

Диагностика болезни Помпе

V.С. Сухоруков, Д.А. Харламов, О.А. Перевезенцев, И.С. Мамедов

Diagnosis of Pompe's disease

V.S. Sukhorukov, D.A. Kharlamov, O.A. Perevezentsev, I.S. Mamedov

Московский НИИ педиатрии и детской хирургии

Возросший во всем мире интерес к болезни Помпе (дефициту кислой мальтазы) объясняется эффективностью появившейся в 2006 г. ферментозамещающей терапии (с использованием рекомбинантной человеческой альфа-глюкозидазы), которая направлена на основное патогенетическое звено заболевания. Решение задачи выявления пациентов, страдающих болезнью Помпе, в нашей стране связано с внедрением новых диагностических технологий, организацией соответствующих диагностических мероприятий, а также с преодолением недостаточной информированности врачей. В обзоре дается характеристика клинической картины инфантильной и позднодебютирующей форм заболевания. Описан спектр специальных методов диагностики: биохимический анализ, исследование в культурах тканей, морфологическое исследование, молекулярно-генетическая диагностика. Применение указанных методов и, в частности, анализ сухих пятен крови, позволит своевременно выявлять детей, страдающих этим, в настоящее время incurable, заболеванием.

Ключевые слова: дети, болезнь Помпе (гликогеноз II типа), диагностика, выявление дефицита альфа-глюкозидазы (кислой мальтазы).

Greater worldwide interest in Pompe's disease (acid maltase deficiency) is due to the efficiency of the enzyme replacement therapy with recombinant human α -glucosidase against the pathogenetic link of the disease, which emerged in 2006. In our country, the problem of identifying patients with Pompe's disease is tackled by introducing novel diagnostic technologies, organizing the respective diagnostic procedures, and overcoming the physicians' poor awareness. The review characterizes the clinical picture of infantile and late-onset forms of the disease. It describes a range of special diagnostic techniques: biochemical analysis, tissue culture studies, morphological study, and molecular genetic diagnosis. The use of the above methods, dry blood spot tests in particular, permits timely detection of children with this, presently curable, disease.

Key words: children, Pompe's disease (type II glycogenosis), diagnosis, detection of α -glucosidase (acid maltase) deficiency.

Кардинальный пересмотр отношения к наследственным, в первую очередь моногенным, болезням характеризует современную медицину. Это связано с двумя обстоятельствами: секвенированием человеческого генома, которое привело к прогрессу в понимании патогенеза заболеваний, и появлением эффективных средств воздействия на ключевые патогенетические звенья наследственных нарушений. В результате при некоторых, пока единичных, наследственных болезнях традиционная уверенность в неблагоприятном прогнозе начинает сменяться осторожным оптимизмом.

Несомненно, один из наиболее ярких примеров в этом отношении представляет собой болезнь Помпе (гликогеноз II типа), связанная с наследственным дефицитом кислой мальтазы. Применяемая за рубежом с 2006 г. ферментозамещающая терапия с использованием рекомбинантной человеческой альфа-глюкозидазы доказала свою эффективность при этом заболевании [1, 2]. Как следствие, быстро растет понимание актуальности развития диагностических технологий, которые могли бы эффективно определять наличие указанного метаболического дефекта на максимальных ранних стадиях болезни.

© Коллектив авторов, 2010

Ros Vestn Perinatol Pediat 2010; 6:23–35

Адрес для корреспонденции: Сухоруков Владимир Сергеевич — д.м.н., проф., зав. Научно-исследовательской лабораторией общей патологии МНИИ педиатрии и детской хирургии

125412 Москва, ул. Талдомская, д. 2

Харламов Дмитрий Алексеевич — к.м.н., в.н.с., рук. Детского научно-практического центра нервно-мышечной патологии того же института

Перевезенцев Олег Александрович — к.м.н., с.н.с. Научно-исследовательской лаборатории общей патологии того же института

Мамедов Ильгар Салехович — к.м.н., в.н.с. Научно-исследовательской лаборатории общей патологии того же института

КЛИНИЧЕСКИЕ ФОРМЫ ЗАБОЛЕВАНИЯ

Кислая мальтаза (кислая альфа-глюкозидаза) — лизосомный фермент, находящийся во всех тканях. В связи с тем, что альфа-глюкозидаза гидролизует как гликоген, так и мальтозу, термин «дефицит кислой мальтазы» представляется более корректным для названия заболевания, чем «гликогеноз» [3]. Традиционно, хотя, возможно, и недостаточно обоснованно [4], заболевание разделяют на три клинические

формы — инфантильная, детская и взрослая. Все формы обусловлены мутациями в гене *GAA* и передаются по аутосомно-рецессивному типу.

Инфантильная форма заболевания, описанная выдающимся голландским патологом Иоганнесом Помпе [5], и в первую очередь, заслуживающая названия «болезнь Помпе», согласно современным классификациям, называется гликогенозом IIa типа [6]. Клинические симптомы появляются в среднем в возрасте 1—2 мес. Заболевание проявляется выраженной мышечной гипотонией (симптомокомплекс «вялый ребенок»), задержкой роста, тяжелым отставанием моторного развития, прогрессирующей мышечной слабостью, гепатомегалией, прогрессирующей кардиомиопатией и сердечной недостаточностью. Иногда кардиологические проблемы возникают первыми и проявляются шумами в сердце и галопирующим ритмом. Могут иметь место суправентрикулярная тахикардия и другие признаки аритмии. Описаны случаи первого выявления нарушений ритма анестезиологами при операционных вмешательствах по поводу грыжи и т. п. (важно отметить, что у этих детей значительно повышен риск сердечных осложнений при наркозе) [7—9].

Лицевые особенности характеризуются макроглоссией, низким тонусом лицевых мышц, широко открытыми глазами и повышенным слюноотделением, иногда раздуванием ноздрей. Сосание и глотание нарушены, многие больные нуждаются в зондовом питании. В качестве первых признаков заболевания родители могут отмечать повышенную утомляемость и потливость во время кормления. На поздних стадиях отмечается снижение рвотного рефлекса и сухожильных рефлексов, иногда клонус стоп. Арефлексия присутствует у $\frac{1}{3}$ пациентов и представляется результатом поражения клеток переднего рога спинного мозга [7, 9, 10].

Мышцы, особенно икроножные, часто кажутся уплотненными из-за скоплений гликогена. Электромиографическое исследование, хотя и выявляет миопатический паттерн, но малоинформативно в отношении дифференциальной диагностики [8, 10].

Частота дыхания повышена из-за прогрессирующего поражения сердца или часто присоединяющейся респираторной инфекции. Хорошо заметно участие вспомогательных дыхательных мышц. В левой нижней доле легкого из-за сжатия бронхов гипертрофированным левым желудочком часто определяется снижение глубины дыхания. При сердечной недостаточности конечности кажутся холодными и влажными. Кожа представляется тугой и натянутой.

Плотность костной ткани при инфантильной форме болезни Помпе существенно снижена, что может вести к частым переломам [11].

Уровень креатинфосфокиназы может быть нормальным, но обычно повышен. Гигантские комплек-

сы *QRS* (вследствие гипертрофии левого или обоих желудочков), очень короткий интервал *P—R*, инверсия волны *T* и депрессия интервала *S—T* являются ЭКГ-маркерами прогрессирующей кардиомегалии. До эры ферментозамещающей терапии средний возраст смерти от сердечной недостаточности составлял 6—7 мес, 90% пациентов умирали в возрасте до 1 года и лишь немногие жили более 18 мес [12]. Описан и неклассический вариант инфантильной формы, характеризующийся более медленным прогрессированием и менее выраженным поражением сердца [13]. Некоторые заболевания, с которыми необходимо проводить дифференциальную диагностику инфантильной формы болезни Помпе, приведены в табл. 1.

Позднодебютирующая форма (тип IIb) вариабельна в отношении как возраста дебюта, так и спектра органного поражения. Она включает в себя ювенильный вариант, а также взрослый вариант с дебютом в возрасте со второго до шестого десятилетия [14]. Частота позднодебютирующих форм болезни Помпе в популяции составляет 1:40 000 [15]. Позднодебютирующая форма может проявляться в любом возрасте после окончания периода младенчества [8, 14, 16] и наиболее типично представляет собой прогрессирующую миопатию [17]. Многим пациентам, в конце концов, требуется инвалидное кресло и вспомогательная вентиляция легких [18, 19].

Клиническая вариабельность позднодебютирующей формы (в отличие от ситуации с врожденной формой) существенно затрудняет диагностику [14]. Основные заболевания, с которыми следует проводить дифференциальную диагностику, приведены в табл. 2. Хотя клинические проявления весьма многообразны, совокупность конечностно-поясной (особенно тазовой), а также осевой (связанной с поражением параспинальной мускулатуры) слабости, умеренного выпячивания лопаток и симптомов ортопноэ подсказывает клиницисту необходимость определения активности кислой альфа-глюкозидазы — «золотого стандарта» диагностики болезни Помпе. Подтверждение диагноза проводится таким же анализом в другой ткани или молекулярно-генетическим выявлением мутации при секвенировании гена *GAA* (рис. 1) [20].

Клинический спектр болезни Помпе варьирует в зависимости от возраста больного и органной специфики проявления, выраженности миопатии и скорости прогрессирования. Заболевание прогрессирует у всех больных, при этом возраст дебюта у детей или взрослых не всегда коррелирует со степенью прогрессии [19]. В то же время длительность периода клинических проявлений коррелирует с тяжестью болезни [21].

При **ювенильном** варианте обычно поражаются только скелетные мышцы, что клинически выражается медленно прогрессирующей проксимальной

Таблица 1. Дифференциальная диагностика инфантильной формы болезни Помпе [7]

Заболевание	Основные отличительные особенности	Патогенетические особенности
Болезнь Помпе	Значительная кардиомиопатия, макроглоссия, гипотония	Дефицит кислой альфа-глюкозидазы, приводящий к внутрилизосомальному накоплению гликогена в мышечной ткани
Болезнь Данона	Кардиомиопатия, миопатия, переменная задержка психического развития	Лизосомальная болезнь накопления с нормальной активностью кислой альфа-глюкозидазы (дефицит LAMP2)
Болезнь Штейнерта (миотоническая мышечная дистрофия)	Миотония у матери	Нестабильная наследственная мутация гена протеинкиназы миотонической дистрофии
Миастения	Фетальный дистресс, позитивный тест с Простигмином® (неостигмином)	Аутоиммунное заболевание нервно-мышечных соединений или, в редких случаях, нарушения архитектоники нервно-мышечных соединений
Врожденная миопатия	Многоводие	Мутации генов мышечных белков
Врожденная сенсомоторная нейропатия	Артрогрипоз	Нарушения нервной проводимости или амплитуды моторного и сенсорного ответа
Семейная вегетативная дистония	Дыхательные нарушения, проблемы питания	Врожденное заболевание, связанное с недоразвитием нейронов, вызывающим вегетативные и сенсорные дисфункции
Врожденные мышечные дистрофии		Группа заболеваний, связанных с генными дефектами 9-й (болезнь Фукуямы) и 6-й (дефицит мерозина) хромосом
Болезни дыхательной цепи	Широкий круг клинических масок из-за мультисистемного поражения, включая дыхательную недостаточность, кардиомиопатию, гепатомегалию, судороги, глухоту и т.д.	Связаны с первичным поражением митохондриальной ДНК
Болезнь Верднига—Гофмана	Проксимальная амиотрофия	Мутация в гене <i>SMN</i> . Дегенерация двигательных ядер в нижней части ствола мозга и двигательных нейронов в передних рогах спинного мозга
Пероксисомные болезни (например, синдром Целльвегера)		Накопление жирных кислот с очень длинной цепью с последующей демиелинизацией и выраженными признаками воспаления белого вещества
Синдром Прадера—Вилли	Задержка психического развития, ожирение, малые признаки дизморфизма	Отсутствие региона PWS/AS на отцовской хромосоме 15
Синдром Пелищеуса—Мерцбахера	Стридор, дистония, нистагм	Мутация гена протеолипидного протеина, приводящая к нарушению миелинизации центральных отделов мозга

Примечание.* LAMP2 — лизосомный мембранный белок 2 (lysosome-associated membrane protein 2); ген *SMN* — ген жизнеспособности двигательных нейронов (survival motor neuron gene); PWS/AS — Prader-Willi/Angelman syndromes.

слабостью конечностей. Умеренная гипертрофия икроножных мышц может привести к заблуждению в отношении наличия прогрессирующей мышечной дистрофии. Течение болезни переменчиво: для большинства пациентов характерно медленное ухудшение, моторное развитие детей может быть задержано [20]. Выделяется подгруппа больных с ранним началом (до 2 лет) и относительно быстрой динамикой миопатии — дети быстро перестают ходить и нуждаются в дыхательной поддержке еще до достижения 15-летнего возраста [21].

В то же время, по-видимому, возможны варианты с латентным течением, когда накопления гликогена в мышцах долгое время могут быть асимптоматичны. Так, французскими авторами [22] представлено описание больного 21 года, у которого в возрасте 18 мес в связи с повышением уровня креатинфосфокиназы была проведена биопсия мышцы и установлен диагноз болезни Помпе. В дальнейшем осуществлялось регулярное полноценное обследование, при котором с помощью ^{13}C -магнитно-резонансной спектроскопии отмечалось постепенное внутримышечное на-

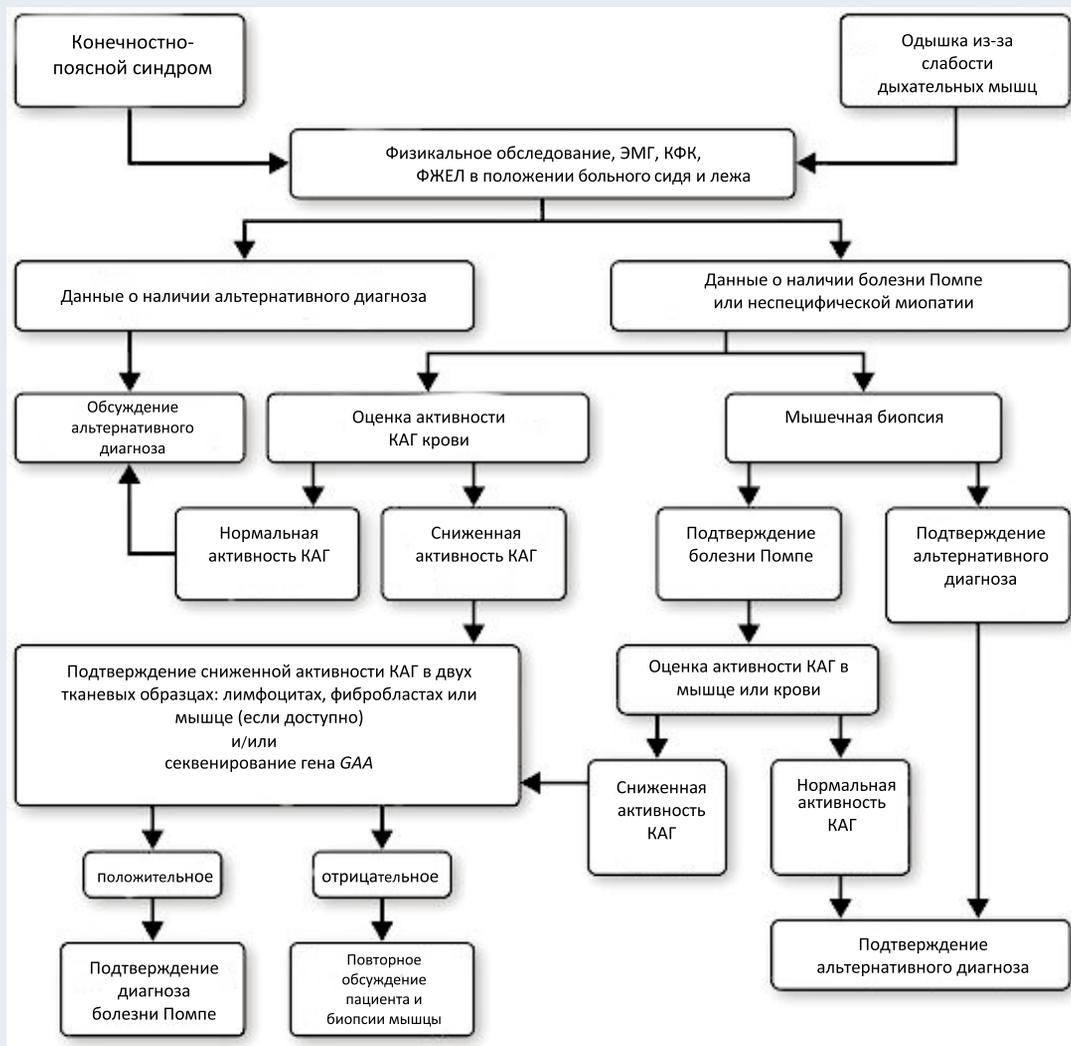


Рис. 1. Алгоритм диагностики болезни Помпе с поздним дебютом [20].

КАГ — кислая альфа-глюкозидаза; ЭМГ — электромиография; КФК — креатинфосфокиназа; ФЖЕЛ — форсированная жизненная емкость легких.

Таблица 2. Дифференциальная диагностика позднодебютирующих форм болезни Помпе [20]

Тип заболевания	Диагнозы
Миодистрофии	Конечностно-поясные миодистрофии. Дистрофинопатии (Дюшенна и Беккера). Миофибрилярные миопатии. Миотоническая дистрофия 2-го типа. Лопаточно-перонеальные синдромы. Болезнь Данона. X-сцепленная миопатия с повышенной аутофагией. Плечелопаточно-лицевая миодистрофия
Воспалительные миопатии	Полиммиозит. Миозит с включениями
Врожденные (структурные) миопатии	Немалиновая миопатия. Центральное-стержневая и многостержневая миопатии. Центральное-ядерная миопатия. Миопатия с гиалиновыми тельцами. Другие врожденные миопатии
Другие метаболические миопатии	Дефицит фермента, предотвращающего ветвление гликогена (гликогеноз III). Дефицит ветвящего фермента гликогена (гликогеноз IV). Болезнь Мак Ардла (с поздним дебютом). Митохондриальная миопатия. Миопатии с нарушениями липидного обмена
Болезни моторных нейронов	Спинальная мышечная атрофия, типы II и III. Болезнь Кеннеди. Боковой амиотрофический склероз
Болезни нервно-мышечных соединений	Миастения. Врожденные миастенические синдромы. Синдром Ламберта—Итона

копление гликогена. Клинические проявления заболевания отсутствовали, пациент вплоть до момента описания случая играл в баскетбол.

Взрослый вариант позднодебютирующей формы имеет проявления, схожие с ювенильным вариантом, продолжением которого он часто является (более 50% пациентов сообщают о легких проблемах в детстве).

У взрослых конечностно-поясная слабость и проблемы с движением — наиболее частые первые симптомы заболевания. Пациенты могут жаловаться на трудности подъема по лестнице или с кресла, изменение походки, появление затруднений при беге или занятиях спортом. Иногда мышечная боль, крампи и утомляемость предшествуют симптомам мышечной слабости [18–20]. Вовлеченность в патологический процесс диафрагмы и дыхательных мышц иногда приводит к тому, что в числе первых симптомов фигурируют дыхательные нарушения.

Дети и взрослые с проявлениями конечностно-поясных мышечных нарушений, а также со слабостью дыхательной мускулатуры, но не имеющие определенного диагноза или с ошибочным диагнозом, часто направляются различными врачами к специалистам в области нервно-мышечных болезней. Тесты, применяемые при нервно-мышечной патологии, такие как электромиография и мышечная биопсия, могут не дать специфического ответа. Важно, чтобы клиницисты, сталкивающиеся с подобными трудными ситуациями и находящиеся порой в конце длинного исследовательского процесса, независимо от того, длительное или короткое время пациент страдает соответствующими нарушениями, были насторожены в отношении необходимости проведения тестов, выявляющих болезнь Помпе [20]. Поскольку первые симптомы заболевания неспецифичны, часто имеет место существенная задержка в постановке диагноза. В когорте из 38 пациентов с доказанным диагнозом позднодебютирующей формы болезни Помпе среднее время от первого визита к врачу до установления диагноза составило 7 лет [19]. В другой работе при опросе 54 аналогичных пациентов выяснилось, что время, затраченное на установление диагноза, у $\frac{1}{3}$ из них составило от 5 до 30 лет [18].

Хотя симптомы конечностно-поясной мышечной слабости являются наиболее частыми первыми признаками заболевания, пациенты могут испытывать и мышечную боль, крампи или поясничные боли [18, 19]. Боль — это недооцениваемый симптом при позднодебютирующей болезни Помпе; 46% пациентов, обследованных М. Nagemans и соавт. [18], жаловались на боли в различных областях тела, наиболее часто (33%) в ногах. Утомление, испытываемое 76% пациентов, также является наиболее частым признаком заболевания [18, 23].

Типично, что слабость значительно проявляется в проксимальных мышцах, чем в дистальных [17],

и выраженнее в тазовом поясе, чем в плечевом. Могут быть поражены отдельные мышцы или типы мышечных волокон, тогда как другие зоны могут оставаться клинически непораженными. Более выражена слабость мышцы, приводящей бедро, чем отводящей. Помимо мускулатуры конечностей наиболее часто поражаются диафрагма и осевые околопозвоночные мышцы. Слабость мышц лопаток и голеней, крыловидные лопатки и заметная атрофия околопозвоночных мышц также отмечаются в литературе [24, 25]. Степень мышечной атрофии в целом соответствует выраженности мышечной слабости [17]. Может иметь место лицевая слабость [26], а у некоторых пациентов отмечен унилатеральный или билатеральный птоз [27]. Болезнь Помпе диагностируется иногда у пациентов, имеющих умеренные неспецифические симптомы со стороны скелетных мышц (например, миалгии), но без клинических признаков слабости [28].

Полезно использование шкалы MRC (Medical Research Council Paralysis Scale 1976), предназначенной для оценки мышечной силы рук и ног [29] или других методов количественной оценки работы мышц. Большинство клиницистов оценивает мышечную силу в положении больного сидя, однако это положение не позволяет определить силу всех мышц, работающих против гравитации, что требует подключения оценки по шкале MRC. В положении пациента сидя клиницист может обследовать в основном мышцы верхних конечностей. Стигание шеи и бедер должно оцениваться в положении больного лежа на спине; отведение бедра — в положении пациента лежа на боку. Когда оцениваются выпрямление бедер, сгибание коленей и вытягивание шеи, больной должен лежать ничком [20].

Как правило, изучение нервной проводимости приводит к нормальным результатам, но электромиография часто указывает на наличие миопатии с повышением возбудимости мышечных мембран [17]. Результативной бывает миография околопозвоночных мышц, так как иногда нарушения выявляются только в них [25]. Самые примечательные миографические изменения — это выраженная возбудимость в форме фибрилляции потенциалов, позитивные острые волны, комплекс повторяющихся разрядов и миотонические разряды [17, 30]. Миотонические разряды могут быть обильны и часто атипичны (например, только затухающие вместо усиливающихся и затухающих). Важно, что при этом клинических признаков миотонии нет. Дифференциально-диагностическое значение имеет последовательное нарастание числа коротких низкоамплитудных полифазных потенциалов со стороны моторных единиц. Иногда наблюдаются и более высокие потенциалы, как при многих хронических миопатиях. Изредка могут иметь место фасцикуляции.

При позднодебютирующей форме болезни Помпе

отмечается корреляция между мышечной слабостью и данными магнитно-резонансной и компьютерной томографии мышц. Однако эти методы, хотя и могут идентифицировать атрофию и жировую инфильтрацию, не имеют существенных особенностей, не коррелируют с гистологическими данными и не особенно помогают в установлении диагноза [20, 31, 32].

О когнитивных дисфункциях, как и о сенсорных и мозжечковых нарушениях, при болезни Помпе не сообщается [20].

Дыхательная недостаточность развивается у $\frac{1}{3}$ взрослых больных [8, 17], она же является наиболее частой причиной смерти [4]. В противоположность больным с другими нервно-мышечными заболеваниями амбулаторные пациенты с позднодебютирующей формой болезни Помпе могут иметь не диагностируемые дыхательные нарушения [33, 34]. Признаки и симптомы диафрагмальной слабости или апноэ во сне могут проявиться еще до нарушений других мышц и должны прицельно выявляться у всех пациентов с подозрением на заболевание [14, 19, 33]. Одышка и вынужденное положение тела при дыхании указывают на необходимость дальнейшей оценки дыхательных функций [34–38]. Симптомы, позволяющие предполагать наличие обструктивного апноэ во время сна, и ночная гиповентиляция также требуют дополнительного обследования [34, 36, 37]. Больных нужно прицельно расспрашивать о наличии ночного беспокойства, частых пробуждений, храпа, повышенной дневной сонливости, головной боли и утренней заторможенности [39].

При оценке респираторных функций частью скринингового обследования может быть оценка жизненной емкости легких в положении больного сидя и лежа. Простой тест — попросить пациента громко считать во время одиночного выдоха: сниженное число, полученное при счете в положении лежа, по сравнению с положением сидя говорит об уменьшении жизненной емкости. Для большей точности можно измерять форсированную жизненную емкость, максимальное давление вдоха и максимальное давление выдоха [20]. Измерение форсированной жизненной емкости в положении пациента сидя и лежа должно проводиться всякий раз, когда это возможно [40]. Больше, чем на 10%, снижение этого показателя при переходе больного из положения сидя в положение лежа заставляет предполагать наличие диафрагмальной слабости. Эти измерения необходимо проводить, невзирая на наличие симптомов нарушения дыхания.

Полезны дополнительные измерения легочных функций, имеющие большую чувствительность в отношении раннего выявления слабости и утомляемости дыхательных мышц [41]. Мышечная сила во время вдоха и выдоха может оцениваться путем измерения статического давления [41, 42]. Определение этого

показателя на вдохе, кроме того, может быть полезно, когда исследование форсированной жизненной емкости в положении лежа невозможно как у пациентов в инвалидном кресле, так и у больных с дыхательной недостаточностью. Так как определение статического давления существенно зависит от методических условий, результаты могут иногда вводить в заблуждение. Больные должны плотно обхватывать губами мундштук, но слабость лицевых мышц и утечка воздуха могут влиять на результат.

Большую пользу приносят такие исследования, как полисомнография, ночная оксиметрия и капнография [40]. Максимально раннее выявление дыхательной недостаточности исключительно важно для лечения больных с позднодебютирующей формой болезни Помпе. Длительная ночная неинвазивная вентиляция необходима таким больным и приводит к улучшению состояния (уменьшение выраженности нарушений сна, дневной сонливости, утомления и нарушений дыхания) [33]. Нагрузочные тесты с определением потребления кислорода предлагаются использовать в качестве чувствительных методов для оценки эффективности ферментозамещающей терапии при болезни Помпе с поздним дебютом [43].

При взрослой форме заболевания плотность костной ткани снижена в меньшей степени, чем при инфантильной [11]. Могут иметь место контрактуры, деформации скелета и остеопороз [14]. Сколиоз часто сопровождает болезнь Помпе, причем при взрослой форме он более характерен для более рано дебютирующих случаев [44].

Мозговая аневризма является серьезным, не всегда распознаваемым осложнением болезни Помпе, данные о частоте которого в литературе, вероятно, занижены [45, 46]. В одной из работ [4] указывается, что церебральная аневризма является второй после дыхательной недостаточности причиной смерти при этом заболевании. Частота такого осложнения (около 2,7%) значительно превышает общую частоту аневризм мозга в популяции.

Случаи вовлечения сердца в патологический процесс при позднодебютирующей болезни Помпе, в частности кардиомиопатии, плохо документированы и требуют дальнейшего изучения. Как правило, кардиомиопатия не наблюдается при этой форме заболевания [8, 47], хотя о синдроме Вольфа — Паркинсона — Уайта (WPW) и электрокардиографических нарушениях сообщалось [19]. В последней работе обнаружен WPW-синдром у 3 из 38 пациентов с молекулярно-генетически доказанной болезнью Помпе, и предположено, что гликоген может избирательно накапливаться в проводящей системе сердца. Отсутствие выраженной кардиомиопатии у больных с позднодебютирующей формой заболевания предположительно связано с тем, что остаточная фермен-

тативная активность у них в сердечной ткани выше, чем у больных с инфантильной формой.

СПЕЦИАЛЬНЫЕ МЕТОДЫ ДИАГНОСТИКИ

Биохимическая диагностика

У младенцев с болезнью Помпе в крови повышен уровень креатинфосфокиназы, альдолазы, аланин- и аспаратаминотрансминаз, а также лактатдегидрогеназы. Трансминазы обычно представлены мышечными фракциями. В моче и плазме также повышен уровень олигосахаридов, особенно тетрасахарида глюкозы [7], что является неспецифическим маркером гликогенового накопления, удобным для оценки динамики заболевания [48, 49].

Уровень креатинфосфокиназы у больных с позднодебютирующей формой заболевания обычно повышен в 1,5—15 раз по сравнению с нормальным значением у взрослых [50]. Иногда этот показатель может быть в пределах нормы [4, 17]. В отличие от больных некоторыми другими метаболическими миопатиями у пациентов с болезнью Помпе не отмечается рабдомиолиза.

Уровень сывороточных трансминаз также может быть повышен у взрослых больных [14, 51], причем содержание аспаратаминотрансферазы часто выше, чем аланинаминотрансферазы. Нормальный уровень гамма-глутамилтранспептидазы указывает, что это повышение уровня трансминаз — не печеночного происхождения. Часто у больных с бессимптомным или малосимптомным течением болезни именно постоянное повышение уровня креатинфосфокиназы и трансминаз ведет к более полному обследованию и постановке диагноза [28, 52, 53].

В последнее время расширяется круг лабораторных параметров, потенциально рассматриваемых в качестве диагностически значимых при болезни Помпе. Так, японскими авторами [54] предлагается использовать капиллярный электрофорез и время-пролетную масс-спектрометрию для оценки метаболитов гликогена в мышечных биоптатах больных гликогенозами (типов IIa, IIb, III, V, VII, а также с дефицитом фосфолипидкиназы). При этом показано, что количество продуктов гликолиза, производных глюкозо-1-фосфата, снижено у больных гликогенозами типов III и V; число предшественников фруктозодифосфата (глюкозо-6-фосфат, глюкозо-1-фосфат, фруктозо-6-фосфат) значительно выше при гликогенозе VII; число предшественников фосфолипидата выше нормы при дефиците фосфолипидкиназы. При гликогенозе II изменений в количестве метаболитов гликолиза не происходит, однако повышается число метаболитов цикла трикарбоновых кислот. Авторы считают, что указанный метод может с высокой специфичностью применяться при дифференциальной диагностике гликогенозов.

Выявление активности кислой альфа-глюкозидазы

При всех формах заболевания обнаружение дефицита альфа-глюкозидазы в различных тканях (в цельной крови, мышцах, лейкоцитах или фибробластах) является ведущим доказательством диагноза. Пренатальная диагностика возможна при исследовании трофобластов или амниотических клеток. Активность кислой альфа-глюкозидазы коррелирует с дебютом — при инфантильной форме она может быть менее 1% от нормального показателя, а при позднодебютирующей форме варьирует от 2 до 40% [14, 55].

Определение в пробах крови

До недавнего времени диагностика болезни Помпе требовала оценки активности кислой альфа-глюкозидазы в фибробластах, культивируемых из материала, полученного при биопсии кожи или мышцы. Так как кровь содержит глюкоамилазу мальтазы с альфа-глюкозидазной активностью, которая маскирует дефицит истинного фермента, исследования активности кислой альфа-глюкозидазы в цельной крови не проводилось [55].

Большим достижением в выявлении дефицита кислой альфа-глюкозидазы была разработка метода анализа сухих пятен крови с использованием мальтозы [56] и акарбозы [57] в качестве ингибиторов активности глюкоамилазы мальтазы. N. Chamoles и соавт. [56] показали, что энзимная активность, исследованная таким образом, существенно отличается у пациентов с болезнью Помпе как от нормальных значений, так и от соответствующих (промежуточных по значению) показателей у гетерозиготных носителей.

Пилотный скрининг новорожденных с использованием акарбозы был проведен в Тайване [58]. Технологии для неонатального скрининга были разработаны и другими авторами [59, 60], но не все они тестировались в клинике. Например, использование методов, основанных на технологии ELISA, в ряде случаев приводит к ошибке, так как при относительно легких вариантах заболевания может быть нарушена функция кислой альфа-глюкозидазы, но количество ее останется практически нормальным.

В крупном международном исследовании в 2008 г. [61] была проведена оценка эффективности определения активности кислой альфа-глюкозидазы в сухих пятнах крови новорожденных тандемным масс-спектрометрическим методом. В этой работе предшествующие методические разработки были адаптированы для данного метода. Авторы посчитали это актуальным по нескольким причинам: 1) указанная технология распространена практически во всех лабораториях неонатального скрининга; 2) тандемная масс-спектрометрия демонстрирует высокую производительность; 3) она характеризуется высокой чувствительностью. Что еще более важно, выявление маркеров болезни Помпе при этом может комплексно-

роваться с определением маркеров болезней Фабри, Краббе, Нимана — Пика (А и В) и Гоше [57, 59, 62].

Неонатальный скрининг болезни Помпе актуален по нескольким причинам: во-первых, несмотря на яркость клинической картины у большинства пациентов, у больных инфантильной формой бывают и неявные проявления, а ферментозамещающая терапия гораздо более эффективна, если проводится на бессимптомной стадии заболевания. Во-вторых, скрининг позволил бы заранее выявлять позднодебютирующие формы, значение чего, при наличии перспективных методов лечения, трудно переоценить [61, 63].

В уже цитированной работе 2008 г. [61] показаны высокие диагностические качества масс-спектрометрического метода, превышающего по точности даже аналогичные определения уровня ацилкарнитинов и аминокислот. При этом активность исследуемого фермента линейно коррелирует с величиной гематокрита, что указывает на внутриклеточную локализацию энзима, а интерференция гемоглобина не влияет на точность метода. Активность энзима в сухих пятнах была стабильна при хранении до 28 дней при различных температурах. Лишь небольшое снижение наблюдалось в случае длительного хранения образцов при температуре 37°C. Авторы не изучали эффект влажности, но им представляется маловероятным воздействие ее колебаний на получаемые показатели. Активность кислой альфа-глюкозидазы, исследованная в этой работе более чем у 10 000 доношенных и недоношенных новорожденных в Австрии, была в пределах нормы, составив в среднем 13,3 мкмоль/ч•л. У всех пациентов с болезнью Помпе (обследованы 14 больных младенцев и 15 пациентов с поздним дебютом) эта активность составила < 2 мкмоль/ч•л. Выявленных различий данных показателей между рано- и позднодебютирующими формами не отмечалось, что характерно и при исследовании других тканей [51].

В работе J. Goldstein и соавт. [64] также исследована эффективность определения активности кислой альфа-глюкозидазы в сухих пятнах крови. Обследованы 220 больных в возрасте до года и 671 пациент старше года (165 — до 18 лет и 506 взрослых) с проявлениями неясного нервно-мышечного заболевания или имеющих больных родственников с нервно-мышечной патологией. Снижение активности фермента, свидетельствующее о гликогенозе II, обнаружено у 13,6% младенцев, у 10,3% пациентов в возрасте от 1 года до 18 лет и у 12,6% взрослых больных. При этом авторами у взрослых больных с мышечной слабостью в проксимальных или конечностно-поясных отделах сниженная активность кислой альфа-глюкозидазы была выявлена в 15% случаев. Все вышесказанное убедительно свидетельствует о том, что метод сухих пятен должен широко применяться при малейшем подозрении на гликогеноз II типа.

Описан также метод, использующий смесь акар-

бозы и естественного субстрата — гликогена [65]. Метод используется преимущественно для оценки позднодебютирующей формы.

Определение в тканевых пробах

До наступления эпохи исследования крови «золотым стандартом» считались исследования культуры фибробластов и мышечных биоптатов [8, 51]. Измерение в фибробластах дает хорошие результаты, но ограничением использования метода могут быть неопытность экспериментатора, отсутствие возможностей выращивать колонии и длительность процедуры. Как правило, необходимо 4—6 нед для того, чтобы вырастить монослой фибробластов из материала кожного биоптата [14, 51].

Анализ активности фермента в очищенных лимфоцитах с использованием акарбозы показал 93% эффективность выявления дефицита кислой альфа-глюкозидазы у детей. Однако он может быть не адекватен при наличии парциальной недостаточности фермента [66]. Другое препятствие — потенциальная нейтрофильная контаминация и интерференция глюкоамилазы мальтазы в случаях плохого взятия и обработки пробы. Поэтому при данном исследовании глюкоамилазу мальтазы необходимо ингибировать.

Мышечная биопсия позволяет провести более быстрый анализ активности фермента, но ткань должна быть заморожена в момент взятия биоптата и без разморозки доставлена в лабораторию.

МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА

Вакуолярная миопатия и гистохимические доказательства накопления гликогена — основные морфологические признаки болезни Помпе при анализе мышечных биоптатов [5, 17, 55]. Вакуоли окрашиваются Шифф-позитивно. Могут обнаруживаться и аутофагические вакуоли, позитивные на кислую фосфатазу (следует отметить, что по недавним сведениям большую роль в развитии болезни Помпе при позднем дебюте играют активируемые на уровне транскрипции факторы аутофагоцитоза) [67, 68]. Может иметь место преимущественная вакуолизация мышечных волокон первого или второго типа [69—71]. Реже в биоптатах определяются признаки нейрогенного поражения, а также некротические волокна [26, 55].

У больных с позднодебютирующей формой заболевания морфологические характеристики мышцы могут значительно различаться: от практически неизмененных до грубо нарушенных. Процент вакуолизованных мышечных волокон может варьировать от 0 до 75% [17, 26]. В другом исследовании эта вариабельность составила 1-90% [69].

У одного и того же больного степень накопления гликогена и вакуолизации может варьировать в разных мышцах или в мышечных волокнах разного типа [14, 51, 69]. Выбор мышцы и ее конкретного участка

для биопсии может сыграть роль в удаче или неудаче исследования. Отсутствие морфологических изменений, таким образом, полностью не исключает предполагаемый диагноз болезни Помпе.

Гистохимическое выявление гликогена на светомикроскопическом уровне позволяет выявить сам факт гликогеноза. Однако более точный диагноз возможен только с помощью электронной микроскопии. Гликоген определяется при электронной микроскопии как в виде свободно диспергированного в цитоплазме, так и в составе лизосом [26, 55]. Выявляя характерные для гликогеноза II типа внутрилизосомальные скопления гликогена (рис. 2), электронная микроскопия, хотя и не всегда доступная в рутинной практике, предоставляет, таким образом, высокоспецифичные доказательства наличия болезни Помпе.

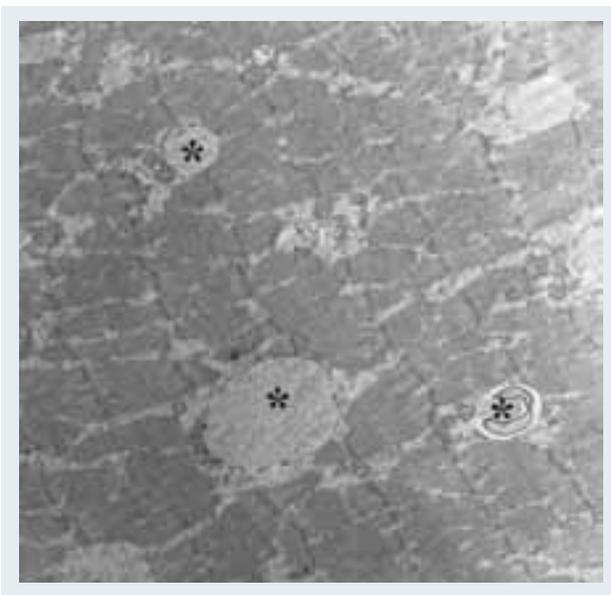


Рис. 2. Электронно-микроскопическое выявление внутрилизосомальных скоплений гликогена (звездочки) у больного 15 лет. $\times 15\ 000$.

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА

Болезнь Помпе — моногенное заболевание с аутосомно-рецессивным типом наследования [55, 70]. Ген заболевания *GAA* (OMIM *606800), кодирующий фермент кислую α -1, 4-глюкозидазу, картирован на 17-й хромосоме (локус 17q25.2 — q25.3) [55, 70, 71]. Ген имеет длину 20 кб и содержит 20 экзонов [72]. Первый экзон является некодирующим. Кодирующая последовательность предполагаемого участка каталитической области фермента прерывается интроном длиной в 101 б. Ген *GAA* содержит до 80% GC пар оснований и отличается бедностью содержания консервативных боксов ТАТА и ССААТ [71]. Промоторный регулятор гена *GAA* является типичным примером гена «домашнего хозяйства» («housekeeping»).

Для *GAA* характерен чрезвычайно высокий мутационный полиморфизм. В нем в настоящее время описано более 200 мутаций, включающих однонуклеотидные миссенс- (смысловые) и нонсенс (стоп-кодонные) замены, мутации сайтов сплайсинга, а также делеции-инсерции (вставки). Большинство мутаций гена болезни Помпе — семейные, причем для каждой изученной семьи описана своя уникальная мутация, которая из поколения в поколение передается гетерозиготными носителями, не имеющими симптомов данного заболевания [14]. Однако для некоторых мутаций наблюдается повышенная частота в определенных этнических группах. Например, в европейской популяции мутация сайта сплайсинга IVS1 (-13T->G) наиболее часто встречается у пациентов с болезнью Помпе с более взрослым дебютом, причем хотя бы в одном аллеле (в гетерозиготном состоянии) эта мутация обнаруживается более чем у 50% больных [14]. А. Montalvo и соавт. [73] у итальянских пациентов с болезнью Помпе обнаружили повышенную частоту гетерозиготного семейного носительства мутации сайта сплайсинга в первом интроне. Она составляла 85% (аллельная частота 42,3%). В Израиле практически все случаи болезни Помпе зарегистрированы у палестинских арабов, что, возможно, связано с еще не идентифицированной мутацией, возникшей в данной стране по типу эффекта родоначальника [74].

Часть, но не большинство, мутаций имеет корреляцию с клиническим фенотипом больных [14, 70]. Но все-таки четкой генофенотипической корреляции для болезни Помпе не обнаружено. Например, М. Kroos и соавт. [16] при обследовании 98 пациентов, имеющих мутацию сайта сплайсинга у одних и делецию практически всего гена *GAA* у других, не обнаружили в случаях потенциально более тяжелой мутации (делеции) ассоциации с более тяжелой клинической картиной заболевания. Слабое проявление такой корреляции для гликогеноза II типа может быть обусловлено наличием еще не идентифицированного гена-модификатора [8, 70]. В качестве кандидата на роль модификатора фигурирует ген ангиотензинпревращающего фермента (АСЕ). Показано, что генотип DD полиморфизма делеции-инсерции (I/D) данного гена ассоциирован с более ранним началом болезни, более высоким уровнем креатининкиназы и более быстрым прогрессированием [75].

У некоторых пациентов с болезнью Помпе описана компаунд-гетерозиготность по мутациям гена *GAA*, когда одновременно две мутации находятся в биаллельном гетерозиготном состоянии. Например, причиной инфантильной формы гликогеноза II типа у пациента в одной из семей являлось компаунд-гетерозиготное носительство мутации типа трансверсии нуклеотида Т на нуклеотид Г в первом интроне и делеции одного нуклеотида Т в позиции 525 [76]. В целом, компаундная гетерозиготность как причина

болезни Помпе является достаточно редкой.

Следует также отметить, что, несмотря на обнаруженную корреляцию подтипов болезни Помпе, различающихся возрастом начала заболевания, со степенью сохранности активности кислой альфа-глюкозидазы, с генетической точки зрения эта корреляция не находит объяснения. Таким образом, отсутствие четкой связи между генотипом и фенотипом для болезни Помпе касается не только клинических проявлений, но и первичного ферментного дефекта, что, как уже было сказано, может свидетельствовать о более сложной генетической этиологии данного заболевания [16, 76].

В настоящее время в связи с появившейся возможностью эффективного лечения гликогеноза II типа встал вопрос о генетической диагностике и скрининге заболевания [20]. Его сложность заключается в том, что при болезни Помпе не описаны мажорные мутации, высокая частота которых позволяла бы определять только конкретные локусы. Поточное исследование уже известных мутаций целесообразно только в случае изучения определенной этнической группы пациентов, имеющих специфические для них мутационные изменения. При исследовании смешанной группы больных необходимо секвенировать весь ген.

Секвенирование можно применять для скрининга семей и идентификации гетерозиготных носителей, детекции мутаций *de novo* и для поиска генотипичес-

ко-фенотипических корреляций. Но в связи с большой длиной гена *GAA* обычные методы секвенирования с использованием капиллярного электрофореза для быстрого неонатального скрининга гликогеноза II типа не подходят. Для этой задачи необходима разработка диагностических алгоритмов и наборов, основанных на новых методах определения нуклеотидной последовательности ДНК (секвенаторы второго и третьего поколений). В настоящее время для быстрого скрининга болезни Помпе более адекватны биохимические методики.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Приведенная в обзоре информация, основанная, главным образом, на публикациях последнего десятилетия, убедительно свидетельствует о значительно более широкой распространенности дефицита кислой альфа-глюкозидазы, чем это представлялось ранее. Несомненно, распространение информации об этом заболевании во врачебной среде и активное применение таких методов исследования, как анализ сухих пятен крови, позволят выявить большое число больных и в России. Успех новых лечебных подходов, применяемых пока только за рубежом и основанных на ферментозамещающей терапии, делает задачу развития соответствующих диагностических технологий в нашей стране особенно актуальной.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Thurberg B. L., Maloney C.L., Vaccaro Ch. et al.* Characterization of pre- and post-treatment pathology after enzyme replacement therapy for Pompe disease // *Laboratory Investigation*. 2006. Vol. 86. P. 1208—1220.
2. *Kishnani P.S., Corzo D. Leslie N.D et al.* Early Treatment with Alglucosidase Alfa Prolongs Long Term Survival of Infants with Pompe Disease // *Pediatr.Res.* 2009. Vol. 66, № 3. P. 329—335.
3. *Reuser A.J., Kroos M.A, Hermans M.M. et al.* Glycogenosis type II (acid maltase deficiency) // *Muscle Nerve Suppl.* 1995. Vol. 3. P. 61—69.
4. *Winkel L.P., Hagemans M.L., van Doorn P.A. et al.* The natural course of non-classic Pompe's disease; a review of 225 published cases // *J. Neurol.* 2005. Vol. 252. P. 875—884.
5. *Pompe J.C.* Over idiopathische hypertrofie van het hart // *Ned Tijdsch Geneesk.* 1932. Vol. 76. P. 304—311.
6. *North K., Shield L.* Muscle disorders / In: *Diseases of the Nervous System in Childhood*, ed. By J. Aicardi. London: Mac Keith Press, 2009. P. 826—827.
7. *Howell R.R., Byrne B., Darras B.T. et al.* Diagnostic challenges for Pompe disease: An under-recognized cause of floppy baby syndrome // *Genet. Med.* 2006. Vol. 8, № 5. P. 289—296.
8. *Kishnani P.S., Howell R.R.* Pompe disease in infants and children // *J. Pediatr.* 2004. Vol. 144. P. 35—43.
9. *Мазанкова Л.Н., Котлуква Н.П., Сорока С.Г. и др.* Трудности диагностики болезни Помпе у детей грудного возраста. // *Педиатрия*. 2005. № 6. С.89—92.
10. *Schoser B., Hill V, Raben N.* Therapeutic approaches in glycogen storage disease type II/Pompe Disease // *Neurotherapeutics*. 2008. Vol. 5, № 4. P. 569—578.
11. *Papadimas G.-K., Terzis G., Methenitis S. et al.* Adult Pompe disease: bone mineral density before and after enzyme replacement therapy // *Acta Myologica*. 2010. Vol. 29. P. 183—204.
12. *Van den Hout H.M., Hop W., van Diggelen O.P. et al.* The natural course of infantile Pompe's disease: 20 original cases compared with 133 cases from the literature // *Pediatrics*. 2003. Vol. 112. P. 332—340.
13. *Slonim A.E., Bulone L., Ritz S. et al.* Identification of two subtypes of infantile acid maltase deficiency // *J. Pediat.* 2000. Vol. 137. P. 283—285.
14. *Kishnani P.S., Steiner R.D., Bali D. et al.* Pompe disease diagnosis and management guideline // *Genet. Med.* 2006. Vol. 8. P. 267—288.
15. *Martiniuk F., Chen A., Mack A. et al.* Carrier frequency for glycogen storage disease type II in New York and estimates of affected individuals born with the disease // *Am. J. Med. Genet.* 1998. Vol. 79. P. 69—72.
16. *Kroos M.A., Pomponio R.J., Hagemans M.L. et al.* Broad spectrum of Pompe disease in patients with the same c.-32-13T->G haplotype // *Neurology*. 2007. Vol. 68. P. 110—115.
17. *Engel A.G., Hirschhorn R., Huie M.* Acid maltase deficiency / In: *Engel AG, Franzini-Armstrong C, editors. Myology*, 3rd ed. New York: McGraw-Hill, 2004. P. 1559—1586.
18. *Hagemans M.L., Winkel L.P., Van Doorn P.A. et al.* Clinical

- manifestation and natural course of late-onset Pompe's disease in 54 Dutch patients // *Brain*. 2005. Vol. 128, Pt. 3. P. 671—677.
19. Müller-Felber W., Horvath R., Gempel K. et al. Late onset Pompe disease: clinical and neurophysiological spectrum of 38 patients including long-term follow-up in 18 patients // *Neuromuscul. Disord.* 2007. Vol. 17. P. 698—706.
 20. Diagnostic criteria for late-onset (childhood and adult) Pompe disease American Association of Neuromuscular & Electrodiagnostic // *Medicine Muscle Nerve*. 2009. Vol. 40, № 1. P. 149—160.
 21. Hagemans M.L., Winkel L.P., Hop W.C et al. Disease severity in children and adults with Pompe disease related to age and disease duration // *Neurology*. 2005. Vol. 64. P. 2139—2141.
 22. Laloui K., Wary K., Carlier R.-Y. et al. Making diagnosis of Pompe disease at a presymptomatic stage: to treat or not to treat? // *Acta Myologica*. 2010. Vol. 29. P. 181—198.
 23. Hagemans M.L., van Schie S.P., Janssens A.C. et al. Fatigue: an important feature of late-onset Pompe disease // *J. Neurol.* 2007. Vol. 254. P. 941—945.
 24. Hirschhorn R., Reuser A.J. Glycogen storage disease type II: acid α -glucosidase (acid maltase) deficiency. In: D. Valle, A.L. Beaudet, B. Vogelstein et al. (eds). *The online metabolic and molecular bases of inherited disease*, chap. 135. Scriver's OMMBID Website. <http://www.ommbid.com/>. Accessed January 23, 2008.
 25. Barohn R.J., McVey A.L., DiMauro S. Adult acid maltase deficiency // *Muscle Nerve*. 1993. Vol. 16. P. 672—676.
 26. Amato A.A. Acid maltase deficiency and related myopathies // *Neurol. Clin.* 2000. Vol. 18. P. 151—165.
 27. Groen W.B., Leen W.G., Vos A.M. et al. Ptosis as a feature of late-onset glycogenosis type II // *Neurology*. 2006. Vol. 67. P. 2261—2262.
 28. Fernandez C., de Paula A.M., Figarella-Branger D. et al. Diagnostic evaluation of clinically normal subjects with chronic hyperCKemia // *Neurology*. 2006. Vol. 66. P. 1585—1587.
 29. Masur H. Scales and scores in Neurology. Stuttgart: Georg Thieme Verlag, 2004. 448 p.
 30. Daube J.R., Rubin D.I. Electrodiagnosis of muscle disorders / In: A.G. Engel, C. Franzini-Armstrong (eds). *Myology*, 3rd ed. New York: McGraw-Hill, 2004. 641 p.
 31. De Jager A.E., van der Vliet T.M., van der Ree T.C. et al. Muscle computed tomography in adult-onset acid maltase deficiency // *Muscle Nerve*. 1998. Vol. 21. P. 398—400.
 32. Pichiecchio A., Uggetti C., Ravaglia S. et al. Muscle MRI in adult-onset acid maltase deficiency // *Neuromuscul. Disord.* 2004. Vol. 14. P. 51—55.
 33. Mellies U., Stiebling F., Dohna-Schwake C., Ragette R. et al. Respiratory failure in Pompe disease: treatment with noninvasive ventilation // *Neurology*. 2005. Vol. 64. P. 1465—1467.
 34. Puruckherr M., Pooyan P., Girish M.R. et al. Successful treatment of respiratory insufficiency due to adult acid maltase deficiency with noninvasive positive pressure ventilation // *Sleep Med.* 2004. Vol. 5. P. 379—381.
 35. Felice K.J., Alessi A.G., Grunnet M.L. Clinical variability in adult-onset acid maltase deficiency: report of affected sibs and review of the literature // *Medicine (Baltimore)*. 1995. Vol. 74. P. 131—135.
 36. Margolis M.L., Howlett P., Goldberg R. et al. Obstructive sleep apnea syndrome in acid maltase deficiency // *Chest*. 1994. Vol. 105. P. 947—949.
 37. Mellies U., Ragette R., Schwake C. et al. Sleep-disordered breathing and respiratory failure in acid maltase deficiency // *Neurology*. 2001. Vol. 57. P. 1290—1295.
 38. Moufarrej N.A., Bertorini T.E. Respiratory insufficiency in adult-type acid maltase deficiency // *South Med. J.* 1993. Vol. 86. P. 560—567.
 39. Dhand U.K., Dhand R. Sleep disorders in neuromuscular diseases // *Curr. Opin. Pulm. Med.* 2006. Vol. 12. P. 402—408.
 40. Van der Ploeg A.T. Monitoring of pulmonary function in Pompe disease: a muscle disease with new therapeutic perspectives // *Eur. Res. J.* 2005. Vol. 26. P. 984—985.
 41. Ward N.S., Hill N.S. Pulmonary function testing in neuromuscular disease // *Clin. Chest. Med.* 2001. Vol. 22. P. 769—781.
 42. Syabbalo N. Assessment of respiratory muscle function and strength // *Postgrad. Med. J.* 1998. Vol. 74. P. 208—215.
 43. Dubrovsky A., Peidro R., Chloca F. et al. Alternative outcome measures in Pompe disease. Early changes after ERT // *Acta Myologica*. 2010. Vol. 29. P. 184—206.
 44. Merlini L., Case L., Kishnani P. et al. An exploratory analysis of scoliosis in 182 children and adults with Pompe disease from the Pompe Registry // *Acta Myologica*. 2010. Vol. 29. P. 183—202.
 45. Kretzschmar H.A., Wagner H., Hübner G et al. Aneurysms and vacuolar degeneration of cerebral arteries in late-onset acid maltase deficiency // *J. Neurol. Sci.* 1990. Vol. 98. P. 169—183.
 46. Refai D., Lev R., Cross D.T. et al. Thrombotic complications of a basilar artery aneurysm in a young adult with Pompe disease // *Surg. Neurol.* 2008. Vol. 70. P. 518—520.
 47. Soliman O.I., van der Beek N.A., van Doorn P.A. et al. Cardiac involvement in adults with Pompe disease // *J. Int. Med.* 2008. Vol. 264. P. 333—339.
 48. An Y., Young S.P., Hillman S.L. et al. Liquid chromatographic assay for a glucose tetrasaccharide, a putative biomarker for the diagnosis of Pompe disease // *Anal. Biochem.* 2000. Vol. 287. P. 136—143.
 49. Rozaklis T., Ramsay S.L., Whitfield P.D. et al. Determination of oligosaccharides in Pompe disease by electrospray ionization tandem mass spectrometry // *Clin. Chem.* 2002. Vol. 48. P. 131—139.
 50. Ausems M.G., Lochman P., van Diggelen O.P. et al. Diagnostic protocol for adult-onset glycogen storage disease type II // *Neurology*. 1999. Vol. 52. P. 851—853.
 51. Winchester B., Bali D., Bodamer O.A. et al. Methods for a prompt and reliable laboratory diagnosis of Pompe disease: report from an international consensus meeting // *Mol. Genet. Metab.* 2008. Vol. 93. P. 275—281.
 52. Di Fiore M.T., Manfredi R., Marri L. et al. Elevation of transaminases as an early sign of late-onset glycogenosis type II // *Eur. J. Pediat.* 1993. Vol. 152. P. 784.
 53. Hoeksma M., Boon M., Niezen-Koning K.E. et al. Isolated elevated serum transaminases leading to the diagnosis of asymptomatic Pompe disease // *Eur. J. Pediat.* 2007. Vol. 166. P. 871—874.
 54. Fukuda T., Sugie Y., Sugie H. Quantitative metabolome profiling of biopsied muscle in the patients with glycogen storage diseases using capillary electrophoresis mass spectrometry // *Acta Myologica*. 2010. Vol. 29. P. 183—203.
 55. Hirschhorn R., Reuser A.J. Glycogen storage disease type II: acid α -glucosidase (acid maltase) deficiency / In: C.R. Scriver, A. Beaudet, W.S. Sly, D. Valle (eds). *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease*, Vol. III. 8th ed. New York: McGraw-Hill. 2001. P. 3389—3420.
 56. Chamoles N.A., Niizawa G., Blanco M. et al. Glycogen storage disease type II: enzymatic screening in dried blood spots on filter paper // *Clin. Chim. Acta.* 2004. Vol. 347. P. 97—102.
 57. Li Y., Scott C.R., Chamoles N.A. et al. Direct multiplex assay of lysosomal enzymes in dried blood spots for newborn screening // *Clin. Chem.* 2004. Vol. 50. P. 1785—1796.
 58. Chien Y.H., Chiang S.C., Zhang X.K. et al. Early detection of Pompe disease by newborn screening is feasible: results from the Taiwan Screening Program // *Pediatrics*. 2008. Vol. 122. P. 39—45.
 59. Zhang X.K., Elbin C.S., Chuang W.-L. et al. Multiplex enzyme assay screening of dried blood spots for lysosomal storage

- disorders by using tandem mass spectrometry // Clin. Chem. 2008. Vol. 54. P. 1725—1728.
60. Meikle P.J., Ranieri E., Simonsen H. et al. Newborn screening for lysosomal storage disorders: clinical evaluation of a two-tier strategy // Pediatrics. 2004. Vol. 114. P. 909—916.
 61. Dajnoki A., Mühl A., Fekete G. et al. Newborn Screening for Pompe Disease by Measuring Acid α -Glucosidase Activity Using Tandem Mass Spectrometry // Clin.Chem. 2008. Vol. 54, Part 10. P. 1624—1629.
 62. Gelb M.H., Turecek F., Scott C.R., Chamoles N.A. Direct multiplex assay of enzymes in dried blood spots by tandem mass spectrometry for the newborn screening of lysosomal storage disorders // J. Inherit. Metab. Dis. 2006. Vol. 29. P. 397—404.
 63. Kishnani P.S., Corzo D., Nicolino M. et al. Recombinant human acid α -glucosidase: major clinical benefits in infantile-onset Pompe disease // Neurology. 2007. Vol. 68. P. 99—109.
 64. Goldstein J.L., Young S.P., Changela M. et al. Screening for Pompe disease using a rapid dried blood spot method: experience of a clinical diagnostic laboratory // Muscle Nerve. 2009. Vol. 40. P. 32—36.
 65. Okumiya T., Keulemans J.L., Kroos M.A. et al. A new diagnostic assay for glycogen storage disease type II in mixed leukocytes // Mol. Genet. Metab. 2006. Vol. 88. P. 22—28.
 66. Jack R.M., Gordon C., Scott C.R. et al. The use of acarbose inhibition in the measurement of acid α -glucosidase activity in blood lymphocytes for the diagnosis of Pompe disease // Genet. Med. 2006. Vol. 8. P. 307—312.
 67. Wierzbza-Bobrowicz T., Lewandowska E., Lugowska A. et al. Adult glycogenosis type II (Pompe's disease): morphological abnormalities in muscle and skin biopsies compared with acid α -glucosidase activity // Folia Neuropathol. 2007. Vol. 45. P. 179—186.
 68. Musumeci O., Aquennouz M., Mongini T. et al. Role of the autophagic process in adult onset patients with Pompe disease // Acta Myologica. 2010. Vol. 29. P. 182—200.
 69. Nascimbeni A.C., Fanin M., Tasca E., Angelini C. Molecular pathology and enzyme processing in various phenotypes of acid maltase deficiency // Neurology. 2008. Vol. 70. P. 617—626.
 70. Raben N., Plotz P., Byrne B.J. Acid α -glucosidase deficiency (glycogenosis type II, Pompe disease). Curr. Mol. Med. 2002. Vol. 2. P. 145—166.
 71. Schoser B.G., Muller-Hocker J., Horyath R. et al. Adult-onset glycogen storage disease type 2: clinico-pathological phenotype revisited // Neuropathol. Appl. Neurobiol. 2007. Vol. 33. P. 544—559.
 72. Hoefsloot L.H., Hoogeveen-Westerveld M., Reuser A.J., Oostra, B.A. Characterization of the human lysosomal α -glucosidase gene // Biochem. J. 1990. Vol. 272. P. 493—497.
 73. Montalvo A.L., Bembi B., Donnarumma M. et al. Mutation profile of the GAA gene in 40 Italian patients with late onset glycogen storage disease type II. // Hum. Mutat. 2006. Vol. 27. P. 999—1006.
 74. Bashan N., Potashnik R., Barash V. et al. Glycogen storage disease type II in Israel // Israel J. Med. Sci. 1988. Vol. 24. P. 224—227.
 75. De Filippi P., Ravaglia S., Bembi B. et al. The angiotensin-converting enzyme insertion/deletion polymorphism modifies the clinical outcome in patients with Pompe disease // Genet. Med. 2010. Vol. 12. P. 206—211.
 76. Kroos M.A., Van der Kraan M., Van Diggelen O.P et al. Two extremes of the clinical spectrum of glycogen storage disease type II in one family: a matter of genotype // Hum. Mutat. 1997. Vol. 9. P. 17—22.

Поступила 08.10.10