

**UNIVERSIDAD DE CIENCIAS MÉDICAS DE LA HABANA  
FACULTAD DE MEDICINA “COMANDANTE MANUEL FAJARDO”**

**INSTITUTO DE NEUROLOGIA Y NEUROCIRUGIA  
“PROF. DR. JOSÉ RAFAEL ESTRADA GONZÁLEZ”**

**DIAGNÓSTICO ENZIMÁTICO DE LAS  
ENFERMEDADES DE ALMACENAMIENTO LISOSOMAL.  
EXPERIENCIA DE 20 AÑOS**

**Tesis en opción al Grado Científico de Doctor en  
Ciencias de la Salud.**

**Autora: MSc. María de la Caridad Menéndez Sainz.**

**La Habana  
2011**

**UNIVERSIDAD DE CIENCIAS MÉDICAS DE LA HABANA  
FACULTAD DE MEDICINA “COMANDANTE MANUEL FAJARDO”**

**INSTITUTO DE NEUROLOGIA Y NEUROCIRUGIA  
“PROF. DR. JOSÉ RAFAEL ESTRADA GONZÁLEZ”**

**DIAGNÓSTICO ENZIMÁTICO DE LAS  
ENFERMEDADES DE ALMACENAMIENTO LISOSOMAL.  
EXPERIENCIA DE 20 AÑOS**

**Tesis en opción al Grado Científico de Doctor en Ciencias  
de la Salud.**

**Autora: MSc. María de la Caridad Menéndez Sainz.**

**Tutora: Dra. C.M. Alina González- Quevedo Monteagudo.**

**La Habana  
2011**

## **AGRADECIMIENTOS:**

Resulta muy difícil en estos momentos, expresar mi sincero agradecimiento, a todas las personas que han contribuido a que pueda concluir, una etapa más en mi formación profesional, sin obviar el nombre de algunos. He tenido el privilegio de haber estado rodeada de compañeros que me han ayudado incondicionalmente, durante todos estos años.

Quisiera expresar especial agradecimiento en primer lugar a mi tutora. Dra. C.M. Alina González-Quevedo Monteagudo, a los jóvenes colegas MSc. Marisol Peña Sánchez y Sergio González García, por la valiosa ayuda y sabios consejos en el asesoramiento de la Tesis, sin los cuales no hubiera sido posible la culminación de la misma.

A los Profesores. Rafael Estrada, Santiago Luis y Enrique Michel Esteban que desde la Dirección del Instituto siempre me estimularon y dieron la oportunidad de superarme

A la Lic. Rebeca Fernández Carriera, compañera y amiga desde los días de la Universidad, Lic. Isabel Fernández, MSc. Idalmis Suárez, Dra. Tatiana Zaldívar, Lic. María Consuelo Serrano, MSc. Ivonne Martín, MSc. Anay Cordero, Lic. Lisis Cruz, Dr. Miguel A. Álvarez, Dr. Emigdio León, Lic. Clemente Trujillo, Lic. Ariel Savignón, MSc. Carlos Viñas, a los técnicos Irma Vicente, Rosa Guerra, May Liz Valdés, Jacqueline Pérez, Miriam Pérez y Mirelys Peña.

.A los compañeros, con los que he podido contar siempre, durante todos estos años de trabajo en el Instituto de Neurología y Neurocirugía.

Recuerdo en estos instantes a quienes han sido ejemplo y contribuido a la formación de las generaciones que les han precedido, en el estudio de los errores innatos del metabolismo en nuestro país: Prof. Liane Borbolla, Prof. Joaquín Pascual, Prof. Antonio Diez, Prof. Eliseo Prado (ya fallecidos) y en los últimos años Prof. Edelsia Rojas, Prof. José Vargas y Prof. Norberto Sardiñas.

A los Profesores de la Facultad de Biología que durante tantos años han cooperado intensamente en nuestra formación, primero en el pregrado y después

en los cursos de postgrado, especialmente a la Prof. Dra. Claudina Zaldívar Muñóz.

No puedo olvidar a los compañeros del Centro Nacional de Investigaciones Científicas y del Centro Nacional de Genética Médica, que junto a nosotros y bajo la asesoría de los primeros nos adentramos en este campo de la investigación.

Agradezco a los colegas del Centro de Metabolopatías Congénitas de Córdoba, Argentina, del Instituto de Bioquímica Clínica de Barcelona, España y de la Unidad de Genética Médica de Porto Alegre, Brasil por la ayuda en mi formación, bibliografía y disposición a continuar colaborando con nosotros.

A mi alumno Yamil Campos por cooperar en la impresión de la Tesis.

A mis padres y tía por inculcarme el amor al estudio, la disciplina, el humanismo y apoyarme siempre.

A los Prof. Raúl Fernández y Agustín Vicedo por sus sabios y valiosos consejos en las oponencias de la predefensa.

A mi familia, especialmente a mis primos Carmelina, Mirta, Edilia, Juanito y Luisito quienes constantemente me han estimulado, preocupado y ayudado.

Muchas gracias a todos los que de una forma u otra han cooperado en la culminación de esta Tesis.

**A la memoria de  
mis padres y tía.**

## Abreviaturas:

EIM	Error innato del metabolismo.
EAL	Enfermedades de almacenamiento lisosomal.
MPS	Mucopolisacaridosis
GAG	Glicosaminoglicanos
IDS	Iduronato-2-sulfatasa
IDUA	$\alpha$ -L-iduronidasa
HS	Heparán sulfato
DS	Dermatán sulfato
CS	Condroitín sulfato
KS	Keratán sulfato
ASB	Arilsulfatasa B
ASA	Arilsulfatasa A
DMS	Deficiencia múltiple de sulfatasas
ML	Mucopolipidosis

## **SINTESIS**

La tesis resume el trabajo realizado en el Instituto de Neurología y Neurocirugía entre 1986 y 2005 en el diagnóstico de las enfermedades de almacenamiento lisosomal (EAL). En la primera parte se reportan los resultados obtenidos en el diagnóstico de 19 EAL. De 1 853 pacientes con sospecha clínica fueron diagnosticados 151 pacientes (8,2% de positividad). La esfingolipidosis resultó el grupo con mayor número de casos diagnosticados (32,4%), siguiéndole las mucopolisacaridosis (27,8%) y las glucoproteinosis (23,2%).

En la segunda parte se reportan los resultados de la introducción del diagnóstico prenatal en 12 embarazadas con antecedentes de hijos con alguna de estas enfermedades. Sugerimos la necesidad de disponer de los estudios moleculares y enzimáticos para poder ofrecer un mayor margen de seguridad.

La tercera parte recoge los resultados del estudio epidemiológico en el período 1990 – 2005. Se obtuvieron por primera vez en Cuba y en la región de América Latina datos epidemiológicos acerca de la incidencia de las EAL. Encontramos una incidencia combinada de 5,6/100 000 nacidos vivos, inferior a lo reportado en otros estudios realizados en poblaciones caucásicas, con algunas particularidades, como el hallazgo de que Cuba tiene una de las incidencias más altas de glucoproteinosis en el mundo.

## INDICE

I.	INTRODUCCION	1
II.	REVISION BIBLIOGRÁFICA	8
2.0	Errores innatos del metabolismo.	8
2.1	Enfermedades lisosomales.	9
2.1.1	Características generales.	9
2.1.2	Incidencia y prevalencia de las EAL.	12
2.1.3	Clasificación.	13
2.1.4	Diagnóstico.	14
2.1.5	Tratamiento y prevención.	18
2.2	Características generales y clínicas de las EAL.	19
2.2.1	Mucopolisacaridosis.	19
2.2.2	Esfingolipidosis.	22
2.2.3	Glucoproteinosis.	26
2.2.4	Deficiencia múltiple de enzimas.	29
2.2.5	Otras lipidosis.	30
2.2.6	Defectos en el almacenamiento de glucógeno (glucogenosis tipo II). Enfermedad de Pompe.	32
2.2.7	Defectos en el transporte lisosomal.	32
2.2.8	Errores congénitos debido a defectos en proteínas lisosomales.	33
2.2.9	Errores congénitos de la glicosilación (CDG).	34
III.	MATERIALES Y MÉTODOS	35
3.0	Descripción del universo de estudio.	35
3.1	Muestras biológicas.	36
3.2	Variables evaluadas.	37
3.3	Técnicas analíticas.	38
3.3.1	Determinación de proteínas totales.	38
3.3.2	Métodos para la determinación de actividad de las enzimas.	38
3.4	Cálculo de las actividades específica, enzimática y porcentual de las enzimas.	40
3.5	Estudios de incidencia y frecuencia de portadores.	41
3.5.1	Incidencia.	42
3.5.2	Frecuencia de portadores.	42
3.6	Ética.	43
3.7	Análisis estadístico de los resultados.	44
IV.	RESULTADOS	46
4.1	Distribución de los diagnósticos según el tipo de EAL.	46



4.2	Descripción de las EAL según edad y sexo de los pacientes.	48
4.3	Cuantificación de la actividad de las enzimas lisosomales en pacientes, padres y controles.	49
4.3.1	Mucopolisacaridosis.	49
4.3.2	Esfingolipidosis y otras lipidosis.	51
4.3.3	Glucoproteinosis.	53
4.3.4	Deficiencia múltiple de enzimas.	55
4.3.5	Enfermedades del metabolismo del glucógeno. Glucogenosis II.	57
4.4	Descripción de los diagnósticos prenatales.	58
4.5	Cálculo de incidencia y frecuencia de portadores de las enfermedades lisosomales en Cuba.	59
V.	DISCUSION	65
5.1	Experiencia de 20 años de diagnóstico enzimático de EAL en el INN.	65
5.1.1	Frecuencia de diagnósticos.	65
5.1.2	Comportamiento de las actividades de las enzimas lisosomales en los grupos estudiados.	73
5.2	Diagnóstico prenatal.	77
5.3	Epidemiología de las enfermedades lisosomales en Cuba.	79
5.3.1	Incidencia de las EAL.	80
5.3.2	Epidemiología de las Mucopolisacaridosis.	82
5.3.3	Epidemiología de las lipidosis.	85
5.3.4	Epidemiología de las glucoproteinosis, mucolipidosis, glucogenosis II.	89
5.4	Comentarios finales.	93
VI.	CONCLUSIONES	97
VII.	RECOMENDACIONES	98
VIII.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	99
IX.	ANEXOS	127

## I. INTRODUCCION

A principios del siglo XIX (1810) Wollaston descubrió el primer error innato del metabolismo (EIM) (Finkelstein, 2000), pero no fue hasta 1908 que Garrod estableció el término e intuyó que un bloqueo metabólico podía ser el defecto primario que determinara las alteraciones observadas, lo cual abrió una nueva etapa en la medicina. La investigación de la variabilidad genética ha contribuido al avance en los conocimientos de las vías metabólicas, de la fisiología, de la biología humana y del papel de los orgánulos celulares (Vellodi, 2005).

El progreso al principio fue lento, pero se aceleró en la década del 50 con el desarrollo de nuevas tecnologías, como son: los métodos cromatográficos, las técnicas electroforéticas de separación de proteínas y la enzimología con una gran variedad de sustratos, incluidos radioisótopos (Diez, 1984). Actualmente la espectrometría de masa se aplica para el diagnóstico de los EIM, a través de la cuantificación de metabolitos, la identificación de proteínas marcadoras y la determinación de actividad enzimática (Li y col, 2004). Estas técnicas se realizan en manchas de sangre seca sobre papel de filtro por la facilidad que representa este tipo de muestra (Chamoles y col, 2001; Chamoles y col, 2002; Chamoles y col, 2004).

Aunque de forma individual los EIM tienen una baja incidencia 1/5 000 nacidos vivos, (Campistol, 2002), al ser un grupo muy amplio de enfermedades (se conocen más de 500), la prevalencia global es de 1/600. Actualmente, gracias a las pruebas de pesquiasaje neonatal, se está planteando que la prevalencia probablemente sea mayor (Martín y col, 2007).

Estas enfermedades son muy importantes como problema de salud, debido a su gravedad, siendo la causa de muertes prematuras, severos trastornos neurológicos, retraso mental y en general pobre calidad de vida, dada por la dependencia de otras personas, institucionalización, gastos de salud elevados y como consecuencia cargas familiares, sociales y económicas muy notables (Campos, 2010).

El diagnóstico preciso de los EIM en edades tempranas de la vida es esencial para el éxito de los tratamientos (en los casos en que sean susceptibles a los mismos),

así como para realizar un buen cuidado médico y psicosocial de los pacientes y su familia. Además es un requisito previo para un asesoramiento genético óptimo y diagnóstico prenatal en futuros embarazos, abriéndose para ellos nuevos horizontes y la posibilidad de tener descendientes sanos (Sands, 2006).

Un capítulo importante de las enfermedades heredo-metabólicas está ocupado por las de almacenamiento lisosomal o enzimopatías lisosomales (EAL). Se producen por defecto de síntesis o deficiencias de hidrolasas ácidas lisosomales, que provocan la acumulación progresiva del precursor de la reacción bloqueada, en las células de diferentes tejidos y órganos, con disfunción patológica creciente debido al déficit enzimático (Parkinson-Lawrence y col, 2010).

Las EAL constituyen un complejo sistema de EIM en el que aparecen regularidades, como sistema general y particularidades en los niveles clínicos, bioquímicos y genéticos, existiendo ínterrelación en algunas de ellas. Estas características fueron expuestas por Hers (1963,1965): almacenamiento intracelular de material, heterogeneidad del material almacenado, depósito vacuolar relacionado con la membrana, naturaleza clínica progresiva.

Existen varias clasificaciones de estas enfermedades, una de las más utilizadas es la que las distribuye de acuerdo con el tipo de sustrato acumulado, producto del defecto enzimático (Vellodi, 2005).

El comportamiento de las EAL a nivel mundial es muy variado, existe poca información y esta es controversial, pues las cifras de incidencia y prevalencia de estas enfermedades depende de las regiones geográficas donde se estudian, de las etnias, de la consanguinidad existente y del grado de desarrollo de esa región o país. A nivel mundial se estima que la incidencia combinada de las EAL oscila entre 7,6/100 000 y 25/100 000 nacidos vivos, según los programas de pesquiasaje de diferentes países (Poorthuis y col, 1999; Meikle y col, 1999; Applegarth y col, 2000; Dionisi-Vici y col, 2002; Pinto y col, 2004; Sanderson y col, 2006; Stromme y col, 2007; Moammar y col, 2010; Poupětová y col, 2010).

Existe un número limitado de estudios que han investigado la incidencia de las EAL. Uno de los problemas principales asociados con la obtención precisa de datos epidemiológicos para estas enfermedades individualmente raras, es que en

la mayoría de los países hay varios centros diagnósticos, lo cual conspira contra la recolección y unificación de la información (Giugliani, 2010).

A diferencia de esos países, en Cuba se realizó un importante estudio desde abril de 2003 hasta febrero de 2004, sobre discapacidad y retraso mental. Este estudio arrojó variables epidemiológicas a escala nacional para síndrome de Down, síndrome de frágil X, consanguinidad y alcoholismo materno (Lantigua y col, 2008), pero quedó un grupo de retrasados mentales sin clasificar en la que pudieran estar los pacientes que padecen algunas EAL.

La prevalencia de las EAL se comporta de forma variada entre las distintas regiones. En Australia, para 27 EAL con 545 diagnósticos, reportan una prevalencia combinada de 11,1/100 000 (Meikle y col, 1999), mientras que en Portugal la prevalencia es de 25/100 000 para 29 EAL y 353 diagnósticos (Pinto y col, 2004). Por otro lado, la incidencia de EAL específicas tiene grandes variaciones entre diferentes regiones y etnias: valores tan altos como 5,4/100 000 para la aspartilglucosaminuria en la población finlandesa y de 25,6/100 000 para la enfermedad de Tay–Sachs en los judíos ashkenazi (Meikle y col, 1999; Fuller y col, 2006).

### **Estudios de las EAL en America Latina**

En América Latina el diagnóstico de EIM comenzó en el año 1970 (Argentina, Brasil y Chile). En 1997 Giugliani y Coelho publicaron los resultados de encuestas que realizaron acerca del diagnóstico de EIM en 26 laboratorios de 8 países (Argentina, Brasil, Chile, Cuba, México, Perú, Uruguay y Venezuela). Este estudio arrojó que las mucopolisacaridosis (MPS) constituían el segundo diagnóstico en frecuencia dentro de los EIM en la región, solo superadas por la fenilcetonuria.

Posteriormente en una reunión de expertos de América Latina, se reportó el diagnóstico de aproximadamente 4 000 EIM por Penchaszadeh y Beiguelman (1998). Se han publicado varios estudios sobre EAL en Brasil (Coelho y col, 1997; Giugliani y col, 1998), Argentina (Dodelson y col, 1997; Chamoles y col, 2002; Li y col, 2004), Chile (Mabe y col, 2004) y otros países (Zetina y González-Noriega, 1989; Velázquez y col, 2000; Barrera, 2009), con reportes de casos y de algunas

series de casos, descripciones clínicas, bioquímicas y de biología molecular, así como estudios de frecuencias relativas, con resultados controvertidos. Por ejemplo, en un estudio realizado por Coelho y col (1997) se señala que las mucopolisacaridosis constituían el grupo más frecuente de EIM en Brasil (59,8%). Por otro lado, en un reporte de Velázquez y col (2000) en México en el período comprendido entre 1989 y 1998, donde se estudiaron 5 186 pacientes, se diagnosticaron 118 casos con EIM; sin embargo, no se incluyeron los diagnósticos de EAL y enfermedades peroxisomales por falta de recursos. En Colombia, Barrera (2009) reportó su experiencia personal en el diagnóstico de 386 pacientes con EIM, de los cuales el 65,3% correspondía a EAL y destaca las dificultades existentes para tener un cuadro más real de la frecuencia de estas enfermedades en el país por la dispersión de los diagnósticos.

No tenemos conocimiento de que en América Latina existan estudios epidemiológicos nacionales con relación a las EAL por las dificultades que anteriormente expresamos. De hecho, en Brasil -que ha sido líder de la investigación de los EIM en la región – recientemente se señaló que no se conoce la incidencia real de las MPS (Vieira y col, 2008).

### **Estudio de las EAL en Cuba**

El primer reporte de EIM en Cuba fue publicado en el Boletín de la Sociedad Cubana de Pediatría por Aballí y Pascual en 1938, sobre un paciente que padecía la enfermedad de Gaucher (Céspedes y col, 1988). Posteriormente Pascual y Diez (1973) publican un estudio realizado en una población seleccionada de retrasados mentales, empleando pruebas metabólicas cualitativas en orina y cromatografía unidimensional en orina y sangre. En una muestra de 653 pacientes estudiados reportaron 6 fenilcetonurias, 7 aminoacidopatías generalizadas, 2 Síndrome de Lowe, una hidroxiprolinemia transitoria y 8 MPS. Algunos años después López-Saura (1979) en su Tesis doctoral, estandariza y sugiere la implementación de métodos enzimáticos para el diagnóstico de EAL, así como su aplicación inmediata a casos sospechosos. En el año 1986, se introdujo el diagnóstico enzimático de EAL en el Instituto de Neurología y Neurocirugía de la

Habana (INN) y en el Centro Nacional de Genética Médica (CNGM), en coordinación con el Centro Nacional de Investigaciones Científicas (CNIC). A partir de este momento comenzaron a recibirse pacientes de todo el país con sospecha clínica de EAL para la definición del diagnóstico por métodos enzimáticos.

Se han realizado reportes por varios grupos de investigadores con relación al diagnóstico de casos (Dyce y col, 1993; Alvarez y col, 1999; Llauradó y col, 2000; Campos y col, 2008 ) y descripciones de series de casos (Menéndez y col, 1993; Llauradó y col, 1994; 1999; Soto y col, 1998, 2007; Tamayo y col, 1999, Gutiérrez y col, 2007), los cuales fueron estudiados desde el punto de vista bioquímico en nuestro Instituto (INN) o en el Centro Nacional de Genética Médica (CNGM) desde 1986 hasta 1989. A partir de 1990 y hasta 2005 todos los diagnósticos enzimáticos se realizaron en el INN. Los resultados de este trabajo aparecen relacionados en las publicaciones de la autora correspondientes al tema de la tesis y serán expuestos en el presente trabajo.

La centralización de los diagnósticos enzimáticos en Cuba durante un período de 16 años (1990-2005), se concentraron en el INN. Esto, unido a las ventajas de la organización de nuestro Sistema Nacional de Salud, nos ofrecen la posibilidad de realizar una estimación de la incidencia de las EAL estudiadas en el país, lo cual aportaría información de interés para la región, dada la ausencia de una aproximación epidemiológica a la situación de las EAL en Cuba y en América Latina.

### **Problema científico**

Considerando todo lo expuesto nos planteamos las siguientes interrogantes científicas:

- ¿Cuál es la frecuencia de las EAL en la casuística de casos sospechosos estudiada en el INN en el transcurso de 20 años y cómo se comporta con relación a lo que está reportado en el mundo?

- ¿Existen diferencias en la actividad enzimática de las EAL entre pacientes-padres-controles, con la edad de presentación de la enfermedad y forma clínica de la misma?
- Teniendo en cuenta que durante el período 1990-2005 todos los diagnósticos enzimáticos de EAL en el país se realizaron en el INN, ¿podríamos estimar la incidencia y frecuencia de portadores en Cuba para las EAL estudiadas?

Para dar respuesta a estas interrogantes nos propusimos los siguientes objetivos:

### **OBJETIVO GENERAL:**

Caracterizar las enfermedades de almacenamiento lisosomal en un período de 20 años de diagnóstico enzimático en el Instituto de Neurología y Neurocirugía.

### **OBJETIVOS ESPECÍFICOS:**

1. Reportar la distribución, según enfermedad, de los diagnósticos enzimáticos realizados en el Instituto de Neurología y Neurocirugía (INN) en pacientes con sospecha de enfermedades de almacenamiento lisosomal durante el período 1986-2005.
2. Evaluar los resultados de la cuantificación de la actividad de 19 enzimas lisosomales en pacientes, padres y controles en el período 1986-2005, así como su posible asociación con la edad de presentación de la enfermedad y forma clínica.
3. Presentar y evaluar los resultados del INN en el diagnóstico prenatal de enfermedades de almacenamiento lisosomal.
4. Estimar la incidencia y frecuencia de portadores de las enfermedades de almacenamiento lisosomal estudiadas en Cuba.

### **Novedad científica**

1. Se presentan por primera vez en Cuba, los resultados del diagnóstico enzimático de 19 EAL obtenidos en el transcurso de 20 años en un laboratorio centralizado.

2. Se proponen, por primera vez en América Latina, datos epidemiológicos nacionales de 19 EAL.

**El impacto científico-técnico de este trabajo radica en:**

1. La introducción y aplicación del diagnóstico enzimático en el INN, con alcance nacional, para el estudio de estas enfermedades, cuestión primordial para lograr el diagnóstico temprano, que en los EIM, en general, y en las EAL, en particular, es una herramienta fundamental para el manejo clínico y terapéutico de estos pacientes.
2. El conocimiento de la situación epidemiológica de las EAL en Cuba, brinda al Sistema Nacional de Salud información importante para el establecimiento de políticas de atención a pacientes con estas enfermedades y familiares. Además permite organizar un adecuado asesoramiento genético y planificar las estrategias de tratamiento para aquellas enfermedades en que esté disponible.



## **II. REVISION BIBLIOGRÁFICA**

### **2.0 Errores innatos del metabolismo.**

El primer EIM fue descubierto por Wollaston en el año 1810 al encontrar en los cálculos biliares de una paciente una sustancia que denominó óxido cístico, que muchos años después (1902) se identificó como un aminoácido y se le dio el nombre de cistina (Wollaston, 1810).

El concepto de EIM lo estableció, a principios del siglo XX (1908), sir Archibald Garrod, profesor de medicina de Oxford, basándose en la cistinuria anteriormente citada y en tres trastornos más: alcaptonuria, pentosuria y albinismo. Sin tener conocimientos específicos del metabolismo de dichos compuestos, Garrod intuyó que el concepto de vías metabólicas, introducido recientemente, podría explicar estas alteraciones químicas y estableció que un bloqueo metabólico sería el defecto primario, lo cual abrió una nueva etapa en la medicina y la investigación (Garrod, 1908).

Los EIM son enfermedades genéticas basadas en la alteración de una proteína o de una enzima que hace que un proceso metabólico quede bloqueado. Agrupan alrededor de 400 enfermedades (de Robertis y col, 1997; García, 2000).

Los efectos de estos errores son debidos a la acumulación tóxica de sustratos antes del bloqueo, los intermediarios de las sendas metabólicas alternativas y los defectos en la producción de energía, causados por una deficiencia de productos más allá del bloqueo o una combinación de estas desviaciones metabólicas. Cada enfermedad metabólica puede tener varias formas que varían respecto a la edad de presentación, la severidad clínica y el modo de herencia (Weiner y col, 2005).

Como problema de salud, las enfermedades metabólicas hereditarias se consideran más importantes por la severidad que por la frecuencia, pues únicamente en un pequeño número de ellas el tratamiento puede aliviar o estabilizar y controlar los síntomas; por lo tanto, son mayoritariamente incurables e irreversibles: causa de muerte prematura, pobre calidad de vida, dependencia total de otras personas, institucionalización, gastos sanitarios elevados, cargas familiares, sociales y económicas notables. Se les consideraban enfermedades raras debido a que su incidencia es relativamente baja con respecto a las

enfermedades habituales de la vida adulta. Consideradas en su conjunto no son infrecuentes. En base a la experiencia de los laboratorios de diagnóstico, la incidencia combinada a nivel mundial sería de 1/600-800 (Pámpols y col; 1995; Menéndez, 2000), de los cuales el 50 % desarrolla la enfermedad durante el período neonatal (Martin y col, 2007).

En países desarrollados se estima que las enfermedades genéticas en general, son responsables del 50% de las muertes por debajo de los quince años y motivan el 30% del total de los ingresos pediátricos en los hospitales. El reconocimiento y diagnóstico de las enfermedades metabólicas hereditarias es difícil y un número importante de los pacientes mueren sin haber sido diagnosticados o con un diagnóstico incorrecto. Se puede decir, por lo tanto, que la incidencia está subestimada. La detección de las enfermedades metabólicas hereditarias se apoya sólo en una parte muy pequeña de los programas de diagnóstico precoz y en realidad depende fundamentalmente del índice de sospecha clínica y laboratorios de diagnóstico especializados (Maya, 1994; Prietsch, 2002).

Dentro de los EIM, ocupa un capítulo importante lo relacionado con los trastornos genéticamente determinados del lisosoma, lo cual da lugar a las EAL, que serán expuestas a continuación.

## **2.1 Enfermedades lisosomales.**

### **2.1.1 Características generales.**

Los lisosomas (Anexo 1) fueron aislados en 1955 por el biólogo belga, de Duve a través de métodos de fraccionamiento celular (de Duve y col, 1955). Son vesículas limitadas por membranas, que contienen numerosas enzimas hidrolíticas para la digestión intracelular controlada de macromoléculas (Greiner-Tollersrud y Berg, 2005). La membrana lisosomal tiene una bomba de protones que mantiene el pH interno ácido (próximo a 5) y posee propiedades de permeabilidad selectiva que permiten la entrada y salida de sustratos (Prietsch, 2002). Los lisosomas se clasifican en dos clases generales: 1) lisosomas primarios, que son vesículas membranosas esféricas que se originan por gemación en las cisternas trans del

aparato de Golgi y en su interior contienen enzimas hidrolíticas en estado latente y 2) lisosomas secundarios, que se forman al asociarse los lisosomas primarios con otros elementos celulares y sus enzimas son activadas (Greiner-Tollersrud y Berg, 2005).

Actualmente se conocen unas sesenta enzimas lisosomales, en su mayoría de tipo hidrolítico (proteasas, glucosidasas, lipasas, nucleasas, etc), capaces de catalizar la desintegración secuencial de una gran diversidad de sustratos macromoleculares aportados por autofagia o endocitosis (Chabás y col, 1995).

La relación que existe entre los lisosomas y las EAL fue establecida por Hers en 1963, cuando demostró que el déficit de la enzima maltasa ácida ( $\alpha$ -glucosidasa) provocaba la acumulación de glucógeno en el interior de los lisosomas en los pacientes que padecían la enfermedad de Pompe (glucogenosis Tipo II) (Markley, 2001; Vellodi, 2005).

Las EAL son trastornos hereditarios que se producen por la incapacidad de degradar las macromoléculas por un defecto funcional específico. Esta disfunción provoca la acumulación de macromoléculas en el lisosoma y es la causa de la enfermedad.

Hasta el presente se han descrito alrededor de cincuenta tipos de EAL y si consideramos los diferentes subtipos y variantes llegan hasta sesenta (Parkinson-Lawrence, 2010).

El concepto original de enfermedad lisosomal congénita establecía que debía ser deficitaria una enzima implicada en el proceso degradativo del sustrato que se acumulaba en el lisosoma. Efectivamente, la mayoría de las enfermedades lisosomales son consecuencia de mutaciones diversas en los genes estructurales codificadores de las hidrolasas lisosomales, pero también se han demostrado defectos genéticamente determinados que conciernen a las proteínas que intervienen en el proceso de postraducción, localización en el orgánulo y maduración de las hidrolasas, cuya consecuencia es igualmente el acúmulo intralisosomal de sustrato (Vellodi, 2005).

En resumen, y atendiendo a las causas genómicas de las EAL, se establecen las siguientes categorías (Meikle y col, 2004):

- Enfermedades debido a mutaciones, generalmente aisladas, que conciernen a genes estructurales codificadores de las hidrolasas. Si la mutación impide la transcripción a ARNm o su traducción, habrá incluso una ausencia de proteína enzimática detectable inmunológicamente. No obstante, la gran mayoría son mutaciones que llevan a la síntesis de una proteína enzimática con sus propiedades catalíticas alteradas.
- Enfermedades en las que la proteína enzimática lisosomal no es empaquetada y procesada correctamente en los lisosomas por incapacidad de generar la señal de reconocimiento (manosa-6-fosfato), como sucede en las mucopolidosis II y III (defectos en el procesamiento y localización de las hidrolasas ácidas).
- Enfermedades en las que la proteína enzimática es inestable en los compartimentos prelisosomal o lisosomal; por ejemplo, la galactosialidosis, debida al déficit de una proteína activadora de la degradación proteolítica intralisosomal.
- Enfermedades debidas a defectos en alguna de las proteínas activadoras específicas de hidrolasas que catabolizan los esfingolípidos (SAP).
- Enfermedades en las que se afecta el mecanismo de transporte de membrana de los metabolitos que deben salir del lisosoma.

En todas ellas, la acumulación de los materiales no degradados lleva a la interrupción de las funciones celulares y orgánicas, ocasionando los signos y síntomas clínicos de las diferentes entidades patológicas. Sin embargo, la correlación entre la alteración genotípica y su expresión fenotípica tiene factores imprecisos (Meikle y col, 2004).

Frecuentemente estas enfermedades despliegan un amplio espectro de presentación clínica y sólo en algunas de ellas es posible relacionar las mutaciones del gen estructural con los diversos grados de severidad del trastorno metabólico (Gieselmann, 2005). Esta heterogeneidad fenotípica y genotípica es atribuible principalmente a: 1) fenómenos de alelismo múltiple en el *locus* del gen que dirige la síntesis de la enzima anómala, por ejemplo los distintos fenotipos de los síndromes de Hurler, Scheie y Hurler-Scheie debido al déficit de la enzima  $\alpha$ -

L-iduronidasa, 2) mutaciones en diferentes *locis* que afectan a proteínas distintas pero con actividad catalítica semejante, por ejemplo los subgrupos A, B, C y D de la enfermedad de Sanfilippo con fenotipos aparentemente semejantes, pero resultantes de cuatro lesiones enzimáticas distintas (Matalon y col, 2008).

Una consecuencia adicional de la existencia de mutaciones alélicas, que complica el diagnóstico bioquímico de las EAL, es que pueden dar lugar a las denominadas pseudodeficiencias enzimáticas. En estos casos se observa, en individuos de la población general, una actividad enzimática *in vitro* reducida a niveles incluso comparables a los detectados en homocigotos afectados de una enfermedad de origen lisosomal. Se ha identificado esta condición de pseudodeficiencia enzimática en miembros sanos de familias con homocigotos afectados de MPS I, MPS VII, fucosidosis y leucodistrofia metacromática (Gort, 2000).

La existencia de isoenzimas en las hidrolasas ácidas implicadas en las EAL es otra fuente de heterogeneidad fenotípica. Habitualmente estas enzimas existen en dos o más formas moleculares, aunque generalmente sólo una de ellas es responsable de su patogénesis. Factores como la variación en la expresión de una enzima según el tipo celular, o el tejido, o los cambios evolutivos, contribuyen también a la variabilidad clínica y bioquímica de estos trastornos (Walkley, 2009).

Las EAL representan el 1% de los trastornos mendelianos descritos y el 10% de las enfermedades genéticas con el defecto primario establecido. Se transmiten con un patrón de herencia autosómico recesivo, excepto tres de ellas que están ligadas al cromosoma X (enfermedad de Hunter, enfermedad de Anderson-Fabry y enfermedad de Danon) (Chabás y col, 1995; Nishino y col, 2000).

### **2.1.2 Incidencia y prevalencia de las EAL.**

La estimación de la incidencia y prevalencia de las EAL es difícil, pues está sujeta a la región geográfica y población de estudio. Existen escasos reportes sobre la incidencia de las EAL, los cuales muestran cierta variabilidad (7,6-25/100 000 nv) para algunos países (Staretz-Chacham y col, 2009). En este sentido Columbia Británica en un período de 24 años informó una incidencia de 7,6/100 000 (Applegarth y col, 2000). Sin embargo, en Australia (Meikle y col, 1999) estimaron

una incidencia de 11,1/100 000 e Italia reportó 12/100 000 (Dionisi-Vici y col, 2002). Por su parte Portugal muestra el doble de la cifra de incidencia de Australia (25/100 000) (Pinto y col, 2004).

Las cifras de prevalencia de todas las EAL también oscilan. Pueden encontrarse valores alrededor de 14/100 000, que son mucho más bajos cuando se evalúa independientemente cada enfermedad (Poorthuis y col, 1999). En Australia, República Checa y Países Bajos se estiman valores similares: 12,9; 12,2 y 14 en 100 000 respectivamente (Meikle y col, 1999; Poupětová y col, 2010; Poorthuis y col, 1999). En contraste, Portugal y el Reino Unido informan 25 y 19,3 en 100 000 respectivamente (Pinto y col, 2004; Sanderson y col, 2006).

Los datos de incidencia y prevalencia de los diferentes grupos de EAL y de estas enfermedades en particular también resultan escasos. Los trabajos publicados de Australia y Holanda han sido citados en la mayoría de las publicaciones relacionadas con el tema (Pinto y col, 2004; Sanderson y col, 2006; Poupětová y col, 2010).

Los estudios de prevalencia realizados en Holanda y Australia muestran que las mucopolisacaridosis y las esfingolipidosis son las de mayor prevalencia en ambos países. En Australia las enfermedades con mayor incidencia coinciden con las de mayor prevalencia (Poorthuis y col, 1999; Meikle y col, 1999) (Anexo 2).

Un análisis más detallado de la epidemiología de las EAL, según lo que aparece en la literatura científica se realiza en la Discusión.

### **2.1.3 Clasificación.**

Para la descripción de las EAL se acostumbra convencionalmente agruparlas bajo los nombres químicos de los sustratos no degradados o parcialmente degradados que se acumulan en diferentes órganos o tejidos en dependencia del tipo de enfermedad. Se pueden clasificar según Vellodi (2005) en:

- Mucopolisacaridosis.
- Esfingolipidosis.
- Glucoproteinosis
- Deficiencia múltiple de enzimas.

- Otras lipidosis.
- Enfermedades del metabolismo del glucógeno.
- Defectos en el transporte lisosomal.
- Otros defectos en las proteínas lisosomales.
- Errores congénitos de la glicosilación.

La clasificación de las EAL no está sujeta solamente a la acumulación del sustrato no degradado, pues para un mismo defecto enzimático existe una amplia variabilidad de entidades clínicas (Vellodi, 2005), según la edad de debut y la severidad clínica; incluso, dentro de una misma entidad clínica pueden encontrarse distintos fenotipos. Todo esto será abordado más adelante.

#### **2.1.4 Diagnóstico.**

Los cuadros clínicos vienen determinados por la distribución del acúmulo en los tejidos, que a su vez es función de la localización fisiológica del sustrato implicado: sistema nervioso, órganos viscerales, tejido conjuntivo y otros. El proceso de acumulación de sustrato en los lisosomas comienza en el período fetal, pero muchas enfermedades no darán síntomas clínicos hasta el primer año de vida y en las formas juveniles y adultas los síntomas se presentan mucho más tardíamente. El espectro de síntomas es amplio y la variación de fenotipos también. Los síntomas son más severos en las variantes infantiles, con una menor sobrevida, mientras que las variantes adultas tienen menos severidad y mayor sobrevida. La mayoría de los pacientes presentan cuadros neurodegenerativos severos y en algunos casos dismorfias, alteraciones óseas diversas, afectación ocular, anomalías cutáneas y organomegalia (Gieselmann, 2005).

Las primeras descripciones de las EAL fueron realizadas por clínicos y anatomopatólogos, precediendo en general varios años a la identificación bioquímica de los sustratos y a la demostración de los defectos enzimáticos. Algunos métodos son aplicables a muestras accesibles en vida del paciente y tienen un valor de orientación reconocido, como la tinción metacromática de una biopsia de nervio (leucodistrofia metacromática) y la microscopía electrónica de

una biopsia cutánea o de mucosa rectal. La demostración de linfocitos vacuolados, granulaciones en los neutrófilos o células espumosas en la médula ósea, son también sugestivas de una implicación patológica del sistema lisosomal (Kolodny y Sathe, 2008).

Existen dos tipos principales de biomarcadores en las EAL. En un primer grupo se incluyen las moléculas que resultan de sustratos acumulados debido a la deficiencia de una enzima o proteína de algunas de estas enfermedades. Estos biomarcadores han sido empleados ampliamente en el diagnóstico, pero también para algunos abordajes terapéuticos. Los biomarcadores de este grupo no siempre reflejan el almacenamiento de uno o varios sustratos del tejido dañado y en ocasiones este material se excreta en plasma, orina u otros líquidos biológicos. En el segundo grupo de biomarcadores se incluyen los marcadores indirectos que reflejan el defecto lisosomal sobre la célula, tejido u órgano. En este grupo de biomarcadores se estudian enzimas y en algunos casos proteínas. Este tipo de marcador puede brindar más información que los biomarcadores directos acerca del total de sustrato acumulado y el defecto enzimático (Cox, 2005).

El estudio de los sustratos no degradados excretados en orina es relevante, más asequible y, por razones de estrategia bioquímica, debe ser el punto de partida previo a los estudios enzimáticos de EAL (Soto y col,1995). La cromatografía en capa delgada de oligosacáridos, glicosaminoglicanos, polisacáridos y de otros sustratos en orina nos orienta sobre el posible defecto enzimático a estudiar (Chabás y col,1995; Soto y col,1995; Soto y Soto, 2007). En la actualidad se han desarrollado métodos de espectrometría de masa en tándem para la determinación de sustratos acumulados (Campos, 2010); como por ejemplo en las enfermedades de Fabry, Gaucher y Krabbe (Chamoles y col, 2004). Esta tecnología también ha sido aplicada en la determinación de la actividad enzimática. Al respecto Chamoles y col (2004) han implementado un multiensayo de actividad de 5 enzimas lisosomales ( $\beta$ -glucosidasa,  $\alpha$ -galactosidasa,  $\alpha$ -glucosidasa, esfingomielinasa,  $\beta$ -galactosidasa) en sangre seca sobre papel de filtro para el pesquijaje neonatal.



El diagnóstico definitivo de las enfermedades por depósito lisosomal se basa, en la mayoría de los casos, en la demostración del déficit enzimático específico en suero, leucocitos y cultivo de fibroblastos de piel. Para la determinación de las actividades enzimáticas lisosomales se emplean sustratos tanto naturales como sintéticos. Estos últimos se obtienen uniendo la porción glucídica, en su configuración anomérica correcta, a moléculas fácilmente valorables por fluorimetría o colorimetría. La mayoría de los diagnósticos se establecen determinando el defecto enzimático primario, con la excepción del grupo de las deficiencias de múltiples enzimas, en las cuales se valora el efecto secundario resultante en la elevación de varias hidrolasas ácidas en el suero del paciente o la deficiencia conjunta de esas enzimas en fibroblastos cutáneos cultivados (Menéndez, 2000). Los estudios de muestras de sangre seca en papel de filtro están introduciéndose ampliamente en muchos laboratorios del mundo, por la facilidad que presenta su transportación, conservación y la confiabilidad de los resultados obtenidos en las determinaciones. (Chamoles, 2001; Civallero y col, 2006). Además el diagnóstico enzimático se emplea como premisa en la identificación de portadores (Gort, 2000).

En la detección de proteínas potencialmente útiles para el diagnóstico de algunas EAL se emplean las técnicas de western blot e inmunoensayos (Meikle y col 2004; Cox, 2005; Parkinson-Lawrence, 2010).

El desarrollo de técnicas relativamente sencillas para la detección de mutaciones a nivel de ADN, contribuye a la confirmación del defecto enzimático. Aunque no es imprescindible para el diagnóstico de los pacientes, se emplea para obtener información sobre las diferentes mutaciones que causan el trastorno, su epidemiología y para la diferenciación entre formas de una misma enfermedad (enfermedad de Gaucher). También es útil en la detección del estado de heterocigoto en las enfermedades ligadas al cromosoma X (enfermedad de Hunter, Anderson-Fabry y Danon); así como en las familias con pseudodéficit (leucodistrofia metacromática) (Kolodny y Sathe, 2008).

El advenimiento del diagnóstico prenatal ha modificado radicalmente el manejo de los embarazos y de los resultados perinatales (Fratantoni y col, 1969). Muchas de

las condiciones y afecciones moleculares, genéticas, funcionales y estructurales que afectan a la descendencia pueden ser detectadas ahora *in útero*, y en ocasiones, tratadas antes del nacimiento. Por esta razón, algunas parejas buscan asesoramiento desde antes de la gestación, sobre todo cuando existe la posibilidad de que sean portadoras de alguna enfermedad con patrón de transmisión autosómico recesivo (Casagrandi y col, 2005).

En el pesquisaje prenatal se emplea la ecografía como herramienta diagnóstica de algunas enfermedades lisosomales, pues se ha observado el aspecto aumentado e irregular de órganos (hígado, bazo) afectados por el depósito de metabolitos, así como las dismorfias (ej: retardo en el crecimiento del fémur) (Yuksel y col, 2007).

Otro trabajo informa que un grupo de 14 EAL estaban asociadas a *hydrops fetalis no immune* (Kattner y col, 1997; Wraith, 2002). El mecanismo aún no está claro, pero puede estar relacionado con la obstrucción del retorno venoso debido a visceromegalia, fallo cardíaco, anemia o hipoproteinemia (Groener y col, 1999).

Otras técnicas más específicas para el diagnóstico prenatal de las enfermedades lisosomales son la determinación de la actividad de las enzimas afectadas en líquido amniótico, amniocitos (Galjaard, 1980; Menéndez y col, 2008) y vellosidades coriónicas (Kleije y col, 1986; González, 2010). En la actualidad se han desarrollado técnicas de inmunohistoquímica y de biología molecular que han contribuido también al diagnóstico de estas enfermedades (Phupong y col, 2006; Lin y col, 2007). El empleo de vellosidades coriónicas tiene la ventaja de que puede realizarse el diagnóstico de 3-4 semanas antes que con la amniocentesis, por lo que es más favorable desde el punto de vista ético y médico. La elección de un método u otro está en dependencia de la edad gestacional que tenga la paciente en el momento en que el facultativo indique el diagnóstico prenatal (Aboul, 2004).

El método de determinación de actividad de enzimas lisosomales en sangre seca sobre papel de filtro descrito por Chamoles en el 2001 para los pesquisajes neonatales (Chamoles y col, 2001), se ha comenzado a emplear con buenos resultados en el diagnóstico prenatal de EAL. Para la MPS VI recientemente se informó el primer caso diagnosticado a través de este método; obteniendo la

sangre fetal por cordocentesis. Este proceder resulta más ventajoso que el método de obtención del pellet de leucocitos, porque se necesita menos cantidad de sangre y se evita la posibilidad de la hemólisis durante la transportación (Burin y col, 2010).

### **2.1.5 Tratamiento y prevención.**

Las opciones de tratamiento para las EAL han aumentado en los años recientes con el desarrollo tecnológico. Sin embargo el tratamiento definitivo no existe, por lo que el cuidado de estos enfermos es básicamente sintomático (Prieto y col, 2004). Desde los primeros intentos terapéuticos de sustitución enzimática en la enfermedad de Pompe, se han descrito diversos métodos para corregir la lesión metabólica en las EAL, incluyendo la administración de plasma no fraccionado o de leucocitos, el empleo de inyecciones de la enzima purificada de plasma, placenta o bazo y la implantación de una fuente de producción enzimática (trasplante de fibroblastos, de células amnióticas epiteliales y trasplante de riñón, hígado y bazo). Algunos de estos tratamientos han resultado eficaces para reducir algunas manifestaciones clínicas pero no han aportado ninguna mejoría en aquellas enfermedades que afectan el sistema nervioso central (Chabás y col, 1995).

El trasplante de médula ósea (TMO) ha sido beneficioso por lo menos en algunas de estas enfermedades (Gort, 2000). El TMO puede considerarse el preludeo para la terapia génica. Con el TMO se incrementan las concentraciones de la enzima deficitaria y por consiguiente se observa una mejoría clínica. A su vez se facilitaría con ello el desarrollo de nuevas tecnologías que permitirían la introducción del gen deficitario en las propias células del paciente (Coll y col, 1995).

El reemplazo de la enzima deficitaria, a través de técnicas como la terapia génica y la terapia de reemplazo enzimático (TRE), constituye otra alternativa de tratamiento (Desnick; 2001; Brady y col, 2004; Eto y col, 2004). Tienen como objetivo realizar la función de la enzima que falta, degradando paulatinamente el material acumulado en los órganos afectados, con lo cual se evita que se vuelva a acumular. La TRE está limitada a tipos de EAL que no desarrollen patología del

sistema nervioso central, por tener el impedimento de no atravesar la barrera hematoencefálica. La efectividad de estas terapias, está dada en el diagnóstico temprano y tratamiento del error antes de que ocurra el acúmulo de sustratos no degradados con la consecuente afectación de órganos (Brooks,1999; .Brady y col, 2004; Desnick, 2004). Esto ha sido posible para las enfermedades de Gaucher tipo I, Fabry, Tay-Sachs, Pompe y MPS (I, II y VI). También están bajo investigación nuevos agentes terapéuticos para el Gaucher tipo I, Fabry y Pompe (Neufeld, 2006; Dietz, 2010).

La terapia de reducción de sustrato (TRS) es otra alternativa que se está empleando cuando no tiene éxito la TRE, como en el caso del tratamiento de la enfermedad de Gaucher tipo 1. El agente terapéutico empleado para Gaucher tipo 1 es también precursor de varios glicosfingolípidos y actualmente está siendo investigado para el tratamiento de gangliosidosis (GM1 y Tays-Sachs) y Niemann-Pick tipo C (Dietz, 2010).

Las chaperonas farmacológicas, constituyen una estrategia que se emplea cuando la TRE no funciona adecuadamente. Estas son moléculas pequeñas que pliegan de manera correcta a las proteínas mutantes, lo cual puede mitigar la severidad fenotípica de la enfermedad. Están en fase experimental para el tratamiento de las enfermedades Gaucher tipo 1, Fabry y Pompe (Dietz, 2010).

La terapia génica ha sido aplicada en estudios preclínicos de algunas EAL, en las cuales existen deficiencia enzimática (fucosidosis, MPS I, III-B, VI;VII, Niemann-Pick A y B,  $\alpha$ -manosidosis, Pompe, Wolman) (Sands y col, 2006).

Pasaremos a exponer, de forma muy sintetizada, los aspectos más importantes de las EAL específicas por grupos:

## **2.2 Características generales y clínicas de las EAL.**

### **2.2.1 Mucopolisacaridosis.**

Las mucopolisacaridosis (MPS) son un grupo de enfermedades causadas por la deficiencia de enzimas lisosomales que degradan glicosaminoglicanos (GAG o mucopolisacáridos). Los GAG son cadenas de polisacáridos no ramificados, compuestos por unidades repetidas de disacáridos que incluyen un azúcar

aminado (glucosamina o galactosamina) y un ácido hexurónico (ácidos glucurónico e idurónico) (Matalon y col, 2008).

Se han diferenciado siete tipos de GAG y se han identificado once defectos enzimáticos en su degradación (Trigg y col, 1999; Vellodi, 2005). Dependiendo del déficit queda bloqueado el catabolismo, sólo o en combinación, del dermatán sulfato, heparán sulfato, queratán sulfato y los condroitines 4 y 6 sulfato (Mabe, 2003; Matalon y col, 2008).

En el Anexo 3 se presenta una tabla con la enfermedad, el defecto enzimático, los compuestos acumulados y la localización del gen, de cada una de las MPS.

Los GAG sin degradar, o parcialmente degradados, se acumulan en los lisosomas, provocando la disfunción de las células, tejidos y órganos, que dan lugar a los síntomas. Las MPS presentan varias formas clínicas con una amplia variabilidad fenotípica. Tienen un curso crónico y progresivo, son multisistémicas, con presencia de organomegalia, disostosis múltiple y facies anómalas. Funciones como la auditiva, la visual, la cardiovascular y la motilidad pueden también estar afectadas (Menéndez, 2003).

Todas las MPS son autosómicas recesivas excepto la Enfermedad de Hunter que es recesiva ligada al cromosoma X. (Menéndez, 2001).

- **Mucopolisacaridosis tipo I.**

La MPS I puede dar una amplia gama de afectaciones clínicas, pero, en general, los pacientes se clasifican en tres variantes diferentes según el grado de daño clínico: Hurler como el más severo, Hurler/Scheie como el intermedio y Scheie como el ligero. Las formas clínicas no se pueden distinguir bioquímicamente por técnicas de diagnóstico de rutina. (Neufeld y Muenzer 2001).

- **Mucopolisacaridosis tipo II (síndrome de Hunter).**

En la MPS II se pueden distinguir dos formas clínicas diferenciadas, la severa (MPS IIA) y la leve (MPS IIB), que son los extremos de un espectro de variedad. El tipo severo se manifiesta entre los 2 y los 4 años de edad. El deterioro del sistema nervioso central (SNC) puede verse acelerado por la hidrocefalia comunicante que incrementa la presión intracraneal entre los 7 y 10 años de edad. La muerte ocurre entre los 10 y 15 años de edad. (Matalon y col, 2008).

- **Mucopolisacaridosis tipo III (síndrome de Sanfilippo).**

La MPS III tiene cuatro entidades bioquímicamente diferentes: A, B, C y D. (Esposito y col, 2000). Se caracteriza por una implicación somática leve y una degeneración progresiva y severa del SNC, que conlleva una pérdida de contacto con el exterior como resultado de una demencia progresiva. El tipo A es el más severo, con un inicio más temprano y una esperanza de vida menor (Matalon y col, 2008). El tipo B es el más heterogéneo (formas severas y leves), incluso en la misma familia (Chinen y col, 2005). Los tipos C y D son formas clínicamente intermedias (Matalon y col, 2008).

- **Mucopolisacaridosis tipo IV (síndrome de Morquio).**

En la MPS IV se encuentran implicadas dos deficiencias enzimáticas diferentes, la tipo A (N-acetilgalactosamina-6-sulfato sulfatasa) y la B ( $\beta$ -galactosidasa) (Matalon y col, 2008).

En la MPS IV A existen tres subgrupos clínicos: severo, intermedio y leve (Nelson y col, 1988), este último con una alta actividad enzimática residual. Los síntomas clínicos no incluyen afectación del sistema nervioso. Existe una amplia severidad fenotípica y las formas más severas no sobreviven la segunda o tercera década de vida (Montano y col, 2008). La MPS IV B tampoco afecta al SNC (Suzuki y col, 2001).

- **Mucopolisacaridosis tipo VI (síndrome de Maroteaux-Lamy).**

En el síndrome de Maroteaux-Lamy (MPS VI) (Azevedo y col, 2004) existen tres formas clínicas: severa, intermedia y leve. La forma severa o infantil presenta dimorfismo facial, anomalías esqueléticas, compresión de la médula espinal, opacidad corneal, hepatoesplenomegalia y retraso mental. Su debut es antes de los dos años de edad y la progresión de la enfermedad es rápida. La forma leve tiene un debut más tardío y no hay retraso mental. La intermedia muestra un espectro amplio de ambos fenotipos (Neufeld y Muenzer, 2001).

- **Mucopolisacaridosis tipo VII (síndrome de Sly).**

El fenotipo del síndrome de Sly (MPS VII) es altamente variable pudiendo ir desde una forma severa letal que manifiesta *hydrops fetalis* hasta la forma leve (Shibley y col, 1993).

El inicio de la enfermedad, en las formas más severas, es temprano, con hepatoesplenomegalia, hernias inguinales y umbilicales, anomalías esqueléticas, retraso en el desarrollo psicomotor, estatura baja y en algunos casos opacidades corneales (Shibley y col, 1993). Las formas más leves se inician después de los cuatro años (Storch y col, 2003).

- **Mucopolisacaridosis tipo IX.**

La MPS IX fue descrita por Triggs-Reiner y col en 1999. Las manifestaciones clínicas de esta MPS fueron descritas por primera vez por Natowicz y col (1996): baja estatura, acumulación de agregados nodulares de histiocitos en las articulaciones y dismorfias craneofaciales leves.

### **2.2.2 Esfingolipidosis.**

Las esfingolipidosis se deben a defectos en las enzimas necesarias para la degradación de esfingolípidos, que son una serie de compuestos relacionados estructuralmente, denominados así por contener esfingosina, un aminoalcohol insaturado de 18 átomos de carbono.

La esfingosina unida en el C-2 a un grupo acilo de un ácido graso de cadena larga (C<sub>16</sub>-C<sub>24</sub>) se denomina ceramida y sus derivados glucosilados, glucoesfingolípidos (gluco y galactocerebrósidos, sulfátidos y ceramida di y trihexósido). Si la cadena contiene uno o más restos de ácido siálico recibe el nombre de gangliósidos. La ceramida unida a fosforilcolina es la esfingomielina (Watari y col, 2000; Kolter y col, 2006).

La deficiencia de hidrolasas lisosomales o de la proteína activadora de esfingolípidos pueden dar lugar a estas enfermedades (Kolter y col, 2006; Sims y col, 2009). En el Anexo 4 se presenta una tabla con la enfermedad, el defecto enzimático, los compuestos acumulados y la localización del gen, de cada una de las esfingolipidosis.

Manifiestan diferentes características clínicas en dependencia de los compuestos acumulados en hígado, bazo y cerebro (gangliósidos, glucocerebrósidos, esfingomielina, colesterol, glucolípidos, trihexosil, dihexosil-ceramidas, cerebrósido sulfato, galactocerebrósidos, ceramidas). Algunas esfingolipidosis pueden

presentar una mancha rojo cereza en la mácula, lo cual es un signo de la acumulación anormal de productos metabólicos dentro de las células ganglionares (Myerowitz y col,2002).

Dentro de este grupo se incluyen: gangliosidosis GM<sub>1</sub>, gangliosidosis GM<sub>2</sub> (enfermedad de Tay-Sachs y Sandhoff), enfermedad de Gaucher, enfermedad de Niemann-Pick A y B, enfermedad de Krabbe, enfermedad de Anderson-Fabry, leucodistrofia metacromática y enfermedad de Farber (Vellodi, 2005).

- **Gangliosidosis GM<sub>1</sub>**

Esta enfermedad presenta 3 variantes clínicas según la severidad y la actividad residual de la beta-galactosidasa. El tipo I o forma infantil (debut a los 6 meses) muestra un rápido deterioro psicomotor, visceromegalia, dismorfia facial, mancha rojo-cereza en la mácula, displasia esquelética y muerte temprana. El tipo II, forma infantil tardía o juvenil (debut de los 7 meses a los 3 años), muestra deterioro psicomotor generalizado, daño esquelético localizado y la sobrevida es hasta la adolescencia (Caciotti y col, 2003). El tipo III o forma adulta crónica (debut de los 3 a los 30 años) presenta una gran variabilidad clínica. Se ha encontrado una correlación inversa entre la severidad de esta enfermedad y la actividad residual de la enzima (Suzuki y col, 2001).

- **Gangliosidosis GM<sub>2</sub>**

Se denomina así al grupo de gangliosidosis caracterizado por el acúmulo neuronal de gangliósidos GM<sub>2</sub> y glucolípidos relacionados. Existen tres variantes de GM<sub>2</sub> gangliosidosis: Tay-Sachs (variante B), Sandhoff (variante O) y deficiencia del activador GM<sub>2</sub> (variante AB).

- **Enfermedad de Tay-Sachs.**

Dentro de la misma se incluye además la variante B<sub>1</sub> o pseudo AB, donde ocurre la síntesis de la subunidad  $\alpha$  de la hexosaminidasa A, pero ésta no es funcional.

La clasificación clínica de la enfermedad de Tay-Sachs incluye tres formas: infantil, juvenil y adulta. La forma clásica infantil (encefalopatía aguda infantil) tiene un debut temprano y la sobrevida es corta (2 o 3 años de edad) (Wicklow y col, 2004).

Las manifestaciones clínicas de la forma juvenil se presentan entre los 2 y 6 años de edad, e incluyen problemas en el lenguaje, incoordinación, trastornos de



conducta o psiquiátricos, espasticidad, convulsiones y demencia. La forma adulta (encefalopatía crónica), debuta alrededor de los 39 años y no presenta la mancha rojo-cereza en la mácula (Rucker y col, 2004). Perlman planteó que esta forma de debut tardío es una fenocopia de la ataxia de Friedreich (Perlman, 2002). Existe una forma de debut juvenil de la variante B<sub>1</sub>, que es clínicamente similar a la enfermedad de Tay-Sachs juvenil. Para esta variante, la actividad enzimática de la hexosaminidasa A es normal cuando se emplea el sustrato artificial y está disminuida con el sustrato artificial sulfatado. En este caso el defecto se debe a la interacción de la hexosaminidasa A con la proteína activadora (Kolodny, 2008).

- **Enfermedad de Sandhoff.**

Esta enfermedad no se distingue clínicamente de la enfermedad de Tay-Sachs (Frey y col, 2005). Existe una forma infantil que ocurre sobre la edad de 3 años. (Chabás, 1995). Johnson y Chutorian (1978) reportaron una forma con debut juvenil (leve), mientras que la forma adulta presenta problemas gastrointestinales y otros signos de disfunción autonómica, así como neuropatía, pérdida auditiva y disestesias (Salman y col, 2001).

- **Deficiencia del activador GM<sub>2</sub>: Variante AB.**

Esta variante es rara, el fenotipo clínico es similar a la enfermedad de Tay-Sachs. Las Hexosaminidasas A y B pueden presentarse en cantidades normales o elevadas. (Lyon y col, 1996)

- **Enfermedad de Gaucher.**

Están descritos 3 fenotipos (I, II, III): Los tipos I (no neuronopática), II (aguda neuronopática infantil) y III (subaguda neuronopática juvenil) (Pámpols, 1995; Jmoudiak y col, 2005).

El tipo I es la forma más común y no hay afectación del sistema nervioso central. Existe un amplio espectro clínico, que va desde una afectación severa hasta adultos sin manifestaciones clínicas (Park y col, 2001).

El tipo II (la forma más rara) es una forma neuronopática con debut en la infancia y muerte generalmente a los 2 años de vida. Los pacientes a los pocos meses de nacido desarrollan deterioro neurológico rápido y progresivo (Stone y col, 2000).

Además presentan anomalías epidérmicas, útiles para diferenciarla de las otras formas (Holleran y col, 2006).

El tipo III es de comienzo más tardío, con progresión más lenta. Se han descrito dos fenotipos: III A y III B. (Patterson y col, 1993). La enfermedad de Gaucher tipo III C es subaguda neuronopática, considerada diferente por las calcificaciones cardiovasculares reportadas (Bohlega y col, 2000).

La forma atípica de la enfermedad de Gaucher está caracterizada por la deficiencia de saposina C (PSAP). Muestra características fenotípicas similares con la enfermedad de Gaucher neuronopática (Tylki-Szymanska y col, 2010).

- **Enfermedad de Niemann-Pick tipos A y B.**

La enfermedad de Niemann-Pick tipo A es aguda neuronopática, con severos trastornos neurológicos. Los síntomas clínicos pueden aparecer a los 6 meses de edad y la muerte ocurrir alrededor de los 6 años (McGovern y col, 2006). El tipo B es no neuronopático y la supervivencia es buena (Volders y col, 2002).

En el 50 % de los pacientes se observa la mancha rojo cereza en la mácula. Los linfocitos periféricos son vacuolados. La médula ósea, el bazo y los nódulos linfáticos contienen las células espumosas características y diferenciadas de las células de Gaucher. Se presentan pequeños cambios hematológicos que incluyen anemia microcítica y trombocitopenia en fases avanzadas de la enfermedad (Lyon, 1996).

- **Enfermedad de Anderson-Fabry.**

Los síntomas aparecen en la adolescencia o edad adulta: cardiopatía y nefropatía progresivas, angioqueratoma, a veces neuropatía periférica, manifestaciones del SNC y oculares (Chinen y col, 2005; Nance y col, 2006).

- **Enfermedad de Krabbe o leucodistrofia de células globoides.**

Los síntomas aparecen en los primeros meses de la vida y el fallecimiento generalmente ocurre antes del año, aunque se han descrito casos de aparición infantil tardía/juvenil con atrofia óptica, síndromes piramidales y ataxia cerebelosa (Wenger y col, 2000; Siddiqi y col, 2006).

- **Leucodistrofia metacromática.**

Existen 4 variantes: neonatal, infantil, juvenil y adulta. Pueden manifestarse diversos síntomas como son: ataques apneicos, convulsiones, retraso del crecimiento. El fallecimiento puede ocurrir a los pocos meses en la forma neonatal (Monaga y col, 2008).

Hay formas tardías con actividad ARSA normal, en las cuales el defecto genético es en el gen que codifica la prosaposina (PSAP) -proteína activadora-. También puede existir pseudodéficit de arilsulfatasa A, en la que por estudios moleculares del ADN, se puede identificar el alelo causante del pseudodéficit (pd), cuya frecuencia es elevada (Gort, 2000; Khan y col, 2003).

- **Enfermedad de Farber (lipogranulomatosis).**

El cuadro clínico se caracteriza por nódulos periarticulares (Moser, 2008) e infiltrados pulmonares que se desarrollan entre los 2-4 meses de edad, alteraciones retinianas, retraso psicomotor, convulsiones, hipotonía, fallecimiento en los primeros años. Se han encontrado casos aislados que han sobrevivido hasta la segunda década sin retraso mental (Chabás y col, 1995).

Se ha subdividido en 7 subtipos: clásico, intermedio, leve, neonatal, neurológico progresivo, combinado Farber-Sandhoff y deficiencia de prosaposina (Moser y col, 2001; Moser, 2008).

### **2.2.3 Glucoproteinosis.**

Las glucoproteinosis son trastornos raros que se deben a defectos en las enzimas hidrolíticas que degradan las cadenas de oligosacáridos de glucoproteínas y determinados glucolípidos, con el consiguiente acúmulo intralisosomal del material parcialmente degradado (Michalski y Klein, 1999; Winchester, 2005).

Todas las glucoproteínas naturales pueden ser catabolizadas a sus aminoácidos constitutivos (más algún dipéptido) y monosacáridos en el lisosoma, donde llegan por mecanismos de endocitosis o de autofagia por la acción de un combinado de enzimas, predominantemente hidrolasas ácidas. Otras modificaciones como sulfataciones, fosforilaciones y esterificaciones son procesadas con otras hidrolasas específicas. Los productos de la digestión pasan a través de la

membrana lisosomal al citosol mediante una combinación de mecanismos de difusión y transporte mediado (Spiro, 2002; Winchester, 2005).

La mayoría de las enzimas del lisosoma involucradas en la hidrólisis de cadenas de carbohidratos de glicoproteínas son exoglucosidasas específicas como la sialidasa ( $\alpha$ -neuraminidasa,  $\alpha$ -galactosidasa,  $\alpha$ -N-acetilhexosaminidasa,  $\beta$ -manosidasa,  $\alpha$ -manosidasa,  $\alpha$ -fucosidasa, y la  $\alpha$ -acetilgalactosaminidasa), que clivan los monosacáridos terminales del extremo no reducido de la glicoproteína. La deficiencia de una sola enzima bloquea la vía completa e induce un almacenamiento de sustancias incompletamente degradadas dentro del lisosoma: oligosacáridos, glicopéptidos, glicolípidos y complejos mixtos (Spiro, 2002; Winchester, 2005).

Las expresiones clínicas de estas enfermedades en general se manifiestan por la progresión de síntomas que incluyen rasgos faciales toscos, anormalidades esqueléticas, organomegalia, problemas neurológicos y retraso psicomotor (Johnson, 2008). Pueden observarse mutaciones diferentes en una misma enfermedad que provocan la pérdida de la actividad de la glucosidasa. Los diferentes fenotipos clínicos generalmente se caracterizan por un desorden específico de severidad continua, e influenciado por factores bioquímicos o medioambientales en el curso de la enfermedad (Michalski y Klein, 1999; Winchester, 2005).

En el Anexo 5 se presenta una tabla con la enfermedad, el defecto enzimático, los compuestos acumulados y la localización del gen, de cada una de las glucoproteinosis.

Dentro de las glucoproteinosis se incluyen  $\alpha$ -manosidosis,  $\beta$ -manosidosis, fucosidosis, aspartilglucosaminuria, mucopolisidosis I (sialidosis) y enfermedad de Schindler (Vellodi, 2005).

- **$\alpha$ -Manosidosis.**

La  $\alpha$ -manosidosis se clasifica en dos grupos de acuerdo con las características clínicas: fenotipo infantil severo (tipo I), con inicio antes del 1er año y fenotipo juvenil-adulto benigno (tipo II), con inicio entre 1-4 años (Sun, 2001).

- **$\beta$ -Manosidosis.**

En la  $\beta$ -manosidosis existe una amplia heterogeneidad tanto clínica como en la edad de presentación (1-6 años), incluso dentro de una misma familia. En pacientes adultos puede presentarse angioqueratoma y un comportamiento agresivo (Bedilu y col, 2002).

- **Fucosidosis.**

En la fucosidosis existen dos tipos: a) tipo 1 caracterizado por un defecto psicomotor, deterioro neurológico severo, visceromegalia y convulsiones, con debut a los 6 meses de edad y muerte en la primera década de vida y b) tipo 2, con retardo psicomotor moderado, síntomas neurológicos, angioqueratomas y larga sobrevida (Galluzzi, 2001; Willems y col, 2005).

La  $\alpha$ -L-fucosidasa es una de las enzimas cuyo polimorfismo y deficiencia se conocen. Al menos dos formas polimórficas de  $\alpha$ -L-fucosidasa se describen en el hombre: FUCA 1 que está deficiente en leucocitos y FUCA 2 en plasma. (Van Elsen y col, 1983).

- **Aspartilglucosaminuria.**

La aspartilglucosaminuria es una enfermedad que causa anormalidades esqueléticas, lesiones en el tejido conectivo y daño al sistema nervioso central, con retraso mental progresivo. Su debut oscila entre los 2-6 años de la vida. (Arvio y col, 2002).

- **Mucopolisidosis tipo I o sialidosis.**

Existen dos tipos de sialidosis (ambas con excreción urinaria de sialiloligosacáridos): tipo I o forma moderada, donde hay presencia de mancha rojo cereza en la mácula, síndromes mioclónicos, cataratas e inteligencia conservada. La sialidosis tipo II es más severa, con variadas formas clínicas, según la edad del debut: congénita (útero), infantil (nacimiento-12 meses) y juvenil (2-20 años) (Pámpols y col, 1995; de Geest y col, 2002).

- **Enfermedad de Schindler.**

Existen 3 formas clínicas bien definidas: a) Tipo I o forma severa infantil, con debut a los 8-15 meses de edad, con atrofia óptica, nistagmo, estrabismo, osteopenia, atrofia muscular, mioclonos, decorticación y distrofia neuroaxonal; b) tipo II

(enfermedad de Kanzaki), con debut en la edad adulta, caracterizada por sordera, angioqueratoma, linfodema, neuropatía periférica axonal y leve retraso mental y c) tipo III, una forma intermedia, con debut en la adolescencia y caracterizada por leve retardo psicomotor y del lenguaje, así como moderadas características autistas. (Desnick y col, 2001).

#### **2.2.4 Deficiencia múltiple de enzimas.**

Dentro de este grupo se encuentran las siguientes enfermedades: deficiencia múltiple de sulfatasas, mucopolidosis II, III y IV y galactosialidosis (Gahl y col, 2002; Vellodi, 2005; Johnson, 2008).

En el Anexo 6 se presenta una tabla con la enfermedad, el defecto enzimático, los compuestos acumulados y la localización del gen de cada una de las enfermedades.

- **Deficiencia múltiple de sulfatasas. Enfermedad de Austin o mucosulfatidosis.**

La deficiencia múltiple de sulfatasas (MSD) combina las manifestaciones clínicas de la variante infantil tardía de la leucodistrofia metacromática con algunas características de las mucopolisacaridosis (Artigalás y col, 2009). Los pacientes presentan signos medios de “gargolismo” y un rápido daño neurológico (Settembre y col, 2007).

- **Mucopolidosis.**

Las mucopolidosis (ML) constituyen un grupo de enfermedades que se confunden fenotípicamente con las mucopolisacaridosis. (Matalon y col, 2008; Kolodny y Sathe, 2008).

Cathey y col (2008) reportan una clasificación actualizada para las mucopolidosis II, III y IIIC en ML II alfa/beta, ML III alfa/beta y ML III gamma, respectivamente.

- **Mucopolidosis II alfa/beta.**

La mucopolidosis II alfa/beta, conocida también como enfermedad de células I (Leroy y col, 1975), es clínicamente similar a la MPS I (fenotipo Hurler), siendo más severa que su desorden alélico III alfa/beta. Su debut generalmente es antes del primer año de vida, aunque hay reportes de pacientes desde 4 hasta 22

meses. La edad de fallecimiento es antes de los 4 años (Encarnacao y col, 2009; Paik y col, 2005).

- **Mucopolipidosis III alfa/beta (Polidistrofia pseudo Hurler).**

La mucopolipidosis III alfa/beta es de presentación más tardía y menos severa. Los síntomas iniciales pueden comenzar entre los 2-4 años de vida, con rigidez articular, deformación de las manos (en garra), displasia de cadera y valvulopatía aórtica o mitral. Muchos pacientes tienen retraso mental moderado, aunque en otros la inteligencia está conservada, incluso en la edad adulta (Paik y col, 2005).

- **Mucopolipidosis ML III gamma.**

En la mucopolipidosis III gamma los pacientes presentan baja estatura, anomalías esqueléticas, cardiomegalia y retardo en el desarrollo (Raas-Rothschild y col, 2000). Encarnacao y col (2009) reportaron un fenotipo intermedio.

- **Mucopolipidosis IV.**

La mucopolipidosis IV o sialolipidosis es de carácter neurodegenerativo. Los pacientes presentan retardo psicomotor y anomalías oftalmológicas (Chen y col, 1998)

- **Galactosialidosis.**

Son reconocidos tres fenotipos: infantil, infantil tardío y juvenil/adulto. Los pacientes presentan manifestaciones típicas de enfermedades lisosomales como son facies tosca, mancha rojo cereza, cambios vertebrales, linfocitos con aspecto vacuolado, entre otras. (d'Azzo y col, 2001).

### **2.2.5 Otras lipidosis.**

El déficit de lipasa ácida lisosomal es la causa de la enfermedad de Wolman y la enfermedad por almacenamiento de ésteres de colesterol (dos trastornos fenotípicamente distintos). Esta enzima es esencial para la hidrólisis de triglicéridos y ésteres del colesterol en los lisosomas (Alam y Yatsu, 2008).

En el Anexo 7 se presenta una tabla con la enfermedad, el defecto enzimático, los compuestos acumulados y la localización del gen, de otras lipidosis.

- **Enfermedad de Wolman.**

El curso más severo de la enfermedad de Wolman provoca xantomatosis primaria

familiar. Se presenta en las primeras semanas de vida con vómitos, esteatorrea, distensión abdominal, anemia y hepatoesplenomegalia. Además se produce calcificación de las glándulas suprarrenales. La afectación neurológica es mínima en comparación con el grave trastorno somático. El fallecimiento ocurre alrededor de los 3-6 meses generalmente (Krivit y col, 2000)

- **Enfermedad por almacenamiento de ésteres de colesterol.**

Esta patología es menos frecuente que la enfermedad de Wolman, presenta un fenotipo más benigno sin afectación neurológica. Generalmente pueden presentar hepatomegalia al nacimiento o en la infancia, aunque en ocasiones no se observa hasta la segunda década de la vida. Hay aumento de colesterol y en ocasiones de triglicéridos plasmáticos. Se han descrito pacientes con déficit de lipasa ácida que presentan debilidad muscular e hipotonía, confirmándose un perfil miopático mediante los estudios neurofisiológicos. La deficiencia de lipasa ácida dificulta la descomposición de las lipoproteínas de baja densidad y puede acompañarse de aterosclerosis (Krivit y col, 2000).

- **Enfermedad de Niemann-Pick tipo C.**

La enfermedad de Niemann-Pick tipo C se caracteriza por tener un fenotipo altamente variable. En la forma clásica el debut es entre los 2 y 4 años de vida (forma crónica neuropática) (Patterson y col., 2001); aunque existen formas de presentación neonatal y en la edad adulta, caracterizadas por retraso psicomotor, convulsiones, hepatoesplenomegalia, oftalmoplejia vertical. El fallecimiento en general ocurre en la segunda década de la vida. El diagnóstico se confirma, observando por microscopía de fluorescencia el colesterol esterificado en fibroblastos cultivados, mediante la tinción de filipina (Imrie y col, 2002).

- **Enfermedad de Niemann-Pick tipo D.**

Enfermedad de Niemann-Pick tipo D, tiene características similares a la tipo C y se denomina la variante de Nueva Escocia.

- **Lipofuscinosis ceroides neuronal.**

La lipofuscinosis ceroides neuronal (CLN), por sus siglas en inglés, posee un cuadro clínico que incluye crisis epilépticas, demencia, alteraciones del sueño y motoras y problemas visuales progresivos (Mole y col, 2005).



Las CLN se clasifican de acuerdo con la edad de debut en: infantil (CLN1), infantil de debut tardío (CLN2), juvenil (CLN3) y la forma adulta (CLN4). Sin embargo, en la actualidad las formas de lipofuscinosis se clasifican numéricamente acorde al defecto del gen. Se han encontrado 160 mutaciones que causan CLN en 8 genes humanos (CLN1, CLN2, CLN3, CLN5, CLN6, CLN7, CLN8, CLN10). A pesar de ser un grupo genéticamente heterogéneo, las CLN comparten características clínicas e histopatológicas (Jalanko y Braulke, 2009).

### **2.2.6 Defectos en el almacenamiento de glucógeno (glucogenosis tipo II). Enfermedad de Pompe.**

En la glucogenosis tipo II o enfermedad de Pompe existen tres formas de presentación: infantil, juvenil y adulta. La infantil se caracteriza por hipotonía, debilidad muscular, cardiomegalia, hepatomegalia y aumento de las enzimas musculares. Los pacientes suelen fallecer al año de vida por fallo cardíaco (Hagemans y col, 2005). Dentro de la infantil se plantea la existencia de un subtipo leve con síntomas menos severos (cardiopatía) (Slonim y col, 2000; Merk y col, 2009).

La forma juvenil muestra una distrofia muscular de carácter progresivo con anomalías en la marcha, visceromegalia variable, lenta evolución hasta producir el fallecimiento por descompensación cardiorespiratoria (Laforet y col, 2000). La forma adulta se manifiesta en la segunda o tercera década únicamente con miopatía (Marsden, 2005).

En el Anexo 8 se presenta una tabla con la enfermedad, el defecto enzimático, los compuestos acumulados y la localización del gen, de la glucogenosis II.

### **2.2.7 Defectos en el transporte lisosomal.**

Están descritas dos enfermedades resultantes del defecto en el transporte de cistina y ácido siálico a través de la membrana lisosomal, nombradas cistinosis y enfermedad de Salla (enfermedad por almacenamiento de ácido siálico) (Gahl y col, 2002; Johnson, 2008).

En el Anexo 8 se presenta una tabla con la enfermedad, el defecto enzimático, los compuestos acumulados y la localización del gen, de cada una de las enfermedades.

- **Cistinosis.**

Existen dos tipos de cistinosis: forma infantil y juvenil. Se diferencia de otras enfermedades lisosomales en que no hay afectación de las hidrolasas ácidas, ya que estas no participan en el metabolismo de la cistina (Gahl y col, 2002; Tsilou y col, 2006). El diagnóstico bioquímico se basa en la cuantificación de cistina en cultivos de leucocitos y/o fibroblastos.

Los pacientes no presentan síntomas al nacer, pero entre los 6-12 meses de vida desarrollan signos de síndrome tubular de Fanconi, acidosis, deshidratación, vómitos, desequilibrio electrolítico, entre otros, requiriendo diálisis o trasplante renal con el decursar de los años (Gahl y col, 2002).

- **Enfermedad por almacenamiento de ácido siálico. Sialurias.**

Las sialurias conocidas son la enfermedad por almacenamiento de ácido siálico de tipo infantil y la tipo finlandesa (enfermedad de Salla). Se plantea que la forma infantil parece ser una forma alélica de la enfermedad de Salla. Los síntomas clínicos se caracterizan por: hipotonía, ataxia cerebelosa, retraso mental, visceromegalia (Verheijen y col, 1999).

La enfermedad por almacenamiento de ácido siálico de tipo infantil muestra un cuadro clínico mucho más severo que la enfermedad de Salla. Sin embargo para la enfermedad de Salla, aunque generalmente se presenta como forma adulta con progresión lenta, se han descrito formas inusuales que debutan en edad temprana (2-4 meses de edad), con mayor severidad de los síntomas clínicos y con poca sobre vida (11-24 meses) (Haataja y col, 1994).

### **2.2.8 Errores congénitos debido a defectos en proteínas lisosomales.**

Las proteínas de la membrana lisosomal actúan en varios pasos del ciclo de vida del lisosoma, lo cual incluye la acidificación del lumen, la exportación de metabolitos y la fusión con otros orgánulos. Dentro de las enfermedades provocadas por defectos en las proteínas lisosomales se encuentra la enfermedad

de Danon (MIM#300257) que es una variante de la glucogenosis II (enfermedad de Pompe) con acúmulo de glucógeno, pero con actividad normal de  $\alpha$ -glucosidasa (Nishiro, 2008). Es una enfermedad con herencia dominante ligada al cromosoma X (Xq24) que afecta predominantemente el músculo cardíaco, aunque también se afecta el músculo esquelético y existe retraso mental (Danon y col, 1981). Se ha clasificado como una forma de miopatía vacuolar autofágica, caracterizada por la acumulación de vacuolas autofágicas intracitoplasmáticas con aspecto de sarcolema (Sugie y col, 2005). La proteína deficiente es la proteína de membrana asociada al lisosoma (LAMP2 por sus siglas en inglés), que está involucrada con los autofagosomas (Ruivo y col, 2009).

La presencia de retinopatía puede ser utilizada potencialmente para la identificación de portadoras asintomáticas (Prall y col, 2006). Además en pacientes con enfermedad de Danon, puede haber ausencia de miopatía vacuolar con presencia de cardiomiopatía dilatada (Taylor y col, 2007).

### **2.2.9 Errores congénitos de la glicosilación (CDG).**

Son un grupo de enfermedades autosómicas recesivas, genéticamente heterogéneas, causadas por defecto en la síntesis y procesamiento de los N-asparagina-oligosacáridos presentes en las glicoproteínas, que tienen un papel importante en el reconocimiento, migración, adhesión celular, resistencia a proteasas y otras funciones (Marquardt y col, 2003; Grunewald y col, 2002). Existen varios tipos de estos errores: CDG1A, CDG1B y CDG1C en este grupo de enfermedades (Patterson, 2008).

Dentro de estos la enfermedad más frecuente es la CDG tipo 1B (MIM#602579), causada por una mutación en el gen (15q22-qter) que codifica la manosafofosfato isomerasa (MPI) (MIM#154550) (EC5.4.2.8) (Vuillaumier-Barrot y col, 2002). Es diferente de las otras CDG porque no hay daño al sistema nervioso central. Sus rasgos clínicos principales son: diarreas crónicas, enteropatía, coagulopatías, llegando incluso hasta la fibrosis hepática. Puede ser fatal si no se atiende con suplementos orales (Grunewald y col, 2002; Marquardt y col, 2003).

### III. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.0 Descripción del universo de estudio.

- **Diagnóstico post-natal**

Las determinaciones de enzimas lisosomales se realizaron en el Departamento de Bioquímica del Instituto de Neurología y Neurocirugía de la Habana “Profesor Dr. José Rafael Estrada González”, en el período comprendido entre 1986 y 2005. El universo de estudio estuvo constituido por: 1) 1 853 pacientes remitidos de diferentes centros asistenciales de todo el país con la impresión diagnóstica de padecer algún error innato del metabolismo de naturaleza lisosomal; 2) 395 padres de los pacientes remitidos y 3) 869 controles. Los controles eran sujetos de ambos sexos, sin antecedentes de enfermedades heredo metabólicas, con edades similares a la de los pacientes y cuyas muestras se procesaron previo consentimiento informado (ANEXO 9), en las mismas condiciones que las muestras de los pacientes y padres. Los análisis enzimáticos de los pacientes y padres fueron indicados por los especialistas como parte de los estudios establecidos para el diagnóstico de estas enfermedades, teniendo en cuenta el examen físico, las características clínicas y los resultados de los estudios en orina (realizados en el CNGM y en otros centros del país). Los estudios enzimáticos realizados permitían el diagnóstico de 19 EAL a partir de la determinación de 16 enzimas lisosomales.

- **Diagnóstico prenatal**

El diagnóstico prenatal se realizó en 12 embarazadas (11 familias), con antecedentes de tener al menos un hijo con diagnóstico de alguna EAL. El período de estudio fue de 1994-2005. A todas las familias se les brindó asesoramiento genético por parte de los especialistas y estuvieron de acuerdo, previo consentimiento informado (ANEXO 10), en conocer el estado de salud del feto, con relación a la enfermedad en estudio. Esto permitió a los padres escoger una conducta de forma voluntaria, la interrupción o no de la gestación.

A las madres se les realizó amniocentesis entre las 16-20 semanas de embarazo, procesándose simultáneamente un control de la misma edad gestacional, sin

antecedentes familiares de estas enfermedades y que le habían indicado este proceder por estar incluida en el programa de embarazo de riesgo, por la edad. Los resultados del estudio enzimático prenatal se entregaron al grupo interdisciplinario que se encarga de la Consulta de Asesoría Genética que atiende a la familia, donde se le da toda la información que necesitan los padres para adoptar una conducta reproductiva.

### **3.1 Muestras biológicas.**

- Suero sanguíneo.
- Leucocitos.
- Cultivo de células de líquido amniótico.

#### **Obtención de las muestras biológicas.**

A los pacientes, padres y controles se les extrajo entre 5-10 ml de sangre por punción venosa, la cual se distribuyó en un tubo seco y otro con heparina.

Para la obtención de suero, se centrifugó la muestra de sangre durante 10 minutos a 2000 g.

El aislamiento de leucocitos se realizó procesando la sangre heparinizada según las técnicas descritas por Skoog y Berg, 1956; Kolodny y Mumford, 1976.

En síntesis, los eritrocitos y plaquetas presentes en la sangre se precipitaron por gravedad, utilizando una mezcla de ACD-Dextrán-Glucosa y dejándolos en reposo durante una hora. Se tomó el sobrenadante rico en leucocitos, el cual fue sometido a lavados subsiguientes: primeramente con solución de cloruro de amonio y después cuantos lavados fueran necesarios por choque osmótico, empleando 2 soluciones de cloruro de sodio a diferentes concentraciones y agua, hasta la eliminación total de los eritrocitos.

Los leucocitos aislados se resuspendieron en agua destilada y fueron sometidos a congelación-descongelación sucesiva para obtener el homogenado de leucocitos lisados.

Los amniocitos fueron cultivados y aislados en el Centro Nacional de Genética Médica, (Butterworth y col, 1973; Verman y col, 1995). A los 18 días de cultivo de

los amniocitos, se envió la muestra al INN con el objetivo de cuantificar la actividad enzimática según la sospecha de déficit enzimático correspondiente.

Las muestras de suero, leucocitos y amniocitos se almacenaron a  $-20^{\circ}\text{C}$  hasta su procesamiento.

### 3.2 Variables evaluadas.

- Edad
- Sexo
- Grupos de estudio: Pacientes (según enfermedad).  
Padres (según enfermedad).  
Controles.
- Forma clínica de la enfermedad (definida por el médico que indica el estudio).
- Actividad específica, enzimática y porcentual de las enzimas:
  1.  $\alpha$ -L-iduronidasa (MPS I).
  2. N-acetil- $\alpha$ -D-glucosaminidasa (MPS III B).
  3.  $\beta$ -galactosidasa (MPS IV B, GM<sub>1</sub> gangliosidosis, mucopolipidosis II y III).
  4. Sulfo-N-acetilgalactosamina-4- sulfatasa o arilsulfatasa B (MPS VI, mucopolipidosis II y III).
  5.  $\beta$ -glucuronidasa (MPS VII, mucopolipidosis II y III).
  6.  $\alpha$ -L-fucosidasa (fucosidosis, mucopolipidosis II y III).
  7.  $\alpha$ -manosidasa ( $\alpha$ -manosidosis, mucopolipidosis II y III).
  8. Hexosaminidasa A (Enfermedad de Tay Sachs).
  9. Hexosaminidasas A y B (Enfermedad de Sandhoff).
  10.  $\beta$ -glucosidasa o  $\beta$ -glucocerebrosidasa (Enfermedad de Gaucher).
  11. Esfingomielinasa (Enfermedad de Niemann-Pick).
  12. Arilsulfatasa A (Leucodistrofía metacromática, mucopolipidosis II y III).
  13. Lipasa ácida (Enfermedad de Wolman y enfermedad por acúmulo de

ésteres del colesterol).

14.  $\alpha$ -galactosidasa (Enfermedad de Anderson-Fabry).
15. Arilsulfatasas A, B y C (mucosulfatidosis o enfermedad de Austin).
16.  $\alpha$ -glucosidasa (glucogenosis tipo II o enfermedad de Pompe).

- Incidencia de EAL
- Frecuencia de portadores

### **3.3 Técnicas analíticas.**

#### **3.3.1 Determinación de proteínas totales.**

La determinación de proteínas totales se realizó en el homogenado de leucocitos y amniocitos por el método espectrofotométrico descrito por Lowry (1951). Se midió la absorbancia a 660 nm. El cálculo de las concentraciones de proteínas se realizó contra una curva de calibración de albúmina de suero bovino (BSA, fracción V, de la firma Sigma) y los resultados se expresaron en mg/mL.

#### **3.3.2 Métodos para la determinación de actividad de las enzimas.**

- **Fluorimétricos.**

Para la determinación de la actividad de cada una de las enzimas (a 37°C) se emplearon sustratos fluorogénicos específicos (derivados de metilumbeliferona) provenientes de la firma Sigma. Estos sustratos reaccionan en cada una de las determinaciones con la enzima de la muestra (suero, homogenado de leucocitos o amniocitos), y la cantidad de enzima presente es directamente proporcional a la metilumbeliferona liberada, lo cual equivale a la intensidad de fluorescencia. La medición fue realizada en un espectrofluorímetro Shimadzu RF-540 a una longitud de onda de excitación de 365 nm y de emisión 448 nm. El cálculo de la concentración se realizó contra una curva de calibración de metilumbeliferona (MU) y se expresó en nmoles/mL de MU.

Enzimas medidas y técnicas empleadas:

- $\alpha$ -L-iduronidasa (Stirling y col, 1978; Stirling y col, 1979).

- $\beta$ -galactosidasa (Galjaard y col, 1975).
- $\beta$ -glucuronidasa (Glaser y Sly, 1973.).
- $\alpha$ -L-fucosidasa (Robinson y Thorpe, 1974).
- $\alpha$ -manosidasa (Galjaard, 1980.).
- Hexosaminidasa A (O'Brien y col, 1970).
- Hexosaminidasas A y B (Reuser y col, 1976).
- $\beta$ -glucosidasa (Svennerholm y col, 1979).
- Lipasa ácida (Patrick y col, 1976).
- $\alpha$ -galactosidasa. (Galjaard y col, 1974)
- Arilsulfatasas A, B y C. (Galjaard, 1980)
- $\alpha$ -glucosidasa (Galjaard y col, 1973)

- **Colorimétricos.**

Se emplearon sustratos colorimétricos específicos provenientes de la firma Sigma (derivados de paranitrofenil y paranitrocatecol), los cuales reaccionan a 37°C con la enzima presente en la muestra (suero, homogenado de leucocitos o amniocitos), produciendo un complejo coloreado que se lee a una longitud de onda determinada para cada uno.

La intensidad de color se midió en un espectrofotómetro Shimadzu UV260 a una longitud de onda de 410 nm (paranitrofenil derivados) y a 516 nm (paranitrocatecol derivado). El cálculo de las concentraciones se realizó contra curvas de calibración respectivas de paranitrofenol y paranitrocatecol y se expresaron en nmoles/mL de sustrato.

**Técnicas empleadas con derivado de Paranitrofenil.**

- N-acetil- $\alpha$ -D-glucosaminidasa (Liem y col, 1976).
- Esfingomielinasa (Patrick y col, 1977).

**Técnicas empleadas con derivado de Paranitrocatecol.**

- 4 sulfo-N-acetilgalactosaminida sulfatasa o arilsulfatasa B (Baum y col, 1959; Galjaard y col, 1974).
- Arilsulfatasa A (Baum y col, 1959; Galjaard y col, 1974).



Para la estandarización de las técnicas analíticas se determinó: límite de detección, linealidad, especificidad, precisión, exactitud, coeficiente de correlación (López Saura, 1979).

Los coeficientes de variación intra e interensayo de cada una de las técnicas empleadas en la determinación de la actividad estuvieron entre 3,4-10,2 % y 8,7-15,3 % respectivamente.

### **3.4 Cálculo de las actividades específica, enzimática y porcentual de las enzimas.**

Los resultados de actividad específica se expresaron en nmoles/hora/mg de proteína en leucocitos y amniocitos.

En suero se determinó la actividad enzimática en función de la cantidad de muestra utilizada para la determinación: nmoles/hora/mL de suero.

En cada enfermedad se procesaron aproximadamente dos controles por cada paciente confirmado. La mediana y los percentiles 10-90 de las actividades específicas y enzimáticas de los controles que se procesaron conjuntamente con las muestras de los pacientes, aparecen en las tablas correspondiente a cada enfermedad.

La relación porcentual (actividad porcentual) de pacientes y padres se calculó en base a los controles respectivos de la siguiente manera:

$$[\text{Actividad específica del paciente o padre} / \text{actividad específica del control}] * 100$$

Para el diagnóstico de las mucopolidosis II y III se determinó en suero la actividad enzimática de varias enzimas lisosomales. La variable analizada en este caso fue la relación de la actividad enzimática del paciente respecto al control para cada una de las enzimas, expresada en número de veces.

$$\text{Actividad enzimática paciente} / \text{Actividad enzimática control} = \text{número de veces}$$

En el caso de las mucopolidosis II se cuantificaron las enzimas arilsulfatasa A y B,  $\beta$ -glucuronidasa,  $\alpha$ -manosidasa,  $\alpha$ -L-fucosidasa y  $\alpha$ -galactosidasa. Para las

mucopolipidosis III también se estudiaron las arilsulfatasas A y B, la  $\alpha$ -manosidasa,  $\alpha$ -L-fucosidasa, adicionalmente las arilsulfatasas A,B,C y la hexosaminidasa A.

La clasificación en mucopolipidosis II o III en pacientes con actividad incrementada de varias enzimas en suero y normales o disminuidas en leucocitos se definió finalmente por el pediatra, teniendo en cuenta la edad de comienzo de la enfermedad.

Se consideraron valores patológicos aquellos que estaban por debajo del 30 % de actividad porcentual y sospechosos los que estaban por debajo del 50 % (Willems y col, 1999). En el caso de los padres de niños enfermos, por su condición de heterocigóticos obligados para la enfermedad (excepto en la enfermedad ligada al cromosoma X) la actividad porcentual debe ser alrededor del 50 %. (Jolly y col, 1979; de Gasperi, 2000).

El diagnóstico definitivo pudo ser establecido por el médico de asistencia para 16 EAL de las 19 estudiadas, teniendo en cuenta los resultados de laboratorio y el cuadro clínico del paciente.

### **3.5 Estudios de incidencia y frecuencia de portadores.**

La organización del Sistema de Salud cubano, de amplia cobertura nacional, hace posible que los pacientes de todas las regiones del país tengan posibilidad de acceder a los servicios médicos cercanos a su lugar de residencia a través de la red nacional de genética que está disponible en los 169 municipios del país (Marcheco, 2007; Lantigua y col, 2007).

Para realizar un estudio como este es necesario tener certeza de que la casuística sea representativa del país, lo cual se apoya en los siguientes aspectos: 1) la cobertura nacional de diagnósticos pre y postnatales de EAL en el período de 1990-2005; 2) la especial atención de médicos y genetistas a casos con sospecha de EAL, incluso de forma retrospectiva; 3) la realización de estudios clínicos y cualitativos en orina realizados por especialistas de varias regiones del país en las cuales existe esta metodología; 4) la centralización de todos los estudios enzimáticos de EAL en nuestro laboratorio (entre 1990 y 2005) para confirmar la sospecha clínica.

### **3.5.1 Incidencia.**

El método empleado para la estimación de la incidencia estriba en considerar que el total de nacidos vivos se corresponde con el período de diagnóstico, y se asume que los pacientes de diagnóstico tardío (nacidos antes del período de estudio) son representativos de los pacientes de debut tardío nacidos dentro del período de estudio y que no han tenido presentación clínica todavía (Meikle y col, 1999).

La incidencia, como medida de frecuencia de aparición de casos positivos de enfermedades de almacenamiento lisosomal en el período 1990-2005, se calculó de la siguiente forma:

$$\text{Incidencia} = (\text{Diagnósticos postnatales} / \text{Total NV}) * 100\ 000$$

NV: nacidos vivos

El número de nacidos vivos en el período 1990-2005 fue de 2 367 619 (Anuario Estadístico de Salud en Cuba, 2005).

Con el objetivo de poder comparar nuestros resultados de incidencia con los publicados por autores de otros países, reagrupamos las EAL según los reportes de esos estudios, y no siguiendo la clasificación de Vellodi.

### **3.5.2 Frecuencia de portadores.**

La frecuencia de portadores ( $2pq$ ) de EAL en el período 1990-2005 se calculó a partir de los datos de incidencia ( $q^2$ ) de cada una de las enfermedades. Aplicando posteriormente la fórmula de Hardy-Weinberg,  $p + q = 1(100\%)$ , se puede hallar ( $p$ ) (Mueller y Young, 2001; Kalmes y Huret, 2001). La Ley de Hardy-Weinberg, asume que la población estudiada está en equilibrio. Las frecuencias de  $p$  y  $q$  se encuentran entre 0 y 1.

En principio asumimos que la población es ideal, o sea, que es una población grande que muestra uniones al azar, sin que aparezcan mutaciones nuevas ni fenómenos de selección basados en algún genotipo particular.

El cálculo de la frecuencia de portadores en la población es de mucha utilidad cuando se calculan los riesgos en el asesoramiento genético.

Para el cálculo de la frecuencia de portadores se asumió que todos los padres son heterocigóticos (excepto para la enfermedad de Fabry que está ligada al sexo) y

que la unión marital de familias homocigóticas sería poco común y afectaría muy poco la frecuencia de portadores.

En este trabajo no pudimos obtener la información acerca de la presencia de consanguinidad en las familias de todos los pacientes. Sin embargo Lantigua y col, 2008, en un estudio de población de retrasados mentales de todo el país, obtuvieron un 6,89 % de consanguinidad. Algunos de los pacientes con EAL que cursan con retraso mental pudieran estar incluidos en estos resultados.

### **3.6 Ética.**

Se cumplió con los principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos de la Declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial del 2010. La individualidad de los participantes en las investigaciones fue respetada; resguardando su intimidad y la confidencialidad de su información, con el objetivo de reducir al mínimo las consecuencias sobre su integridad física y mental.

El consentimiento informado, es una decisión a participar en una investigación, tomada por un individuo competente que ha recibido la información necesaria, que ha entendido adecuadamente la información y que, después de considerarla ha arribado a la decisión, sin haber sido objeto de coerción, influencia, inducción o intimidación. De esta forma se protege la libertad de elección y se respeta la autonomía individual.

Al grupo control, constituido por individuos voluntarios, supuestamente sanos y sin antecedentes familiares de enfermedades heredo metabólicas, se les explicó la importancia de participar en esta investigación y que sólo requería de la extracción de 5 ml de sangre por punción venosa. Se les solicitó la conformidad de participar en el estudio, mediante consentimiento informado, tanto de forma verbal como escrita (Anexo 9). En el caso de los menores, ese consentimiento lo dieron sus padres o tutor.

El médico de asistencia indicó los estudios de laboratorio a los pacientes y padres como parte de las investigaciones establecidas para el estudio de estas enfermedades; además les brindó toda la información acerca de las características de la enfermedad que sospechaba, pronóstico y posibilidad de tratamiento.

Para los estudios prenatales, los genetistas les explican a los padres en las consultas de asesoramiento genético, los riesgos y beneficios que conlleva la realización de esta prueba. Además les aclaran todas las dudas y preocupaciones que ellos tengan. Los padres con plena autonomía y de mutuo acuerdo deciden la conducta a seguir. Para el consentimiento informado se utiliza el modelo confeccionado por el Centro Nacional de Genética Médica (Anexo 10).

El Comité de Ética de la Investigación del INN creado en el año 2001 según la Resolución Ministerial N° 110 del 31 de junio de 1997 (conocida como Instrucción VADI N° 4/2000) aprobó la ejecución de esta investigación en su etapa de proyecto ramal.

Para la publicación de estos resultados, se hizo el compromiso de mantener la exactitud de los datos. Se publicaron tanto los resultados negativos como los positivos y se citaron las fuentes de donde se obtuvieron los datos expuestos, el financiamiento y las afiliaciones institucionales.

### **3.7 Análisis estadístico de los resultados.**

Se confeccionó una base de datos para cada una de las enfermedades estudiadas, que incluía: nombre, edad, sexo, procedencia, fecha, actividades específica, enzimática, porcentual y relación de la actividad enzimática de pacientes/control (sólo para el caso de las ML II y III) de los grupos estudiados. Al evaluar las pruebas de normalidad y ensayo de homogeneidad de varianza aplicadas a las actividades de las enzimas estudiadas se encontró que ninguna tenía una distribución normal y en algunos grupos las varianzas no eran homogéneas, por lo que se calcularon las medianas y el percentil 10 - 90 de cada una.

Para la comparación de la actividad específica entre los tres grupos estudiados (pacientes, padres y controles) se aplicó la prueba de Kruskal Wallis, mientras que la comparación de la actividad porcentual de pacientes y padres se realizó empleando la prueba de Mann-Whitney. El nivel de significación para ambas pruebas fue de  $p < 0,05$ .

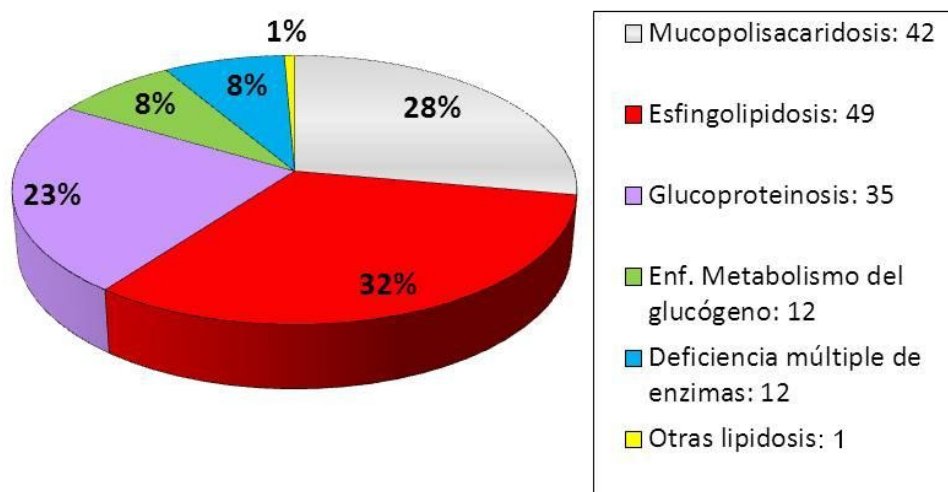
Estudiamos la posible correlación entre la actividad específica de las enzimas con la edad de diagnóstico mediante la prueba de Spearman y se emplearon pruebas no paramétricas para comparar las actividades entre los fenotipos clínicos.

Se determinó el intervalo de confianza (-95% a +95%) de la incidencia de las EAL. Todos los cálculos estadísticos se realizaron con el programa Statistica, versión 6.0 para Window y se consultó a Sigarroat, 1985.

## IV. RESULTADOS

### 4.1 Distribución de los diagnósticos según el tipo de EAL.

En el período comprendido de 1986 al 2005 se estudiaron 1 853 pacientes con sospecha clínica de padecer algún EIM de naturaleza lisosomal. El total de casos diagnosticados fue de 151 pacientes, lo que representa una frecuencia de diagnósticos positivos de un 8,2%. En la figura 1 se presenta la distribución de los pacientes con EAL por grupos de enfermedades. La esfingolipidosis resultó el grupo con mayor número de casos diagnosticados (32%), siguiéndole las mucopolisacaridosis y las glucoproteinosis (28% y 23% respectivamente). Las menos frecuentes fueron las enfermedades del metabolismo del glucógeno, la deficiencia múltiple de enzimas y otras lipidosis respectivamente.



**Figura 1. Distribución de los casos diagnosticados con EAL por grupos de enfermedades.**

En la tabla 1 se muestra la frecuencia de aparición de las enfermedades lisosomales dentro de los distintos grupos de EAL, siendo las más frecuentes la MPS tipo I y la  $\alpha$ -Manosidosis.

**Tabla 1 Frecuencia de distribución de pacientes diagnosticados con EAL.**

Grupos de Enfermedades Lisosomales	Enfermedades	Enzimas	Cantidad de pacientes diagnosticados	
			n	%
MPS	MPS I	$\alpha$ -L-iduronidasa	26	17,1
	MPS IIIB	N-acetil- $\alpha$ -D-glucosaminidasa	3	2,0
	MPS IV B	$\beta$ -galactosidasa	1	0,7
	MPS VI	Arilsulfatasa B	12	7,9
	MPS VII	$\beta$ -glucuronidasa	0	0,0
Esfingolipidosis	GM1-gangliosidosis	$\beta$ -galactosidasa	11	7,2
	Tay-Sachs	Hexosaminidasa A	9	5,9
	Sandhoff	Hexosaminidasas A y B	0	0,0
	Fabry	$\alpha$ -galactosidasa	1	0,7
	Leucodistrofia metacromática	Aril sulfatasa A	9	5,9
	Niemann-Pick A-B	Esfingomielinasa	5	3,3
	Gaucher	$\beta$ -glucosidasa	14	9,2
Glucoproteinosis	$\alpha$ -Manosidosis	$\alpha$ -manosidasa	20	13,2
	Fucosidosis	$\alpha$ -L-Fucosidasa	15	9,9
Deficiencia múltiple de enzimas	Mucopolipidosis II*	-	8	5,3
	Mucopolipidosis III*	-	4	2,6
	Mucosulfatidosis	Arilsulfatasa A, B, C	0	0,0
Otras lipidosis	Mutación alélica de la enfermedad de Wolman	Esterasa ácida	1	0,7
Enfermedades del metabolismo del glucógeno	Glucogenosis II	$\alpha$ -1,4-glucosidasa	12	7,9
<b>TOTAL</b>			<b>151</b>	<b>100%</b>

\* El diagnóstico de estas enfermedades se realiza por el aumento en la actividad de varias enzimas lisosomales en suero.



## 4.2 Descripción de las EAL según edad y sexo de los pacientes.

La edad de los pacientes con las distintas EAL en el momento del diagnóstico osciló entre 0,2 (3 meses) y 45 años. En 12 de las 16 EAL diagnosticadas en la población cubana durante este periodo (75%), la mediana de la edad de diagnóstico estuvo por debajo de 4 años, aunque en algunas de ellas el rango de variación de la edad fue amplio (Tabla 2).

**Tabla 2 Caracterización de pacientes diagnosticados con EAL según la mediana de la edad de diagnóstico y el sexo.**

Enfermedad	n	Sexo			Edad (rango) años
		F	M	M/F	
Mucopolisacaridosis I	26	16	10	0,6	2,0 (0,3-10)
Mucopolisacaridosis IIIB	3	2	1	0,5	3,0 (2-12)
Mucopolisacaridosis IV B	1	0	1	-	6
Mucopolisacaridosis VI	12	6	6	1	2,5 (0,3-10)
GM1-gangliosidosis	11	5	6	1,2	3,0 (2-13)
Tay-Sachs	9	2	7	3,5	1,5 (0,5-16)
Fabry	1	0	1	-	2
Leucodistrofia metacromática	9	4	5	1,2	3,0 (1-45)
Niemann-Pick A-B	5	3	2	0,7	6,2 (1-12)
Gaucher	14	6	8	1,3	8,0 (2-38)
$\alpha$ -Manosidosis	20	9	11	1,2	3,0 (0,6-11)
Fucosidosis	15	8	7	0,9	2,5 (0,2-17)
Mucopolipidosis II	8	5	3	0,6	0,9 (0,4-2)
Mucopolipidosis III	4	1	3	3	29 (25-30)
Wolman	1	0	1	-	16
Glucogenosis II	12	0	12	-	3,0 (0,3-32)
<b>Total</b>		<b>67</b>	<b>84</b>	<b>1,2</b>	

Se encontraron en general individuos de ambos sexos con una relación entre masculinos y femeninos de 1,2. Sin embargo, en la glucogenosis II y en la enfermedad de Tay-Sachs predominaron los pacientes del sexo masculino (tabla 2).

### 4.3 Cuantificación de la actividad de las enzimas lisosomales en pacientes, padres y controles.

#### 4.3.1 Mucopolisacaridosis.

En la tabla 3 se indican las actividades específica y porcentual de las MPS I y MPS VI. En ambas se encontraron disminuciones significativas de la actividad específica entre pacientes-padres y pacientes-controles. En la MPS I además se observó diferencia entre padres-controles. La actividad porcentual también mostró una disminución significativa en los pacientes con respecto a los padres para estas dos MPS.

**Tabla 3 Actividades específicas y porcentuales de las MPS I y VI.**

Enfermedad Enzima	ACTIVIDAD ESPECÍFICA LEUCOCITARIA (nmol/h/mg proteína a 37°C)						H gl,n	p
	Pacientes		Padres		Controles			
	Mediana (n)	10-90%	Mediana (n)	10-90%	Mediana (n)	10-90%		
<b>MPS I α-L- iduronidasa</b>	0,7 <sup>a</sup> (26)	0,4-4,5	4,3 <sup>b</sup> (21)	1,3-11,9	10,4 <sup>c</sup> (47)	7,4-17,8	60,6	0,0000
<b>MPS VI Arilsulfatasa B</b>	47,3 <sup>a</sup> (12)	22 - 77,3	116,2 <sup>b</sup> (12)	67-195	173,9 <sup>b</sup> (42)	99 - 264	31,9	0,0000
ACTIVIDAD PORCENTUAL								
Enfermedad Enzima	Pacientes		Padres		Z	p		
	Mediana (n)	10-90%	Mediana (n)	10-90%				
<b>MPS I α-L- iduronidasa</b>	18,2 (26)	2,3-33,4	58,6 (21)	43-79,4	-5,87	0,000		
<b>MPS VI Arilsulfatasa B</b>	29,2 (12)	15-39	62,1 (12)	51-83,8	-4,16	0,000		

Análisis post hoc: letras diferentes indican diferencias significativas.  
10-90%: percentiles

Los 26 pacientes con MPS I, se distribuyeron en las 3 formas clínicas no diferenciadas bioquímicamente, de la siguiente manera: 13 pacientes con la más severa (Hurler); 5 pacientes con la forma más leve (Scheie) y 8 pacientes con la forma intermedia (Hurler-Scheie). No hubo diferencias estadísticas en la actividad específica de IDUA entre las formas clínicas de MPS I ( $K_{H(2, 25)} = 2,32$ ) y tampoco se encontró correlación con la edad de diagnóstico.

Para la MPS VI no se halló correlación entre la actividad específica de arilsulfatasa B y la edad de diagnóstico de los 12 pacientes.

En la tabla 4 figuran la mediana de las actividades específica y porcentual para las MPS IIIB y IVB. En ambas, la actividad específica de los pacientes fue menor con respecto a los controles. Además se estudió la enzima  $\beta$ -glucuronidasa (MPS VII), aunque no se detectó ningún caso positivo en el período de estudio. No se aplicaron pruebas estadísticas para las MPS IIIB y IVB por la reducida cantidad de casos (3 y 1, respectivamente).

**Tabla 4. Actividades específicas y porcentuales de las MPS IIIB y IVB.**

Enfermedad Enzima	ACTIVIDAD ESPECÍFICA LEUCOCITARIA (nmol/h/mg proteína a 37°C)					
	Pacientes			Controles		
	n	Mediana	10-90%	n	Mediana	10-90%
<b>MPS IIIB</b> n-acetil- $\alpha$ -glucosaminidasa	3	21,5	6,4-38,0	11	58,1	20,0-97,6
<b>MPS IVB</b> $\beta$ -galactosidasa	1	3,8	-	16	37,5	20,0-63,0
ACTIVIDAD PORCENTUAL						
Enfermedad Enzima	Pacientes					
	n	Mediana		10-90%		
<b>MPS IIIB</b> n-acetil- $\alpha$ -glucosaminidasa	3	37,0		32,0-38,9		
<b>MPS IVB</b> $\beta$ -galactosidasa	1	11,1		-		

#### **4.3.2 Esfingolipidosis y otras lipidosis.**

En las esfingolipidosis diagnosticadas (GM<sub>1</sub> gangliosidosis, Tay-Sachs, leucodistrofia metacromática, Niemann-Pick A-B y Gaucher) encontramos actividades específicas significativamente más bajas en pacientes y padres con respecto a controles, excepto para la actividad específica de la β-galactosidasa (GM<sub>1</sub> gangliosidosis), que no mostró diferencias entre padres y controles y sí entre pacientes-padres. Para todas las enfermedades estudiadas la actividad porcentual se mostró significativamente más baja en los pacientes que en los padres (tabla 5).

A pesar de que se disponía del diagnóstico enzimático de la enfermedad de Fabry - también incluida en el grupo de las esfingolipidosis - solamente se encontró un caso, con una actividad específica de la enzima α-galactosidasa de 3,3 nmol/h/mg proteína y una actividad porcentual de 27,3.

Se diagnosticó un paciente dentro del grupo de otras lipidosis con la enfermedad de Wolman (mutación alélica). La actividad específica de la enzima esterasa ácida fue 4,5 nmol/h/mg proteína y la porcentual de 30,8 %.

Se diagnosticaron 5 pacientes con forma juvenil de GM-1 gangliosidosis y 6 pacientes con la forma adulta. No hubo diferencias en la actividad específica de esta enzima con la edad ni con las formas clínicas.

Del total de diagnósticos de Tay-Sachs, 4 casos presentaron la forma infantil o severa, 3 casos la variante juvenil y sólo un caso presentó la forma adulta. No se encontraron diferencias significativas de la AE (hexosaminidasa A) con la edad, ni con las formas clínicas.

En la LDMC tampoco se encontró relación entre la edad y la AE de la arilsulfatasa A. Se reportaron 8 casos con la forma de presentación infantil y un caso de 46 años, con una presentación clínica tardía, correspondiente a la forma adulta.

**Tabla 5. Actividad específica y porcentual de las esfingolipidosis.**

Enfermedad Enzima	ACTIVIDAD ESPECÍFICA LEUCOCITARIA (nmol/h/mg proteína a 37°C)						H (gl,n)	p
	Pacientes		Padres		Controles			
	Mediana (n)	10-90%	Mediana (n)	10-90%	Mediana (n)	10-90%		
<b>GM<sub>1</sub> gangliosidosis β-galactosidasa</b>	5,0 <sup>a</sup> (11)	2-15	16,5 <sup>b</sup> (12)	5,0-43,0	35,6 <sup>b</sup> (30)	10,6-66,0	30,6	0,000
<b>Tay-Sachs Hexosaminidasa A</b>	77,8 <sup>a</sup> (9)	5,6-182	126,9 <sup>a</sup> (8)	61-200	277,1 <sup>b</sup> (18)	169-377	18,8	0,0001
<b>Leucodistrofia metacromática Arilsulfatasa A</b>	10,0 <sup>a</sup> (9)	3,8-28	15,6 <sup>a</sup> (8)	5,7-28,3	53,2 <sup>b</sup> (18)	35-72,8	25,7	0,0000
<b>Niemann-Pick A-B Esfingomielinasa</b>	22,3 <sup>a</sup> (5)	15,9-38	40,5 <sup>a</sup> (3)	40-76	77,4 <sup>b</sup> (10)	56,5-99,1	10,4	0,0055
<b>Gaucher β- Glucosidasa</b>	0,9 <sup>a</sup> (14)	0,6-6,2	2,4 <sup>a</sup> (8)	1,3-21,6	6,0 <sup>b</sup> (30)	9,4-32,2	18,1	0,0001
ACTIVIDAD PORCENTUAL								
Enfermedad Enzima	Pacientes		Padres		Z	p		
	Mediana (n)	10-90%	Mediana (n)	10-90%				
<b>GM<sub>1</sub> Gangliosidosis β-galactosidasa</b>	18,5 (11)	4,0-34,0	96,0 (12)	47,0-121,0	-4,1	0,000		
<b>Tay-Sachs Hexosaminidasa A</b>	25,7 (9)	3,9-30,0	48,0 (8)	29,0-76,0	-3,3	0,000		
<b>Leucodistrofia metacromática Arilsulfatasa A</b>	29,4 (9)	10,0-40,5	62,2 (8)	42,2-77,0	-3,4	0,000		
<b>Niemann-Pick A-B Esfingomielinasa</b>	28,1 (5)	23,7-39,0	56,0 (3)	47,5-78,0	-2,2	0,025		
<b>Gaucher β- glucosidasa</b>	31,5 (14)	18,0-39,2	71,7 (8)	40,6-87,0	-3,2	0,001		

Análisis post hoc: letras diferentes indican diferencias significativas.

En la enfermedad de Niemann-Pick tipo B hubo tres pacientes con la variante no neuronopática crónica, dos de estos casos eran hermanas (2 y 12 años de edad),

y en una de ellas se logró el diagnóstico tempranamente. Los otros 2 pacientes presentaron la forma neuronopática, tipo A. No se observó correlación entre la edad y la actividad específica. Es necesario señalar que hubo 4 pacientes con las características clínicas de esta enfermedad y aumento de los niveles de colesterol sérico, pero con actividad normal de esfingomielinasa. Estos paciente no fueron incluidos como diagnósticos en los resultados de este trabajo, pero consideramos que podrían corresponder con Niemann-Pick tipo C, para la cual no disponíamos de la metodología requerida para el diagnóstico.

Para la enfermedad de Gaucher se presentaron 8 casos con la tipo I o no neuronopática, 3 con la tipo II o forma severa neuronopática y 3 con el tipo III o forma tardía. No se encontraron diferencias significativas al comparar la AE de la  $\beta$ -glucosidasa con la edad y con los tipos clínicos.

#### **4.3.3 Glucoproteinosis.**

En las glucoproteinosis estudiadas ( $\alpha$ -manosidosis y fucosidosis), encontramos disminución significativa de la actividad enzimática específica entre pacientes-controles y padres-controles, pero no entre pacientes-padres. Sin embargo, llama la atención que en ambos casos se observó que existía una disminución significativa de la actividad porcentual de los pacientes con respecto a los padres. (tabla 6).

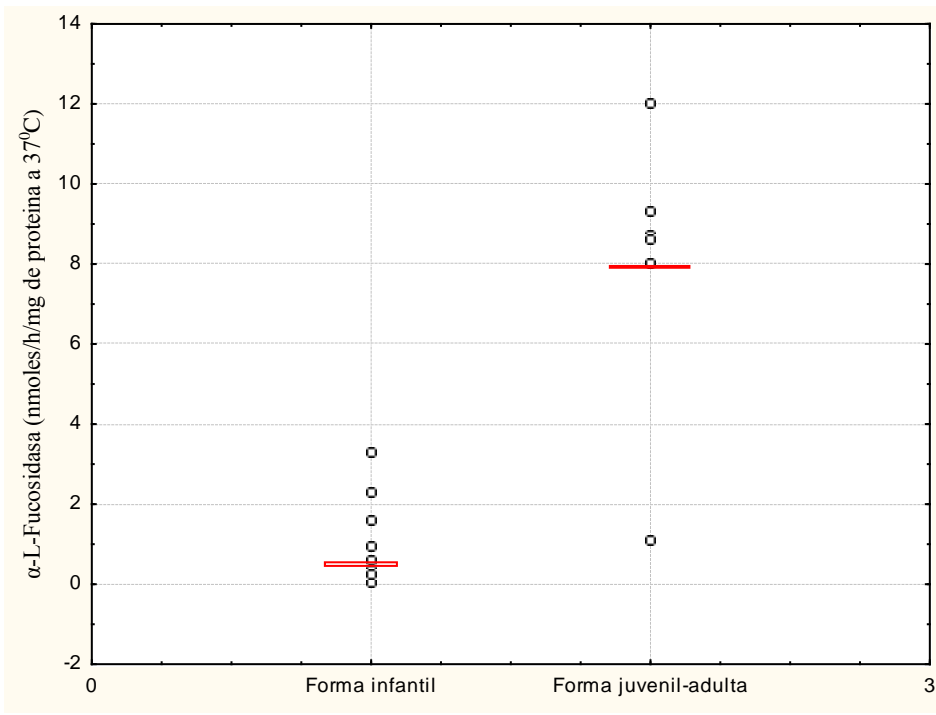
En el caso de la  $\alpha$ -manosidosis, hubo pacientes con las 2 formas clínicamente distinguibles: la forma I o infantil (4 pacientes) y la forma de comienzo juvenil-adulto (14 pacientes). No se encontraron diferencias estadísticas de la actividad específica de la  $\alpha$ -D-manosidasa ni con la edad de diagnóstico, ni con los fenotipos clínicos.

**Tabla 6 Actividad específica y porcentual de las glucoproteinosis.**

Enfermedad Enzima	ACTIVIDAD ESPECÍFICA LEUCOCITARIA (nmol/h/mg proteína a 37°C)						H (gl,n)	p
	Pacientes		Padres		Controles			
	Mediana (n)	10-90%	Mediana (n)	10-90%	Mediana (n)	10-90%		
<b>α- Manosidosis α-D- manosidasa</b>	10,8 <sup>a</sup> (20)	1,7-30	25,5 <sup>a</sup> (14)	17- 44	73,0 <sup>b</sup> (45)	37-102	50,8	0,0000
<b>Fucosidosis α-L-fucosidasa</b>	2,3 <sup>a</sup> (15)	0,2-9,3	13,5 <sup>a</sup> (10)	4,5-22,9	22,3 <sup>b</sup> (30)	15,0-34,6	30,5	0,0000
ACTIVIDAD PORCENTUAL								
Enfermedad Enzima	Pacientes		Padres		Z	p		
	Mediana (n)	10-90%	Mediana (n)	10-90%				
<b>α- Manosidosis α-D- manosidasa</b>	30,9 (20)	8,8-38,5	61,5 (14)	47,0-80,1	-4,90	0,0000		
<b>Fucosidosis α-L-fucosidasa</b>	9,2 (15)	1,9-38,3	48,5 (10)	31,0-78,4	-3,83	0,0000		

Análisis post hoc: letras diferentes indican diferencias significativas.

En la fucosidosis también se encontraron pacientes con las dos formas clínicas: infantil tipo I, severa (8 casos) y juvenil-adulta tipo 2, lenta (7 casos). Entre la edad de diagnóstico y la actividad específica de α-L-fucosidasa se halló correlación ( $r=0,73$ ;  $p=0,0059$ ). Además, las actividades específicas de las dos formas clínicas mostraron diferencias estadísticas ( $Z=-2,71$ ;  $p=0,0067$ ), con actividades residuales más elevadas en la forma juvenil-adulta (figura 2).



**Figura 2. Actividad específica de  $\alpha$ -L-fucosidasa según las formas clínicas de la fucosidosis.**

**Mediana**

#### 4.3.4 Deficiencia múltiple de enzimas.

El diagnóstico de las mucopolisidosis II y III se realiza mediante la cuantificación del aumento en suero de la actividad enzimática de algunas enzimas lisosomales. El aumento de actividad está dado por el incremento en número de veces de la relación de actividad enzimática del paciente con respecto a la actividad enzimática del control. Este resultado se grafica en las figuras 3 y 4 para mucopolisidosis II y III respectivamente.

En la mayoría de los pacientes con mucopolisidosis II (7 de un total de 8) encontramos aumento en la actividad específica de la aril sulfatasa A. Luego le siguen las enzimas  $\alpha$ -manosidasa y  $\beta$ -glucuronidasa. En los casos de mucopolisidosis III también la actividad de la enzima arilsulfatasa A es la que se eleva de forma sobresaliente con respecto a su control en los 4 pacientes, los cuales son hermanos.



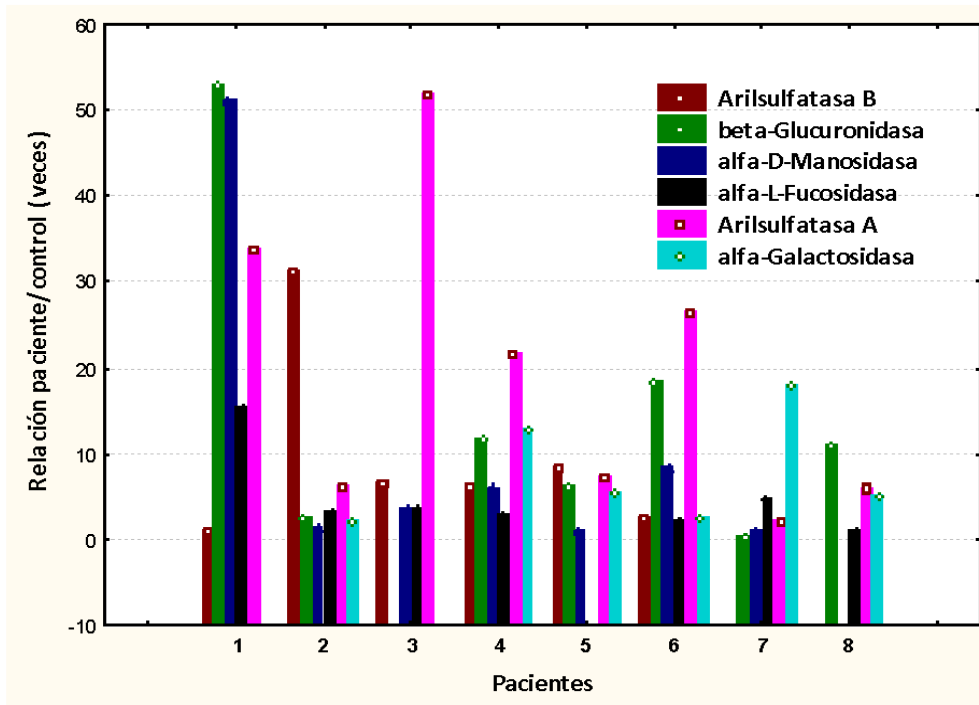


Figura 3: Relación de actividad enzimática paciente/control de las enzimas lisosomales en suero para el diagnóstico de mucopolidosis II.

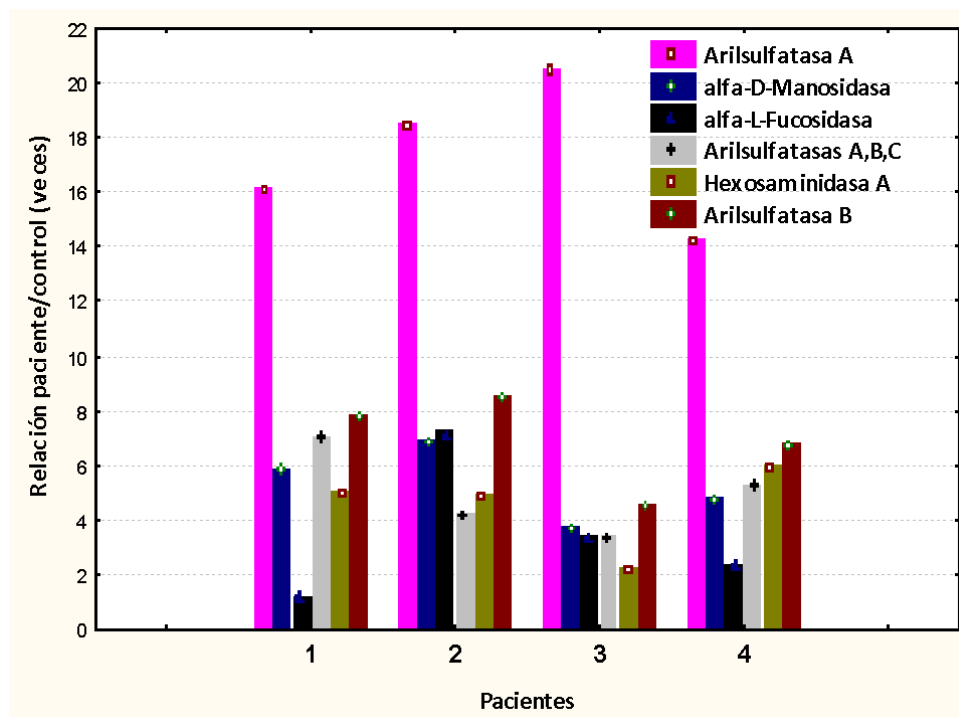


Figura 4. Relación de actividad enzimática paciente/control de las enzimas lisosomales en suero para el diagnóstico de mucopolidosis III.

No se detectó ningún caso con deficiencia múltiple de sulfatasas (mucosulfatidosis).

#### 4.3.5 Enfermedades del metabolismo del glucógeno. Glucogenosis II.

En la tabla 7 se muestra la actividad específica y porcentual de la enzima  $\alpha$ -glucosidasa. La actividad específica de los pacientes con glucogenosis II estaba significativamente disminuida con respecto a la de los grupos de padres y controles (prueba de Kruskal-Wallis). La prueba de Mann-Whitney demostró que la actividad porcentual de la enzima fue también más baja en los pacientes que en los padres.

**Tabla 7. Actividad específica y porcentual en las enfermedades del metabolismo del glucógeno.**

Enfermedad Enzima	ACTIVIDAD ESPECÍFICA LEUCOCITARIA (nmol/h/mg proteína a 37°C)						H (gl,n)	p
	Pacientes		Padres		Controles			
	Mediana (n=12)	10-90%	Mediana (n=8)	10-90%	Mediana (n=19)	10-90%		
Glucogenosis II  $\alpha$ -1-4- glucosidasa	6,0 <sup>a</sup>	2,4-9,9	15,8 <sup>b</sup>	6,8-31,5	21,4 <sup>b</sup>	13,7-31,7	20,4	0,0000
	ACTIVIDAD PORCENTUAL						Z	p
	Pacientes		Padres					
	Mediana	10-90%	Mediana	10-90%				
	29,4	15,7-38,9	65,8	31,5-82,1	-3,2	0,0012		

Análisis post hoc: letras diferentes indican diferencias significativas.

De los 12 pacientes con glucogenosis, dos eran menores de 1 año de edad, presentando la forma infantil; dos casos tuvieron un debut clínico correspondiente a la forma adulta, y el resto (8 casos) presentaron la forma juvenil progresiva de la enfermedad. Para esta patología no se encontró correlación entre la actividad específica de la  $\alpha$ -1-4 glucosidasa y la edad. Tampoco se encontraron diferencias estadísticas de la actividad específica ni porcentual, entre los fenotipos clínicos.

#### 4.4 Descripción de los diagnósticos prenatales.

Se realizaron 12 diagnósticos prenatales provenientes de 11 familias, en el período comprendido entre 1994 y el 2005. Los padres habían tenido hijos en los que se confirmó el diagnóstico de alguna enfermedad de almacenamiento lisosomal. Se realizó la determinación de la actividad enzimática para las siguientes enfermedades: MPS I (un caso), MPS VI (dos casos), fucosidosis (2 casos), GM-1 (dos casos), Gaucher (tres casos), Tay Sachs (un caso) y Niemann Pick A-B (un caso). De los 12 diagnósticos prenatales, en 5 hubo cambio de pareja (sólo uno de los padres era portador conocido).

La tabla 8 muestra la actividad específica y porcentual de las enzimas lisosomales estudiadas en cultivo de amniocitos. Como se observa, el rango de valores de actividad porcentual es muy amplio (27,4 %-156,4 %).

**Tabla 8 Actividad específica y porcentual de las enzimas lisosomales estudiadas en cultivo de amniocitos para los 12 diagnósticos prenatales.**

Grupo de Enfermedades Lisosomales	Enfermedades	Familia	AE en amniocitos pacientes	AE en amniocitos controles	Actividad porcentual %
MPS	MPS I	A	6,1	3,9	156,4
	MPSVI	B	56,7	71,4	80,5
		C	48,8	66,3	73,5
Glucoproteinosis	Fucosidosis	D	10,1	36,8	27,4
		E	22,2	21,7	100,9
Esfingolipidosis	GM-1	F	9,16	16,1	56,9
		G	2,4	3,4	70,0
	Gaucher	H*	0,2	0,4	59,5
		I	0,5	0,4	137,5
		H*	1,72	3,3	51,2
	Tay-Sachs	J	12,2	21,0	58,8
	Niemann-Pick A-B	K	106,8	106,3	100,5

Actividad específica (AE): nmoles/h/mg de proteína

H\*: dos embarazos diferentes de la misma mujer.

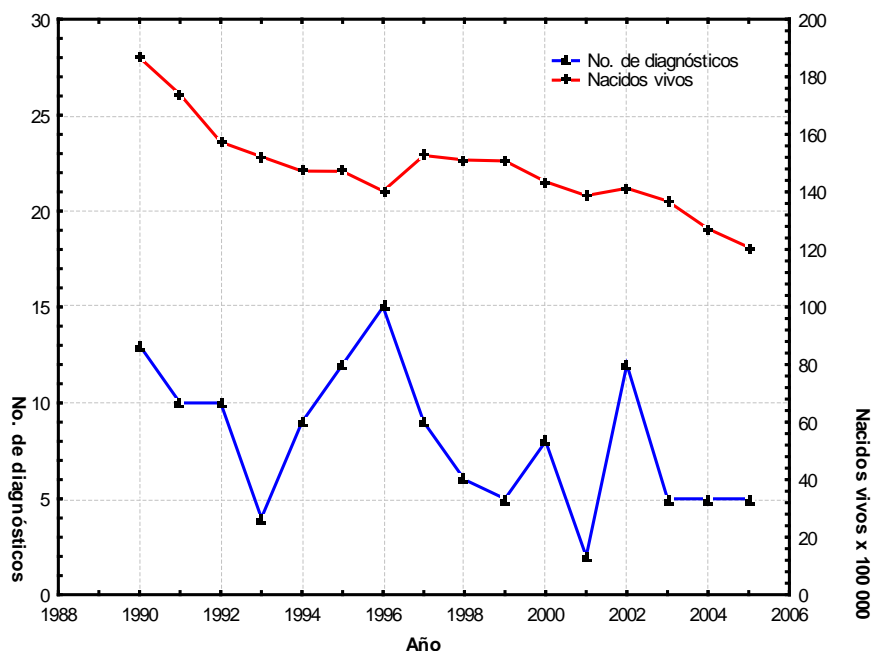
Once de los diagnósticos prenatales de posibles casos de enfermedades lisosomales fueron negativos partiendo de la relación de la actividad específica de los cultivos de amniocitos estudiados respecto a los controles, es decir basados en las cifras de actividad porcentual (por encima del 50%). Sin embargo, en el caso de la familia D (fucosidosis) se encontraron cifras inferiores al 50 % de actividad porcentual de la enzima (27,4 %), que pudieran indicar la posibilidad de que este feto estuviera afectado o fuera portador de esta enfermedad. Los médicos de asistencia enviaron la muestra de amniocitos al extranjero para realizarle estudios moleculares y se pudo determinar que el feto era portador.

#### **4.5 Cálculo de incidencia y frecuencia de portadores de las enfermedades lisosomales en Cuba.**

Teniendo en cuenta que entre los años 1990-2005 todos los diagnósticos enzimáticos de EAL en el país se realizaron en el INN, tomamos los diagnósticos realizados en este período para estimar valores nacionales de incidencia y frecuencia de portadores.

En este período, de un total de 1 642 pacientes con sospecha de EAL se diagnosticaron un total de 132 casos (8,1 %), similar al porcentaje de diagnósticos positivos que obtuvimos en el estudio de 20 años (8,2%).

En la figura 5 se muestran el número de casos diagnosticados y la natalidad por año durante el período de estudio (1990–2005). El comportamiento de los diagnósticos fue variable, oscilando entre 2 y 15 diagnósticos por año (2001 y 1996, respectivamente), sin que esto estuviera relacionado con alguna estrategia de pesquijaje nacional o territorial. Incluso hubo un período de 3 años (1993-1996) en que se triplicó el total de casos, mientras que en los años subsiguientes (1996-1999) disminuyó en la misma proporción. En este período la tendencia de la natalidad fue hacia la disminución del número de nacimientos por año.



**Figura 5 Número de diagnósticos de EAL y nacidos vivos por año (1990-2005).**

Como se puede observar en la tabla 9, la incidencia combinada obtenida para las 19 EAL diagnosticadas fue de 5,6/100 000 nv, constituyendo el grupo de las lipidosis el de mayor incidencia (1,76/100 000). Los grupos de mucopolisacaridosis y glucoproteinosis, siguieron en incidencia (1,56 y 1,35/100 000 respectivamente). La frecuencia relativa se comportó de manera similar a la obtenida en el período total de estudio (20 años): el grupo más frecuente fue el de las lipidosis (31,2%), seguido de las MPS (28%) y las glucoproteinosis (24,2%).

**Tabla 9. Frecuencia relativa e incidencia de las EAL en Cuba.**

Enfermedades	Número de pacientes (1990-2005)	Frecuencia relativa (%)	Incidencia (100 000 nv)	Intervalo de confianza (95%)
Lipidosis	41	31,2	1,76	1,10 -2,38
Mucopolisacaridosis	37	28,0	1,56	0,94 -1,93
Glucoproteinosis	32	24,2	1,35	0,66-1,73
Mucolipidosis	11	8,3	0,46	0,13-0,74
Glucogenosis II	11	8,3	0,46	0,16-0,95
Total	132	100,0	5,60	4,16-6,71

nv: nacidos vivos

En las tablas 10, 11 y 12 se muestran la incidencia y frecuencia de portadores de las mucopolisacaridosis, las lipidosis y por último, las glucoproteinosis, mucolipidosis y glucogenosis II respectivamente en Cuba en un período de 16 años (1990-2005).

Las incidencias de las enfermedades individuales variaron desde 1,01/100 000 para la MPS I (que fue la más frecuente) hasta 0,04/100 000 para las enfermedades de Fabry, Wolman y MPS IVB. Como era de esperar, la frecuencia de portadores varió según la incidencia desde 1/156 personas sanas para la MPS I hasta una frecuencia tan baja como 1/3 741 para las enfermedades de Fabry, Wolman y MPS IVB. Las enfermedades  $\alpha$ -manosidosis y fucosidosis siguieron a la MPS I, como la más frecuentes de forma individual (0,72 y 0.63/100 000 respectivamente).

A pesar de que se disponía de la metodología necesaria para el diagnóstico de MPS VII, mucosulfatidosis y enfermedad de Sandhoff, no se diagnosticó ningún caso durante el período de estudio.

**Tabla 10. Incidencia y frecuencia de portadores de mucopolisacaridosis en Cuba en el período 1990-2005.**

Enfermedades	Cuba			Otros países					
	n	Incidencia (100 000 nv)	FP	Prevalencia/incidencia por 100 000 nv					
				Australia <sup>a</sup>	República Checa <sup>b</sup>	Portugal <sup>c</sup>	Alemania <sup>d</sup>	Países Bajos <sup>e</sup>	Columbia Británica <sup>f</sup>
MPS I	24	1,01	1/156	1,10	0,72	1,33	0,69	1,19	0,58
MPS II	-	-	-	0,74	0,43	1,09	0,64	0,67	0
MPS IIIA	-	-	-	0,88	0,47	0	1,11	1,16	0,29
MPS III B	2	0,08	1/1 870	0,47	0,02	0,72	0,37	0,42	-
MPS III C	-	-	-	0,07	0,42	0,12	0,10	0,21	-
MPS IV A	-	-	-	0,59	0,71	0,60	0,38	0,22	0,48
MPS IV B	1	0,04	1/3 741	0	0,02	0	0,07	0,14	0,29
MPS VI	10	0,42	1/374	0,43	0,05	0,42	0,23	0,15	0,48
MPSVII	0	0	-	0,05	0,02	0	0	0,24	0,29
<b>Todos los tipos</b>	<b>37</b>	<b>1,56</b>	<b>-</b>	<b>4,44</b>	<b>3,72</b>	<b>4,28</b>	<b>3,53</b>	<b>4,50</b>	<b>2,12</b>

nv: nacidos vivos

FP: frecuencia de portadores

<sup>a</sup> Meikle y col, 2009; <sup>b</sup> Poupětová y col, 2010; <sup>c</sup> Pinto y col, 2004; <sup>d</sup> Baehner y col, 2005; <sup>e</sup> Poorthuis y col, 1999;

<sup>f</sup> Applegarth y col, 2000.

**Tabla 11. Incidencia y frecuencia de portadores de lipidosis en Cuba en el período 1990-2005.**

Enfermedades	Cuba			Otros países Prevalencia/incidencia por 100 000 nv					
	n	Incidencia (100 000 nv)	FP	Australia <sup>a</sup>	República Checa <sup>b</sup>	Portugal <sup>c</sup>	Turquía <sup>d</sup>	Países Bajos <sup>e</sup>	Columbia Británica <sup>f</sup>
GM1	10	0,42	1/374	0,26	0,26	0,62	0,54	0,41	0,19
Tay-Sachs	9	0,38	1/415	0,50	0,30	3,13	0,23	0,41	0,39
LDMC	7	0,29	1/534	1,09	0,69	1,85	1,43	1,42	0,58
Niemann-Pick A-B	2	0,08	1/1 870	0,40	0,33	0,60	-	0,53	0,39
Niemann-Pick C	-	-	-	0,47	0,91	2,20	-	0,35	
Fabry	1	0,04	1/3 741	0,86	0,64	0,12	0,015	0,21	0,29
Gaucher	11	0,46	1/340	1,75	1,13	1,35	0,45	1,16	0,39
Sandhoff	0	0	-	0,26	0,19	1,49	0,95	0,34	0,29
Krabbe	-	-	-	0,71	0,40	1,21	1,00	1,35	0,29
Wolman	1	0,04	1/3 741	0,19	0,27	-	-	0	0,58
<b>Todos los tipos</b>	<b>41</b>	<b>1,76</b>		<b>6,49</b>	<b>5,12</b>	<b>12,57</b>	<b>4,61</b>	<b>6,18</b>	<b>3,39</b>

nv: nacidos vivos;

FP: frecuencia de portadores; LDMC: Leucodistrofia metacromática

<sup>a</sup> Meikle y col, 1999; <sup>b</sup> Poupětová y col, 2010; <sup>c</sup> Pinto y col, 2004; <sup>d</sup> Emre y co, 2002; <sup>e</sup> Poorthuis y col, 1999;

<sup>f</sup> Applegarth y col, 2000.



**Tabla 12. Incidencia y frecuencia de portadores de glucoproteinosis, mucopolidosis y glucogenosis II en Cuba en el período 1990-2005**

Enfermedades	Cuba			Otros países Prevalencia/incidencia por 100 000 nv				
	n	Incidencia (100 000 nv)	FP	Australia <sup>a</sup>	República Checa <sup>b</sup>	Portugal <sup>c</sup>	Países Bajos <sup>d</sup>	Columbia Británica <sup>e</sup>
α-Manosidosis	17	0,72	1/220	0,10	0,38	0,12	0,09	0,19
β-Manosidosis	-	-	-	0	0,16	0,12	0,13	-
Fucosidosis	15	0,63	1/249	0	0	0	0,05	-
Aspartilglucosaminuria	-	-	-	0,05	0	1,72	0,13	-
Enfermedad de Schindler	-	-	-	0	0	0	0,20	-
Galactosialidosis	--	-	-	0	0	0,77	0,04	0,39
<b>Glucoproteinosis</b>	<b>32</b>	<b>1,35</b>		<b>0,15</b>	<b>0,54</b>	<b>2,73</b>	<b>0,64</b>	<b>0,58</b>
Mucopolidosis I	-	-	-	0,02	0,07	0	0,05	-
Mucopolidosis II	7	0,29	1/534	0,31	0,22	0,81	0,24	0,29
Mucopolidosis III	4	0,17	1/935				-	
Mucosulfatidosis	0	0	-	0,07	0,26	0,48	0,05	0,10
<b>Deficiencias múltiples enzimas</b>	<b>11</b>	<b>0,46</b>		<b>0,4</b>	<b>0,55</b>	<b>1,29</b>	<b>0,34</b>	<b>0,39</b>
Glucogenosis II	11	0,46	1/340	0,69	0,37	0,17	2,0	0,90

nv: nacidos vivos

FP: frecuencia de portadores

<sup>a</sup> Meikle y col, 1999; <sup>b</sup> Poupětová y col, 2010; <sup>c</sup> Pinto y col, 2004; <sup>d</sup> Poorthuis y col, 1999; <sup>e</sup> Applegarth y col, 2000.

## **V. DISCUSION**

### **5.1 Experiencia de 20 años de diagnóstico enzimático de EAL en el INN.**

#### **5.1.1 Frecuencia de diagnósticos.**

Los resultados obtenidos durante 20 años (1986-2005) en el diagnóstico de enfermedades lisosomales, en el Instituto de Neurología y Neurocirugía, a partir del servicio asistencial que se brindó a todo el país, nos ha permitido acumular una experiencia de mucho valor para el acercamiento al comportamiento de este grupo de EIM en nuestro medio. Los 151 casos diagnosticados, a partir de los 1 853 pacientes con sospecha clínica de padecer algún EIM de naturaleza lisosomal, representan un 8,2 % de positividad, lo cual concuerda con otros estudios realizados en el mundo.

Abundantes han sido los estudios de diagnóstico enzimático de EAL. Hoffman, en 1994, resume los resultados obtenidos de la literatura internacional, en un estudio que abarca varios países europeos. Los porcentajes de diagnóstico van de 1,7-9,2 %, siendo los mejores resultados los correspondientes a Amsterdam con 9,2%, cifra cercana a la frecuencia de nuestro estudio que es de 8,2%. Posiblemente Países Bajos sea el país más organizado en cuanto al diagnóstico de las enfermedades genéticas y en su relación de diagnósticos de enfermedades metabólicas hereditarias (Pámpols y col, 1997). También en Portugal durante 19 años obtuvieron un 7,5 % de diagnósticos de EAL (Pinto, 2004) y en España en un estudio de 10 años, de 4 759 pacientes con sospecha clínica de padecer algún tipo de EAL, se pudo diagnosticar un 10,4% (Pámpols y col, 1997). La variación en el porcentaje de diagnóstico entre los diferentes países, no sólo obedece a razones geográficas y étnicas, sino también a los medios diagnósticos existentes, experiencia de facultativos y organización de los servicios de salud en general (Hoffmann,1994). Sin embargo, en México, Zetina y col (1989) reportaron valores más elevados de positividad (26,9%) con respecto al total de sospechas de EAL, lo cual no se asemeja a los resultados obtenidos en la literatura científica y pudiera estar en relación con un filtraje mayor de los casos con sospecha.

Por otra parte, en América, Chamoles (1999) informa que en un resumen de 29 años de trabajo en Argentina, pudieron diagnosticar 1 388 pacientes con EIM, lo

cual corresponde con una frecuencia de positividad de 7,6%. En Brasil, Coelho y col (1997) reportaron 647 casos positivos de EIM en 9 901 pacientes estudiados durante 13 años (6,5%). El compendio de los resultados de 26 laboratorios de América Latina (Giugliani y Coelho, 1997), arrojó porcentajes de diagnósticos positivos con respecto al total de sospechas de EIM que oscilaban entre 1 y 16% (media: 4,9%).

Estos últimos trabajos, aunque no pueden compararse directamente con nuestros resultados por corresponder a estudios en EIM en general, nos dan una idea de que la frecuencia de diagnósticos positivos se encuentra en el rango de lo obtenido por nosotros.

En Cuba se han realizado algunos estudios, como el reportado por Soto y Soto (2007) en Villa Clara durante un período de 15 años, los cuales estudiaron 920 niños con sospecha de EIM, con 31 casos positivos (3,4%). De éstos, 13 casos correspondían a EAL, la mayoría de los cuales (10 pacientes) fueron de MPS, aunque sólo 6 de ellos tuvieron confirmación por actividad enzimática. Este colectivo también reportó 3 casos con esfingolipidosis (uno con Tay-Sachs y 2 con Nienman-Pick A-B). Gutiérrez y col (2007) reportaron 3 pacientes con EAL, de un total de 121 sospechas (2,4% de diagnósticos positivos): 2 casos con MPS I y un caso con glucogenosis II. En nuestra serie la frecuencia fue mayor (8,2%), lo cual pudiera explicarse por los 20 años del estudio y el número mucho mayor de casos sospechosos; por otro lado, en el trabajo de Gutiérrez y col no se hace referencia al período de estudio y sólo analizaron 121 sospechas de EAL. En enfermedades tan infrecuentes como las EAL la extensión del período de estudio es importante para definir la frecuencia de aparición de casos positivos.

Existen varios estudios en nuestro país donde se realizan reportes de casos de EAL (Dyce, 1993; Menéndez, 1993; Menéndez 1995, Menéndez 1998, Llauradó, 1994; Llauradó, 2000; Soto y col, 1995; Soto y Soto, 2007; Monaga 2008, entre otros). En este trabajo de tesis se abarca una casuística más amplia que incluye el diagnóstico de 19 EAL en un período de 20 años, cuyos resultados fueron parcialmente publicados (Anexo 11).

Dentro de esta serie de 19 EAL estudiadas en el INN, la esfingolipidosis resultó el

grupo más frecuente (32%), seguido por las MPS (28%) y las glucoproteinosis (23%). También se presentan casos positivos de las enfermedades pertenecientes a los grupos de defectos en el transporte de hidrolasas ácidas (8%) y enfermedades del metabolismo del glucógeno (8%).

Chamoles (1999) reportó un 34% de MPS en Argentina en un período similar al nuestro. Coelho y col (1997) en Brasil reportaron la mayor frecuencia para las MPS y en segundo lugar las esfingolipidosis, al igual que Zetina y col (1989) en México. De las MPS, la MPS I fue la de mayor número de casos reportados (26 pacientes), con una frecuencia de 17,1%; lo que coincide con estudios realizados en Brasil que encontraron una frecuencia de 22 % (Marques y col, 2007) y 23,5 % (Schwartz y col, 2007) y con un resultado reportado en el 2005 en Argentina (25%) (Dodelson y col, 2005). La MPS VI (dentro de todas las MPS) es la segunda en número de casos positivos encontrados en nuestros resultados, también es la segunda en importancia en Colombia (Uribe y col, 2005) y en los dos estudios de Brasil (Marques y col, 2007; Schwartz y col, 2007). Estos resultados fueron reportados en trabajos previos de nuestro grupo (Menéndez y col 2003; Menéndez y col 2006).

La MPS III o síndrome de Sanfilippo, la segunda en frecuencia de las mucopolisacaridosis (MPS) a nivel mundial (Orphanet Report Series, 2010), parece no ser tan frecuente en Colombia, en cambio el síndrome de Morquio uno de los menos frecuentes (Orphanet Report Series, 2010), parece ser el más prevalente de las MPS en Colombia. (Barrera, 2009). En nuestro estudio se encontró que ambas MPS resultaron las de menor número de casos diagnosticados.

La infrecuencia de MPS VII reportada en América Latina (Azevedo y col, 2003; Schwartz y col, 2003; Micheletti y col, 2007) e internacionalmente (Orphanet Report Series, 2010), apoya los resultados de este estudio, que en 20 años no detectó ningún caso. Brasil reportó el primer diagnóstico bioquímico y genético de MPS VII en el 2003 (Azevedo y col, 2003).

Décadas de estudio han demostrado que las esfingolipidosis son una de las enfermedades heredometabólicas más frecuentes (Pámpols, 1997). En el estudio

del Instituto de Bioquímica Clínica de Barcelona, reportaron 273 casos positivos de esfingolipidosis dentro de un grupo de 571 casos con EAL (47,8%), destacándose la enfermedad de Gaucher con 94 casos (16,5%), que resultó la más frecuente. Siguen en frecuencia la GM-1 gangliosidosis (5,9%), Tay Sachs (5,6%), leucodistrofia metacromática (5,1%), Sandhoff (3%), enfermedad de Fabry (2,6%) y Niemann Pick (1,9%) (Pámpols, 1997).

En nuestra serie las esfingolipidosis constituyen el grupo de EAL con un mayor porcentaje de diagnóstico (32%), aunque por debajo de lo reportado en Barcelona. No obstante, a pesar de que la enfermedad de Gaucher resultó la esfingolipidosis más frecuente en este trabajo, no constituyó la EAL más frecuente como se reporta por Pámpols (1997). La enfermedad de Gaucher correspondió al 9,2% de todas las EAL, seguida por la GM-1 gangliosidosis (7,2%).

En Argentina hay dos grandes estudios (de más de 20 años), reportando frecuencia de diagnóstico de Gaucher tipo I. El primero en Buenos Aires con 148 casos positivos (25,9%) (Chamoles y col, 1999), el segundo en la provincia de Córdoba, diagnosticó 19 Gaucher, para una frecuencia de un 9,7%, cifra muy cercana a la nuestra (Dodelson y col, 2005). En Brasil, en el laboratorio de referencia de EIM en Porto Alegre se diagnosticaron 389 casos de Gaucher en un período de 21 años, con una frecuencia muy elevada de diagnóstico (38,2%). Esto se corresponde con la aplicación de nuevas terapias de reemplazo enzimático emergentes que intensificó la búsqueda de este tipo de pacientes y un mayor conocimiento y divulgación de la enfermedad por pacientes y familiares (Michelin y col, 2003). En la Universidad de Chile hay dos estudios de enfermedad de Gaucher. En uno informan 4 casos de Gaucher tipo I (Valiente y col, 2007) y en el otro sólo 3 casos (Mabe y col, 2003). Estos autores atribuyen la baja frecuencia de diagnóstico de esta patología a las dificultades para acceder al estudio bioquímico y a la falta de un registro nacional de EAL (Valiente y col, 2007).

Uno de los primeros estudios de GM-1 gangliosidosis en Cuba fue publicado por nuestro grupo (Menéndez y col, 2007), donde se confirmó el diagnóstico enzimático de 11 casos con GM-1 gangliosidosis. En Colombia, Uribe y col (2007) obtuvieron una frecuencia de 7% de GM-1 gangliosidosis, similar a la nuestra; sin

embargo Barrera (2009), no informa ningún caso de GM-1 gangliosidosis en un estudio de 21 años. En Brasil Coelho y col (1997), refiere la GM-1 gangliosidosis como la EAL más frecuente (15,2%) en un período de 13 años. Esta elevada frecuencia de GM-1 gangliosidosis, es en gran parte atribuible a la región de Porto Alegre, con 58 casos diagnosticados (Herber y col, 2007).

El diagnóstico de enfermedad de Sandhoff por deficiencia de hexosaminidasa A y B es infrecuente en nuestro continente, excepto en Argentina. Sólo hay reportado dos casos en Brasil y un caso en Chile (Coelho y col, 1997; Mabe y col, 2003). Sin embargo en la Sierra de Córdoba en Argentina hay 72 casos diagnosticados, lo que puede ser atribuible al alto grado de consanguinidad en esta comunidad cerrada, donde los cruzamientos entre portadores facilita la expresión del gen afectado (Dodelson y col, 2005). En nuestra serie no se encontró ningún caso, sin embargo en el estudio de López-Saura (1979) se reportan 2 pacientes con esta enfermedad, no comprendidos dentro del período de estudio del presente trabajo.

La enfermedad de Fabry no es de las más frecuentemente reportadas en América Latina; en Brasil existe el reporte de 11 casos (Micheletti y col, 2007). Nosotros solamente hemos podido diagnosticar un caso. Sin embargo, Möhrensclager y col (2003), informan que la enfermedad de Fabry es la segunda en prevalencia entre las enfermedades por almacenamiento de lípidos, aunque su frecuencia tiende a ser subestimada por algunas personas afectadas con variantes moderadas, que tienen pocas o ninguna manifestación clínica (Germain y col, 2002; Möhrensclager y col, 2003). Los heterocigóticos (portadores femeninos) para la deficiencia de  $\alpha$ -galactosidasa A presentan daño renal, cardíaco o neurológico, aunque en menor grado que los hombres homocigotos enfermos (Pinto y col, 2010).

La enfermedad de Niemann-Pick se ha estudiado también en América Latina. En México existe un reporte de 11 diagnósticos de esta enfermedad, pero sólo a 2 pacientes se les determinó actividad de esfingomielinasa (Larenas y col, 1995). En Chile reportan la existencia de 13 casos con Niemann-Pick tipo B con confirmación enzimática (Mabe y col, 2003), es interesante señalar que no hubo ningún diagnóstico del tipo A, cuya muerte es en edades tempranas. En un amplio estudio

de 10 000 sujetos en riesgo de EIM realizado en Brasil, se diagnosticaron enzimáticamente 22 pacientes, aunque de éstos sólo tenían deficiencia de esfingomielinasa (tipos A y B) 17 pacientes, con una frecuencia de un 4,3% (Coelho y col, 1997), lo cual es comparable con nuestros resultados: 5 casos diagnosticados, para una frecuencia de un 3,3%. Debemos señalar, como dato de interés, que dos de las pacientes eran hermanas (Menéndez y col, 1991).

Existe un amplio espectro clínico en esta enfermedad, desde una forma neuronopática de muerte temprana (tipo A), hasta la forma no neuropática compatible con la adultez (tipo B) (Schuchman, 2009). Consideramos que nuestra casuística se encuentra subestimada porque hay 4 pacientes con características clínicas y aumento de los niveles de colesterol sérico, pero con actividad normal de esfingomielinasa que no están incluidos como diagnósticos en este trabajo. Al parecer se trata de otra variante clínica (tipo C), de la cual Pámpols reporta en su serie como la forma más frecuente de las tres variantes con 22 pacientes (Pámpols y col, 1997). No obstante, para este diagnóstico no disponíamos de la metodología, por lo que los 4 pacientes que debutaron con el cuadro clínico antes del primer año de vida, (uno de ellos fallecido antes de los 2 años de edad), podrían ser compatibles con esta forma de Niemann Pick (Garver y col, 2010).

La deficiencia de hexosaminidasa A (Tay-Sachs) y de aril sulfatasa A (LDMC) fue detectada en 9 pacientes para cada una de estas enzimas, las cuales siguieron en frecuencia a la GM-1 gangliosidosis y Gaucher. En Brasil existe el reporte de 8 pacientes con Tay-Sachs, provenientes de 5 familias (Rozenberg y col, 2006). Brasil fue durante 200 años colonia de Portugal, país en el que hay descritas mutaciones frecuentes de hexosaminidasa A (Rozenberg y col, 2006). Además tiene una de las poblaciones más abundantes de judíos ashkenazi (lugar octavo), con más de 90 000 individuos, y se sabe que esta población (judíos descendientes de Europa central y del Este) tiene 100 veces más casos de Tay-Sachs que la población general (incidencia: 1/ 3 500) (Rozenberg y col, 2001). A pesar de todo esto hay pocos reportes de pacientes con Tay-Sachs en Brasil (sólo 8 casos), lo que puede ser atribuible a que aunque hubiera una alta frecuencia de portadores asintomáticos en la población, no existe un alto grado de consanguinidad. De los 9

pacientes con enfermedad de Tay-Sachs en nuestra casuística, solo en un caso se evidenció consanguinidad y no se registraron antecedentes judíos. Es interesante destacar que uno de los pacientes era de raza negra.

La LDMC en esta serie constituyó el 5,9 % de todas las EAL, una frecuencia similar a la reportada por Pámpols (1997) en Barcelona (5,1%) y Barrera (2009) en Colombia (5,5%). La LDMC es una de las enfermedades heredometabólicas más frecuentes en Brasil, correspondiendo a un 8,2 % de los diagnósticos de EAL (Coelho y col, 1997).

La casuística de fucosidosis y  $\alpha$ -manosidosis en nuestro país es *sui generis* si se compara con el resto del mundo. En América Latina sólo existe el reporte de 3 pacientes con fucosidosis por la Universidad Federal de Sao Pablo (Martins y col, 1999). Sin embargo el estudio patrocinado por el Laboratorio de referencia de Porto Alegre, que desde el año 1982 cuantifica la actividad de  $\alpha$ -manosidasa y  $\alpha$ -L-fucosidasa en leucocitos y fibroblastos, no tiene reportado ningún caso positivo (Coelho y col, 1997). Con el número de casos diagnosticados confirmamos una frecuencia de alrededor del 10% de ambas enfermedades con respecto al total de EAL.

Los datos estadísticos de la fucosidosis se justifican a partir de que esta enfermedad se encuentra más localizada en determinadas zonas geográficas como es la región oriental, específicamente en la provincia de Holguín. En el II Congreso Latinoamericano de EIM se informó una frecuencia de 1,4/100 000 habitantes en dicha zona. (LLauradó y col, 1999) Esta tasa de frecuencia es una de las más altas reportadas a nivel mundial y se justifica por la hipótesis del gen fundador, y el alto grado de endogamia existente en esta región (Tamayo, 1999). En la región oriental del país, Lantigua y col (2008) en un estudio de pesquisaje en una población de retrasados mentales a nivel nacional, encontraron que Holguín poseía uno de los mayores porcentajes de consanguinidad (10,3 %), superada solamente por Las Tunas (12,4 %). La mutación Q422X se ha encontrado en 6 familias de diferentes regiones (Italia, Francia, Cuba, Canadá y Escocia). El diferente origen étnico de estas familias no permite confirmar la existencia de un ancestro común para este gen (Willems, 1999). LLauradó y col



(1994) demostraron la presencia de un alto grado de consanguinidad entre las familias de los pacientes con fucosidosis en Holguín.

Dentro de las enfermedades del metabolismo del glucógeno, se logró el diagnóstico de 12 casos (7,9%) con glucogenosis II o enfermedad de Pompe . Otros reportes en Iberoamerica señalan 7 casos en España (1,2%) en un periodo similar (Pámpols y col, 1997), 5 casos en Colombia (2%) (Barreras, 2009), 7 casos en Brasil (1,8%) (Coelho y col, 1997). Sin que se especifique el porcentaje con respecto al total de EAL, en Argentina Palmer y col (2007) investigaron 14 pacientes y 3 casos fueron reportados en Republica Dominicana (Pérez y col, 2005).

El diagnóstico de las mucopolisidosis se realiza por el aumento de la actividad de las enzimas lisosomales en suero en mayor o menor grado, disminución en cultivo de fibroblastos y normal o disminuidas en leucocitos. La tipo III (polidistrofia pseudohurleriana) es muy semejante a la tipo II desde el punto de vista bioquímico, pero se diferencia en que el comienzo es mas tardío y tiene un pronóstico relativamente bueno por la supervivencia hasta la adultez. Los 4 casos de mucopolisidosis III reportados en nuestro trabajo son hermanos con edades entre 25–30 años (Menéndez y col, 1995); también en 2 de los 8 casos de mucopolisidosis II existen lazos consanguíneos. En Río Grande del Sur, en Brasil se diagnosticaron 16 pacientes con ML de un total de 30 000 sospechas de EIM; siendo la más frecuente la tipo II (resultado similar al nuestro) (Schwartz y col, 2007). Estos autores también refieren la presencia de consanguinidad parental en sus diagnósticos (1/13).

No hemos encontrado reportes de enfermedad de Wolman en América Latina; esta es una enfermedad infrecuente y la mortalidad sobreviene en los primeros 3-6 meses de vida. Tampoco existen reportes en la región para la enfermedad por acúmulo de ésteres de colesterol, que es una mutación alélica de la anterior. Esta es un poco más benigna, los pacientes sobreviven hasta la edad adulta. Nosotros reportamos un paciente de 16 años con actividad enzimática disminuida de lipasa ácida.

### **5.1.2 Comportamiento de las actividades de las enzimas lisosomales en los grupos estudiados.**

En general, el diagnóstico de algunas enfermedades a menudo resulta difícil. Esto se cumple, sobre todo, para las enfermedades denominadas raras por su baja frecuencia de aparición en la población. En el caso de las EAL, en que la determinación de la actividad enzimática, para demostrar la deficiencia en la función de una proteína específica, es un elemento primordial para la confirmación del diagnóstico, se hace necesario un margen de seguridad para el manejo de este resultado.

Casi todas las enfermedades de almacenamiento lisosomal muestran un amplio espectro clínico con respecto a la severidad de los síntomas, progresión y edad de comienzo. Esto puede ser explicado en parte por la actividad enzimática residual asociada con los alelos presentes en los pacientes, pero también con otros factores genéticos y epigenéticos desconocidos que influyen en el fenotipo a desarrollar. Pacientes con cantidades apreciables de actividad enzimática residual pueden presentar formas atenuadas de la enfermedad (Gieselmann, 2005).

En nuestro trabajo encontramos actividades específicas muy disminuidas en los pacientes con respecto a los controles, y en un grupo de enzimas también con respecto a los progenitores ( $\alpha$ -1,4-glucosidasa,  $\alpha$ -L-iduronidasa, arilsulfatasa B y  $\beta$ -galactosidasa). En otras situaciones la actividad específica de las enzimas ( $\alpha$ -L-iduronidasa, arilsulfatasa B,  $\alpha$ -manosidasa,  $\alpha$ -L-fucosidasa,  $\beta$ -galactosidasa, hexosaminidasa A y aril sulfatasa A) muestran diferencias también entre padres-controles. No obstante, existe un cierto grado de solapamiento de la actividad entre pacientes-padres y padres-controles que en ocasiones puede conllevar a dudas para el diagnóstico definitivo y para la detección de portadores (Hopwood y Morris 1990; Chabás y col, 1995). El solapamiento entre padres y controles puede estar en relación con la amplia variabilidad en el rango de valores normales reportado para estas enzimas en la literatura (de Gasperi y col, 2000; Li y col, 2004). La variabilidad de la actividad residual, detectada en algunos pacientes, se pudiera explicar por la alta frecuencia de polimorfismos (Hopwood y Morris, 1990; Meikle y col, 2004; Civallero y col, 2006) y la condición de heterocigóticos

obligados de los padres que pueden dar lugar también al solapamiento de las cifras de actividad específica entre ambos grupos y presentan generalmente actividades porcentuales alrededor de un 50% (Inui y Wenger, 1984; Pámpols y col, 1997; Menéndez y col, 2003). La actividad porcentual en los padres se movió en este entorno, (48 - 68%). Los hermanos y otros familiares sanos de un niño enfermo pueden ser heterocigóticos (portadores), lo cual debe considerarse en el futuro cuando decidan tener descendencia.

El rango de valores normales de enzimas lisosomales publicado en la literatura es muy variable, con cifras de actividad específica altas, como es de esperar en sujetos aparentemente sanos, hasta valores bajos que incluso se acercan a los reportados en pacientes (Wenger y Louie, 1991; Krasnopolskaya y col, 1993;). Nuestro estudio no está exento de esto, encontramos sujetos aparentemente sanos con cifras de actividad específica baja, que no llegan a solaparse con los valores de los pacientes, pero sí pueden, en algunos casos, ser muy semejante a la actividad específica de los padres portadores. Esta amplia variabilidad en la actividad específica en los sujetos sanos puede ser explicada por diversos motivos. Primero los referentes a la metodología del diagnóstico enzimático, como son: el método de aislamiento de células, la extracción, almacenamiento y conservación de las enzimas. En segundo lugar las características genóticas de la población a estudiar donde se debe de considerar si existe una alta prevalencia de la enfermedad, su expresividad fenotípica y existencia de pseudodeficientes. Se han reportado familias con algún miembro que al ser estudiado ha presentado pseudodeficiencia de la enzima analizada, lo que ha sido más evidente en la leucodistrofia metacromática y en la fucosidosis (Gort, 2000).

En nuestros datos encontramos variación de la actividad específica dentro del grupo de pacientes y, a su vez, al comparar este mismo grupo con el de otros estudios reportados (Krasnopolskaya y col, 1993, Ruijter y col, 2005). En algunos casos ( $\alpha$ -L-iduronidasa,  $\beta$ -galactosidasa y  $\alpha$ -1-4-glucosidasa) la actividad específica mostró valores inferiores a los reportados por otros autores (Krasnopolskaya y col, 1993; Ruijter y col, 2005). En otros (n-acetil- $\alpha$ -glucosaminidasa, arilsulfatasa B,  $\alpha$ -L-fucosidasa, esfingomielinasa y

hexosaminidasa A) los valores estuvieron por encima de lo reportado (Inui y Wenger, 1984; Krasnopolskaya y col, 1993). En el caso de la  $\alpha$ -manosidasa,  $\beta$ -glucosidasa y arilsulfatasa A están en el rango de reportes previos (Wenger y col, 1991; Krasnopolskaya y col, 1993). Los valores más elevados pudieran estar en relación con una actividad específica residual, lo que es compatible con formas atenuadas de estas enfermedades que fueron diagnosticadas clínicamente.

En general una de las EAL con mayor número de casos diagnosticados fueron las glucoproteinosis. Las enzimas  $\alpha$ -manosidasa y  $\alpha$ -L-fucosidasa tuvieron un amplio rango de valores de actividad específica residual, en concordancia con la diversidad fenotípica de estas enfermedades. Hay que considerar la elevada frecuencia de fucosidosis en Cuba y en específico en el oriente del país (Llauradó 2000) con respecto al resto del mundo, lo cual puede influir en la variabilidad genética de esta afección, que conlleva diferencias en la expresividad de la actividad de esta enzima.

La decisión de considerar el resultado de la actividad enzimática porcentual como baja en un individuo determinado es un tema controversial, aunque en general se aceptan valores patológicos por debajo del 30% de actividad enzimática residual, y se consideran sospechosos los que están por debajo del 50% (Willems y col, 1999). En nuestra serie, el porcentaje de actividad en los pacientes con respecto al control se mantuvo por debajo de un 30% de la actividad normal, lo cual indica que están bien diferenciados respecto a los sujetos sanos. No obstante, siempre el diagnóstico definitivo se establece por el médico, teniendo en cuenta los resultados de laboratorio y el cuadro clínico del paciente.

Las diferencias encontradas con algunos reportes de actividad porcentual en la literatura están en relación con dos aspectos fundamentales: 1) pueden existir diferencias en el fenotipo de pacientes que se encuentran dentro de un mismo genotipo, incluyendo hermanos y gemelos monocigóticos (Amato y col, 2004, Lachmann y col, 2004), en lo cual puede influir adicionalmente la procedencia geográfica de las familias y factores medio-ambientales y 2) la variabilidad de las técnicas empleadas para las determinaciones de las actividades enzimáticas.

Con respecto a este último punto, hay que tener en cuenta que durante muchos

años ha sido una preocupación la calidad en los resultados de la determinación de actividad específica de las enzimas lisosomales. No obstante, no se contaba con un control de calidad externo. Entre las limitantes existentes estaba la estabilidad de las enzimas en homogenados de leucocitos liofilizados (Ruijter y col, 2005). En un estudio piloto en el cual participaron cuatro centros de Países Bajos que analizaron seis enzimas lisosomales, se reportó que la varianza interlaboratorio fue enorme. Después de reducida la varianza causada por las diferencias metodológicas, encontraron que se hallaba entre 13-38% en dependencia de la enzima determinada (Ruijter y col, 2005).

Los coeficientes de variación (CV) intra e interensayo de cada una de las técnicas empleadas en este estudio para la determinación de la actividad específica estuvieron entre 3,4-10,2 % y 8,7-15,3 %, respectivamente. Esta dispersión es similar a la reportada por otros autores, cuyo CV intraensayo osciló entre 2-9%, mientras que el interensayo fue de 9-20% (Ruijter y col, 2005). La limitada reproducibilidad en algunas técnicas enzimáticas que emplean sustratos hidrofóbicos ( $\beta$ -glucosidasa y esfingomielinasa) posiblemente se deba a la preparación de la mezcla sustrato-detergente (Ruijter y col, 2005). Otra fuente de varianza es la limitante de los métodos espectrofotométricos y fluorimétricos, que son inespecíficos comparados con otras técnicas. Además, se ha reportado que la incorporación de un cromóforo o fluoróforo en el sustrato puede provocar resultados falsos negativos (Hazer y col, 2003), ya que formas mutadas de las enzimas pueden mostrar actividad normal con sustratos artificiales y baja actividad frente a sus sustratos naturales, lo cual fue demostrado en una mutación del gen que codifica para la esfingomielinasa (Winchester, 2001; Yijun C y col, 2004). No obstante, esto no ocurre con frecuencia y la mayoría de los estudios de actividad enzimática emplean sustratos artificiales.

El comportamiento con respecto al rango de distribución de la edad de diagnóstico en nuestro estudio mostró que en el 75% de las EAL diagnosticadas la mediana de la edad estaba por debajo de los 4 años, aunque en algunas de ellas el rango de edades fue bastante amplio lo cual indica una considerable variación en el espectro clínico. Otros autores reportan resultados similares (Dionisi-Vici y col,

2002; Pinto y col, 2004). Esto depende, no sólo de las características propias de la enfermedad (debut y formas clínicas), sino también de las facilidades para acceder al diagnóstico, al programa de pesquisaje empleado y a los intereses del país donde se realice el estudio. En algunas enfermedades, nuestra distribución etaria coincide con reportes previos (Castro y col, 2007, Dragoski y col, 2007). Todas estas EAL presentan un curso progresivo y una amplia variabilidad clínica, por lo que el déficit enzimático podría asociarse a la edad de presentación, la gravedad clínica o el grado de afectación neurológica (Beck, 1999).

En la mayoría de las enfermedades estudiadas, la actividad específica residual no se correlacionó con la edad de los pacientes, ni tampoco hubo diferencia de la actividad entre las formas clínicas, excepto para la fucosidosis. Los pacientes con fucosidosis manifestaron una correlación positiva entre actividad enzimática y edad; y a su vez, mostraron diferencias entre los fenotipos clínicos. Esto pudiera estar en parte relacionado con la actividad específica residual asociada con los alelos presentes en los pacientes, los cuales en las formas más leves pudieran exhibir mayor actividad enzimática y en la forma infantil más severa niveles más bajos de actividad (Gieselmann, 2005).

La descripción de las enfermedades estudiadas según el sexo señala que estas EAL, excepto la enfermedad de Fabry no están ligadas al sexo, por lo tanto su distribución es aleatoria. En este trabajo observamos una relación entre sexos similar a la reportada por Dionisi-Vici y col (2002). No obstante llama la atención que todos los pacientes diagnosticados con glucogenosis son del sexo masculino, a pesar de que está bien establecido que es una enfermedad autosómica recesiva, por lo cual pensamos que es resultado del azar.

## **5.2 Diagnóstico prenatal.**

La importancia del diagnóstico prenatal en cada nuevo embarazo de padres heterocigóticos, es la detección de fetos afectados, para lo cual existe un 25% de probabilidad.

El diagnóstico prenatal enzimático no es una técnica infalible, aunque si es económica. Los niveles de actividad específica en amniocitos cultivados pueden

solaparse con los valores de los heterocigóticos (50%), dificultándose la confirmación de la enfermedad. Esta fuente de variabilidad se considera una desventaja importante para los métodos enzimáticos, lo que ha sido reportado por algunos autores (Llauradó y col, 2000; Menéndez y col, 2008).

La posibilidad de utilizar otras técnicas más avanzadas, como las de Biología Molecular para el diagnóstico prenatal de enfermedades lisosomales no desecha la utilidad de las determinaciones enzimáticas. En situaciones donde las únicas técnicas disponibles para el diagnóstico prenatal son las enzimáticas, los resultados nos ofrecen un mayor grado de seguridad cuando la actividad porcentual está por encima del 50%, para definir que es un feto no afectado para la enfermedad en cuestión. En nuestra casuística sucedió en el 91,7% de los diagnósticos realizados, o sea en 11 de 12 muestras analizadas. A la muestra con sospecha enzimática de fucosidosis (27% de actividad con respecto al control) se le realizó estudio molecular, el cual demostró que el feto era heterocigótico para la mutación Q422X de la fucosidosis (Llauradó y col, 2000). Los 12 embarazos llegaron a término y en la actualidad son niños normales.

Las técnicas enzimáticas permiten que el empleo de la Biología Molecular, más costosa y menos accesible, sea sólo para la confirmación en un mínimo de casos. Los estudios moleculares (PCR) de rutina no siempre corroboran la posibilidad de ser enfermos o portadores de la enfermedad. En ocasiones la alteración enzimática puede deberse a modificaciones postraduccionales, y por tanto los niveles de ARNm pueden ser normales, mientras que la actividad enzimática puede ser muy baja o nula (Patel y col, 1999; Lin y col, 2007).

Teniendo en cuenta lo expuesto, concordamos con otros autores en que los estudios moleculares (PCR) y los enzimáticos deben complementarse mutuamente (Lin y col, 2007).

Por todo lo anteriormente señalado, pudiera cuestionarse desde el punto de vista ético la pertinencia de realizar diagnóstico prenatal de EAL cuando sólo se tenga acceso a las técnicas enzimáticas. No obstante, existe un alto porcentaje de probabilidades de que el diagnóstico prenatal sea negativo (75%), lo cual es una información importante que le brinda seguridad a la pareja; por otro lado, la

incertidumbre ante un diagnóstico dudoso o positivo, les da un margen para tomar una decisión. Aunque lo ideal sería disponer tanto de técnicas enzimáticas como de Biología Molecular, consideramos que es una opción que se les debe dar a los padres, con todos los pros y los contras, para que ellos sean los que tomen la decisión.

### **5.3 Epidemiología de las enfermedades lisosomales en Cuba.**

Uno de los problemas principales asociados con la obtención de datos epidemiológicos precisos para estas enfermedades infrecuentes, es la existencia de numerosos centros de diagnósticos en los distintos países, así como el empleo de diferentes métodos para el cálculo de la incidencia y prevalencia. Otra dificultad es el amplio espectro de severidad y heterogeneidad clínica de las EAL, así como su variabilidad en la edad de presentación, lo cual constituye una de las dificultades principales en la obtención de datos epidemiológicos precisos. La subestimación de éstos datos, por la pérdida o confusiones en el diagnóstico, resulta en una disminución en el impacto de las EAL en la comunidad así como en la efectividad de las políticas de tratamientos de estas enfermedades (Meikle y col, 1999).

Existen dos métodos para estimar la incidencia de estas enfermedades raras. Uno es considerar que el total de nacidos vivos se corresponde con el período de diagnóstico, y se asume que los pacientes de diagnóstico tardío (nacidos antes del período de estudio) son representativos de los pacientes de debut tardío nacidos dentro del período de estudio y que no han tenido presentación clínica todavía (Meikle y col, 1999). El otro método para calcular la prevalencia/incidencia al nacer se basa en la edad del paciente, asumiendo que todos los pacientes nacidos antes del último que entró al subgrupo fueron identificados (Poorthuis y col, 1999 y Pinto y col, 2004). Existen limitaciones para ambos métodos por el diagnóstico incompleto de pacientes de debut tardío lo que conlleva a una subestimación en la incidencia y prevalencia (Fuller y col, 2006).

Nuestra metodología para el cálculo de la incidencia de las EAL fue la misma empleada por otros autores (Meikle y col, 1999; Applegarth y col, 2000; Sanderson



y col, 2006; Moammar y col, 2010); o sea, a partir de un diagnóstico retrospectivo y considerando los nacidos vivos que corresponden al período de estudio. Al ser nuestro laboratorio único en el país para el diagnóstico postnatal de EAL durante el período 1990-2005, se facilitó considerablemente la recolección de las muestras así como el nivel de confianza en los diagnósticos y en los datos epidemiológicos referidos en este estudio.

### **5.3.1 Incidencia de las EAL.**

Al analizar los resultados de los estudios epidemiológicos publicados nos enfrentamos a una serie de dificultades para su comparación como son: bajo nivel de uniformidad entre los estudios, poca documentación de los métodos utilizados, confusión entre incidencia y prevalencia, variación en el número de EAL estudiadas, entre otras. No obstante, en general los valores de prevalencia e incidencia están cercanos (Meikle y col, 1999), por lo que algunos autores (Meikle y col, 1999; Pinto y col, 2004) los comparan indistintamente y nos pueden servir también de orientación. Por otro lado, es posible que exista sobreestimación o subestimación de los diagnósticos en algunos estudios.

La incidencia/prevalencia combinada de las EAL reportada en la literatura científica oscila entre 7,6/100 000 para la Columbia Británica en Canada (Applegarth y col, 2000) y 25/100 000 para Portugal (Pinto y col, 2004).

La incidencia de EAL encontrada por nosotros fue de 5,6/100 000, aproximadamente la mitad de la reportada en países europeos y Australia (Poorthuis y col, 1999; Meikle y col, 1999; Applegarth y col, 2000; Dionisi-Vici y col, 2002; Sanderson y col, 2006; Stromme y col, 2007; Moammar y col, 2010; Poupětová y col, 2010). Por otro lado las cifras estimadas en EE.UU se encuentran entre 12,5 y 20/100 000 (Edelmann y col, 2007). La incidencia reportada para la Columbia Británica en Canadá fue la más baja y más cercana a la nuestra.

Uno de los estudios más completos de incidencia y prevalencia de EAL es el realizado en Australia durante un período de 16 años (1980-1996) en 27 enfermedades diferentes, reportándose una incidencia combinada de 11,1/100

000 y una prevalencia de 13/100 000 (Meikle y col, 1999).

Otro importante estudio fue el realizado en los Países Bajos en el período 1970-1996, con 963 casos diagnosticados, reportando una prevalencia al nacer para todas las EAL de 14/100 000, siendo las más frecuentes la glucogenosis tipo II y la enfermedad de Gaucher y la menos frecuente la enfermedad de Fabry (Poorthuis y col, 1999).

Se han reportado otros estudios que evalúan la incidencia combinada de las EAL entre los que destaca uno realizado en Italia que reporta 12,1/100 000, donde la enfermedad de Gaucher representa el 21% del total de casos (Dionisi-Vici y col, 2002). Por su parte un estudio reciente en Portugal (29 EAL) da una prevalencia combinada de todas las EAL de 25/100 000, donde Gaucher es el 5% del total de EAL reportadas (Pinto y col, 2004).

En la República Checa diagnosticaron entre 1975 y 2008, 478 pacientes (para 34 EAL), lo cual arrojó una prevalencia de 12,2/100 000, siendo la EAL más frecuente la enfermedad de Gaucher (Poupětová y col, 2010), mientras que un estudio epidemiológico de encefalopatía progresiva realizado en Noruega entre 1985 y 2004, se reportó una incidencia de EAL de 17/100 000 (Stromme y col, 2007).

Por otro lado, Arabia Saudita reporta una incidencia muy alta (44/100 000) en la provincia saudita de Aramco, donde refieren un índice de endogamia de 4,8–30 veces superior a los reportados en Canadá y Estados Unidos, siendo la enfermedad con mayor prevalencia la MPS VI (Moammar y col, 2010).

La menor incidencia combinada de EAL en nuestro trabajo, puede atribuirse a las características específicas de los métodos empleados para los cálculos epidemiológicos, al número inferior de EAL estudiadas; pero sobre todo, a las características propias de las poblaciones en estudio, el grado de endogamia y la expresividad fenotípica de las enfermedades.

Con respecto a las características propias de las poblaciones no se puede dejar de hacer un análisis comparativo con la epidemiología de la fenilcetonuria, ya que es una de las enfermedades heredometabólicas con pesquisaje neonatal a nivel nacional, existiendo una seguridad considerable de que la pérdida de diagnósticos es mínima. A pesar de esto, la incidencia de fenilcetonuria en Cuba (1/45-50 000)

(Heredero y col, 1986, Damiani, 1993) también se encuentra por debajo de la reportada en los países de Europa del Norte (1/10 000) (Cooke, 1970), EEUU (1/15 000), Canadá (1/20 000) y México (1/25 000). La fenilcetonuria también es una enfermedad que predomina en poblaciones caucásicas, con una mayor incidencia en Europa del Norte (Schaffer, 1981; Nelson, 1988). Por lo tanto, las características distintivas de la composición poblacional de nuestro país, deben ser consideradas como el factor que posiblemente influya más en la menor incidencia de fenilcetonuria y algunas EAL.

En el análisis que se hace a continuación nos referiremos a las diferencias o semejanzas de nuestros resultados en las enfermedades individuales, que pudieran contribuir a una mejor comprensión de las causas que pudieran explicar esta discordancia, con una evaluación general de las mismas.

### **5.3.2 Epidemiología de las Mucopolisacaridosis.**

Adicionalmente a las dificultades para reportar con precisión datos epidemiológicos de las EAL, en las MPS se suma la gran variabilidad en las manifestaciones clínicas que presentan algunos tipos, lo que conlleva a una subestimación en la frecuencia de éstas (Nelson , 1997).

En nuestro estudio se diagnosticaron 37 pacientes con MPS, para una incidencia de 1,56/100 000, cifra inferior a la encontrada en la mayoría de los países industrializados que oscila entre 3,0–4,5/100 000: EE.UU 4/100 000 (Edelmann y col, 2007); Portugal 4,8/100 000 (Pinto y col); Australia 3,8/100 000 (Meikle y col, 1999); República Checa: 3,72/100 000 (Poupětová y col, 2010), Alemania 3,5/100 000 (Baehner y col, 2005), Noruega 3,08/100 000 (Malm y col, 2008); en Italia y Canadá algo menor (2,4/100 000 y 1,9/100 000) (Dionisi-Vici y col, 2002 y Applegarth y col, 2000). Sin embargo en Suecia y Dinamarca, la incidencia fue similar a la nuestra (1,75 y 1,77/100 000 respectivamente) (Malm y col, 2008).

La MPS I fue la EAL más frecuentemente diagnosticada durante el período estudiado y la más frecuente de las MPS (24 casos diagnosticados), con una incidencia de 1,01/100 000, lo cual está dentro del rango reportado en la literatura por otros países (tabla 10). El reporte más alto de prevalencia de MPS I (Hurler,

Hurler/Scheie y Scheie) fue encontrado en Irlanda del Norte (1,6/100 000) (Nelson,1997); mientras que otros países reportan valores que van desde 0.58 en la Columbia Británica (Applegarth y col, 2000) hasta 1.33 en el norte de Portugal (Pinto y col, 2004). Reino Unido reportó durante el período 1981-2003 una incidencia de 1,07/100 000 (Moore y col, 2008). Entre los países que ofrecen datos epidemiológicos, la MPS I fue la EAL más frecuente en Suecia, Dinamarca y Noruega (Malm y col, 2008), mientras que en Australia ocupó el segundo lugar (Meikle y col, 1999).

Aunque en nuestro estudio no se analiza la MPS II o enfermedad de Hunter, es importante decir que su prevalencia mundial es de 0,6-0,8/100 000, y es similar entre todas las poblaciones estudiadas debido a su forma de transmisión unida al cromosoma X (Baehner y col, 2005). Sólo un estudio reportado en Israel en los judíos ashkenazi reporta una prevalencia no explicada de 3/100 000 nv varones (1,5/100 000 nv totales) (Schaap y Bach, 1980).

En la mayoría de las poblaciones estudiadas la MPS III o enfermedad de Sanfilippo representa la de mayor prevalencia, con reportes que oscilan desde 0,36 a 1,89/100 000 (Nelson, 1997; Meikle y col, 1999; Poorthuis y col, 1999; Applegarth y col, 2000). El tipo A es más frecuente en Europa del Norte, mientras que en Brasil y en el sureste de Europa el tipo B es más frecuente (Michelakakis y col, 1995; Coelho y col, 1997; Emre y col, 2002). En los Países Bajos la MPS IIIA fue una de las más frecuentes de todas las MPS con 1,16/100 000, y en su conjunto todos los tipos de MPS III (1,89/100 000) superan a la prevalencia encontrada para la MPS I (1,19/100 000) (Poorthuis y col, 1999).

En nuestro estudio no se pudo diagnosticar la MPS IIIA y solo encontramos 2 casos con MPS IIIB, para una incidencia de 0,08/100 000, similar a la de la República Checa (0,02/100 000) (Poupětová y col, 2010), y a la reportada por Nelson en un período de 27 años en Irlanda del Norte (0,12/100 000) (Nelson, 1997). Estudios en Australia, Países Bajos, Alemania y Portugal arrojan cifras superiores para la MPS IIIB, entre 0.37 – 0.72 (tabla 10).

La baja incidencia de la MPS IIIB se ha asociado a los pobres rasgos somáticos de esta enfermedad en los primeros años de sus manifestaciones clínicas, lo cual

puede conducir a una subestimación por parte de los especialistas. No incluimos en el total de casos diagnosticados un paciente con características clínicas de la enfermedad y estudios positivos en orina, pero que no pudimos corroborar con el diagnóstico enzimático porque falleció.

La MPS IV, enfermedad de Morquio tipo B o deficiencia de  $\beta$ -galactosidasa es extremadamente rara y no hay reportes de una prevalencia a nivel mundial. Australia, Alemania, Irlanda, Países Bajos, Portugal, R. Checa reportan incidencias que oscilan entre 0-0,02/100 000, al igual que en nuestro país, que con un sólo diagnóstico, la prevalencia es muy baja: 0,04/100 000 (tabla 10). En la literatura científica la prevalencia del Morquio A oscila entre 0,22 y 0,71 (tabla 10), con un máximo de 1,3 en Irlanda del Norte (Nelson, 1999). En nuestro continente, Colombia reporta el Morquio A como la de mayor prevalencia de las MPS (Barrera, 2009), no obstante, nosotros no pudimos realizar este diagnóstico.

La prevalencia de MPS VI en nuestro país fue de 0,42/100 000 a partir del diagnóstico de 10 casos en este período, similar a lo reportado a nivel mundial que oscila entre 0,15-0,48/100 000 (tabla 10). Hay reportes de alta incidencia en Brasil (Coelho y col, 1997) y en la población de origen turco en Alemania debido al alto grado de consanguinidad en este grupo étnico (Baehner y col, 2005).

La MPS VII es una enfermedad con una alta variabilidad clínica, lo que contribuye a su subestimación. En nuestro estudio no encontramos ningún caso, a pesar de contar con los recursos para poder realizar el diagnóstico enzimático. A nivel mundial se reporta una prevalencia muy baja (0-0,29/100 000) (tabla 10). Pampols y col (1997) en España informaron 5 pacientes con MPS VII, lo cual se pudiera considerar una cifra elevada, aunque no disponen de datos epidemiológicos.

Las MPS tipo IIIC, IIID y IX no pudieron ser diagnosticadas en este estudio, pero son extremadamente raras (Malinowska y col, 2008). En el caso de la MPS IX solamente había un caso descrito (Neufeld y col, 2001), hasta que muy recientemente Imundo y col (2011) reportaron el diagnóstico de 3 hermanos, hijos de una familia consanguínea.

La frecuencia de portadores de las MPS en nuestro grupo fue semejante a otros reportes (Meikle y col, 1999; Poupětová y col, 2010). Los números de portadores

de MPS I en la Rep. Checa y Australia (1/186 y 1/148 respectivamente) son similares a la nuestra (1/156) y coincide en que es una de las más frecuentes. También es parecido el comportamiento de las MPS IIIB y IVB a la de República Checa, por ser menos frecuentes (Poupětová y col, 2010).

La obtención en el presente trabajo de una incidencia combinada de MPS por debajo de lo reportado en la literatura pudiera explicarse por la imposibilidad de realizar el diagnóstico de MPS II, III A y IVA. Si hiciéramos una estimación teniendo en cuenta la incidencia media reportada para estas 3 enfermedades en el mundo, nuestra incidencia combinada de MPS podría llegar a 3,1/100 000, lo cual ya entra en el rango de lo reportado para este grupo de EAL.

### **5.3.3 Epidemiología de las lipidosis.**

Durante el período estudiado por nosotros (1990-2005) se reportaron 42 casos con lipidosis para una incidencia combinada de 1,76/100 000, constituyendo el grupo de EAL de mayor incidencia, seguido cercanamente por las MPS. Al comparar con datos de otros autores (3,4-12,6/100 000) (tabla 11), encontramos que la incidencia de lipidosis obtenida por nosotros está muy por debajo.

De las lipidosis, las de mayor frecuencia fueron la enfermedad de Gaucher con 11 casos (0,46/100 000), Tay Sachs con 9 casos (0,38/100 000) y la GM1 gangliosidosis con 10 pacientes (0,42/100 000), aunque ninguna de estas estuvieron individualmente entre las más frecuentes en nuestro país.

En poblaciones de Australia y República Checa la incidencia reportada para la enfermedad de Gaucher es superior a la nuestra (entre 1,2-1,8/100 000) (Meikle y col, 1999; Poupětová y col, 2010); sin embargo nuestra incidencia es semejante a la reportada en Turquía y en la Columbia Británica en Canadá (tabla 11). Esto puede deberse a la composición étnica diferente o a la existencia de mutaciones específicas, que parecen tener poca expresividad fenotípica con síntomas clínicos menores y los pacientes o sus familiares no buscan atención médica, pasando inadvertida. De forma global, se reporta como la EAL más frecuente la enfermedad de Gaucher (2/100 000) y en segundo lugar la enfermedad de Fabry (1,75/100 000) (Orphanet Report Series, 2010).

La enfermedad de Tay Sachs mostró una incidencia similar a la reportada por Países Bajos, República Checa, Australia y Canadá y algo mayor que la de Turquía (tabla 11). Orphanet Report Series (2010) señala una prevalencia estimada de 0,3/100 000. Sin embargo, en el norte de Portugal se reportó una incidencia muy elevada (3,13/100 000). El análisis genético de estos pacientes reveló que la mutación R178H HEXA (alelo DN) representaba el 58% de los alelos mutados, correspondiendo a la forma juvenil de Tay Sachs (variante B1) y que esta mutación sólo había sido descrita anteriormente en otros dos pacientes originarios de Galicia en España (Pinto y col, 2004).

Se ha asociado la combinación de 2 mutaciones (M1V/Y37N) del gen hexosaminidasa A con la alta prevalencia de la enfermedad de Tay-Sachs en individuos de ascendencia negra (Paciorkowski y col, 2008), lo cual es frecuente en nuestra población, aunque no tenemos estudios genéticos que puedan demostrar esto. En poblaciones seleccionadas como los judíos ashkenazi se han reportado elevadas frecuencias de la enfermedad de Tay-Sachs y Gaucher (117 y 25,6/100 000 respectivamente) (Petersen y col, 1983; Beutler y col, 2001).

La incidencia de enfermedad de Niemann Pick en nuestro estudio fue muy baja (0,08/100 000), a diferencia de lo que está reportado en la base de datos de Orphanet 2010 y en la literatura científica, con cifras que van desde 0,33 a 0,60 para Niemann Pick A-B (tabla 11). En el estado de Aramco en Arabia Saudita (Moammar y col, 2010) reportaron una alta incidencia de Niemann-Pick A (6/100 000) y de enfermedad de Sandhoff (5/100 000), debido a la descendencia de únicas familias y consanguinidad tribal (Ozand y col, 1990).

En nuestra serie no se diagnosticó ningún caso con enfermedad de Sandhoff, mientras que otros países han reportado cifras que oscilan entre 0,19/100 000 y 1,49/100 000 (tabla 11).

Sólo se detectó un caso con enfermedad de Fabry (0,04/100 000). El diagnóstico de Fabry en ocasiones se subestima porque los signos y síntomas son comunes a otras enfermedades, el dolor es uno de los principales, pero del 10-20 % de los pacientes masculinos no lo padecen (Ries y col, 2003). No existen estudios epidemiológicos de la enfermedad de Fabry en nuestro continente. Estudios de

casos en regiones específicas sí existen, como por ejemplo en Río Grande del Sur en Brasil, un estudio en pacientes con fallo renal demostró que el 0,36 % de los mismos tenían enfermedad de Fabry (Porsch y col, 2008). Otros estudios regionales dan frecuencias de 4,96 % de diagnósticos en Argentina (Rozenfeld y col, 2006) y 197 pacientes en Estados Unidos durante 20 años (Shah y col, 2009). A pesar de que el estimado de prevalencia mundial para la Enfermedad de Fabry es de 1,75/100 000 (Orphanet Report Series, 2010), los estudios epidemiológicos publicados no reflejan esta cifra. La mayoría de los reportes de enfermedad de Fabry presentan prevalencias o incidencias muy bajas (0,015-0,86) y se han realizado en poblaciones caucásicas (tabla 11). Aunque no ofrecen datos de prevalencia, Krasnopolskaya y col (1993) en Rusia, reportan sólo un caso de enfermedad de Fabry en 363 EAL diagnosticadas. En Turquía plantean que es una enfermedad muy rara, con una incidencia de 0,015/100 000 (Özkara y Topçu, 2004) y en Colombia se reportan solamente dos casos entre 1987 y 2008 (Barrera, 2009).

No obstante, consideramos, que tanto en nuestro estudio como en los reportes epidemiológicos realizados en otros países, debe existir una subestimación del diagnóstico de enfermedad de Fabry por la presentación de formas clínicas moderadas y su debut tardío, frecuentemente en la adultez. En algunos casos los pacientes se presentan tempranamente con enfermedades cardíacas, ictus e insuficiencia renal.

Solamente se diagnosticaron 7 casos con LDMC, lo que resulta en una incidencia baja (0,29/100 000) cuando se compara con otros reportes en la literatura científica: 0,58-1,85/100 000 (tabla 11). Hay reportes de incidencia general de la LDMC de 1/100 000 (Rauschka y col, 2006; Kolodny y Sathe, 2008), pero se han descrito otros valores según la población estudiada. La forma infantil tiene una incidencia de 1/40 000 al norte de Suecia y en el estado de Washington (Farrell, 1981); siendo la frecuencia de portadores más elevada entre los habitantes judíos de 1/75 nv (Zlotogora y col, 1995) y en los indios navajos de 1/40 (Pastor-Soler y col, 1995).



Para la GM1 gangliosidosis se reportaron 10 casos en nuestra serie (0,42/100 000). República Checa, Australia y Canadá reportan incidencias más bajas (0,19 - 0,26/100 000), mientras que Turquía, Países Bajos y Portugal señalan incidencias más semejantes a la nuestra (0,54; 0,41 y 0,62/100 000 respectivamente) (tabla 11). En Porto Alegre, Brasil la incidencia estimada para la GM1 gangliosidosis tipo I es muy elevada (1/17 000) y de la de portadores de 1/67, observándose un 12,5% de consanguinidad (Giugliani y col, 1998).

Para la enfermedad de Wolman obtuvimos una incidencia muy baja (0,04/100 000). Se han reportado cifras de incidencia entre 0 y 0,58/100 000, mientras que en otros estudios epidemiológicos realizados no se incluyó entre las enfermedades diagnosticadas (tabla 11). La frecuencia de portadores para esta enfermedad es mucho más baja (1/3 741) que la informada por la República Checa (1/302) y Australia (1/363), los cuales presentan cifras similares (Poupětová y col, 2010 y Meikle y col, 1999).

Dentro de las enfermedades que no pudimos diagnosticar en este grupo se encontraron la enfermedad de Niemann-Pick C, cuya incidencia oscila entre 0,35 a 2,2/100 000 (tabla 11) y la lipofuscinosis ceroides neuronal (LCN), con incidencias reportadas en Portugal (2,14/100 000) (Pinto y col, 2004) y en República Checa (2,29/100 000) (Poupětová y col, 2010). Dos de los estudios epidemiológicos realizados no incluyeron la LCN (Poorthuis y col, 1999; Meikle y col, 1999). Previamente estas enfermedades se diagnosticaban histopatológicamente y no enzimáticamente. En los últimos años se ha reportado que la LCN es relativamente común dentro de las EAL: estimados de incidencia global van desde 1,28 a 7,7/100 000. En Finlandia se han reportado valores de incidencia de 7,7 para la infantil y de 4,8 para la juvenil. Meikle y col (1999) señalaron que la inclusión de esta enfermedad en el cálculo de la prevalencia de las EAL elevaría la prevalencia de 13 a 14,9/100 000 en Australia.

La imposibilidad de diagnosticar el Niemann-Pick C en nuestra casuística pudo influir algo en la obtención de cifras de incidencia combinada más bajas, aunque la variabilidad en las incidencias reportadas hacen difícil realizar una estimación de esto. Por otro lado, la lipofuscinosis ceroides neuronal, aunque con incidencias

considerables en Portugal y República Checa (Pinto y col, 2004; Poupětová y col, 2010), no fue estudiada en otras series epidemiológicas donde calcularon incidencias combinadas de EAL (Poorthuis y col; 1999; Meikle y col; 1999; Applegarth y col, 2000).

La frecuencia de portadores de las lipidosis en nuestro grupo es, de forma general, inferior a la reportada por estudios en República Checa y Australia aunque para la enfermedad de Tay Sachs y GM1 gangliosidosis nuestra casuística es semejante a la de estos países (Poupětová y col, 2010; Meikle y col, 1999).

Las lipidosis (como grupo) son las EAL más frecuentes a nivel mundial (4,6–10.4/100 000) y en nuestra serie fue también el grupo más frecuente. No obstante, obtuvimos cifras de incidencia combinada más bajas (1,76/100 000). A diferencia de la situación con las MPS, la única esfingolipidosis que no pudimos diagnosticar enzimáticamente - y que pudiera influir en el cálculo de la incidencia combinada, por su frecuencia - fue la enfermedad de Krabbe, para la cual se reportan incidencias que van desde 0.4/100 000 a 1.35/100 000 (tabla 11) y mundialmente se estima una prevalencia de 0,75/100 000 (Orphanet Report Series, 2010). Si hiciéramos una estimación teniendo en cuenta la incidencia media reportada para esta enfermedad, nuestra incidencia de esfingolipidosis podría llegar a 2,5/100 000, lo que continua estando muy por debajo del rango reportado para este grupo de EAL. Por lo tanto, esta baja incidencia no debe estar relacionada solamente con la imposibilidad del diagnóstico enzimático de algunas de estas EAL, sino que pudiese asociarse también con otros factores dependientes de la heterogeneidad genética de nuestra población.

#### **5.3.4 Epidemiología de las glucoproteinosis, mucopolipidosis, glucogenosis II.**

La incidencia de fucosidosis registrada en el presente trabajo fue de 0,63/100 000, muy por encima de lo reportado en otros países. En los estudios epidemiológicos realizados en Portugal, República Checa, Australia y Rusia no detectaron casos de fucosidosis y en los Países Bajos reportaron una incidencia de 0,05/100 000 (tabla 12). En España, Maceira y Atienza (2006) no reportaron ningún caso, mientras que Pampols y col (1997) anteriormente habían informado 3 casos en 20

años. Estos resultados confirman que Cuba es una de las regiones con más alta incidencia de fucosidosis en el mundo, estando la mayor parte de los casos concentrados en la provincia de Holguín, con una tasa estimada de 1,4/100 000 habitantes (Llauradó, 1999).

Está reportado que más del 30% de la totalidad de casos de fucosidosis en el mundo es atribuible a la región sur de Italia, con otras regiones de alta incidencia como son la zona sur de Estados Unidos, Nuevo México y la región oriental de nuestro país (Willems, 1999; Pàmpols, 1995; Llauradó, 1994; 1999; 2000). No hemos encontrado datos epidemiológicos sobre frecuencia de portadores en los pocos estudios de incidencia que existen.

La  $\alpha$ -L-fucosidasa es una de las enzimas cuyo polimorfismo y deficiencia se conocen. El gen ha sido localizado en la región 1p34 (FUCA 1), así como un pseudogen en la región 2q31-q32 (FUCA1P). Además un locus polimórfico (FUCA 2) en el cromosoma 6 (región 6q25-qter) controla el nivel de actividad enzimática en el plasma y fibroblastos (OMIM 1994; OMIM 1999; Orphanet Report Series 2010). Han sido identificadas unas 26 mutaciones a nivel mundial (Lin, 2007). Por el momento, las diferencias genotípicas obtenidas no han podido explicar las desigualdades fenotípicas entre los distintos tipos (Pàmpols, 1995; Willems, 1999; Willems, 2005).

Llauradó (1999) reporta que en Holguín existe un alto grado de consanguinidad en la población. En un estudio molecular que se realizó en todos los casos y sus ascendientes, que eran portadores obligados, se encontró una mutación única Q422X en el codón terminal del exón 8 (FUCA-1), que respalda la hipótesis de efecto fundador. Esta mutación fue encontrada además en una familia de origen italiano y otra de origen francés que no tienen aparentemente relación parental con la nuestra (Maceira y Atienza, 2006).

Sobre  $\alpha$ -manosidosis existen reportes de incidencia que oscilan entre 0,09 y 0,19/100 000 en Países Bajos, Australia, Portugal y Canadá, mientras que la R. Checa señala una prevalencia de 0,38/100 000 (tabla 12) y en Orphanet Report Series (2010) se ofrece una cifra promedio de 0,1/100 000. Nuestros resultados arrojaron una incidencia de 0,55/100 000, superior a las cifras anteriormente

mencionadas. El número de casos encontrados en el Instituto de Bioquímica Clínica de Barcelona entre 1977–1996 fue de 12 (Pampols y col, 1997). Según los datos de la Asociación de mucopolisacaridosis y síndromes relacionados de España, que informa los casos detectados entre 1994 y 2004, sólo se diagnosticaron 2 pacientes. Un estudio en Noruega informó 6 individuos en una población de cuatro millones (Malm, 2008). Esta enfermedad no es específica de algún grupo étnico y se ha descrito en individuos de todas las partes del mundo (Berg, 1999). Con los pocos datos disponibles, parece ser que la incidencia de la  $\alpha$ -manosidosis en Cuba se encuentra entre las más altas reportadas, lo mismo sucede con la frecuencia de portadores (1/288), para lo que Australia y República Checa reportan cifras más bajas (1/514, y 1/ 3 920 respectivamente) (Meikle y col, 1999; Poupětová y col, 2010).

La mucopolipidosis tipo II (Enfermedad de las células I o Síndrome de Leroy) ha sido descrita fundamentalmente en poblaciones caucásicas y asiáticas (Gilbert. y col, 1973; Yutaka y col, 1985). La prevalencia estimada al nacer es de 0,15/100 000 (Orphanet Report Series, 2010); sin embargo en una población franco-canadiense fue de 16,2/100 000 (De Brackeler. y col, 1991). En nuestra casuística se detectaron 7 casos de mucopolipidosis II y 4 casos de mucopolipidosis III en el período estudiado, para una incidencia de 0,29/100 000 y 0,17/100 000 respectivamente, lo cual cae en el rango reportado para las mucopolipidosis y oligosacaridurias en los Países Bajos (0,04-0,2) y en la R. Checa (0,22). Existe una alta prevalencia de mucopolipidosis II y III (0,81 y 1,89/100 000, respectivamente) en la población del norte de Portugal, superior a la reportada en la población holandesa (0,16 y 0,08/100 000, respectivamente) y australiana (II/III: 0,31/100 000) (tabla 12).

La frecuencia de portadores de las mucopolipidosis II/III (1/340), es similar a la reportada por estudios en Australia (1/285) y superior a los reportados en República Checa (1/2980). (Poupětová y col, 2010; Meikle y col, 1999).

La mucopolipidosis I no se pudo diagnosticar, están reportadas prevalencias muy bajas en el mundo: Portugal 0, Australia 0.02, Países Bajos 0.05 y R. Checa 0.07/100 000 (tabla 12).

La mucosulfatidosis o deficiencia múltiple de sulfatasas (aril sulfatasas A, B y C)

fue una enfermedad frecuente en un estudio realizado en Arabia Saudita con 8 casos diagnosticados, resultado atribuible a la consanguinidad encontrada en matrimonios de las tribus estudiadas (Ozandi y col, 1990). Sin embargo a nivel mundial su prevalencia es muy baja (Ozandi y col, 1990), apareciendo 50 casos reportados en el mundo en la base de datos de Orphanet (2010). Durante estos 20 años de trabajo en el INN no se diagnosticó enzimáticamente ningún caso.

La incidencia de la enfermedad de Pompe o glucogenosis tipo II a partir del número de casos diagnosticados fue de 0,46/100 000, cifra similar a la reportada en Australia y R. Checa (tabla 12). En Italia Dionisi-Vici y col (2002) y Canadá (Applegarth y col, 2000) refieren cifras algo más elevadas (0,83 y 0,87/100 000 respectivamente) y la base de datos de Orphanet, 2010, señala una prevalencia estimada de 1,1/100 000. La glucogenosis tipo II (enfermedad de Pompe) es muy frecuente en Países Bajos (Poorthuis y col, 1999) donde informan una prevalencia al nacimiento de 2/100 000, constituyendo la más frecuente de las EAL (17 % de los casos diagnosticados). Sin embargo, Pinto y col (2004) informaron una baja incidencia para la enfermedad en Portugal (0,17/100 000).

La frecuencia de portadores de la glucogenosis II (1/340) en nuestro grupo es inferior a lo reportado en Australia (1/191) (Meikle y col, 1999), pero superior a lo que informa la República Checa (1/3860) (Poupětová y col, 2010). En Taiwan se realizó un pesquisaje neonatal de la enfermedad de Pompe infantil y se estimó una prevalencia de 2,5/100 000, cifra que los mismos autores reconocen que incluye un alto índice de falsos positivos y no supieron distinguir entre el Pompe infantil y el de debut tardío (Kemper y col, 2007).

Es evidente que existe una gran variabilidad para la incidencia y prevalencia de la enfermedad de Pompe, basándonos en los estudios epidemiológicos publicados en diferentes partes del mundo. En esto puede influir la variabilidad genética de las poblaciones, pero también hay que considerar que en esta enfermedad la edad de diagnóstico en el paciente adulto varía, sugiriendo una elevada variabilidad clínica, que va desde formas severas hasta ligeras e irreconocibles, por lo que en nuestro estudio (al igual que en otros) pudiera estar subestimada su sospecha y por tanto su diagnóstico.

#### **5.4 Comentarios finales.**

El presente trabajo muestra por primera vez, las características del diagnóstico enzimático de las enfermedades de almacenamiento lisosomal en Cuba durante un período de 20 años, el cual se ha realizado sistemáticamente desde el año 1986 en el Instituto de Neurología y Neurocirugía de la Habana.

El conocimiento del comportamiento de las EAL en el país resulta de importancia para la elaboración de políticas por el Sistema Nacional de Salud con el objetivo de lograr un mejor manejo y trazar estrategias terapéuticas en los casos que sea posible. Por otro lado, al llevar estas enfermedades a la muerte en etapas tempranas de la vida o a un alto grado de discapacidad, es importante poder ofrecer al médico y a la familia un diagnóstico con buen nivel de seguridad para el asesoramiento genético a las parejas de riesgo y la toma de decisiones a partir del diagnóstico prenatal en futuros embarazos.

Como los síntomas clínicos de las EAL son comunes a otras patologías y tan variados, es posible que haya casos sin diagnosticar y que exista alguna EAL que todavía no haya sido descrita. Es muy importante que los médicos de la atención primaria cuenten con la experiencia y la astucia necesarias para reconocer los signos clínicos de las EAL y contar a su vez con un laboratorio de referencia capacitado para ejecutar el diagnóstico enzimático de las mismas (Raghuveer, 2006).

Existe poca información disponible sobre la frecuencia de estas enfermedades producto de su rareza y el largo período de observación necesario para la estimación confiable de frecuencias; los estudios epidemiológicos son escasos y difíciles de comparar por los motivos anteriormente expuestos. Además, las investigaciones epidemiológicas publicadas se han realizado en poblaciones predominantemente caucásicas.

Nuestro estudio aporta información de interés acerca de la epidemiología de estos errores en nuestro país y constituye el primer reporte del comportamiento epidemiológico de las EAL en una población genéticamente mezclada. Cintado y col (2009) describieron con detalle en un trabajo elegantemente diseñado, la distribución de la población de Ciudad de La Habana con relación a la mezcla

genética, sus semejanzas y diferencias con otras poblaciones afro-caribeñas y afro-americanas y el interés antropológico y epidemiológico de este conocimiento para la investigación de enfermedades genéticas.

La incidencia de EAL detectada en nuestro país durante un período de 16 años (5,6/100 000), que se corresponde con aproximadamente la mitad de las cifras reportadas en poblaciones caucásicas (aunque más cercana a la incidencia de la provincia de Columbia Británica en Canadá), pudiera tener varias interpretaciones:

1) Diferencias entre los métodos empleados para el cálculo de la incidencia. Este es un problema que hemos comentado con anterioridad y que sin duda es válido para explicar algunas faltas de concordancia entre los diferentes estudios epidemiológicos. No obstante, no creemos que sea un factor que explique de forma importante esta diferencia, ya que a pesar de que los métodos de cálculo difieran, la mayoría de las publicaciones señalan valores de incidencia entre 11,1 y 19,3/100 000 en poblaciones caucásicas.

2) Subestimación de diagnósticos por los facultativos. Esto es un problema común a todos los estudios epidemiológicos realizados en el mundo, por tratarse de enfermedades muy infrecuentes. No obstante, considerando la organización del sistema de salud cubano, que garantiza un estándar de atención médica muy generalizado y la concentración de los diagnósticos de laboratorio en el INN durante el período de estudio, creemos que los datos son representativos de la verdadera incidencia de estas enfermedades y que nuestros resultados tienen un nivel de seguridad en este aspecto, equivalente a los obtenidos por otros autores.

3) Subestimación por no tener disponible la metodología para el diagnóstico de laboratorio de algunas EAL. El número de EAL estudiadas (19) pudiera explicar en parte la menor incidencia encontrada, ya que los estudios epidemiológicos que dan incidencia y/o prevalencia combinada de EAL analizan entre 24 y 34 enfermedades (Poorthuis y col, 1999; Meikle y col, 1999; Pinto y col, 2004; Poupětová y col, 2010; Applegarth y col, 2000).

Las enfermedades en las que no se pudo realizar el diagnóstico de laboratorio y que pudieran haber influido de forma importante en la incidencia global de las EAL (teniendo en cuenta las incidencias medias reportadas en el mundo) fueron la

MPS II, MPS IIIA, MPS IVA, enfermedad de Krabbe y Niemann-Pick C. Consideramos que en el caso de las MPS, este factor es el que predomina para explicar una incidencia más baja, asumiendo que en nuestra población se presentarían estas enfermedades con las frecuencias medias reportadas en el mundo.

No obstante, en el caso de las lipidosis no es así, ya que la única que no pudimos diagnosticar enzimáticamente y que pudiera influir al comparar con otras series epidemiológicas publicadas, fue la enfermedad de Krabbe, que no explicaría por sí sola la diferencia observada.

Otras EAL que no fueron estudiadas (cistinosis, sialidosis, galactosialidosis, aspartilglucosaminuria y enfermedad de Schindler) tienen una frecuencia tan baja en el mundo que no aportarían significativamente a la incidencia global.

3) Factores genéticos poblacionales. La composición étnica de Cuba la hace muy diferente desde el punto de vista genético a las poblaciones en las cuales se han realizado estos estudios (Cintado y col, 2009). En el último Censo Nacional se reportó la composición étnica de la población cubana, constituida por 51 % de mezcla étnica (africano y español), 37 % de etnicidad española y 11 % de negros africanos (Zaldívar y col, 2005). Estudios recientes han demostrado la importante contribución euro-africana en la composición genética de la población cubana, que indican que la mezcla genética debe ser considerada (Mendizabal y col, 2008; Cintado y col, 2009; Marcheco y col, 2011; Ustáriz y col, 2011). No tenemos antecedentes de estudios epidemiológicos en América Latina y África que nos puedan servir de referencia, aunque la composición étnica de Cuba difiere de casi todos los países de la región latinoamericana en que la población amerindia es prácticamente inexistente.

El análisis del comportamiento epidemiológico de las enfermedades abordadas indica que la MPS IIIB y el grupo de lipidosis (específicamente Gaucher, Niemann-Pick A-B, Sandhoff y leucodistrofia metacromática) se destacan por una incidencia muy por debajo de lo reportado en la literatura.

Por otro lado, un resultado de gran interés fue la demostración epidemiológica de que en Cuba tenemos unas de las más altas incidencias de glucoproteinosis en el



mundo, siendo necesario destacar la alta incidencia de fucosidosis, concentrada en la provincia de Holguín.

Los resultados de este estudio no sólo son de especial interés para genetistas, autoridades de la salud, pacientes y familiares; sino también para laboratorios, sociedades científicas e instituciones gubernamentales relacionadas con el desarrollo de terapias y tratamientos de estas enfermedades.

En estos momentos el logro fundamental de nuestro sistema de salud es la reducción de la mortalidad infantil. Para lograr este objetivo se dedican muchos esfuerzos a la atención de las embarazadas, el parto, los recién nacidos, el tratamiento y la prevención de enfermedades. Se ha ampliado el campo de investigaciones para mejorar la calidad de vida y ofrecer mayores oportunidades.

## VI. CONCLUSIONES

1. Las esfingolipidosis y mucopolisacaridosis fueron los grupos de EAL más frecuentemente diagnosticados en el INN durante el transcurso de 20 años, correspondiendo las frecuencias relativas más altas de enfermedades específicas a la MPS I,  $\alpha$ -manosidosis, fucosidosis y enfermedad de Gaucher en orden decreciente.
2. La actividad disminuida de las hidrolasas ácidas lisosomales permitió diferenciar los pacientes y padres de los controles en casi todas las EAL. La fucosidosis fue la única enfermedad en que se asoció la actividad enzimática con la edad de presentación, severidad y forma clínica.
3. La introducción del diagnóstico enzimático prenatal de las EAL permitió ofrecer información para el asesoramiento genético a las parejas con antecedentes de hijos afectados para la toma de decisiones acerca de la conducta reproductiva.
4. Se obtuvieron, por primera vez en Cuba y en la región de América Latina, datos epidemiológicos acerca de la incidencia de las EAL. La incidencia combinada de EAL (5,6/100 000) fue más baja que la reportada en poblaciones caucásicas y tiene características distintivas, posiblemente relacionadas con la composición étnica particular del país, aunque otros factores también pueden influir. La elevada incidencia de glucoproteinosis, coloca a Cuba como una de las regiones con más alta incidencia de fucosidosis y  $\alpha$ -manosidosis en el mundo.

## **VII. RECOMENDACIONES**

1. Introducir el montaje de nuevas técnicas bioquímicas y de Biología Molecular para ampliar las posibilidades diagnósticas, dándole prioridad al diagnóstico de aquellas EAL que ya tienen algún tipo de tratamiento.
2. Profundizar los estudios epidemiológicos de las EAL en las diferentes regiones del país. Analizar la influencia de la consanguinidad en los resultados obtenidos.
3. Aumentar la educación de la población acerca de los riesgos de las parejas consanguíneas y que conozcan las posibilidades que brindan los especialistas en genética en los diferentes niveles de atención de salud.
4. Introducir el tratamiento específico disponible en el mundo para los pacientes que padecen estas enfermedades.

## VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Aboul A, Fateen E. Prenatal diagnosis of Mucopolysaccharidoses (MPS). The first Egyptian experience. Bratisl Lek Listy 2004;105(9):291-340.
2. Alam R; Yatsu FM. Wolman Disease. En: Rosenberg RN, DiMauro S, Paulson HL, Ptáček L, Nestler EJ. The Molecular and Genetic Basis of Neurologic and Psychiatric Disease. 4ta. ed. Editores Wolters Kluwer. Lippincott Williams & Wilkins Health. Philadelphia. USA 2008;288-292.
3. Álvarez H, Cuervo N, Dorado J, Menéndez C. Síndrome de gangliosidosis infantil generalizada GM1. Presentación de dos casos. Rev Neurol 1999;28(9):925-930.
4. Amato D, Stachiw T, Clarke JT, Rivard GE. Gaucher disease: variability in phenotype among siblings. J Inherit Metab Dis 2004; 27:659-669.
5. Anuario Estadístico de Salud en Cuba 2000. Disponible en: <http://www.sld.cu/servicios/estadisticas/>.
6. Applegarth DA, Toone JR, Lowry RB. Incidence of inborn errors of metabolism in British Columbia, 1969–1996. Pediatrics 2000;105-110.
7. Artigalás OA, da Silva LR, Burin M, Pastores GM, Zeng B, Macedo N y col. Multiple sulfatase deficiency: clinical report and description of two novel mutations in a Brazilian patient. Metab Brain Dis 2009;24(3):493-500.
8. Arvio P, Arvio M. Progressive nature of aspartylglucosaminuria. Acta Pediat 2002;91:255-257.
9. Atencio G. Pesquisaje de la Fenilcetonuria en poblaciones de recién nacidos y retrasados mentales. [Trabajo para optar por el Título de especialista en 1er grado en Genética]. La Habana: ISCM. 1982.
10. Azevedo AC, Schwartz MM, Kalakun IV, Brustolin L, Burin S, Beheregaray MG y col. Clinical and biochemical study of 28 patients with mucopolysaccharidosis type VI. Clin Genet 2004; 66:208-213.
11. Baehner F, Schmiedeskamp C, Krummenauer F, Miebach E, Bajbouj M, Whybra C y col. Cumulative incidence rates of the mucopolysaccharidoses in Germany. J Inherit Metab Dis 2005; 28(6):1011–1017.

12. Ballabio A, Gieselmann V. Lysosomal disorders: From storage to cellular damage. *Bioch Biophys Acta* 2009;1793:684–696.
13. Barrera LA. Estudios bioquímicos de los errores innatos del metabolismo en Colombia, durante dos décadas. *Rev. Acad. Colomb. Cienc.* 2009;33(128):377-394.
14. Baum H, Dogson KS, Spencer B. The assay of arylsulphatases A and B in human urine. *Clin Chim Acta* 1959;4:453-455.
15. Beck M. Avances en el diagnóstico y tratamiento de las enfermedades lisosomales. II Congreso Latinoamericano de errores innatos del metabolismo y pesquisa neonatal. Pag. 134,1999.
16. Bedilu R, Nummy KA, Cooper A, Wevers R, Smeitink J, Kleijer WJ y col. Variable clinical presentation of lysosomal beta mannosidosis in patients with null mutations. *Mol Genet Metab* 2002;77(4):282-290.
17. Berg T, Riise HM, Hansen GM, Malm D, Tranebjaerg L, Tollersrud OK y col. Spectrum of mutations in alpha-mannosidoses. *Am J Hum Genet* 1999;64:77-88.
18. Beutler E, Grabowski GA. Gaucher disease. En: Scriver CR, Beaudet AC, Sly WS, Valle D, eds. *The Metabolic and Molecular Basis of Inherited Disease*. Vol 2. 8th ed. New York, NY: McGraw-Hill Book Co; 2001:2641-2670.
19. Bohlega S, Kambouris M, Shahid M, Al Homsy M, Al Sous W. Gaucher disease with oculomotor apraxia and cardiovascular calcification (Gaucher type IIIC). *Neurology*. 2000;54(1):261-263.
20. Brady R.O, Schiffmann R. Enzyme-replacement therapy for metabolic storage disorders. *Lancet Neurol* 2004;3(12):752-756.
21. Brooks DA. Immune response to enzyme replacement therapy in lysosomal storage disorder patients and animal models. *Molec Genet Metab* 1999;68:268-275.
22. Burin MG, Ribeiro E, Mari J, Schwartz IV, Martins M, Giugliani R. Prenatal diagnosis of mucopolysaccharidosis VI by enzyme assay in a dried spot of fetal blood: a pioneering case report. *Prenat Diagn*. 2010;30(1):89-90.

23. Caciotti A, Bardelli T, Cunningham J, D'Azzo A, Zammarchi E, Morrone A. Modulating action of the new polymorphism L436F detected in the GLB1 gene of a type-II GM1 gangliosidosis patient. *Hum Genet* 2003;113:44-50.
24. Campistol J. Errores congénitos del metabolismo con crisis epilépticas en los primeros años de vida. *Rev Neurol* 2002;35 (Supl 1):S3-20.
25. Campos D, Monaga M, Herrera D, Pampín Y, Alonso E, Morales E. Diagnóstico clínico y bioquímico de un caso de mucopolisacaridosis tipo I. *Rev Biomed* 2008;19:116-120.
26. Campos D. Tamizaje neonatal por espectrometría de masas en tándem: actualización. *Rev Panam Salud Publica*. 2010; 27(4):309–318.
27. Cantz M y Ulrich-Bott B. Disorders of glycoprotein degradation. *J Inher Metab Dis* 1990;13:523-537.
28. Casagrandi D, Zaldivar T, Nodarse A, Carballo S. Algunos aspectos éticos del diagnóstico prenatal, la medicina y terapia fetales. *Rev Cubana Obstet Ginecol* 2005,31(3);0-0.
29. Castro G, Cornejo V, Fernández E, de la Parra A, Raimann E, Colombo M y col. Evaluación nutricional en pacientes con enfermedad de Gaucher en Chile. Libro Resumen del XII Simposio Latinoamericano de Enfermedades de Depósito Lisosomal 2007;96.
30. Cathey SS., Kudo M, Tiede S, Raas-Rothschild A, Braulke T, Beck M y col. Molecular order of mucopolipidosis II and III nomenclature. *Am J Med Genet* 2008;146A: 512-513.
31. Céspedes A, Alvarez H, Arencibia C, Dama F, Granados J, León L y col. Programa de Desarrollo 2000. En: *Genética Clínica*. Editorial Ciencias Médicas, 1987.
32. Chabás A., Coll MJ, Pámpols T. Enfermedades Lisosomales. En: *Del Cromosoma al Gen*. Libro Conmemorativo del 25 Aniversario del Instituto de Bioquímica Clínica. Editorial de la Diputación de Barcelona. Barcelona. España. 1995;317-388.
33. Chamoles N, Gaglioli D, Sologuestua A y col. Diagnóstico de ECM desde 1970 hasta 1999. Libro Resumen 2d Congreso Latinoamericano de EIM y Pesquisa Neonatal. 1999;99.

34. Chamoles NA, Blanco M, Gaggioli D, Casentini C. Hurler-like phenotype: enzymatic diagnosis in dried blood spots on filter paper. *Clin Chem* 2001;47:780–781.
35. Chamoles NA, Blanco M, Gaggioli D, Casentini C. Tay-Sachs and Sandhoff diseases: enzymatic diagnosis in dried blood spots on filter paper: retrospective diagnoses in newborn-screening cards. *Clin Chim Acta* 2002;318:133–137.
36. Chamoles NA, Niizawa G, Blanco M, Gaggioli D, Casentini C. Glycogen storage disease type II: enzymatic screening in dried blood spots on filter paper. *Clin Chim Acta* 2004;347:97–102.
37. Chen CS, Bach G, Pagano RE. Abnormal transport along the lysosomal pathway in mucopolidosis, type IV disease. *Proc Nat Acad Sci* 1998; 95:6373-6378.
38. Chinen S, Tana T, Kohagura K, Yamazato M, Iseki K, Takishita S. Two unusual cases of Anderson-Fabry disease in a Japanese family. *Clin Nephrol*. 2005;63(5):390-393.
39. Chinen Y, Tohma T, Izumikawa Y, Uehara H, Ohta T. Sanfilippo type B syndrome: five patients with an R565P homozygous mutation in the alpha-N-acetylglucosaminidase gene from the Okinawa islands in Japan. *J Hum Genet*. 2005;50(7):357-359.
40. Cintado A, Companioni O, Nazabal M, Camacho H, Ferrer A, De Cossio ME y col. Admixture estimates for the population of Havana City, *Ann Hum Biol* 2009;36(3):350-360.
41. Civallero G, Michelin K, de Mari J, Viapiana M, Burin M, Coelho JC y col. Twelve different enzyme assays on dried-blood filter paper samples for detection of patients with selected lysosomal storage diseases. *Clin Chem* 2006;372:98–102.
42. Coelho JC, Wajner M, Burin MG, Vargas CR, Giugliani R. Selective screening of 10 000 high-risk Brazilian patients for the detection of inborn errors of metabolism. *Eur J Pediatr* 1997;156: 650–654.
43. Coll MJ. Conferencia en el Curso de post grado. Errores congénitos del metabolismo con afectación del SNC. Bases y principios. Universidad Autónoma de Barcelona. España, 1999.

44. Cox TM. Biomarkers in lysosomal storage diseases: a review. *Acta Paediatr Suppl.* 2005; 94(447):39-42.
45. Danon MJ, Oh SJ, DiMauro S, Manaligod JR, Eastwood A, Naidu S y col. Lysosomal glycogen storage disease with normal acid maltase. *Neurology* 1981;31:51-57.
46. Damiani A. Fenilcetonuria en Cuba. *Rev Cub Aliment Nutr* 1993,7(1):64-66.
47. D'Azzo A, Andria G, Strisciuglio P, Galjaard H. Galactosialidosis. En: Scriver C R, Beaudet AL, Sly WS, Valle D. (eds.): *The Metabolic & Molecular Bases of Inherited Disease*. Vol. III (8th ed.) New York: McGraw-Hill, 2001:3811-3826.
48. De Braekeler M. Hereditary disorders in Saguenay-Lac-St Jean (Quebec, Canada). *Hum Hered* 1991;41:141-146.
49. de Duve C, Pressman BC, Gianetto R, Wattiaux R, Appelmanns F. Tissue fractionation studies. 6. Intracellular distribution patterns of enzymes in rat-liver tissue. *Biochem J* 1955;60(4):604-617.
50. de Gasperi R, Raghavan SS, Gama MA, Kolodny EH, Carrier C, Rubenstein P y col. Measurements from normal umbilical cord blood of four enzymatic activities:  $\alpha$ -L-iduronidase (Hurler), galactocerebrosidase (globoid cell leukodystrophy), arylsulfatase A (metachromatic leukodystrophy), arylsulfatase B (Maroteaux-Lamy) *Bone Marrow Transpl* 2000;25:541-544.
51. de Geest N, Bonten E, Mann L., de Sousa-Hitzler, J Hahn C, d'Azzo A. Systemic and neurologic abnormalities distinguish the lysosomal disorders sialidosis and galactosialidosis in mice. *Hum Molec Genet* 2002;11:1455-1464.
52. de Robertis E, Hib J, Ponzio R. Sistema de endomembranas. Lisosomas. En *Biología Celular y Molecular*. Duodécima edición. Ediciones El Ateneo. 1997;256-263.
53. Declaración de Helsinki de la AMM - Principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos [Internet]. [cited 2010 Jul(21)]; Disponible en: <http://www.wma.net/es/30publications/10policies/b3/index.html>
54. Desnick RJ. Enzyme replacement and beyond. *J Inherit Metab Dis* 2001;24:251-265.



55. Dietz HC. New Therapeutic Approaches to Mendelian Disorders. *N Engl J Med* 2010;363:852-863.
56. Diez A. Errores Congénitos del metabolismo. Congreso de Pediatría 1984. La Habana. Cuba.
57. Dionisi-Vici C, Rizzo AB, Burlina U, Caruso G, Sabetta G, Uziel U. Inborn errors of metabolism in the Italian pediatric population: a national retrospective survey *J Pediatr* 2002;140:321-327.
58. Dodelson R, Paschini A, Angaroni CJ, Giner A. Plasma chitotriosidase activity in Argentinian patients with Gaucher disease, various lysosomal diseases and other inherited metabolic disorders. *Medicina (B Aires)* 1997; 57(6):677-684.
59. Dodelson R, Guelbert N, Paschini A, Oller A, Giner A. Prevalencia relativa de las patologías de atesoramiento lisosomal (PALS) reconocidas en CEMECO, Córdoba, Argentina, Período 1981-2004. V Congreso Latinoamericano de EIM y Pesquisa Neonatal. 2005;177.
60. Dragoski M, Annetta I, Marquez M, Alcaraz S, Luchetta P Biomarcadores em la enfermedad de Gaucher. Evaluación de ferritina em 8 adultos. Libro Resumen del XII Simposio Latinoamericano de Enfermedades de Depósito Lisosomal 2007;97.
61. Dyce E, Castro J, Menéndez I, Quirce R. Análisis clínico, bioquímico y genético de un paciente con Gangliosidosis generalizada. *Rev Esp Pediatr* 1993;49(6):545-547.
62. Edelmann L, Yang Y, Kornreich R. Molecular genetic testing for metabolic disorders. En: *Molecular Pathology in Clinical Medicine*. Ed. Debra GB Leonard. Springer, 2007.
63. Emre S, Terzioglu M, Coskun T, Tokath A, Ozalp I, Müller V y col. Biochemical and molecular analysis of mucopolysaccharidoses in Turkey. *Turk J Pediatr* 2002; 44:13–17.
64. Encarnacao M, Lacerda L, Costa R, Prata MJ, Coutinho MF, Ribeiro H, y col. Molecular analysis of the GNPTAB and GNPTG genes in 13 patients with mucopolisidosis type II or type III - identification of eight novel mutations. *Clin Genet* 2009;76:76-84.

65. Esposito S, Balzano N, Daniele A, Villani GRD, Perkins K, Weber B y col. Heparan N-sulfatase gene: two novel mutations and transient expression of 15 defects. *Biochim Biophys Acta* 2000;1501:1-11.
66. Eto Y, Shen JS, Meng KL, Ohashi T. Treatment of lysosomal storage disorders: Cell therapy and gene therapy. *J Inherit Metab Dis* 2004; 27:411-415.
67. Farrell DF. Heterozygote detection in MLD: allelic mutations at the ARA locus. *Hum Genet* 1981;59:129-134.
68. Finkelstein JD. Homocysteine: a history in progress. *Nutr Rev.* 2000;58(7):193-204.
69. Fletcher JM. Screening for lysosomal storage disorders. A clinical perspective. *J Inherit Metab Dis* 2006,29:405–408.
70. Fratantoni JC, Neufeld EF, Uhlendorf BW, Jacobson CB. Intrauterine diagnosis of the hurler and hunter syndromes. *N Engl J Med.* 1969;280(13):686-688.
71. Frey LC, Ringel SP, Filley CM. The natural history of cognitive dysfunction in late-onset GM2 gangliosidosis. *Arch Neurol* 2005; 62:989-994.
72. Fuller M, Meikle P, Hopwood J. Epidemiology of lysosomal storage diseases: an overview Fabry Disease Perspectives from 5 Years of FOS Oxford: Oxford Pharma Genesis; 2006. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/bookshelf/br.fcgi?book=fabry>
73. Gahl WA, Thoene JG, Schneider J A Cystinosis. *New Eng J Med* 2002;347:111-121.
74. Galjaard H, Hoogeveen A, de Wit-Verbeek HA, Reuser AJ, Ho MW, Robinson D Genetic heterogeneity in GM1 gangliosidosis. *Nature* 1975;257:60-62.
75. Galjaard H, Mekes M, de Jong JE, Niermeijer MF A method for rapid prenatal diagnosis of glycogenosis II (Pompe's disease). *Clin Chim Acta* 1973;49(3):361-375.
76. Galjaard H, Niermeijer MF, Hahnemann N, Mohr J, Sorensen SA. An example of rapid prenatal diagnosis of Fabry's disease using microtechniques. *Clin Genet* 1974;5(4):368-377.
77. Galjaard H. *Genetic Metabolic Disease. Early diagnoses and prenatal analysis* Elsevier/North Holland Biomedical Press. Amsterdam. New York. Oxford, 1980.

78. Galluzzi P, Rufa A, Balestri P, Cerase A, Federico A Imaging of fucosidosis Type I. *Am J Neuroradiology* 2001;22:777-780.
79. García MT. Errores congénitos del metabolismo con repercusión en el sistema nervioso del recién nacido. *Rev Neurol* 2000; 31(7):604-614.
80. Garrod AE. Inborn errors of metabolism. Croonian Lectures, *Lancet* 1908;1(73):142-220.
81. Garver WS, Jelinek D, Meaney FJ, Flynn J, Pettit KM, Shepherd G y col. The National Niemann-Pick Type C1 Disease Database: correlation of lipid profiles, mutations, and biochemical phenotypes. *J Lipid Res* 2010; 51(2):406-415.
82. Germain DP. Fabry's disease (alpha-galactosidase-A deficiency): physiopathology, clinical signs, and genetic aspects. *J Soc Biol* 2002;196(2):161-173.
83. Gieselmann V. What can cell biology tell us about heterogeneity in lysosomal storage diseases? *Acta Pædiatrica* 2005; 94(Suppl 447):80–86.
84. Gieselmann V, Braulke T. Lysosomes. *Bioch Biophys Acta*, 2009; 1793:603–604.
85. Gilbert E, Dawson G, Zu Rheim, Opitz J, Spranger J. Pathological, histochemical, ultrastructural and biochemical observations in four cases. *Z Kinderheilk* 1973;114:259-292.
86. Giugliani R, Coelho JC. Diagnóstico de erros inatos do metabolismo na América Latina. *Brazilian J Genet* 1997;20(1):147-154.
87. Giugliani R., Mandelli J., Wajner A, Pires R., Coelho JC. Biochemical Characteristics of Alfa-L-Iduronidase. *J Inher Metab Dis* 1998;2 (Suppl 2):114-120.
88. Giugliani R. Inborn errors of metabolism in Latin America: challenges and opportunities. *J Inher Metab Dis* 2010;33 (Suppl 2):315–320.
89. Glaser JH, Sly WS  $\beta$ -Glucuronidase deficiency mucopolysaccharidosis: methods for enzymatic diagnosis. *J Lab Clin Med* 1973; 82:969-977.
90. González E, Aguilar MJ, Álvarez. J, García PA. Enfermedad de Gaucher y su manejo clínico en el paciente pediátrico *Rev Clin Med Fam* 2010;3(2):114-120.
91. Gort L. Análisi molecular de la mucopolisacaridosi I, la mucopolisacaridosi II i la leucodistròfia metacromàtica en els pacients espanyols. Utilitat diagnòstica i correlació genotip-fenotip. Tesis Doctoral 2000. Instituto de Bioquímica Clínica, Barcelona. España.

92. Greiner-Tollersrud OK, Berg T. Lysosomal storage disorders. In: Saftig P, editor. Lysosomes. New York: Springer Science, Landes Bioscience 2005;60–73.
93. Groener JE, de Graaf FL, Poorthuis BJ, Kanhai HH. Prenatal diagnosis of lysosomal storage diseases using fetal blood. *Prenat Diagn* 1999;19(10):930-933.
94. Grunewald S, Matthijs G, Jaeken J. Congenital disorders of glycosylation: a review. *Pediatr Res*. 2002;52(5):618-624.
95. Gutiérrez E, Vega JL, Morales E, Monaga, M, Robaina Z, Campos D. Una nueva alternativa diagnóstica: estudio de las enfermedades lisosomales por métodos enzimáticos. *Rev Cub Med Gen Integr* 2007;23(1):0-0. Disponible en: <<http://scielo.sld.cu/scielo.php?>
96. Haataja L, Parkkola R, Sonninen P, Vanhanen S-L, Schleutker J, Aarimaa T y col. Phenotypic variation and magnetic resonance imaging (MRI) in Salla disease, a free sialic acid storage disorder. *Neuropediatrics* 1994; 25: 238-244.
97. Hagemans ML, Winkel LP, Hop WC, Reuser AJ, Van Doorn PA, Van der Ploeg AT. Disease severity in children and adults with Pompe disease related to age and disease duration. *Neurology*. 2005;64(12):2139-2141.
98. Hardingham T. Proteoglycans: their structure, interactions and molecular organization in cartilage. *Biochem Soc Trans* 1981;9(6):489-497.
99. Hazer K, Rolfs P, Zschesche M, Mengel E, Backes J, Kustermann-Kuhn B, Bruchelt G y col. Niemann-Pick Disease Type A and B are clinically but also enzymatically heterogeneous Pitfall in the Laboratory Diagnosis of Shingomyelinase Deficiency Associated with the mutation Q292 K. *Neuropediatrics* 2003;34:301–306.
100. Herber S, Giugliani L, Dacier C, Netto C, Sanseverino MT, Refosco L y col. Analysis of metabolic disorders diagnosed by the information service on inborn errors of metabolism (SIEM). VI Congreso Latinoamericano de EIM y Pesquisa Neonatal. 2007:192.
101. Heredero L., Atencio G., Vega JL. Diagnóstico precoz de la Fenilcetonuria en Cuba (informe preliminar). *Rev Cub Ped* 1986; 58(1):27-33.
102. Hers HG. Inborn lysosomal diseases. *Gastroenterology* 1965, 48: 625.

103. Hers HG. Alpha-glucosidase deficiency in generalized glycogen storage disease (Pompe's disease). *Biochem J* 1963; 86:11-16.
104. Hoffman GF. Selective Screening for inborn errors of metabolism, past, present and future. *Eur J Pediatr* 1994; 153: suppl,1,52-58.
105. Holleran WM, Ziegler SG, Goker-Alpan O, Eblan MJ, Elias PM, Schiffmann R y col. Skin abnormalities as an early predictor of neurologic outcome in Gaucher disease. *Clin Genet* 2006;69(4):355-357.
106. Hopwood JJ, Morris CP. The mucopolysaccharidoses: Diagnosis, molecular genetics and treatment. *Mol Biol Med* 1990, 7:381-404.
107. Imrie J, Vijayaraghaven S, Whitehouse C, Harris S, Heptinstall L, Church H y col. Niemann-Pick disease type C in adults. *J Inherit Metab Dis.* 2002;25(6):491-500.
108. Imundo L, Leduc CA, Guha S, Brown M, Perino G, Gushulak L y col. A complete deficiency of Hyaluronoglucosaminidase 1 (HYAL1) presenting as familial juvenile idiopathic arthritis. *J Inherit Metab Dis* 2011 May 11.[Epub ahead of print].
109. Inui K, Wenger D. Usefulness of 4-methylumbelliferyl-6 sulfo-2-acetamido-2-deoxy- $\beta$ -D-glucopyranoside for the diagnosis of GM2 gangliosidoses in leukocytes. *Clin Genet* 1984;26:318-321.
110. Jalanko A, Braulke T. Neuronal ceroid lipofuscinoses. *Biochim Biophys Acta.* 2009;1793(4):697-709.
111. Jmoudiak M, Futerman AH. Gaucher disease: pathological mechanisms and modern management. *Br J Haematol.* 2005;129(2):178-188
112. Johnson WG.  $\beta$ -Galactosidase Deficiency: GM1 Gangliosidosis, Morquio B Disease, and Galactosialidosis. En: Rosenberg RN, DiMauro S, Paulson HL, Ptacek L, Nestler EJ. *The Molecular and genetic Basis of Neurologic and Psychiatric Disease.* Fourth edition. Wolters Kluwer. Lippincott Williams & Wilkins. Philadelphia. USA, 2008:273-281.
113. Johnson WG, Chutorian A M. Inheritance of the enzyme defect in a new hexosaminidase deficiency disease. *Ann Neurol*1978;4:399-403.

114. Johnson WG. Disorders of glycoprotein degradation: sialidosis, fucosidosis,  $\alpha$ -mannosidosis,  $\beta$ -mannosidosis and aspartylglycosaminuria. En: Rosenberg RN, DiMauro S, Paulson HL, Ptacek L, Nestler EJ. The Molecular and genetic Basis of Neurologic and Psychiatric Disease. Fourth edition. ed Wolters Kluwer. Lippincott Williams & Wilkins Health. Philadelphia. USA, 2008:261-272.
115. Jolly RD, Desnick RJ, Opitz JM. Inborn errors of lysosomal catabolism principles of heterozygote detection. *Am J Med Genet* 1979;4(3):293-307.
116. Kalmes R, Huret JL. Hardy-Weinberg. *Atlas Genet Cytogenet OncolHaematol*. February 2001: <http://AtlasGeneticsOncology.org/Educ/HardySp.html>
117. Kattner E, Schäfer A, Harzer K. Hydrops fetalis: manifestation in lysosomal storage diseases including Farber disease. *Eur J Pediatr* 1997;156(4):292-295.
118. Kemper AR, Hwu WL, Lloyd-Puryear M, Kishnani PS. Pediatrics. Newborn screening for Pompe disease: synthesis of the evidence and development of screening recommendations. 2007;120(5):1327-1334.
119. Khan NL, Wood NW, Bhatia KP. Autosomal recessive, DYT2-like primary torsion dystonia: a new family. *Neurology* 2003; 61:1801-1803.
120. Kleijer WJ. First-trimester diagnosis of genetic metabolic disorders. *Contrib Gynecol Obstet* 1986;15:80-89.
121. Kolodny EH y Sathe S. Metachromatic leukodystrophy and multiple sulfatase deficiency: sulfatide lipidosis En: Rosenberg RN, DiMauro S, Paulson HL, Ptacek L, Nestler EJ. The Molecular and genetic Basis of Neurologic and Psychiatric Disease. Fourth edition. ed Wolters Kluwer. Lippincott Williams & Wilkins Health. Philadelphia. USA, 2008:230-238.
122. Kolter T, Sandhoff K. Sphingolipid metabolism diseases. *Biochim Biophys Acta* 2006,1758:2057–2079.
123. Krasnopolskaya KD, Mirenburg TV, Aronovlch EL, Lebedeva TV, Odinokova O N, Demina NA y col. Diagnosis and Prevention of Lysosomal Storage Diseases in Russia. *J Inher Metab Dis* 1993;16:994-1002.
124. Krivit W, Shapiro EG. Wolman disease successfully treated by bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplan* 2000;26(5):567-570.

125. Lachmann RH, Grant IR, Halsall D, Cox TM. Twin pairs showing discordance of phenotype in adult Gaucher's disease. *QJM* 2004;97:199-204.
126. Laforet P, Nicolino M., Eymard B., Puech JP, Caillaud, C, Poenaru, L y col. Juvenile and adult-onset acid maltase deficiency in France: genotype-phenotype correlation. *Neurology* 2000, 55:1122-1128.
127. Lantigua A, Lemus MT, Marcheco B. Medical genetic services in Cuba. *Rev Cub Genet Comunit* 2007;1(1):15-19.
128. Lantigua A, Portuondo M, Collazo T, Lardoeyt R. Epidemiology of Prenatal Genetic and Environmental Factors of Mental Retardation in Cuba. *MEDICC Review* 2008;10(1):29-36.
129. Larenas D, Reynes J, Loredó A. Enfermedad de Niemann-Pick. Revisión de 25 años en un hospital de tercer nivel. *Acta Pediatr Mex* 1995;16(6):232-268.
130. Leroy JG, Martin JJ. Mucopolidosis II (I-cell disease): present status of knowledge. *Birth Defects* 1975;11(6):283-293.
131. Li Y, Scott CR, Chamoles NA, Ghavami A, Pinto BM, Turecek F, Gelb MH. Direct Multiplex Assay of Lysosomal Enzymes in Dried Blood Spots for Newborn Screening. *Clin Chem* 2004;50:10; 1785–1796.
132. Liem KO, Giesberts MA, van de Kamp JJ, van Pelt JF, Hooghwinkel GJ. Sanfilippo B disease in two related sibships. *Biochemical studies in patients, parents and sibs. Clin Genet* 1976;10(5):273-278.
133. Lin SP, Chang JH, de la Cadena MP, Chang TF, Lee-Chen GJ. Mutation identification and characterization of a Taiwanese patient with fucosidosis. *J Hum Genet* 2007; 52(6):553-556.
134. Llauradó RA, Mar J, González J. Distribución geográfica de la fucosidosis en la provincia de Holguín. Cuba. *Rev Esp Pediatr* 1994;50(3):258-260.
135. Llauradó RA. Caracterización clínico molecular de la fucosidosis de la provincia de Holguín. II Congreso Latinoamericano de errores innatos del metabolismo y pesquisa neonatal. Santiago de Chile, 1999.
136. Llauradó RA, Willems P, Coucke P, Santos N, Tamayo VJ, Mar J y col. Diagnóstico molecular prenatal de fucosidosis. Presentación de un caso. *Rev Esp Pediatr* 2000; 56(5):434-436.

137. López-Saura, PA. Deficiencias de enzimas lisosomales en Cuba, caracterización de la actividad residual de hexosaminidasa en un caso mediante un nuevo micrométodo. Tesis Doctoral.1979 La Habana, Cuba.
138. Lowry OH. Protein measurement with folin-phenol reagent. J Biol Chem 1951; 193:265-268.
139. Lyon G, Adams RD, Kolodn EH. Neurology of Hereditary Metabolic Diseases of Children. Mc Graw Hill. Health Professions Division. 1996
140. Mabe P, Leistner S, Schwartz I, Matte U, Giugliani R. Las Mucopolisacaridosis. En. Colombo M, Cornejo V. Errores innatos en el metabolismo del niño,2da edición Santiago de Chile: Editorial.Universitaria; 2003:225-256.
141. Mabe P, Valiente A, Soto V, Cabello F, Cornejo V, Raimann E. Enfermedades de depósito lisosomal: experiencia de un laboratorio de referencia en Chile. IV Congreso Latinoamericano de EIM y Pesquisa Neonatal. 2003: 241.
142. Mabe SP. Las Mucopolisacaridosis. Rev Chil Nutr Online 2004;31(1):8-16.Disponible en:<http://www.scielo.cl/scielo.php>.
143. Maceira MC, Atienza G. Detección precoz de mucopolisacaridosis y oligosacaridosis en el período neonatal mediante cribado poblacional. Revisión sistemática. Madrid: Ministerio de Sanidad y Consumo. Avalia-t Nº 2006/08
144. Malinowska M, Jakóbkiewicz-Banecka J, Kloska A, Tylki-Szymańska A, Czartoryska B, Piotrowska E y col. Abnormalities in the hair morphology of patients with some but not all types of mucopolysaccharidoses. Eur J Pediatr 2008;167(2):203-209.
145. Malm G, Lund AM, Mansson JE, Heiberg A. Mucopolysaccharidoses in the Scandinavian countries: incidence and prevalence. Acta Paediatr 2008; 97(11):1577-1581.
146. Marcheco B. La Genética en la Salud Pública: el desafío del acceso de todos a los beneficios. Rev Cub Genet Comunit 2007;1(1):5-6.



147. Marcheco B, Llibre JJ, McKeigue P, Collazo T, Fuentes E, Valhuerdi A y col. Interactions between genetic admixture, ethnic identity, APOE genotype and dementia prevalence in an admixed Cuban sample; a cross-sectional population survey and nested case-control study. *BMC Medical Genetics* 2011;12:43.doi:10.1186/1471-2350-12-43
148. Marcos L, Pérez AJ, González B, Tamayo V. Situación actual del seguimiento clínico de la Fenilcetonuria en Cuba. *Rev Esp Nutr Comunit* 2002; 8(3-4):108-112.
149. Markley SU. New proteins from old diseases provide novel insights in cell biology. *Curr Opin Neurol* 2001;14(6):805-881.
150. Marquardt T, Denecke J Congenital disorders of glycosylation: review of their molecular bases, clinical presentations and specific therapies. *Europ J Pediatr* 2003;62:359-379.
151. Marques E, Bruno C, Henrique F, Pontes A, Giugliani R. Características epidemiológicas, clínicas e bioquímicas das mucopolissacaridoses em um Estado do Nordeste do Brasil. VI Congreso Latinoamericano de EIM y Pesquisa Neonatal. 2007:166.
152. Marsden D. Infantile onset Pompe disease: a report of physician narratives from an epidemiologic study. *Genet Med* 2005;7(2):147-150.
153. Martins AM, Tabares FM, Oliveira RB, Macedo DM, Aoki MM, Nakahara MV y col. Características de um ambulatorio geral de doenças metabólicas hereditarias, casuística e diagnóstico. II Congreso Latinoamericano de EIM y Pesquisa Neonatal. 1999:102.
154. Martin MJ, Legarda M, Dalmau J. Errores innatos del metabolismo: aproximación diagnóstica en Atención Primaria. *Bol Pediatr* 2007;47:111-115.
155. Matalon R, Matalon K M, Bhatia G. The Mucopolysaccharidoses and the Mucopolidoses. En: Rosenberg RN, DiMauro S, Paulson HL, Ptacek L, Nestler EJ. *The Molecular and genetic Basis of Neurologic and Psychiatric Disease*. Fourth edition. Wolters Kluwer. Lippincott Williams & Wilkins. Philadelphia. USA, 2008: 245-260.

156. Maya A. Situación actual de los programas de detección neonatal en España. En: 10 años del Premio Reina Sofía de Investigación sobre Prevención de las Deficiencias. Real Patronato de Prevención de Atención a Personas con Minusvalía. Ministerio de Asuntos sociales. Madrid. 1994;177-185.
157. McGovern MM, Aron A, Brodie SE, Desnick RJ, Wasserstein MP. Natural history of Type A Niemann-Pick disease: possible endpoints for therapeutic trials. *Neurology* 2006;66(2):228-232
158. Meikle PJ, Hopwood JJ., Clague AE, Carey WF. Prevalence of lysosomal storage disorders. *JAMA* 1999;281:249-254.
159. Meikle PJ, Ranieri E, Simonsen H, Rozaklis T, Ramsay SL, Whitfield PD y col. Newborn screening for lysosomal storage disorders: clinical evaluation of a two-tier strategy *Pediatrics* 2004;114(4):909-916.
160. Mendizabal I, Sandoval K, Berniell G, Calafell F, Salas A, Martínez A y col. Genetic origin, admixture, and asymmetry in maternal and paternal human lineages in Cuba. *BMC Evolut Biol* 2008;8:213-218.
161. Menéndez C. Diagnóstico enzimático de las mucopolisacaridosis en Cuba. Tesis de Maestría en Bioquímica Clínica. 2000. Facultad de Biología. Universidad de la Habana. La Habana. Cuba.
162. Menéndez C, González S, Peña M, Méndez LA, Quiñones O, Diepa N y col. Diagnóstico prenatal enzimático de Enfermedades Lisosomales en Cuba. *Rev Ecuat Neurol* 2008;17(1-3):101-105.
163. Menéndez C, Oliver S, Blanco E, Beguez E, Pascual C, Benítez MC. Estudio clínico y bioquímico de dos pacientes con enfermedad de Niemann-Pick. *Rev Cub Pediatr* 1991;63(4):53-57.
164. Menéndez C, Zaldívar C, González-Quevedo A. Mucopolisacaridosis tipo I en la población cubana. *Rev Neurol* 2003;37(6):525-528.
165. Menéndez C, Zaldívar C, González-Quevedo A. Errores innatos del metabolismo. Enfermedades lisosomales. *Rev Cub Pediatr* 2001;74(1):68-76.
166. Menéndez C, González S, Peña M, Zaldívar C, González-Quevedo A. Mucopolisacaridosis con afectación del Sistema Nervioso Central. *Rev Mex Neuroci* 2006;7(2):150-155.

167. Menéndez C., Zaldívar C., González-Quevedo A. Mucopolisacaridosis tipo I en la población cubana. *Rev Neurol* 2003;37(6):525-528.
168. Menéndez I, Menéndez C, Borbolla L. Mucopolisacaridosis III. *Rev Cub Med* 1995;34(2):134-140.
169. Menéndez I, Pozo D, Mar J, Castro J, Hernández M. Fucosidosis. Una enfermedad por almacenamiento lisosomal. *Rev Cub Pediatr* 1993;65(2):138-144.
170. Menéndez I, Menéndez C, Cepero F, Gutiérrez E. Mucopolisacaridosis II. Estudio clínico, bioquímico y genético. *Rev Cub Pediatr* 1998;70(1):53-58
171. Menéndez I, Pozo D, Mar J, Castro J, Hernández M. Fucosidosis. Una enfermedad por almacenamiento lisosomal. *Rev Cub Pediatr* 1993;65(2):138-144.
172. Menéndez I, Menéndez C, Borbolla L. Mucopolisacaridosis III. *Rev Cub Med* 1995;34(2):134-140.
173. Menéndez, C., González, S, Zaldívar, C, González-Quevedo A. Comportamiento de la GM1 gangliosidosis en Cuba. *Medisur* 2007;5(Especial ECV):115-118. Disponible en:<http://www.medisur.cfg.sld.cu>
174. Merk T, Wibmer T, Schumann C, Krüger S. Glycogen storage disease type II (Pompe disease) influence of enzyme replacement therapy in adults. *Eur J Neurol* 2009;16(2):274-277.
175. Michalski JC, Klein A. Glycoprotein lysosomal storage disorders  $\alpha$ -D-mannosidases,  $\alpha$ -L-fucosidase and  $\alpha$ -N-acetylgalactosaminidase deficiency. *Biochim Biophys Acta* 1999;1455(2-3):69-84.
176. Michelakakis H, Dimitriou E, Tsagaraki S, Giouroukos S, Schulpis K, Bartsocas CS. Lysosomal storage diseases in Greece. *Genet Couns* 1995;6:43-47.
177. Micheletti C, Kyosen SO, Secches TAV, Correa J, Franco JS, Frangipani BJ y col. Perfil de atendimento do ambulatorio multidisciplinar de um centro de referencia em errors inatos do metabolismo (CREIM). VI Congreso Latinoamericano de EIM y Pesquisa Neonatal. 2007;193.
178. Michelin K, Wajner A, Souza FTS, Mello AS, Burin MG, Pereira ML y col. Enfermedad de Gaucher: datos epidemiológicos de casos diagnosticados en un laboratorio referencial de Brasil. IV Congreso Latinoamericano de EIM y Pesquisa Neonatal. 2003:229.

179. Moammar H, Cheriyan G, Mathew R, Al-Sannaa N. Incidence and patterns of inborn errors of metabolism in the Eastern Province of Saudi Arabia, 1983-2008. *Ann Saudi Med* 2010;30(4):271-277.
180. Möhrenschrager M, Ring J, Abeck D. Options in the treatment of Fabry disease. *Pediatr Dermatol* 2003;20(4):373-374.
181. Mole SE, Williams RE, Goebel HH. Correlations between genotype, ultrastructural morphology and clinical phenotype in the neuronal ceroid lipofuscinoses. *Neurogenetics* 2005;6:107-126.
182. Monaga M, de León NE, Alonso E, Pampín Y, Campos D, Herrera D. Leucodistrofia metacromática neonatal: primer caso reportado en Cuba. *Arch Med* 2008; 4(3):2. Disponible en: <http://www.archivosdemedicina.com>
183. Montano AM, Tomatsu S, Brusius A, Smith M, Orii T. Growth charts for patients affected with Morquio A disease. *Am J Med Genet* 2008;146A:1286-1295.
184. Moore D, Connock MJ, Wraith E, Lavery C. The prevalence of and survival in Mucopolysaccharidosis I: Hurler, Hurler-Scheie and Scheie syndromes in the UK. *Orphanet J Rare Dis.* 2008;3:24.
185. Moser HW, Linke T, Fensom AH. Acid ceramidase deficiency: Farber lipogranulomatosis. En: Scriver CR, Beaudet AL, Sly Ws, eds. *The Metabolic and Molecular Basis of Inherited Disease*. 8th ed. New York: McGraw-Hill, 2001;3573-3588.
186. Moser. HW. Farber Disease: Acid Ceramidase Deficiency and Farber Lipogranulomatosis. En: Rosenberg R, DiMauro S, Paulson H. Ptáček L and Nestler E. *The Molecular and Genetic Basis of Neurologic and Psychiatric Disease*. 4ta. Edición. 2008. Editores Lippincott Williams & Wilkins, a Wolters Kluwer business. Philadelphia, PA 19106:282-287.
187. Mueller RF, Young ID. *Matemática y genética de poblaciones*. Emery's Genética Médica 2001. Edición Marbán Libros, S.L.:113-124.
188. Myerowitz R, Lawson D, Mizukami H, Mi Y, Tiff CJ, Proia RL. Molecular pathophysiology in Tay-Sachs and Sandhoff diseases as revealed by gene expression profiling. *Hum Mol Genet* 2002;11(11):1343-1350.

189. Nance CS, Klein C J, Banikazemi M, Dikman SH, Phelps RG, McArthur J C y col. Later-onset Fabry disease: an adult variant presenting with the cramp-fasciculation syndrome. *Arch Neurol* 2006;63:453-457.
190. Natowicz MR, Short MP, Wang Y, Dickersin GR, Gebhardt MC, Rosenthal DI y col. Clinical and biochemical manifestations of hyaluronidase deficiency. *New Eng J Med* 1996;335:1029-1033.
191. Nelson W. *Tratado de Pediatría*. La Habana. Ediciones Revolucionarias, 1988. Nelson J. Incidence of the mucopolysaccharidoses in Northern Ireland. *Hum Genet* 1997;101:355–358.
192. Neufeld E F, Muenzer J. The mucopolysaccharidoses. En: Scriver C R, Beaudet A L, Sly WS, Valle, D. (eds.) *The Metabolic & Molecular Bases of Inherited Disease*. Vol. III. (8th ed.) New York: McGraw-Hill, 2001.
193. Nishino I. Lysosomal Membrane Disorders: LAMP-2 deficiency. En: Rosenberg RN, DiMauro S, Paulson HL, Ptacek L, Nestler EJ. *The Molecular and genetic Basis of Neurologic and Psychiatric Disease*. Fourth edition. ed Wolters Kluwer. Lippincott Williams & Wilkins Health. Philadelphia. USA, 2008;293-298.
194. O'Brien JS, Okada S, Chen A, Fillerup DL. Tay-sachs disease. Detection of heterozygotes and homozygotes by serum hexosaminidase assay. *N Engl J Med*. 1970;283(1):15-20.
195. Orphanet Report Series - Prevalence of rare diseases: Bibliographic data - May 2010-Number 1 :[http://www.orpha.net/orphacom/cahiers/docs/GB/Prevalence\\_of\\_rare\\_diseases\\_by\\_alphabetical\\_list.pdf](http://www.orpha.net/orphacom/cahiers/docs/GB/Prevalence_of_rare_diseases_by_alphabetical_list.pdf).
196. Ozand PT, Gascon G, al Aqeel A, Roberts G, Dhalla M, Subramanyam SB. Prevalence of Different Types of Lysosomal Storage Diseases in Saudi Arabia. *J Inher Metab Dis* 1990;(13):849-861.
197. Ozandi PT, Gascon G, Aqeel A, Roberts G, Dhalla M. Prevalence of Different Types of Lysosomal Storage Diseases in Saudi Arabia. *J Inher Metab Dis* 1990;13:849-861.
198. Ozkara HA, Topçu M. Sphingolipidoses in Turkey. *Brain Dev* 2004;26(6):363-366.

199. Paciorkowski AR, Sathe S, Zeng BJ, Torres P, Rosengren SS, Kolodny E. Juvenile-onset G(M2)-gangliosidosis in an African-American child with nystagmus. *E. Pediatr Neurol* 2008;38(4):284-286.
200. Paik KH, Song SM, Ki CS, Yu H-W, Kim JS, Min KH y col. Identification of mutations in the GNPTA (MGC4170) gene coding for GlcNAc-phosphotransferase alpha/beta subunits in Korean patients with mucopolidosis type II or type IIIA. *Hum Mutat* 2005;26: 308-314.
201. Palmer RE, Amartino HM, Niizawa G, Blanco M, Pomponio RJ, Chamoles NA. Pompe disease (glycogen storage disease type II) in Argentineans: Clinical manifestations and identification of 9 novel mutations. *Neuromuscular Disorders* 2007;17:16–22.
202. Pámpols T, Briones P, Coll MJ, Chabás A, Girós ML, Lluçh M y col. Investigaciones Encaminadas a la Prevención de las Anomalías Cromosómicas y las Enfermedades Metabólicas Hereditarias. Premio Reina Sofía de Investigación sobre Prevención de las Deficiencias. Editora Real Patronato de Prevención y Atención a Personas con Minusvalía. Barcelona. España.1997.
203. Pámpols T. Del Cromosoma al Gen. Libro Conmemorativo del 25 Aniversario del Instituto de Bioquímica Clínica 1995. Editorial de la Diputación de Barcelona. España.
204. Park JK, Koprivica V, Andrews DQ, Madike V, Tayebi N, Stone DL y col. Glucocerebrosidase mutations among African-American patients with type 1 Gaucher disease. *Am J Med Genet* 2001;99(2):147-151.
205. Parkinson-Lawrence EJ, Shandala T, Prodoehl M, Plew R, Borlace GN, Brooks DA. Lysosomal storage disease: revealing lysosomal function and physiology. *Physiology (Bethesda)* 2010;25(2):102-115.
206. Pascual J, Diez A., Guzmán E, Rubí E. Errores congénitos del metabolismo y síndromes neurológicos. *Rev Cub Ped* 1973;45(2):165-181.
207. Pastor-Soler NM, Rafi MA, Hoffman JD, Hu D, Wenger DA. Metachromatic leukodystrophy in the Navajo Indian population: a splice site mutation in intron 4 of the arylsulfatase A gene. *Hum Mutat* 1994; 4:199-207.

208. Patel MS, Callahan JW, Zhang S, Chan AK, Unger S, Levin AV y col. Early-Infantile Galactosialidosis: Prenatal Presentation and Postnatal Follow-Up *Am J Med Genet* 1999;85:38–47.
209. Patrick AD, Willcox P, Stephens R, Kenyon VG. Prenatal diagnosis of Wolman's disease *J Med Genet* 1976;13(1):49-51.
210. Patrick AD, Young E, Kleijer WJ, Niermeijer MF. Prenatal diagnosis of Niemann-Pick disease type A using chromogenic substrate. *Lancet* 1977; 310 (8029):144.
211. Patterson MC. Congenital disorders of N-linked glycosylation. En: Rosenberg RN, DiMauro S, Paulson HL, Ptacek L, Nestler EJ. *The Molecular and genetic Basis of Neurologic and Psychiatric Disease*. Fourth edition. ed Wolters Kluwer. Lippincott Williams & Wilkins Health. Philadelphia. USA, 2008;672-682.
212. Penschaszadeh VB y Beiguelman B: Medical genetics services in Latin America: Report of a meeting of experts. *Pan Am J Public Health* 1998;3(6):409-420.
213. Pérez C, Mendoza H, Fortuna M, González D, Alcántara J, Díaz F y col. Errores innatos del metabolismo en al Clínica de diagnóstico del hospital infantil “Dr Robert Reid Cabral”, en Santo Domingo, Republica Dominicana. V Congreso Latinoamericano de EIM y Pesquisa Neonatal. 2005;133.
214. Perlman SL. Late-onset Tay-Sachs disease as a Friedreich ataxia phenocopy. *Arch Neurol* 2002; 59:1832.
215. Phupong V, Shotelersuk V. Prenatal exclusion of Pompe disease by electron microscopy. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 2006;37(5):1021-1024.
216. Pinto LL Vieira TA, Giugliani R, Schwartz IV. Expression of the disease on female carriers of X-linked lysosomal disorders: a brief review. *Orphanet J Rare Dis* 2010;5(1):14.
217. Pinto R, Caseiro C, Lemos M, Lopes L, Fontes A, Ribeiro H y col. Prevalence of lysosomal storage diseases in Portugal. *Eur J Hum Genet* 2004;12:87–92.
218. Poorthuis BJ, Wevers RA, Kleijer WF, Groener JE, de Jong JG, van Weely S y col. The frequency of lysosomal storage diseases in The Netherlands. *Hum Genet* 1999;105:151-156.

219. Porsch DB, Nunes AC, Milani V, Rossato LB, Mattos CB, Tsao M y col. Fabry disease in hemodialysis patients in southern Brazil: prevalence study and clinical report. *Ren Fail* 2008;30(9):825-830.
220. Poupětová H, Ledvinová J, Berná L, Dvoráková L, Kozich V, Elleder M. The birth prevalence of lysosomal storage disorders in the Czech Republic: comparison with data in different populations. *J Inherit Metab Dis*. 2010;33(4):387-396.
221. Prall FR, Drack A, Taylor M, Ku L, Olson JL, Gregory D y col. Ophthalmic manifestations of Danon disease. *Ophthalmology* 2006;113:1010-1013.
222. Prietsch V, Lindner M, Zschocke J, Nihan WL, Hoffmann GF. Emergency management of Inherited metabolic Disease. *J Inherit Metab Dis* 2002;25:531-546.
223. Raas-Rothschild A, Cormier-Daire V, Bao M, Genin E, Salomon R, Brewer K y col. Molecular basis of variant pseudo-Hurler polydystrophy (mucopolidosis IIIC). *J Clin Invest* 2000;105:673-681.
224. Raghuveer T, Garg U, Graf W. Inborn Errors of Metabolism in Infancy and Early Childhood: an Update. *Am Fam Physician* 2006;73:1981-1990.
225. Rauschka H, Colsch B, Baumann N, Wevers R, Schmidbauer M, Krammer My col. Late-onset metachromatic leukodystrophy: genotype strongly influences phenotype. *Neurology* 2006;67:859-863.
226. Reuser A, Halley D, de Wit E, Hoogeveen A, van der Kamp M, Mulder M y col. Intercellular exchange of lysosomal enzymes: enzyme assays in single human fibroblasts after co-cultivation. *Biochem Biophys Res Commun* 1976;69(2):311-318.
227. Ries M, . Ramaswami U, Parini R,. Lindblad B, Whybra C,. Willers I. The early clinical phenotype of Fabry disease: a study on 35 European children and adolescents *Eur J Pediatr* 2003;162:767-772
228. Robinson D, Thorpe R. Fluorescent assay of  $\alpha$ -L-fucosidase. *Clin Chim Acta* 1974;55:65-69.
229. Roces DP, Lüllmann-Rauch R, Peng J, Balducci C, Andersson C, Tollersrud O y col. Efficacy of enzyme replacement therapy in alpha-mannosidosis mice: a preclinical animal study. *Hum Mol Genet* 2004;13:1979-1988.



230. Rozenberg R, Kok F, Burin MG, Sá MC, Vasques C, Henriques-Souza AM y col. Diagnosis and molecular characterization of non-classic forms of Tay-Sachs disease in Brazil. *J Child Neurol*. 2006;21(6):540-544.
231. Rozenberg R, Pereira LV. The frequency of Tay-Sachs disease causing mutations in the Brazilian Jewish population justifies a carrier screening program. *Sao Paulo Med J* 2001;119(4):146-149.
232. Rozenfeld PA, Tarabuso A, Ebner R, Ramallo G, Fossati CA. successful approach for the detection of Fabry patients in Argentina. *Clin Genet* 2006;69(4):344-348.
233. Ruijter GJ, Boer M, Weykamp CW, de Vries R, van den Berg I, Janssens-Puister J y col. External quality assurance programme for enzymatic analysis of lysosomal storage diseases: a pilot study. *J Inherit Metab Dis* 2005;28(6):979-999.
234. Ruivo R, Anne C, Sagné C, Gasnier B. Molecular and cellular basis of lysosomal transmembrane protein dysfunction. *Biochim Biophys Acta* 2009;1793(4):636-649.
235. Salman MS, Clarke JT, Midroni G, Waxman MB Peripheral and autonomic nervous system involvement in chronic GM2 gangliosidosis. *J Inherit Metab Dis* 2001;24:65-71.
236. Sanderson S., Green A., Preece MA, Burton H.:The incidence of inherited metabolic disorders in the West Midlands, UK. *Arch Dis Child* 2006;91(11):896-899.
237. Sands MS and Beverly L. Gene therapy for lysosomal storage diseases. *Mol Ther* 2006;13(5):839-849.
238. Schaap T, Bach G. Incidence of mucopolysaccharidoses in Israel: is Hunter disease a "Jewish disease". *Hum Genet* 1980;56:221-223.
239. Schaffer AJ. Enfermedades del recién nacido. 4 ed. La Habana. Editorial Científico Técnica, 1981;T 1.
240. Schröder BA, Wrocklage C, Hasilik A, Saftig P. The proteome of lysosomes. *Proteomics* 2010; 10:1-24.
241. Schuchman EH The pathogenesis and treatment of acid sphingomyelinase-deficient Niemann-Pick disease. *Int J Clin Pharmacol Ther* 2009;47 Suppl 1:S48-57.

242. Schwartz I, Federhen A, Silva R, Rafaelli C, Burin M, Giugliani R. Rede MPS Brasil: 3 anos facilitando o diagnóstico e o manejo das mucopolissacaridoses no Brasil. VI Congreso Latinoamericano de EIM y Pesquisa Neonatal. 2007;176.
243. Settembre C, Annunziata I, Spampinato C, Zarccone D, Cobellis G, Nusco E y col Systemic inflammation and neurodegeneration in a mouse model of multiple sulfatase deficiency. Proc Natl Acad Sci 2007;104(11):4506-4511.
244. Shah T, Gill J, Malhotra N, Takemoto SK, Bunnapradist S. Kidney transplant outcomes in patients with Fabry disease. Transplantation 2009;87(2):280-285.
245. Siddiqi ZA, Sanders DB, Massey JM. Peripheral neuropathy in Krabbe disease: electrodiagnostic findings. Neurology 2006;67:263-267.
246. Sigarroa A. Biometría y diseño experimental. Ministerio de Educación Superior. Ed Pueblo y Educación. La Habana, 1985.
247. Sims K, Politei J, Banikazemi M, Lee P. Stroke in Fabry disease frequently occurs before diagnosis and in the absence of the other clinical events. Stroke 2009;40(3):788-794.
248. Slonim AE, Bulone L, Ritz S, Goldberg T, Chen A, Martiniuk F. Identification of two subtypes of infantile acid maltase deficiency. J Pediatr 2000;137(2):283-285.
249. Soto G., Algorta AE, Barrios B, Heredero L. Pesquisaje de mucopolisacáridos en población infantil de riesgo. Rev Cub Ped 1995;67(3):0-0. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/scielo.php>
250. Soto CG, Soto A. Pesquisaje neonatal y selectivo para algunos errores congénitos del metabolismo en Villa Clara. Rev Cubana Pediatr. 2007;79(1):0-0. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/scielo.php>
251. Spiro RG. Protein glycosylation: nature, distribution, enzymatic formation, and disease implications of glycopeptide bonds. Glycobiology 2002;12(4):43-56.
252. Staretz-Chacham O, Long TC, La Marca ME, Krasnewich D, Sidransky E. Lysosomal Storage Disorders in the Newborn. Pediatrics 2009;123:1191-1207.
253. Stirling JL, Robinson D, Fensom AH, Benson PF, Baker JE, Button LR. Prenatal diagnosis of two Hurler fetuses using an improved assay for methylumbelliferyl-alpha-L-iduronidase. Lancet 1979; 314 (8132):37.

254. Stirling JL, Robinson D, Fensom AH, Benson PF, Baker JE. Fluorometric assay for prenatal detection of Hurler and Scheie homozygotes o heterozygotes. *Lancet* 1978; 311 (8056):147-148.
255. Stone DL, Ginns EI, Krasnewich D, Sidransky E. *Am J Hematol* 2000; 64(2):140-142.
256. Storch S, Braulke T. Transport of lysosomal enzymes. In: Saftig P, editor. *Lysosomes*. New York: Springer Science, Landes Bioscience 2005;17–26.
257. Stromme P, Kanavin OJ, Abdelnoor M, Woldseth B, Rootwelt T, Diderichsen J y col. Incidence rates of progressive childhood encephalopathy in Oslo, Norway: a population based study. *BMC Pediatr* 2007;7:25.
258. Sugie K, Noguchi S, Kozuka Y, Arikawa-Hirasawa E, Tanaka M y col. Autophagic vacuoles with sarcolemmal features delineate Danon disease and related myopathies. *J Neuropath Exp Neurol* 2005;64:513-522.
259. Sun H, Wolfe JR Recent progress in lysosomal alpha-mannosidase and its deficiency. *Exp Mol Med* 2001;33(1):1-7.
260. Suzuki Y, Oshima A, Namba E.  $\beta$ -Galactosidase deficiency ( $\beta$ -galactosidosis); GM1 gangliosidosis and Morquio B disease. En: Scriver, C, Beaudet, AL, Valle, D, Sly, W eds. *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease*. 8th ed New York: McGraw-Hill; 2001: 3775-3889.
261. Svennerholm L, Håkansson G, Månsson JE, Vanier M The assay of sphingolipid hydrolases in white blood cells with labelled natural substrates. *Clin Chim Acta* 1979;92(1):53-64.
262. Tamayo VJ. Clinical epidemiological study of inborn errors of metabolism in the province of Holguín, Cuba. II Congreso Latinoamericano de errores innatos del metabolismo y pesquisa neonatal 1999;205-206.
263. Taylor MRG, Ku L, Slavov D, Cavanaugh J, Boucek M, Zhu X y col. Danon disease presenting with dilated cardiomyopathy and a complex phenotype. *J Hum Genet* 2007;52:830-835.
264. Thomas GH, Scocca J., Libert J., Vamos E., Miller CS, Reynolds LW. Alterations in cultured fibroblasts of sibs with an infantile form of a free (unbound) sialic acid storage disorder. *Pediat Res* 1983;17:307-312.

265. Triggs-Raine B, Salo TJ, Zhang H, Wicklow BA, Natowicz MR. Mutation in HYAL1, a member of a tandemly distributed multigene family encoding disparate hylauronidase activities, cause a newly described lysosomal disorder, mucopolysaccharidosis. IX. Proc Natl Acad Sci USA 1999;96:6296-6300.
266. Tsilou ET, Rubin BI, Reed G, Caruso RC, Iwata F, Balog y col. Nephropathic cystinosis: posterior segment manifestations and effects of cysteamine therapy. Ophthalmology 2006;113:1002-1009.
267. Tylki-Szymańska A, Czartoryska B, Vanier MT, Poorthuis BJ, Groener JA, Ługowska A y col. Non-neuronopathic Gaucher disease due to saposin C deficiency. Clin Genet 2007;72(6):538-542.
268. Tylki-Szymańska A, Vellodi A, El-Beshlawy A, Cole JA, Kolodny E. Neuronopathic Gaucher disease: demographic and clinical features of 131 patients enrolled in the International Collaborative Gaucher Group Neurological Outcomes Subregistry. J Inherit Metab Dis 2010;33(4):339-346.
269. Uribe A, España M, Guerrero P. Desórdenes del metabolismo de los glicosaminoglicanos: registros de 10 años de investigación en Colombia. Libro Resumen V Congreso Latinoamericano de EIM y Pesquisa Neonatal. 2005;173.
270. Uribe A, España M, Murillo P. Detección de desórdenes lisosomales mediante la valoración de gotas de sangre seca recolectada en papel de filtro: reseña de 3 años de investigación en Colombia. VI Congreso Latinoamericano de EIM y Pesquisa Neonatal 2007;49.
271. Ustáriz CR, Morera LM, Hernández P, Estrada M, Bencomo A, García MA y col. Origen y composición genética de la población cubana. Rev Cub Hemat, Inmunol & Hemoter 2011;27 (3).
272. Valiente A, Mabe P, Cornejo V, Cabello F, Soto V, Raimann E. Experiencia de 8 años en el ensayo de enzimas lisosomales en Chile. VI Congreso Latinoamericano de EIM y Pesquisa Neonatal. 2007;197.
273. Van Elsen AF, Leroy JG, Wauters JG, Willems PJ, Buytaert C, Verheyen K. In vitro expression of alpha-L-fucosidase activity polymorphism observed in plasma. Hum Genet 1983;64:235-239.

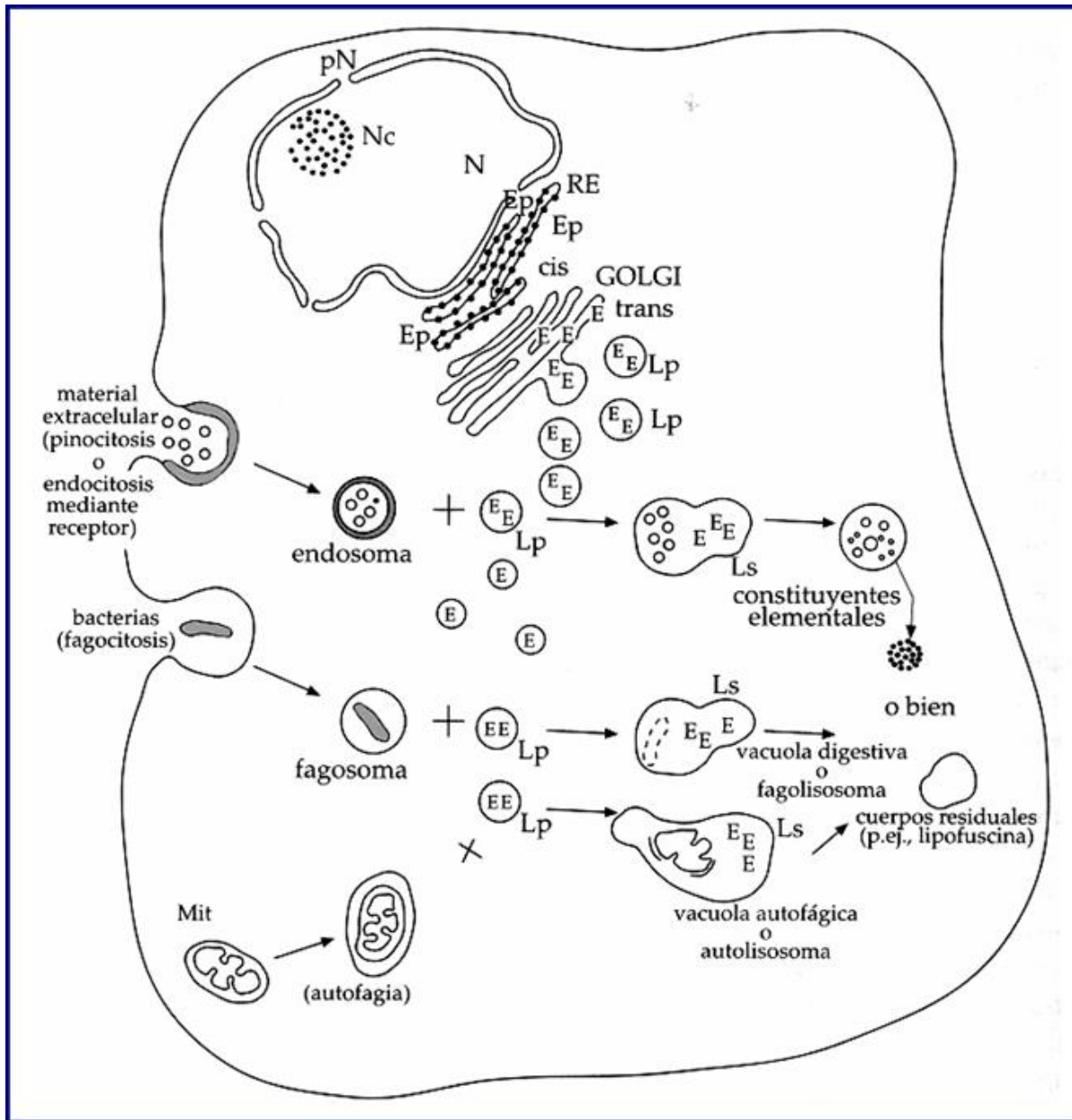
274. Velázquez A, Vela-Amieva M, Cicerón-Arellano I, Ibarra-González I, Pérez-Andrade ME, Olivares-Sandoval Z y col. Diagnosis of Inborn Errors of Metabolism. Arch Med Res 2000;31(2):145-150.
275. Vellodi A. Lysosomal storage disorders. Brit J Haemat 2005; 128(4): 413-431.
276. Verheijen FW, Verbeek E, Aula N, Beerens CEM, Havelaar AC, Joosse M y col. A new gene, encoding an anion transporter, is mutated in sialic acid storage diseases. Nature Genet 1999;23:462-465.
277. Verma R, Babu A. Human chromosomes: Principles and techniques. 2da ed. McGraw-Hill 1995;72-127.
278. Vieira T, Schwartz I, Muñoz V, Pinto L, Steiner C, Ribeiro M, Boy R y col. Mucopolysaccharidoses in Brazil: What happens from birth to biochemical diagnosis? Am J Med Genet 2008; Part A 146A:1741–1747.
279. Volders P, Van Hove J, Lories RJ, Vandekerckhove P, Matthijs G, De Vos R y col. Niemann-Pick disease type B: an unusual clinical presentation with multiple vertebral fractures. Am J Med Genet 2002;109(1):42-51.
280. Vuillaumier-Barrot S, Le Bizec C, de Lonlay P, Barnier A, Mitchell G, Pelletier V y col. Protein losing enteropathy-hepatic fibrosis syndrome in Saguenay-Lac St-Jean, Quebec is a congenital disorder of glycosylation type Ib. J Med Genet 2002;39:849-851.
281. Walkley SU. Pathogenic Cascades in Lysosomal Disease – Why so Complex? J Inherit Metab Dis 2009;32(2):181–189.
282. Watari H, Blanchette-Mackie EJ, Dwyer NK, Sun G, Glick JM, Patel S y col, 3rd. NPC1-containing compartment of human granulosa-lutein cells: a role in the intracellular trafficking of cholesterol supporting steroidogenesis. Exp Cell Res 2000;255:56–66,
283. Weiner LD, Wilkes G, Windle LM, Wolfram W, Halamka J, Mallon KW. Inborn Errors of Metabolism. Pediatrics. 2005. Disponible en: [www.emedicine.com/emerg/](http://www.emedicine.com/emerg/) (citado 26 de octubre de 2005).

284. Wenger DA, Louie E. Pseudodeficiencies of arylsulfatase A and galactocerebrosidase activities. *Dev Neurosci*. 1991;13(4-5):216-221.
285. Wenger DA, Rafi MA, Luzi P, Datto J, Costantino-Ceccarini E. Krabbe disease: genetic aspects and progress toward therapy. *Molec Gen Metab* 2000;70:1-9.
286. Wicklow BA, Ivanovich JL, Plews MM, Salo TJ, Noetzel MJ, Lueder GT y col. Severe subacute GM2 gangliosidosis caused by an apparently silent HEXA mutation (V324V) that results in aberrant splicing and reduced HEXA mRNA. *Am. J Med Genet* 2004;127A:158-166.
287. Willems PJ, Seo HC, Coucke P, Tonlorenzi R, O'Brien JS. Spectrum of mutations in fucosidosis. *Eur J Hum Genet* 1999;7:60-67.
288. Willems JP, Gatti R, Darby KJ, Romeo G, Durand P, Dumon EJ y col. Fucosidosis revisited: a review of 77 patients. *Am J Med Genetics* 2005;38(1):111-131.
289. Winchester B. Lysosomal metabolism of glycoproteins. *Glycobiology* 2005;15(6):1R-15R.
290. Wollaston WH. On cystic oxide, a new species of urinary calculus. *Phil Trans Roy Soc London* 1810;100:223-230.
291. Wraith JE. Lysosomal disorders. *Semin Neonatol* 2002;7(1):75-83.
292. Yukata T, Ogawa M. I cell disease: clinical studies of 21 Japanese cases. *Clin Genet* 1985;28:207-215.
293. Yuksel A, Kayserili H, Gungor F. Short femurs detected at 25 and 31 weeks of gestation diagnosed as Leroy I-cell disease in the postnatal period: a report of two cases. *Fetal Diagn Ther* 2007;22(3):198-202.
294. Zaldívar T, Montejo Y, Acevedo AM; Guerra R; Vargas J, Garofalo N y col. Evidence of reduced frequency of spinal muscular atrophy type I in the Cuban population. *Neurology* 2005;65:636-638.
295. Zetina ME, González-Noriega A. Enfermedades hereditarias lisosomales. I. Resultados iniciales del programa para su diagnóstico en México. *Rev Inv Clin* 1989; 41:319-326.

296. Zlotogora J, Gieselmann V, von Figura K, Zeigler M, Bach G. Late infantile metachromatic leukodystrophy in Israel. *Biomed Pharmacother* 1994;48:347-350.
297. Zurriaga O, Martínez C, Arizo V, Sánchez MJ, Ramos JM, García MJ y col. Los registros de enfermedades en la investigación epidemiológica de las enfermedades raras en España. *Rev Esp Salud Pública* 2006;80:249-257.

# IX. ANEXOS

## ANEXO 1. Biología del lisosoma.



Modificado de: Pearson Education, Inc. Benjamin Cummings



**ANEXO 2. Frecuencia de enfermedades lisosomales en Australia y Holanda.**

Enfermedad	Australia		Holanda
	Incidencia (/100 000 nv)	Prevalencia (/100 000 nv)	Prevalencia (/100 000 nv)
<b>Mucopolisacaridosis</b>	<b>3,81</b>	<b>4,38</b>	<b>4,50</b>
<b>Esfingolipidosis</b>	<b>4,40</b>	<b>4,95</b>	<b>5,85</b>
<b>Glucoproteinosis.</b>	<b>0,14</b>	<b>0,14</b>	<b>0,45</b>
<b>Deficiencia de múltiples enzimas.</b>	<b>0,32</b>	<b>0,37</b>	<b>0,28</b>
<b>Otras lipidosis</b>	<b>0,57</b>	<b>0,74</b>	<b>0,35</b>
<b>Enfermedades del metabolismo del glucógeno.</b>	<b>0,50</b>	<b>0,68</b>	<b>2,00</b>

nv: nacidos vivos  
(Poorthuis y col, 1999; Meikle y col, 1999)

### ANEXO 3. Mucopolisacaridosis.

Enfermedad: Mucopolisacaridosis	Defecto enzimático	Compuestos acumulados	Localización del gen
<b>MPS I</b>			
Enfermedad de Hurler (MIM #607014)	$\alpha$ -L-iduronidasa, IDUA (MIM 252800) (EC 3.2.1.76)	Heparán sulfato Dermatán sulfato	4p16.3
Enfermedad de Scheie (MIM #607016)			
Enfermedad de Hurler-Schei (MIM #607015)			
<b>MPS II</b>			
Enfermedad de Hunter (MIM #309900)	Iduronato-2-sulfatasa, IDS (MIM 16366) (EC 3.1.6.13)	Heparán sulfato Dermatán sulfato	Xq28
<b>MPS III (Enfermedad de Sanfilippo)</b>			
Sanfilippo A (MIM #252900)	N-heparán sulfato sulfatasa (MIM 605270) (EC 3.10.11)	Heparán sulfato	<b>17q25.3</b>
Sanfilippo B (MIM #252920)	$\alpha$ -D-N-acetilglucosaminidasa (MIM 609701) (EC 3.2.1.50)		<b>17q21</b>
Sanfilippo C (MIM #252930)	$\alpha$ -glucosamido acetiltransferasa (MIM 610453) (EC 2.3.1.3)		<b>8p11.1</b>
Sanfilippo D (MIM #252940)	N-acetilglucosamina-6-sulfatasa (MIM 607664) (EC 3.1.6.14)		<b>12q14</b>

<b>MPS IV (Enfermedad de Morquio)</b>			
Morquio A (MIM #612222)	Galactosa-6-sulfatasa (MIM 612222) (EC 3.1.6.4)	<b>Queratán sulfato Condroitín-6-sulfato</b>	16q24.3
Morquio B (MIM #611458)	$\beta$ -galactosidasa (MIM 611458) (EC 3.2.1.23)		3p21.33
<b>MPS VI</b>			
Enfermedad de Maroteaux-Lamy (MIM #253200)	Arilsulfatasa B, ASB (MIM 611542) (EC 3.1.6.12)	Dermatán sulfato	5q11-q13
<b>MPS VII</b>			
Enfermedad de Sly (MIM #253220)	$\beta$ -D-glucuronidasa (MIM 611494) (EC 3.2.1.31)	Dermatán sulfato Heparán sulfato Condroitín 4 y 6 sulfato	7q21.11
<b>MPS IX</b>			
MPS IX (MIM #601492)	Hialuronidasa (MIM 607071) (EC 3.2.1.35)	Hialuran	3p21.3-p21.2

#### ANEXO 4. Esfingolipidosis.

Enfermedad: Esfingolipidosis.	Defecto enzimático	Compuestos acumulados	Localización del gen
<b>Gangliosidosis GM<sub>1</sub></b>			
Gangliosidosis GM <sub>1</sub> (MIM #230500)	β-galactosidasa (MIM # 611458) (EC 3.2.1.2.3)	Gangliósidos GM <sub>1</sub> , queratán sulfato, galactosiloligosacáridos	3p21.33
<b>Gangliosidosis GM<sub>2</sub></b>			
Enfermedad de Tay-Sachs o variante B (MIM #272800)	Hexosaminidasa A (MIM #606869) (EC 3.2.1.52)	Gangliósido GM <sub>2</sub> y asialo-GM <sub>2</sub>	15q23-q24
Enfermedad de Sandhoff o variante 0 (MIM #268800)	Hexosaminidasas A (MIM #606869) B (MIM #606873) (EC3.2.1.52)	Gangliósido GM <sub>2</sub> , globósidos y oligosacáridos	5q13
Variante AB (MIM # 272750)	Proteína activadora de la Hexosaminidasa A (MIM # *613109)	Gangliósido GM <sub>2</sub> y asialo-GM <sub>2</sub>	5q31.3-q33.1
<b>Enfermedad de Gaucher</b>			
Tipo I (MIM # 230800)	β-glucosidasa (MIM #606463) (EC 3.2.1.45)	Glucocerebrósido	1q21
Tipo II (MIM #230900)			
Tipo III (MIM #231000)			
Por déficit de SAP-2 (MIM #176801)	Proteína activadora SAP-2 (MIM #272200)		10q22.1
<b>Enfermedad de Niemann-Pick A y B</b>			
Tipo A (MIM # 257200)	Esfingomielinasa (MIM #257200) (EC 3.1.4.12).	Esfingomielina	11p15.4-p15.1
Tipo B (MIM #607616)			

<b>Enfermedad de Fabry</b>			
Enfermedad de Fabry (MIM #301500)	$\alpha$ -galactosidasa (MIM #300644) (EC 3.2.1.22)	Trihexosil-ceremida y dihexosil-ceramidas	Xq22.
<b>Leucodistrofia metacromática</b>			
Leucodistrofia metacromática (MIM #250100)	Arilsulfatasa A (MIM #607574) (EC 3.1.6.8)	Cerebrósido sulfato	22q13.31-qter
Leucodistrofia metacromática Por déficit de SAP- (MIM # 249900)	Proteína activadora SAP-1 (MIM #176801)		10q22.1
<b>Enfermedad de Krabbe</b>			
Enfermedad de Krabbe (MIM #245200)	$\beta$ -galactocerebrosidasa (MIM #606890) (EC. 3.2.1.45)	Galactocerebrósido, ceramida, galactosilesfingosina	14q31.
<b>Enfermedad de Farber</b>			
Lipogranulomatosis de Farber (MIM # 22800)	Ceramidasa (MIM # 613468) (EC 3.5.1.23)	Ceramida	8p22-p21.3.

## ANEXO 5. Glucoproteínosis.

Enfermedad: Glucoproteínosis	Defecto enzimático	Compuestos acumulados	Localización del gen
<b>Fucosidosis</b>			
Fucosidosis (MIM #230000)	$\alpha$ -L-fucosidasa (MIM#612280) (EC3.2.1.51)	Fucosil-oligosacáridos, fucosilglicolípidos	1p34
<b><math>\alpha</math>-Manosidosis</b>			
$\alpha$ -Manosidosis (MIM#248500)	$\alpha$ -D-manosidasa (MIM#609458) (EC3.2.1.24)	Oligosacáridos ricos en manosa	19p13.2-q12
<b><math>\beta</math>-Manosidosis</b>			
$\beta$ -Manosidosis (MIM #248510)	$\beta$ -manosidasa (MIM#609489) (EC3.2.1.25)	Manosil-N-acetilglucosamina	4q22–q25.
<b>Mucopolidosis I</b>			
Mucopolidosis I (Sialidosis) (MIM #256550)	$\alpha$ -neuraminidasa (MIM#608272) (EC3.2.1.18)	Oligosacáridos ricos en siálico	6p21.3
<b>Enfermedad de Schindler</b>			
Enfermedad de Schindler (MIM #609241)	$\alpha$ -N-acetil- Galactosaminidasa (MIM #104170) (EC 3.2.1.4)	N-acetilgalactosamina-O-glucopeptidos, trisacarido	22q11
<b>Aspartilglucosaminuria</b>			
Aspartilglucosaminuria (MIM #208400)	Aspartilglucosaminidasa (MIM # 613228) (EC 3.5.1.26)	Aspartilglucosamina	4q32-q33

## ANEXO 6. Deficiencia de múltiples enzimas

Enfermedad: Deficiencia de múltiples enzimas	Defecto enzimático	Compuestos acumulados	Localización del gen
Deficiencia múltiple de sulfatasas (mucosulfatidosis) (MIM #272200)	Ariilsulfatasas A,B,C y otras (MIM #607939) (EC 3.1.6)	Cerebrósido sulfato,esterol sulfato glicosaminoglicanos	3p26
Galactosialidosis (MIM #256540)	β-galactosidasa (MIM # 611458) (EC 3.2.1.23) Sialidasa (MIM#608272) (EC 3.2.1 .18)	Oligosacáridos sialidados	20q13.1
Mucopolipidosis II (MIM #252500)	N-acetilglucosamina-1-fosfotransferasa (MIM #607840) (EC 2.7.8.18)	Sialiloligosacáridos, glicosaminoglicanos, glicolípidos	12q23.3
Mucopolipidosis III (MIM # 252600)			
Mucopolipidosis IV (MIM #252650)	Mucolipin-1 (MIM # 605248)	Similar a mucopolipidosis II	19p13.3-p13.2

## ANEXO 7. Otras lipodosis.

Enfermedad: otras lipodosis	Defecto enzimático	Compuestos acumulados	Localización del gen
<b>Enfermedad de Niemann-Pick C y D</b>			
Niemann-Pick tipo C (MIM #257220)	Desconocida	Esfingomiélinea, colesterol y glucolípidos	18q11-q12
Niemann-Pick tipo D Similar C variante de Nueva Escocia (MIM #257220)			
<b>Enfermedad de Wolman</b>			
Enfermedad de Wolman (MIM #27800)	Lipasa ácida (MIM #278000) (EC 3.1.1.13)	Ésteres del colesterol y triglicéridos	10q24-q25.
Enfermedad por acúmulo de ésteres (mutación alelica con la enfermedad de Wolman) (MIM#27800)		Ésteres del colesterol, colesterol y a veces triglicéridos	
<b>Lipofuscinosis ceróide neuronal</b>			
Lipofuscinosis ceróide neuronal (MIM #256730)	palmitoil-proteína tioesterasa-1 (PPT1) (MIM #600722) (EC 3.1.2.23)	Lipopigmentos (grasas y proteínas).	11p15.5



### ANEXO 8. Enfermedad de almacenamiento de glucógeno.

Enfermedad de almacenamiento de glucógeno	Defecto enzimático	Compuestos acumulados	Localización del gen
Enfermedad de almacenamiento de glucógeno tipo II (enfermedad de Pompe) (MIM #232300)	$\alpha$ -1,4- glucosidasa (MIM #606800) (EC 3.2.1.3)	Glucógeno	17q25.2-q25.3

### Defectos en el transporte lisosomal.

Enfermedad: Defectos en el transporte lisosomal	Defecto	Compuestos acumulados	Localización del gen
Cistinosis (MIM #219800)	ATPasa H <sup>+</sup>	Cistina	17p13
Enfermedad por almacenamiento de ácido siálico (MIM #604369)	Transportador de protones	Ácido siálico libre. Sialiloligosacáridos.	6q14-q15

**ANEXO 9. Modelo de planilla de consentimiento informado.**

**PLANILLA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO  
CONTROLES PARA EL ESTUDIO ENZIMÁTICO DE ENFERMEDADES  
LISOSOMALES**

En el día de hoy \_\_\_\_\_ la MSc. \_\_\_\_\_  
me ha explicado que están realizando estudios enzimáticos para el diagnóstico de  
enfermedades lisosomales, con el objetivo de proporcionar resultados a los  
facultativos. Los resultados que se obtengan de esta investigación serán para el  
beneficio de pacientes, padres, facultativos y el mio propio.

Participar es de forma voluntaria Para el estudio se requiere realizarme una  
extracción de sangre.

Se me informa que tengo derecho a conocer todos los resultados de los análisis  
que me sean realizados

Estoy de acuerdo con las dudas aclaradas y acepto participar en la investigación.

Nombre y apellidos \_\_\_\_\_

Dirección particular \_\_\_\_\_



## **ANEXO 11. PUBLICACIONES RELACIONADAS CON LA TESIS.**

- 1. Menéndez C**, Dávila L, Castro J, Pascual J, Rojas E, Díez A y col. Estudio bioquímico de 2 pacientes con Enfermedades Lisosomales Heredo metabólicas. Rev CENIC 1988;19 (No. Especial):35-37.
- 2. Menéndez C**, Dávila L, Castro J, Pascual J, Rojas E, Pascual J, Pascual C. Biochemical Diagnosis of Lysosomal Enzyme Deficiencies. Inter J Neurosc 1989;49:276-277.
- 3. Menéndez C**, Dávila L, Castro J, Pascual J, Rojas E, Pascual J, Pascual C. Biochemical Characteristic of Mucopolidoses Type II. Inter J Neurosc 1989;49:276-277.
- 4. Menéndez C**, Oliver S, Blanco E, Beguez E, Pascual C y Benítez MC. Estudio clínico y bioquímico de dos pacientes con enfermedad de Niemann-Pick. Rev Cub Ped 1991;63(4):124-128.
- 5. Menéndez C**, Dávila L, Castro J, Pascual C, Pascual J, Rojas E. Estudio bioquímico de un paciente con enfermedad lisosomal heredo-metabólica. Rev Cub Ped 1992;64(3):195-198.
- 6.** del Castillo MD, Pascual C, **Menéndez C**, Oliver S. Saliva como material biológico para el diagnóstico de enfermedades lisosomales. Rev CENIC 1992; 23:25-27.
- 7.** del Castillo MD, **Menéndez C**, Borbolla L, Pascual J, Pascual C, Castro J. Estudio Bioquímico de un caso de Mucopolidosis Tipo II. (Enfermedad de las Células I). Rev CENIC 1992;22-23.
- 9.** Castro J, Gutiérrez E, Rojas I, Barrios B, **Menéndez C**. 8 años de experiencia en un laboratorio de referencia para la detección de Errores congénitos del metabolismo. Rev Avan Biotec Moderna 1992;1:19-28.
- 10.** Menéndez I, **Menéndez C**, Borbolla L. Mucopolidosis III. Rev Cub Med.1995; 34(2):134-140.
- 11.** Giugliani R, Janice Carneiro. Enviamos los datos de nuestro laboratorio, para la confección del artículo: Diagnóstico de erros inatos do metabolismo na América Latina. Braz J Genet 1997;20(3):147-154.

12. Menéndez I, **Menéndez C**, Cepero F, Gutiérrez E. Mucopolipidosis II. Estudio Clínico, bioquímico y genético. Rev Cub Pediatr 1998; 70(1): 53-58.
13. Álvarez H, Cuervo N, Dorado J, **Menéndez C**. Síndrome de gangliosidosis infantil generalizada (GM1). Presentación de dos casos Rev Neurol 1999; 28(9):925-930.
14. **Menéndez C**, Zaldívar C, González-Quevedo A. Mucopolisacaridosis en Cuba. Rev Ecuat Neurol 2001;10(1-2):25-28.
15. **Menéndez C**, Zaldívar C, González-Quevedo Errores innatos del metabolismo. Enfermedades Lisosomales. Rev Cubana Pediatr 2002;74 (1): 68-76.
16. **Menéndez C**, Zaldívar C, González-Quevedo Mucopolisacaridosis tipo I en la población cubana. Rev Neurol 2003;37(6):525-528.
17. **Menéndez C**, Zaldívar C, González-Quevedo "Comportamiento de la GM<sub>1</sub> Gangliosidosis en Cuba". Rev Cub Quím 2004;16(3):496. ISSN 5595.
18. **Menéndez C**, González S, Zaldívar C, González-Quevedo A. "Mucopolisacaridosis con afectación del Sistema Nervioso". Rev Mex Neuroc 2006;7 (2):150-155.
19. **Menéndez C**, Zaldívar C, González-Quevedo A. Mucopolisacaridosis Tipo VI. Revista de Genética Comunitaria 2006;(1):60.
20. **Menéndez C**, González S, Zaldívar C, González-Quevedo A. Comportamiento de la GM<sub>1</sub> Gangliosidosis en Cuba. Revista Medisur 2007;5(Especial ECV):115-118,. ISSN: 1727-897X.
21. **Menéndez C**, González S, Peña M, Méndez LA, Quiñones O, Diepa N y col. "Diagnóstico prenatal enzimático de enfermedades lisosomales en Cuba." Rev Ecuat Neurol 2008;17(1-3):101-105.
22. **Menéndez C**, González S, Peña M, Zaldívar C, González-Quevedo A. "Mucopolisacaridosis: diagnóstico enzimático de 20 años en Cuba" . Rev Neurol 2009; 49(9): 458-462.

**23.Menéndez C,** González S, Peña M, Zaldívar C, González-Quevedo A.  
“Diagnóstico de  $\alpha$ -manosidosis y Fucosidosis por métodos enzimáticos”.  
Revista Medisur, 2010, 8(1). Suplemento “Resúmenes de los trabajos sobre  
Neuropediatría”. Congreso Nacional de Neurología: 43.

**24.Menéndez C,** González S, Peña M, Zaldívar C y González-Quevedo A.  
“Mucopolisacaridosis: diagnóstico enzimático de 20 años en Cuba”. Revista  
Medisur, 2010, 8(1) Suplemento “Resúmenes de los trabajos sobre  
Neuropediatría”. Congreso Nacional de Neurología: 43.