P. et al. The natural course of non-classic Pompe's disease; a review of 225 published cases. **J. Neurol.**, Berlim, v. 252, n. 8, p. 875-884, aug. 2005.
85. TOPCZEWSKI, A. et al. Doença de Pompe. Estudo clínico e anatomopatológico de um caso. **Arq. Neuro-Psiquiat.**, São Paulo, v. 32, n. 2, p. 147-151, jun. 1974.
86. REED, U. C. Síndrome da criança hipotônica: causas neuromusculares. **Rev. Med**, São Paulo, v. 86, n. 2, p. 82-93, jun. 2007.
87. WINCHESTER, B. et al. Methods for a prompt and reliable laboratory diagnosis of Pompe disease: report from an international consensus meeting. **Mol. Genet. Metab.**, Orlando, v. 93, n. 3, p. 275-281, mar. 2008.
88. GOLDSTEIN, J. L. et al. Screening for Pompe disease using a rapid dried blood spot method: experience of a clinical diagnostic laboratory. **Muscle Nerve**, New York, v. 40, n. 1, p. 32-36, jul. 2009.
89. BRADY, R. O. et al. Management of neutralizing antibody to ceredase in a patient with type 3 Gaucher disease. **Pediatrics**, United States, v. 100, n. 6, p. E11, dec. 1997.
90. BALI, D. S. et al. Molecular analysis and protein processing in late-onset pompe disease patients with low levels of acid α -glucosidase activity. **Muscle Nerve**, New York, v. 43, n. 5, p. 665-670, aug. 2011.
91. MESSINGER, Y. H. Successful immune tolerance induction to enzyme replacement therapy in CRIM-negative infantile Pompe disease. **Genet. Med.**, Baltimore, v. 14, n. 1, p. 135-142, jan. 2012.
92. DESNICK, R. J.; SCHUCHMAN, E. H. Enzyme replacement therapy for lysosomal disease: lessons from 20 years of experience and remaining challenges. **Annu. Ver. Genom. Human Genet.**, Palo Alto, v. 13, n. 1, p. 307-335, sep. 2012.
93. JONES, H. N. et al. Increased inspiratory and expiratory muscle strength following respiratory muscle strength training (RMST) in two patients with late-onset Pompe disease. **Mol. Genet. Metabol.**, Orlando, v. 104, n. 3, p. 417-420, nov. 2011.
94. KISHNANI, P. S. et al. Chinese hamster ovary cell-derived recombinant human acid alpha-glucosidase in infantile-onset Pompe disease. **J. Pediatr.**, Orlando, v. 149, n. 1, p. 89-97, mar. 2006.
95. ILLÉS, Z.; VARDI VISY, K. Pompe's disease. Part II. Treatment strategies and enzyme replacement. **Ideggyogy Sz.**, Budapest, v. 62, n. 9-10, p. 299-307, sep. 2009.
96. KLING, L. 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.**, Oxford, v. 15, n. 1, p. 24-31, jan. 2004.

97. STROTHOTTE, S. 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.**, Berlin, v. 257, n. 1, p. 91-97, jan. 2010.
98. PARKINSON-LAWRENCE, E. J. Lysosomal Storage Disease: Revealing Lysosomal Function and Physiology. **Physiology.**, Bethesda, v. 25, n. 2, p. 102-115, apr. 2010.
99. VELLODI, A. Lysosomal storage disorders. **British J. Haematol.**, Oxford, v. 128, n. 4, p. 413–431, feb. 2004.
100. BARBA-ROMERO, M. A. Clinical guidelines for late-onset Pompe disease. **Rev Neurol.**, Barcelona, v. 54, n. 8, p. 497-507, apr. 2012.
101. OHASHI, T. Enzyme replacement therapy for lysosomal storage diseases. **Pediatr Endocrinol.**, Israel, v. 10, Suppl. 1, p. 26-34, oct. 2012.
102. ORTOLANO, S. et al. Treatment of lysosomal storage diseases: recente patentes and future strategies. **Recent Pat. Endocr. Metab. Immune Drug Discov.**, United Arab Emirates, v. 8, n. 1, p. 9-25, jan. 2014.
103. WELLS, G. A.; SHEA, B.; O'CONNELL, D. **The Newcastle-Ottawa Scale (NOS) for assessing the quality of nonrandomised studies in meta-analyses.** Ottawa: Ottawa Health Research Institute, [s.d.]. Disponível em: <http://www.ohri.ca/programs/clinical_epidemiology/oxford.htm>. Acesso em: 18 out. 2014.
104. THE R FOUNDATION. R Development Core Team. **A Language and Environment for Statistical Computing.** R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Áustria, 2014. Disponível em: <<http://www.R-project.org/>>. Acesso em: 18 out. 2014.
105. KISHNANI, P. S. et al. Recombinant human acid α -glucosidase: Major clinical benefits in infantile-onset Pompe disease. **Neurology**, Minneapolis, v. 68, n. 2, p. 99-109, jan. 2007.
106. LEVINE, J. C. et al. Cardiac Remodeling After Enzyme Replacement Therapy with Acid α -Glucosidase for Infants with Pompe Disease. **Pediatr. Cardiol.**, New York, v. 29, n. 6, p. 1033-1042, nov. 2008.
107. AMALFITANO, A. et al. Recombinant human acid α -glucosidase enzyme therapy for infantile glycogen storage disease type II: results of a phase I/II clinical trial. **Genet. Med.**, Baltimore, v. 3, n. 2, p. 132–138, mar.-apr. 2001.
108. Van den HOUT, J. M. et al. Enzyme therapy for Pompe disease with recombinant human alpha-glucosidase from rabbit milk. **J. Inherit Metab. Dis.**, Lancaster, v. 24, n. 2, p. 266–274, apr. 2001.
109. TOSCANO, A.; SCHOSER, B. Enzyme replacement therapy in late-onset Pompe disease: a systematic literature review. **J. Neurol.**, Berlin, v. 260, n. 4, p. 951-959, apr. 2013.

110. MOHER, D. et al. Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses: The PRISMA Statement. **PLoS Med.**, San Francisco, v. 6, n. 7, e1000097, jul. 2009.
111. Van der PLOEG, A. T. et al. A Randomized Study of Alglucosidase Alfa in Late-Onset Pompe's Disease. **N. Engl. J. Med.** England, v. 326, n. 15, p. 1396-1406, apr. 2010.
112. Van der PLOEG, A. T. et al. Open-label extension study following the Late-Onset Treatment Study (LOTS) of alglucosidase alfa. **Mol. Genet. Metabol.**, Orlando, v. 107, n. 3, p. 456-461, nov. 2012.
113. KISHNANI, P. S. et al. Early Treatment With Alglucosidase Alfa Prolongs Long-Term Survival of Infants With Pompe Disease. **Pediatrics Res.**, Basel, v. 66, n. 3, p. 329-335, sep. 2009.
114. ANDERSON, L. J. et al. Effectiveness of enzyme replacement therapy in adults with late-onset Pompe disease: results from the NCS-LSD cohort study. **J. Inherit Metab. Dis.**, Lancaster, v. 37, n. 6, p. 945-952, nov. 2014.
115. ANGELINI, C. et al. Progress in enzyme replacement therapy in glucogen storage disease type II. **Ther. Adv. Neurol. Dis.**, London, v. 2, n. 3, p. 143-153, may 2009.
116. De VRIES, J. M. et al. Effect of enzyme therapy and prognostic factors in 69 adults with Pompe disease: an open-label single-center study. **Orphanet J. Rare Dis.**, London, v. 7, n. 1, p.175-189, sep. 2012.
117. Van der BEEK, N. A. M. E. et al. Clinical features and predictors for disease natural progression in adults with Pompe disease: a Nationwide prospective observational study. **Orphanet J. Rare Dis.**, London, v. 7, n. 88, p. 1-13, nov. 2012.
118. VIANELLO, A. et al. Enzyme Replacement Therapy Improves Respiratory Outcomes in Patients with Late-Onset Type II Glycogenosis and High Ventilator Dependency. **Lung.** New York, v. 191, n. 5, p. 537-544, oct. 2013.
119. YANG, C. et al. Rapid progressive course of later-onset Pompe disease in Chinese patients. **Mol. Genetics Metab.**, Orlando, v. 104, n. 3, p. 284-288, nov. 2011.
120. FURUSAWA, Y. et al. Effects of enzyme replacement therapy on five patients with advanced late-onset glycogen storage disease type II: a 2-year follow-up study. **J. Inherit Metab. Dis.**, Lancaster, v. 35, n. 2, p. 301-310, mar. 2012.
121. PASCUAL, S. I. Phenotype variations in early onset Pompe disease: diagnosis and treatment results with Myozyme. **Adv. Exp. Med. Biol.**, New York, v. 652, n. 1, p. 39-46, sep. 2009.
122. ROSSI, M. et al. Long-Term Enzyme Replacement Therapy for Pompe Disease With Recombinant Human Alpha-glucosidase Derived From Chinese Hamster Ovary Cells. **J Child Neurol.**, Littleton, v. 22, n. 5, p. 565-573, may 2007.

123. RAVAGLIA, S. 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**, Lancaster, v. 33, n. 6, p. 737-745, dec. 2010.
124. REGNERY, C. et al. 36 months observational clinical study of 38 adult Pompe disease patients under alglucosidase alfa enzyme replacement therapy. **J. Inherit Metab. Dis., Lancaster**, v. 35, n. 2, p. 837-845, mar. 2012.
125. VIELHABER, S. et al. 24-Months results in two adults with Pompe disease on enzyme replacement therapy. **Clin. Neurol. Neurosurg.**, Amsterdam, v. 113, n. 5, p. 350-357, jun. 2011.
126. PAPADIMAS, G. K. et al. Adult Pompe disease: Clinical manifestations and outcome of the first Greek patients receiving enzyme replacement therapy. **Clin. Neurol. Neurosurg.**, Amsterdam, v. 113, n. 5, p. 303-307, jun. 2011.
127. ANSONG, A. K. et al. Electrocardiographic response to enzyme replacement therapy for Pompe disease. **Genet. Med.**, Baltimore, v. 8, n. 5, p. 297-301, may 2006.
128. Van den HOUT, H. et al. Recombinant human α -glucosidase from rabbit milk in Pompe patients. **Lancet**, v. 356, p. 397-398, 2000.
129. EBBINK, B. J. et al. Cognitive outcome of patients with classic Pompe disease receiving enzyme therapy. **Neurology**, Minneapolis, v. 78, n. 19, p. 1512-1518, may 2012.
130. WINKEL, L. P. F. et al. Enzyme Replacement Therapy in Late-Onset Pompe's Disease: A Three-Year Follow-up. **J. Neurol.**, Berlin, v. 260, n. 4, p. 495-502, aug. 2004.
131. COUTINHO, E. S. F.; CUNHA, G. M. da. Conceitos básicos de epidemiologia e estatística para a leitura de ensaios clínicos controlados. **Rev. Bras. Psiquiatr.**, São Paulo, v. 27, n. 2, p. 146-151, jun. 2005.
132. DURLAK, J. A. How to Select, Calculate, and Interpret Effect Sizes. **J. Pediatric Psychology**, Washington, v. 34, n. 9, p. 917-928, oct. 2009.
133. CONBOY, J. et al. Algumas medidas típicas univariadas da magnitude de efeito. **Aná. Psicológica**, Lisboa, v. 21, n. 2, p. 145-158, abr. 2003.
134. LOUREIRO, L. M. de J.; GAMEIRO, M. G. H. Interpretação crítica dos resultados estatísticos: para lá da significância estatística. **Rev. Enferm. Referência**, Coimbra, v. 3, n. 3, p. 151-162, mar. 2011.
135. CHEN, L. R. Reversal of cardiac dysfunction after enzyme replacement in patients with infantile-onset Pompe disease. **J. Pediatr.**, St. Louis, v. 155, n. 2, p. 271-275, aug. 2009.

ANEXOS

ANEXO A – Formulário para avaliação dos critérios de inclusão

Título do artigo: _____

Autores: _____

País de origem: _____ Ano de publicação: _____

1. Tipo de desenho do estudo

Coorte Ensaio Clínico Estudo observacional Série de casos

2. Tipos de participantes

Crianças (idade até 2 anos)

Jovens (idade \leq 16 anos)

Adultos (idade $>$ 16 anos)

3. Número de participantes submetidos a TRE*: _____

*Critério de inclusão: Diagnóstico confirmado de Doença de Pompe

4. Período de seguimento com utilização de TRE: _____

5. Variáveis analisadas:

TC6M CVF CK IMVE escala WGM Escala MRC

TFB Teste escada VEF1 TGO/TGP/LDH outros

6. Medida de avaliação das variáveis:

dados brutos médias médias e DP

medianas e IIQ z-score mediano Percentil

ANEXO B - Formulário para coleta de dados dos estudos incluídos nas Comparações

INFORMAÇÕES SOBRE OS ESTUDOS INCLUÍDOS

Título resumido: _____

Autores: _____ Ano de publicação: _____

Títulos do RevMan	Informação a ser coletada
Método	<ul style="list-style-type: none">- País de origem do estudo:- Variáveis do estudo:- Tipo de amostra:- Tamanho da amostra:- Representatividade da amostra:- Houve descrição dos métodos usados para diagnóstico de Doença de Pompe?- Utilização de técnicas padronizadas para aferição das medidas?- Houve treinamento dos profissionais envolvidos na coleta de dados?- Houve exposição dos participantes à TRE?- Houve comparação com outros grupos?- A condição clínica inicial dos pacientes antes da TRE foi avaliada?
Participantes	<ul style="list-style-type: none">- Critérios de inclusão:- Critérios de exclusão:- Número de participantes submetidos a TRE:
Desfechos	<ul style="list-style-type: none">- Lista de todos os desfechos estudados:

ANEXO C - Formulário de coleta de dados das variáveis estudadas

EXTRAÇÃO DOS DADOS

Data: ___ / ___ / ___

Título resumido: _____

Autores: _____

1. METANÁLISE LONGITUDINAL- Variáveis estudadas em pacientes com Doença de Pompe

	GRUPO SUBMETIDO A TER					
	N	Média ATRE	DP	N	Média PTRE	DP
TC6M						
CVF						
CK						
IMVE						

Legenda: TRE = Terapia de Reposição Enzimática; N = tamanho da amostra; ATRE = antes da TRE; DP = desvio-padrão; PTRE = pós TRE; TC6M = teste de caminhada de 6 minutos; CVF = capacidade vital forçada; CK = creatinoquinase; IMVE = índice de massa ventricular esquerda.

ANEXO D - Formulário para avaliação da qualidade dos estudos

AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DOS ESTUDOS

Título resumido: _____

Autores: _____

Escala de Avaliação de Qualidade de Newcastle-Ottawa

SELEÇÃO	
	Representatividade da amostra exposta do estudo () A amostra é verdadeiramente representativa da média na comunidade (amostragem probabilística e medida efetuada com padrão-ouro).*
1	() A amostra é relativamente representativa da média na comunidade (amostragem probabilística e medida efetuada com questionário não validado). 1 ponto () A amostra foi selecionada de um grupo de pacientes com Doença de Pompe. () Não houve descrição da origem da amostra do estudo.
	Seleção da amostra não exposta do estudo
2	() A amostra não exposta foi selecionada da mesma comunidade da amostra exposta. 1 ponto () A seleção da amostra não exposta foi feita de diferentes origens. () Não houve descrição da origem da amostra não exposta do estudo.
	Determinação da exposição por:
3	() Registros confiáveis (ex. prontuários). 1 ponto () Entrevista estruturada. 1 ponto () Relatório de auto-avaliação. () Não houve descrição sobre a determinação da exposição.
	Demonstração de que os resultados de interesse não estavam previamente determinados no início do estudo
4	() Sim. 1 ponto () Não.
COMPARABILIDADE	
	Comparabilidade das amostras com base no desenho ou análise
1	() O estudo foi controlado pela utilização da TRE. 1 ponto () O estudo foi controlado por um fator adicional (idade, gravidade da doença). 1 ponto

ANEXO D - Formulário para avaliação da qualidade dos estudos (Continuação)

RESULTADOS	
	Avaliação dos resultados
1	<input type="checkbox"/> Avaliação independente (duplo-cego, triplo-cego). 1 ponto <input type="checkbox"/> Pareamento de registros (dados clínicos secundários). 1 ponto <input type="checkbox"/> Registro de auto avaliação. <input type="checkbox"/> Não há descrição sobre a avaliação dos resultados.
	Tempo de acompanhamento suficiente para ocorrer o resultado
2	<input type="checkbox"/> Sim (selecionar um período adequado para ocorrência do resultado de interesse). 1 ponto <input type="checkbox"/> Não.
	Adequação do tempo de acompanhamento do estudo
3	<input type="checkbox"/> Acompanhamento completo – todos os indivíduos foram considerados na análise. 1 ponto <input type="checkbox"/> A perda de indivíduos durante o acompanhamento não parece introduzir vieses (bias) – pequena perda - (taxa de acompanhamento adequada > 90%). 1 ponto <input type="checkbox"/> Percentual de acompanhamento < 90% e sem descrição dos perdidos. <input type="checkbox"/> Percentual de perda não declarado pelo estudo.

Instruções: Um estudo pode apresentar no máximo um ponto para cada questão das sessões Seleção e Resultados e dois pontos para a sessão Comparabilidade. Portanto, o máximo de estrelas que poderá ser alcançado por cada estudo será 9.

Pontuação (score)

0-3 → Baixa qualidade

4-6 → Qualidade apropriada

7-9 → Alta qualidade



Instituto de Ciências da Saúde
Programa de Pós Graduação
Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas
Avenida Reitor Miguel Calmon s/n - Vale do Canela. CEP: 40110-100
Salvador, Bahia, Brasil

<http://www.ppgorgsistem.ics.ufba.br>