

en-LISOS



Nº 5 / Marzo 2024

AVANCES EN EL DIAGNÓSTICO GENÉTICO DE ENFERMEDADES METABÓLICAS HEREDITARIAS MÁS ALLÁ DEL EXOMA

¿QUE APORTA LA INTELIGENCIA ARTIFICIAL AL CONOCIMIENTO EN ENFERMEDADES DE BAJA FRECUENCIA?

GANGLIOSIDOSIS

LA ENFERMEDAD DE GAUCHER EN PERÚ

Nota editorial:

José Luis Bancalero Flores

Consejero de Sanidad. Gobierno de Aragón. España.

P. 3

Avances en el diagnóstico genético de enfermedades metabólicas hereditarias más allá del exoma.

Belén Pérez González

Centro de Diagnóstico de Enfermedades Moleculares. Centro de Biología Molecular. Universidad Autónoma de Madrid. CIBERER. IdiPAZ. Madrid. España.

P. 4

Revisión: Gangliosidosis

Laura López de Frutos

Colaboradora de FEETEG. Zaragoza. España.

P. 11

Comentarios al artículo: Tratamiento de la disfunción lisosomal neuronal causada por la deficiencia de β -glucocerebrosidasa con un constructo para transporte enzimático al cerebro.

Pilar Giraldo Castellano

FEETEG. Zaragoza. España.

P. 16

Distribución geográfica de fenotipos clínicos de enfermedad de Gaucher y variantes patogénicas en el gen *GBA* de pacientes mexicanos.

Libia Tlaxcala Castillo, Talia Wegman Ostrosky, José Elías García Ortiz

Grupo de Expertos en Enfermedades Lisosomales en Enfermedad de Gaucher. México.

P. 17

La Inteligencia Artificial en el campo de la salud y en enfermedades de baja frecuencia.

Francisco Bauzá Minguez, Pierpaolo Bruscolini, David Iñiguez Dieste

Instituto de Biocomputación y Física de Sistemas Complejos (BIFI) de la Universidad de Zaragoza. Zaragoza. España

P. 22

Enfermedad de Fabry y Amiloidosis, dos enfermedades raras.

Esther Franco García

Servicio de Hematología. Hospital Universitario Lozano Blesa. Zaragoza. España.

P. 25

Nuevos vientos, nuevas oportunidades: desarrollando un programa para enfermedad de Gaucher en un país con recursos limitados.

Alfredo Wong Chang

Sociedad Peruana de Hematología. Lima. Perú.

P. 29

Lo mejor del World Symposium 2024

Equipo editorial de en-LISOS

P. 32

José Luis Bancalero Flores

Consejero de Sanidad
Gobierno de Aragón. España
gabinete.sanidad@aragon.es

El Día de las Enfermedades Raras, 29 de febrero, se celebra este año en su fecha. Se trata de una fecha que ayuda a visibilizar unas patologías que por su escasa frecuencia y su complejidad conllevan una problemática distinta. Soledad de los pacientes, en la gran mayoría niños, y sus familias. Dificultad en el acceso a tratamientos. Falta de información y, en muchos casos, desinformación.

Pero en los últimos años, la concienciación pública y la colaboración entre pacientes y profesionales está contribuyendo a mejorar la calidad de vida de estas personas. El diagnóstico temprano y el manejo de estas enfermedades pueden ayudar a mejorar la calidad de vida de los pacientes, aunque en muchos casos no existe una cura definitiva. Y hay que reconocer que el cambio que se detecta ya en algunas patologías ha sido posible gracias a la contribución de investigadores y profesionales asistenciales, inquietos por encontrar respuestas personalizadas para cada caso.

Esta publicación y los profesionales que en ella colaboráis, y también a quienes os dirigís, sois ejemplo de esa curiosidad científica y de cómo el trabajo firme, la actualización continua y el esfuerzo dirigido bajo el prisma de la cooperación tiene sus frutos. En el caso que nos ocupa, el estudio se centra en el ámbito de las enfermedades lisosomales, un grupo de trastornos genéticos raros que afectan al sistema de orgánulos celulares llamados lisosomas. La más co-

nocida de este grupo de enfermedades en nuestra Comunidad autónoma quizá ha sido la enfermedad de Gaucher, porque desde hace años contó con un grupo pionero de investigación que promovió su estudio. Precisamente fue ese grupo, la Fundación Española para el Estudio y Terapéutica de la Enfermedad de Gaucher, quien impulsó la creación de esta revista.

Como consejero de Sanidad del Gobierno de Aragón quiero aprovechar la oportunidad que me prestáis con este espacio para mostrar mi reconocimiento a todos aquellos que en mayor o menor medida han contribuido a indagar en este tipo de investigaciones y pediros que sigáis trabajando en la línea de la colaboración multidisciplinar. Y agradecer, como no podía ser de otra manera, esa vocación resistente de investigación, a la que sumáis la de formación y difusión del conocimiento.

Estamos en un momento de expansión de la investigación y de la actividad asistencial porque la tecnología nos permite disponer de herramientas como la inteligencia artificial. Las posibilidades de estudio con estos métodos alcanzan dimensiones hasta ahora inimaginables. Los algoritmos de inteligencia artificial pueden analizar grandes conjuntos de información genética, imágenes médicas y datos clínicos, que ayuden al diagnóstico temprano.

Esas mismas herramientas también abren posibilidades para la farmacología, con de-

sarrollo de tratamientos más específicos y personalizados para enfermedades raras. Y para la atención a los pacientes de forma remota evitando desplazamientos. La telemedicina aporta confort y optimiza recursos en todas las poblaciones, pero máxime se trata de niños, para quienes es tan importante en su desarrollo mantener lo menos afectadas posibles las rutinas de crecimiento, juego y educación de la infancia.

Gracias a todos por vuestro trabajo y os animo que continuéis con vuestras líneas de estudio, cada vez más ambiciosas y también más fructíferas.



AVANCES EN EL DIAGNÓSTICO GENÉTICO DE ENFERMEDADES METABÓLICAS HEREDITARIAS MÁS ALLÁ DEL EXOMA

Belén Pérez González

Centro de Diagnóstico de Enfermedades Moleculares. Centro de Biología Molecular
Universidad Autónoma de Madrid. CIBERER. IdiPAZ. Madrid. España

bperez@cbm.csic.es

Resumen

A pesar de los avances en las pruebas genéticas en la práctica clínica, incluida la introducción de la secuenciación del exoma (ES), entre un 30-50% de las pacientes con una sospecha de portar una condición mendeliana carece de un diagnóstico molecular preciso lo que impide un adecuado asesoramiento y la imposibilidad de la aplicación de una terapia adecuada. La ausencia de diagnóstico está asociada a limitaciones técnicas de la metodología usada, imposibilidad en comprensión la patogenicidad de las variantes que se identifican y a la ausencia de un fenotipado exhaustivo de los pacientes. El panorama actual para resolver los casos sin diagnóstico está cambiando, introduciéndose nuevas técnicas y pruebas genéticas más allá del exoma como la utilización la secuenciación del genoma de lecturas cortas y lecturas largas, el mapeo óptico o los estudios ortogonales de validación funcional añadiendo diferentes capas ómicas (transcriptómica, epigenómica, metabólica o proteómica) a la capa genómica. En este artículo presentamos las diferentes opciones de pruebas moleculares más allá del exoma para solventar la resolución de casos sin diagnóstico genético.

Palabras clave: enfermedades metabólicas hereditarias, diagnóstico, secuenciación de exoma, secuenciación de genoma, secuenciación de lecturas largas, genómica funcional, transcriptómica, epigenómica.

Summary

Despite significant advancements in genetic testing in clinical practice, including exome sequencing (ES), 30-50% of patients suspected of having a Mendelian disorder remain without an accurate molecular diagnosis. This lack of diagnosis hinders proper patient counseling and prevents the implementation of appropriate therapeutic interventions. The inability to reach a diagnosis includes technical limitations of the methodologies employed, the challenge of interpreting the pathogenicity of identified variants, and the incompleteness of patient phenotyping. The current landscape for resolving undiagnosed cases is evolving rapidly, with the introduction of innovative techniques and genetic tests beyond the exome, such as short-read and long-read

genome sequencing, optical mapping, and orthogonal functional validation studies. These approaches integrate different omics layers (transcriptomics, epigenomics, metabolomics, or proteomics) into the genomic layer to enhance diagnostic capabilities. This article comprehensively outlines the various options for molecular tests beyond the exome, providing a roadmap for resolving cases without a genetic diagnosis.

Key words: Hereditary metabolic diseases, diagnosis, exome sequencing, genome sequencing, long read sequencing, functional, transcriptomics, epigenomics.

Introducción

Los beneficios de contar con un diagnóstico genético preciso de enfermedades mendelianas incluyen un adecuado asesoramiento genético. Además, en las últimas dos décadas, las compañías farmacéuticas han invertido fuertemente en el desarrollo de terapias específicas de gen y en algunos casos específicas de mutación para el tratamiento de enfermedades mendelianas de forma personalizada incluyendo los proyectos N-of-1 destinados al tratamiento de pacientes con variantes únicas [1,2].

Uno de los grupos más extensos dentro de las enfermedades raras, son las enfermedades metabólicas hereditarias (EMH). Las EMH, de forma clásica, se han definido como un conjunto de defectos genéticos que afectan a la biosíntesis [5,6] o degradación de moléculas involucradas en rutas específicas, las cuales se pueden identificar gracias a pruebas bioquímicas concretas. Sin embargo, gracias a las técnicas de secuenciación masiva esta definición ha sido ampliada ya que se han identificado variantes patogénicas en factores de transcripción [3,4], chaperonas, co-chaperonas [5,6] o lncRNA [7] que pueden fenocopiar los defectos en región codificante de genes implicados en procesos metabólicos. Recientemente se ha publicado una Clasificación Internacional de Enfermedades Metabólicas Hereditarias (ICIMD, por sus siglas en inglés). Esta clasificación jerarquizada actualmente contempla 1462 enfermedades metabólicas hereditarias, divididas en 24 categorías y 123 subcategorías [8-10]. Entre las EMH están los trastornos por almacenamiento lisoso-

mal (LSD) o enfermedades lisosomales, un grupo heterogéneo de enfermedades raras causadas principalmente por mutaciones en genes que codifican enzimas responsables de la función lisosomal. Las LD pueden ser el resultado de deficiencias enzimáticas (p. ej., enfermedad de Gaucher (GD) o alteraciones en los transportadores asociados a la membrana (p. ej., cistinosis), modificadores de enzimas (p. ej., mucopolisidosis II y III) o activadores (p. ej., deficiencia de saposina). El fenotipo depende del tipo de sustrato y dónde se acumula, así como del tipo de cambio genético y actividad enzimática residual. Algunos fenotipos son comunes a muchas LD, como facies tosca, retraso progresivo en el desarrollo, visceromegalia y cambios esqueléticos. Sin embargo, existen trastornos que afectan principalmente al sistema nervioso central (SNC (p. ej., lipofuscinosis ceroides neuronal [NCL])) y otros que no se presentan con afectación primaria del SNC [11].

El diagnóstico estándar las EMH y entre ellas las LSD se basa en la presentación clínica, la detección de biomarcadores en sangre, orina o líquido cefalorraquídeo (LCR) y la medición directa de la actividad enzimática en leucocitos, plasma o fibroblastos. En algunos casos la sospecha procede de los programas de cribado neonatal que permiten la detección de más de 45 patologías metabólicas. Las pruebas genéticas se realizan para confirmar el diagnóstico bioquímico y/o clínico, pero, según la enfermedad, pueden ser el único método de diagnóstico disponible.

A día de hoy, la secuenciación del exoma (ES), de un gen, un panel o un exoma completo, es el abordaje más utilizado en la práctica clínica para dilucidar la base genética de enfermedades raras, entre ellas las EMH [12]. Sin embargo, con el uso de esta tecnología, el rendimiento diagnóstico de algunas EMH sigue siendo similar al del resto de enfermedades raras entre 40-70% [13]. Esto se debe a múltiples causas, entre las que se encuentra que la secuenciación exómica, es capaz de analizar, a lo sumo, el 2% del genoma y que su capacidad para detectar cierto tipo de variantes (variantes estructurales, variantes no codificantes, variantes intrónicas internas, etc.) es limitada o incluso nula.



Durante muchos años las pruebas genéticas se han centrado en el estudio de regiones codificantes. Sin embargo, a medida que las pruebas genéticas se trasladan a estudios completos del genoma van cobrando importancia las variantes en región no codificante que contribuyen a causar enfermedad. Estas variantes pueden estar localizadas en regiones 5' y 3' no traducidas (UTR) o en intrones. En conjunto ambos tipos de variantes pueden representar más del 35% de las variantes patogénicas y junto con los elementos transponibles (TE) y las repeticiones en tándem (STRs) pueden representar ~50% de las variantes causantes de enfermedad [14]. Especial importancia adquieren las variantes que afectan al proceso de *splicing* ya que producen un 15% de las enfermedades mendelianas [15]. Los elementos reguladores en cis (CRE) como son promotores, *enhancers* o *insulators* están también sujetos a portar variantes patogénicas ya que pueden afectar a la regulación de la expresión génica de determinados genes, fenocopiando el efecto de las variantes codificantes. Finalmente destacamos que el genoma se transcribe casi en su totalidad produciendo miles de ncRNA, tanto pequeños ncRNA (sncRNA) como ncRNA largos (lncRNA). Además, el genoma está compartimentalizado en dominios topológicamente asociados (TADs) que preferencialmente interaccionan unos con otros y son críticos en la regulación de la expresión génica. Los TADs son dominios de cromatina dentro del genoma que facilitan el contacto entre promotores y *enhancers* dentro del espacio nuclear 3D, los cuales se encuentran separados por regiones de baja interacción de la cromatina que aíslan las actividades reguladoras de los TAD adyacentes. Los TADs contienen agrupaciones de genes que son co-regulados. La alteración de la estructura de los TAD por la presencia de variantes estructurales (SV) puede conducir a la pér-

didada de contacto cromosómico entre las regiones reguladoras y sus genes diana o a la formación de nuevos dominios activos con contactos ectópicos entre las regiones reguladoras y un nuevo gen diana, dando lugar a alteraciones patogénicas en la expresión génica [16,17].

Los elementos móviles o elementos transponibles (TE) son secuencias de DNA que se desplazan dentro del genoma y pueden llegar a constituir hasta el 45 % del genoma humano. Los TE se dividen en dos clases, trasposones de DNA y retrotrasposones (RT). Mientras los RT se replican utilizando intermediarios de RNA y la transcripción en reverso, los TE de DNA no necesitan pasar por una etapa de RNA y suelen trasponerse por procesos de "corta y pega". Solo los RT son capaces de "moverse" en el genoma humano. Ambos incluyen elementos con repeticiones terminales largas (LTR) y elementos sin repeticiones terminales largas (no LTR). Los RT a su vez pueden ser autónomos, ya que tienen la capacidad de transponerse por sí solos, como es el caso de los LINE (Long Interspersed Elements) mientras los no autónomos, necesitan de la maquinaria de los LINE para transponerse, como ocurre con los SINE (Short Interspersed Elements), siendo una de ellas las secuencias Alu. Actualmente, solo tres grupos pertenecientes a los RT no LTR son capaces de moverse en el genoma humano (LINE-L1, Alu y SVA), siendo una fuente de mutagénesis para el genoma humano que está cobrando importancia. L1 ocupa el 17% del genoma humano con más de 500.000 copias, se han identificado miles de secuencias Alu y cientos de SVA [18]. Los organismos tienen diferentes sistemas para evitar la trasposición, tanto mecanismos transcripcionales (epigenéticos) como postranscripcionales utilizando el silenciamiento con ncRNA específicos (Piwi-piRNA). En algunos casos se elude el

proceso y hasta la fecha se conocen 124 inserciones de L1, ALU o SVA en línea germinal causantes de enfermedades humanas [19,20]. La inserción de estos RT en región exónica o intrónica de un gen determinado puede causar enfermedad por impedir el correcto proceso de *splicing*, por desestabilizar un mRNA o incluso por impedir la correcta traducción. Además su inserción puede afectar a la arquitectura espacial del DNA impidiendo la correcta formación de un TAD [16,21,22].

Desde el 2000, el *American College of Medical Genetics and Genomics* (ACMG) ha publicado distintas guías y recomendaciones sobre la clasificación de variantes genéticas. Actualmente, se usa la guía publicada en 2015, donde se clasifican las variantes en cinco categorías: benigna, probablemente benigna, variante de significado clínico incierto (VUS), probablemente patogénica y patogénica. Esta clasificación se basa en datos poblacionales, de segregación, computacionales y sobre ensayos funcionales. Además, se establecen cinco criterios como fuertes indicadores de patogenicidad de variantes genéticas desconocidas, los cuales son: 1) la prevalencia de la variante en los individuos afectados es estadísticamente mayor que en los controles, 2) una variante da lugar a un cambio de aminoácido en la misma posición que una variante patogénica establecida, 3) una variante nula en un gen en el que la pérdida de función es un mecanismo conocido de enfermedad, 4) una variante de novo, con paternidad y maternidad confirmadas y 5) los estudios funcionales establecidos muestran un efecto deletéreo [23].

Cuando las opciones se han agotado en la práctica clínica se puede optar por nuevas pruebas como son la secuenciación del genoma completo de lecturas cortas (srGS),

secuenciación del genoma completa de lecturas largas (IrGS) o dirigida (T-IrGS), el mapeo óptico (OGM), la inclusión de capas ómicas a las pruebas genéticas, así como reanálisis de los datos y compartir los datos a nivel internacional. Estas técnicas aisladas o combinadas presentan ventajas y desventajas que trataremos de describir, pero probablemente sean capaces en el futuro de reemplazar las técnicas actuales de diagnóstico genético.

Estrategias para incrementar la tasa diagnóstica

Reanálisis de los exomas y compartición de los casos

El conocimiento sobre enfermedades va aumentando día a día, haciendo imprescindible el reanálisis de los pacientes con un diagnóstico negativo. El reanálisis es el proceso de reexaminar los datos genómicos ya existentes de un individuo. Este proceso es capaz de aumentar el ratio diagnóstico debido a: 1) el descubrimiento y accesibilidad a información nueva y existente a nivel de genes y variantes, 2) mejora de las técnicas y tecnologías de análisis y 3) información adicional sobre el paciente y familiares. Estos mecanismos han permitido aumentar el ratio diagnóstico hasta un 15 % [24–26]. El rendimiento del reanálisis de los datos de ES varía ampliamente dependiendo de la antigüedad de los datos; los generados hace 5 a 10 años tienen un mayor rendimiento debido a la cantidad de nuevas enfermedades y genes descritos en el período intermedio, así como el desarrollo vertiginoso de procedimientos bioinformáticos de análisis [27]. Se ha sugerido un nuevo análisis 18 meses después del análisis original para optimizar el rendimiento [24,26].

En el caso de las enfermedades raras, se hace complicado establecer una causa molecular y realizar análisis estadísticos debido a la dificultad de encontrar pacientes fenotípica y genéticamente similares por lo que, es importante compartir de manera responsable los datos genéticos obtenidos tanto en la clínica como en la investigación [28]. Debido a esto, se han desarrollado varios algoritmos y plataformas que faciliten el emparejamiento de casos similares, como es el proyecto Matchmaker Exchange. Gracias a este proyecto, se han identificado nuevas asociaciones gen-enfermedad, así como nuevos fenotipos asociados a enfermedades ya conocidas. En Europa, otro ejemplo es la plataforma RD-Connect Genome-Phenome Analysis Platform (GPAP) que facilita la recopilación, descubrimiento, intercambio y análisis/reanálisis de datos genómico-fenómicos estandarizados en un entorno colaborativo [29–31].

Secuenciación del genoma de lecturas cortas

Una de las aproximaciones para mejorar la tasa diagnóstica es la secuenciación completa del genoma de secuencias cortas (srGS). En comparación con ES proporciona una plataforma para identificar variantes en región codificante y no codificante, así como de CNV, repeticiones cortas en tándem (STRs) y variantes en ncRNA. La limitación de los casos sin diagnóstico tras ES parecía que podría solucionarse mediante el uso de la secuenciación srGS [32]. Sin embargo, el 70 % de los genes y casi todos los elementos reguladores en cis (CRE) del genoma aún no tienen una función conoci-

da, por lo que muchas variantes que podrían ser causantes de enfermedad no se suelen informar porque se producen en regiones sin una asociación clara a patología conocida en el momento del análisis. A esto, se le suma la interpretación de VUS en genes asociados a enfermedad, cuya patogenicidad no puede predecirse con suficiente fiabilidad. La interpretación de estos datos es complicada, teniendo que recurrir a herramientas de predicción *in silico*, a ensayos funcionales [17] y es necesario combinar estos estudios con otros estudios de transcriptómica, epigenómica y/o metabólica.

Otro de los inconvenientes es que es una tecnología de lecturas cortas, lo que dificulta el mapeo preciso de las lecturas en regiones altamente repetitivas del genoma. Esto es problemático, ya que los puntos de rotura genómica de las SV se sitúan con frecuencia en estas regiones. Por otra parte los TE no son detectables con la srGS.

El uso aislado de los datos de srGS han evidenciado un modesto aumento en el rendimiento diagnóstico (5%-20%) cuando se realiza después de ES no diagnóstico [41]. Debido a la dificultad, e incluso imposibilidad, de realizar ensayos funcionales en los laboratorios clínicos, el uso del srGS está restringido más a un contexto de investigación.

Secuenciación del genoma de lecturas largas

Una de las aproximaciones para mejorar la tasa de diagnóstico es el uso de la secuenciación masiva de lecturas largas (IrGS), que representa la tercera revolución en las tecnologías de secuenciación. La IrGS es capaz de generar lecturas de entre 10 a 60 kb permitiendo una mejor alineación con el genoma de referencia y la consiguiente identificación de SV y TE. Además, esta tecnología es capaz de secuenciar las moléculas nativas de DNA o RNA, eliminando el sesgo de la amplificación por PCR al tiempo que preserva las modificaciones epigenéticas de las bases. Actualmente, existen dos plataformas principales de IrGS: la secuenciación a tiempo real de molécula única (SMRT, por sus siglas en inglés) de PacBio y la secuenciación mediante nanoporos de Oxford Nanopore Technologies [33,37]. Aunque los resultados en el ámbito del diagnóstico de enfermedades son prometedores, todavía es necesario superar algunos retos para llevarlas del ámbito de la clínica [38–40].

El análisis de los datos obtenidos mediante las técnicas de secuenciación masiva de DNA comienza con el alineamiento de las lecturas frente a un genoma de referencia. El genoma de referencia actual es una secuencia lineal consensuada, derivada de un reducido grupo de individuos, por lo que carece de la diversidad genética real de las poblaciones. Este abordaje produce un sesgo de referencia generando que, si hay lecturas que difieran en gran medida de la referencia, se mapeen de forma incorrecta o bien se quedan sin mapear. Este mapeo incorrecto puede dar lugar a la detección de falsos positivos o falsos negativos. Para superar estas limitaciones, lo que se propone es la utilización de un pan-genoma, una colección de secuencias genómicas que capte mejor la diversidad genómica global. Este modelo pangénomico puede, entre otras cosas, ayudar a detectar variantes en pacientes con enfermedades raras procedentes de

poblaciones infrarrepresentadas o al genotipado de las SV y TE [33,41].

La IrGS puede ser masiva de todo el genoma o dirigida a una región concreta (T-IrGS) siendo esta última más eficaz dada la complejidad del análisis de los datos. La T-IrGS puede ser aplicable a casos con evidencia fenotípica o bioquímica de ser portadores de variantes en genes concretos o en el caso de casos con patologías de herencia autosómica recesiva y diagnóstico incompleto por haber sido identificada una única variante patogénica. Así en EMH, las evidencias de genética bioquímica dirigen los estudios de T-IrGS a regiones concretas del genoma pudiendo identificar TE, SV o incluso variantes intrónicas internas (manuscrito en preparación). Además de las ventajas indicadas anteriormente, el T-IrGS permite analizar la fase de las variantes, aspecto importante en el caso de segregación de variantes de novo o cuando no está disponible el DNA de los progenitores.

Estudios de transcrición (RNAseq)

A pesar de la capacidad del GS, tanto de lecturas cortas como largas, para detectar todo tipo de variantes, la priorización e interpretación del efecto de las variantes en regiones no codificantes sigue siendo un desafío. En este caso, la combinación de los datos de GS con RNA-Seq puede mejorar la priorización de genes candidatos, así como el estudio y caracterización de variantes. Esta tecnología es capaz de detectar una alteración en la expresión génica, una expresión alélica desbalanceada o la presencia de transcritos aberrantes permitiendo la identificación y priorización de variantes en el genoma que probablemente escaparían de los análisis rutinarios [42,43]. Combinado con la capa genómica la información se puede utilizar para aclarar el impacto de una variante de splicing o una variante no codificante. El uso del RNA-Seq ya ha sido capaz de aumentar el ratio diagnóstico de varias cohortes de pacientes de distintas enfermedades raras de un 8 % hasta un 36 %. Así se ha publicado una mejora sustancial en el diagnóstico de enfermedades mitocondriales identificando variantes que escaparon a la detección por ES, como variantes localizadas en enhancers exónicos de splicing, variantes intrónicas internas o en regiones promotoras [44]. RNA-seq también puede ayudar a identificar otros tipos de variantes que afectan a la estabilidad del RNA como defectos en poliadenilación, transcritos aberrantes nuevos, o variantes en genes no codificantes de proteínas, o evidenciando que podría existir una afectación de TADs o un defecto epigenético. El RNA-Seq, por lo tanto, representa una herramienta de diagnóstico en la medida que permite evidenciar el efecto funcional de variantes que afectan a la expresión o al splicing [43–46].

El mayor inconveniente del RNAseq es la necesidad de disponer muchos datos de controles, de una plataforma robusta de análisis y de protocolos experimentales que eviten variaciones en la expresión de los genes. Es por ello recomendable disponer de datos en cada uno de los laboratorios de análisis genético. Otro de los inconvenientes es la necesidad de que el gen causal se exprese en un tejido accesible, habitualmente sangre y fibroblastos. En este sentido, recientemente se ha descrito la posibilidad de mejorar el diagnóstico de numerosas patologías usando sangre de los pacientes [47].

Estudios epigenéticos

Otra de las estrategias para aumentar el ratio diagnóstico puede ser la identificación de epivariantes (variantes que implican un cambio en los patrones de metilación del DNA de un número limitado de CpG en un locus específico) y las *epi-signatures* o epifirmas (combinaciones únicas de cambios en la metilación del DNA en múltiples *loci* de todo el genoma). Este tipo de variantes principalmente han sido detectadas gracias al uso de los *arrays* de metilación, aunque es cada vez más común el uso de técnicas basadas en la secuenciación [48]. El estudio de estas variantes ha mostrado ser de utilidad en el diagnóstico de diversas enfermedades raras [55]. Aunque su aplicación en el estudio de las EMH ha sido hasta ahora limitado se ha descrito un defecto en la metilación del gen *MMACHC* causante de aciduria metilmalónica combinada con homocistinuria donde una variante localizada en un gen adyacente *PRDX1* promueve la hipermetilación del gen *MMACHC* impidiendo su expresión [52]. Además, el análisis de la epifirma puede también ser usado para reclasificar variantes [53]. Debido a que cuando se generan los datos de secuenciación de IrGS se puede analizar el estado de metilación o cualquier otra modificación de bases de DNA o RNA se espera que pronto se incorpore a los procesos de análisis de casos sin diagnóstico.

Finalmente es de destacar que la combinación de todos los datos, genómicos, transcriptómicos, epigenómicos, proteómicos y metabolómicos puede mejorar el rendimiento diagnóstico. [42].

Mapeo óptico del genoma

El mapeo óptico del genoma (OGM) es una técnica que funciona mediante la captura de imágenes de DNA etiquetado con marcajes fluorescentes de todo el genoma de motivos de secuencia de seis nucleótidos específicos. Estas etiquetas se han incorporado al DNA enzimáticamente lo que genera un patrón específico de marcas en moléculas de DNA de gran tamaño. Se puede identificar una amplia gama de grandes reordenamientos genómicos difíciles de detectar por otros métodos, como son CNV balanceadas menores de 25 kb, las inversiones, traslocaciones [54]. Una comparación de IrGS, srGS y OGM en la misma muestra demostró que una de cada tres deleciones y tres de cuatro inserciones mayores de 10 kb fueron detectables sólo por OGM [55].

Si bien OGM sobresale como tecnología única para detectar SV, existen problemas para detectar CNV grandes y reordenamientos complejos. También existen limitaciones ya que la resolución está limitada por el espaciado de las etiquetas fluorescentes a lo largo del genoma y por la resolución de imágenes de la fotocélula. Además, se requiere la extracción de DNA de alto peso molecular para obtener resultados óptimos, similar a algunos enfoques basados en IrGS.

Genómica funcional

El uso de tecnologías adicionales más allá del exoma como el srGS, IrGS o OGM nos permite expandir las regiones de estudio del genoma, además de mejorar los sistemas de ensamblaje y así detectar de forma más eficaz SV y TE. Sin embargo, uno de los mayores problemas es que aumenta la incertidumbre por la aparición de variantes de significado clínico incierto (VUS), impidiendo concluir un diagnóstico [62].

La identificación de una variante no asegura necesariamente la condición de enfermedad. Actualmente, la detección de VUS supera con creces la detección de variantes patogénicas aumentando si el paciente es de ascendencia no europea, debido a la limitada diversidad poblacional de los datos genómicos que conforman las bases de datos poblacionales. Las VUS pueden complicar la toma de decisiones clínicas, exponiendo a los pacientes a posibles consecuencias no deseadas y suponer una mayor demanda de recursos sanitarios [57]. La reclasificación de estas variantes utilizando procesos de genómica funcional está adquiriendo cada vez más importancia en el desarrollo de una estrategia diagnóstica sólida, requiriendo de la realización de ensayos específicos [58].

La predicción *in silico* de estas variantes puede mejorarse con el uso de varias herramientas computacionales como puede ser una revisión bibliográfica profunda, el uso de bases de datos específicas de la enfermedad, el uso de múltiples algoritmos que predicen la patogenicidad de una variante candidata, el modelado tridimensional de la proteína afectada [59] o utilizando programas de inteligencia artificial como AlphaFold o AlfaMissense. Sin embargo, estas predicciones como única fuente de pruebas para determinar la patogenicidad de una variante no son suficientes, recomendándose la realización de ensayos funcionales para determinar la relación entre el genotipo y el fenotipo.

Los ensayos funcionales pueden ser dirigidos u holísticos y pueden realizarse en células del paciente, en modelos celulares o en modelos animales. Estos ensayos se han vuelto imprescindibles a la hora de confirmar nuevas variantes y genes asociados a enfermedad, permitiendo dilucidar la base genética de la enfermedad de forma definitiva [58].

En el caso de los ensayos dirigidos, podemos realizar una miríada de experimentos. Un requisito previo para realizar un ensayo funcional es que exista un fenotipo medible (bioquímico o fisiológico), y que este esté directamente correlacionado con el gen de interés [58]. A nivel de mRNA las variantes pueden provocar que los niveles de expresión sean aberrantes, medible mediante RT-qPCR, y/o que el patrón de *splicing* esté alterado, analizable mediante RT-PCR o ensayo de minigenes que aíslan el efecto de variantes del contexto genético. A nivel de proteína la variante candidata puede causar una alteración en los niveles basales de la proteína, pudiendo medirse mediante *western blot*, y/o una deslocalización subcelular, analizable mediante inmunocitoquímica. Si la variante no causa ninguna alteración a estos niveles, se pueden realizar ensayos específicos de la función del producto génico. Además, en el caso de las variantes encontradas en regiones reguladoras, la realización de ensayos de expresión de un gen reportero como la luciferasa. Todos estos ensayos se pueden combinar con capas de datos ómicos como son la transcriptómica, epigenómica, metabolómica o proteómica [58].

Hay que tener en cuenta que el posible efecto de las variantes candidatas detectado por estos ensayos funcionales puede ser específico de tejido o tipo celular, del momento del desarrollo o de las condiciones ambientales específicas. Es por ello, que la elección del modelo de estudio tiene tanta relevancia. Si las células derivadas del paciente están disponibles y tenemos un fenotipo bioquímico o celular medible, el enfoque más sencillo suele ser la realización de un rescate. En este ensayo, se introduce la versión del gen afectado. Si las células del paciente no están disponibles o los resulta-

Tabla 1. Ejemplos de casos resueltos con técnicas más allá del exoma

Caso	Ejemplo
Diagnóstico por reanálisis de ES	Niño con clínica y genética bioquímica que hace sospechar un defecto congénito de glicosilación. Genética negativa por ES. La reevaluación evidenció un defecto en el canal <i>CACNA1E</i> , gen asociado a patología posteriormente al análisis de datos de ES (datos del laboratorio)
srGS detecta una variante intrónica interna (ASS1)	Niño con sospecha en un programa de cribado neonatal de citrulinemia. Sin confirmación genética por ES. Actividad residual de ASS1 del 30%. Niveles de mRNA de ASS1 medidos por RT-qPCR del 30%. Los datos de srGS evidencian la presencia de una variante intrónica interna clasificada como VUS. Reclasificación a variante patogénica por RNAseq (detección de un transcrito aberrante con la inserción de un pseudogen) y rescate del perfil transcripcional con terapia antisentido [42]
RNAseq ayuda a detectar una variante patogénica de splicing no identificada por ES	Niña con niveles elevados de fenilalanina en cribado neonatal y genética bioquímica que evidencia una deficiencia de PTPS. Genética negativa por ES. RNAseq evidencia una inserción de un pseudoexon entre los exones 1 y 2 de <i>PTS</i> y unos niveles disminuidos de RNA. El estudio de la región intrónica del gen identifica dos variantes en <i>cis</i> que generan la inserción del pseudoexon y una variante en el promotor ambos clasificadas como patogénicas por ensayos de minigenes y luciferasa, respectivamente[42]
Aproximación multiómica ayuda a completar el diagnóstico	Niño con diagnóstico de mucopolisacaridosis por clínica y genética bioquímica. Actividad IDUA indetectable. Identificada una variante de splicing por ES. Análisis de RNAseq evidencia una reducción de los niveles de mRNA de IDUA que se corresponden con una variante en el promotor del gen y el efecto de la variante de splicing identificada por ES. También se evidencia el efecto de la variante de splicing identificada en ES [42].

dos de los ensayos realizados con dichas células son no concluyentes, se puede introducir el cDNA del gen con la variante de interés o realizar una edición génica mediante CRISPR-Cas9 en modelos celulares u organismos modelo sencillos [58,60]. Dentro de estos modelos, cabe destacar la utilización de células pluripotentes inducidas humanas (hiPSC) obtenidas por reprogramación de células derivadas del paciente. Este modelo puede diferenciarse prácticamente en cualquier tipo celular y puede llegar a recapitular los aspectos únicos de la patología del paciente [33].

En el caso de variantes que afecten a TADs son necesarios enfoques moleculares, genómicos y computacionales basados en la tecnología de captura de conformación cromosómica (como 3C, 4C, 5C y Hi-C) que analizan la organización espacial de los genomas con una resolución sin precedentes [61]. En este caso, mediante el uso de la tecnología 4C-seq, que permite la detección de todas las regiones genómicas que interactúan con una determinada región de interés [61] se pueden evidenciar diferencias en la organización del genoma de los pacientes comparados con los controles. Su comparación con un DNA control nos dará la pista de la posible patogenicidad de la variante.

Conclusiones

Los avances en nuevas tecnologías dan la oportunidad de incrementar el rendimiento diagnóstico en casos con ES negativo y avanzar en el diagnóstico de casos no resueltos. La aplicación de estas nuevas tecnologías está disponible en investigación e irá paulatinamente incorporándose a la práctica asistencial a medida que tengan utilidad clínica. Estas tecnologías más allá del exoma, srGS, lrGS, OMG y su combinación con datos de RNA-seq, epigenómica, metabólica o proteómica tienen una aplicación directa en la mejora del diagnóstico tanto en la línea de identificar variantes no detectables como para la validación del efecto de VUS [62].

La elección de la prueba más allá del ES depende de varios factores y debe ser considerada caso a caso. Así por ejemplo en enfermedades mendelianas con herencia autosómica recesiva con una sola variante identificada la elección del RNAseq como capa complementaria a la capa genómica y al T-lrGS puede ser una excelente opción. También en casos con una fuerte evidencia bioquímica o fenotípica la elección de este proceso puede ser exitosa. En ambos casos la identificación de variantes en región no codificante o TE puede evidenciarse por un transcriptoma aberrante y dirigir las pruebas genómicas. En contraste para casos sin ninguna variante en ningún gen candidato debe aplicarse un amplio espectro de pruebas: análisis de metilación, srGS o RNAseq dependiendo del tipo de patología. Así en casos con clínica neurológica es más apropiada la elección de srGS ya que la expresión de los genes está restringida a cerebro y será difícil de identificar perfiles aberrantes de transcriptómica en tejidos accesibles.

En todos los casos la dirección de las pruebas debe ser marcada por un buen ejercicio de fenotipado de casos que debe describirse con la terminología *Human Phenotype Ontology* (HPO) creada en 2008 ya que proporciona un vocabulario mundialmente estandarizado para las anomalías fenotípicas asociadas a las enfermedades humanas.

Además, cuando hay evidencia de ello, los términos fenotípicos listados están a su vez relacionados con posibles defectos genéticos [63].

Por otra parte, el reanálisis periódico de los datos genómicos o las colaboraciones mediante plataformas que permiten compartir los datos fenotípicos y genómicos de los pacientes, pueden ayudar a resolver algunas de las VUS, ya que se están descubriendo nuevas relaciones gen-enfermedad a un ritmo cada vez más acelerado [33,62].

En España, contamos con el Programa de Enfermedades no Diagnosticadas (ENOd), una iniciativa del CIBERER (Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Raras) así como del proyecto IMPaCT ambos bajo la financiación del Instituto de Salud Carlos III. Estos programas transversales y colaborativos ofrecen orientación diagnóstica y consejo experto para los pacientes no diagnosticados, una reinterpretación de los datos genómicos ya existentes y finalmente, tras un proceso de priorización, ofrece la posibilidad de realizar estudios de RNA-seq o epigenéticos para tratar de evaluar el efecto de las variantes candidatas [64] o cualquier otro tipo de validación funcional.

Referencias

- [1] J. Kim, C. Hu, C. Moufawad El Achkar, L.E. Black, J. Douville, A. Larson, M.K. Pendergast, S.F. Goldkind, E.A. Lee, A. Kuniholm, A. Soucy, J. Vaze, N.R. Belur, K. Fredriksen, I. Stojkowska, A. Tsytsykova, M. Armant, R.L. DiDonato, J. Choi, L. Cornelissen, L.M. Pereira, E.F. Augustine, C.A. Genetti, K. Dies, B. Barton, L. Williams, B.D. Goodlett, B.L. Riley, A. Pasternak, E.R. Berry, K.A. Pflock, S. Chu, C. Reed, K. Tyndall, P.B. Agrawal, A.H. Beggs, P.E. Grant, D.K. Urion, R.O. Snyder, S.E. Waisbren, A. Poduri, P.J. Park, A. Patterson, A. Biffi, J.R. Mazzulli, O. Bodamer, C.B. Berde, T.W. Yu, Patient-Customized Oligonucleotide Therapy for a Rare Genetic Disease, *N Engl J Med* 381 (2019) 1644–1652. <https://doi.org/10.1056/NEJMoA1813279>.
- [2] A.W. El-Hattab, M. Almanna, V.R. Sutton, Newborn Screening: History, Current Status, and Future Directions, *Pediatr Clin North Am* 65 (2018) 389–405. <https://doi.org/10.1016/j.pcl.2017.11.013>.
- [3] H.-C. Yu, J.L. Sloan, G. Scharer, A. Brebner, A.M. Quintana, N.P. Achilly, I. Manoli, C.R. Coughlin, E.A. Geiger, U. Schneek, D. Watkins, T. Suomalainen, J.L.K. Van Hove, B. Fowler, M.R. Baumgartner, D.S. Rosenblatt, C.P. Venditti, T.H. Shaikh, An X-Linked Cobalamin Disorder Caused by Mutations in Transcriptional Coregulator HCF1, *Am J Hum Genet* 93 (2013) 506–514. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2013.07.022>.
- [4] M. Mehmedović, M. Martucci, H. Spähr, L. Ishak, A. Mishra, M.E. Sanchez-Sandoval, C. Pardo-Hernández, B. Peter, S.M. van den Wildenberg, M. Falkenberg, G. Farge, Disease causing mutation (P178L) in mitochondrial transcription factor A results in impaired mitochondrial transcription initiation, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease* 1868 (2022) 166467. <https://doi.org/10.1016/j.bbdis.2022.166467>.
- [5] D. Gallego, F. Leal, A. Gámez, M. Castro, R. Navarrete, O. Sanchez-Lijarcio, I. Vitoria, M. Bueno-Delgado, A. Belanger-Quintana, A. Morais, C. Pedrón-Giner, I. García, J. Campistol, R. Artuch, C. Alcaide, V. Cornejo, D. Gil, R. Yahyaoui, L.R. Desviat, M. Ugarte, A. Martínez, B. Pérez, Pathogenic variants of DNAJC12 and evaluation of the encoded cochaperone as a genetic modifier of hyperphenylalaninemia, *Human Mutation* 41 (2020) 1329–1338. <https://doi.org/10.1002/humu.24026>.
- [6] F. Erger, R.P. Aryal, B. Reusch, Y. Matsumoto, R. Meyer, J. Zeng, C. Knopp, M. Noel, L. Muerner, A.

Wenzel, S. Kohl, N. Tschernoster, G. Rappl, I. Rouvet, J. Schröder-Braunstein, F.S. Seibert, H. Thiele, M.G. Häusler, L.T. Weber, M. Büttner-Herold, M. Elbracht, S.F. Cummings, J. Altmüller, S. Habbig, R.D. Cummings, B.B. Beck, Germline C1GALT1C1 mutation causes a multisystem chaperonopathy, *Proceedings of the National Academy of Sciences* 120 (2023) e2211087120. <https://doi.org/10.1073/pnas.2211087120>.

[7] Y. Li, Z. Tan, Y. Zhang, Z. Zhang, Q. Hu, K. Liang, J. Yao, Y. Ye, Y.-C. Li, C. Li, L. Liao, J. Xu, Z. Xing, Y. Pan, S.S. Chatterjee, T.K. Nguyen, H. Hsiao, S.D. Egranov, N. Putluri, C. Coarfa, D.H. Hawke, P.H. Gunaratne, K.-L. Tsai, L. Han, M.-C. Hung, G.A. Calin, F. Namour, J.-L. Guéant, A.C. Muntau, N. Blau, V.R. Sutton, M. Schiff, F. Feillet, S. Zhang, C. Lin, L. Yang, A noncoding RNA modulator potentiates phenylalanine metabolism in mice, *Science* 373 (2021) 662–673. <https://doi.org/10.1126/science.aba4991>.

[8] C.R. Ferreira, C.D.M. van Karnebeek, J. Vockley, N. Blau, A proposed nomenclature of inborn errors of metabolism, *Genet Med* 21 (2019) 102–106. <https://doi.org/10.1038/s41436-018-0022-8>.

[9] E. Morava, S. Rahman, V. Peters, M.R. Baumgartner, M. Patterson, J. Zschocke, Quo vadis: the re-definition of “inborn metabolic diseases,” *Journal of Inherited Metabolic Disease* 38 (2015) 1003–1006. <https://doi.org/10.1007/s10545-015-9893-x>.

[10] C.R. Ferreira, S. Rahman, M. Keller, J. Zschocke, An International Classification of Inherited Metabolic Disorders (ICIMD), *J Inher Metab Dis* 44 (2021) 164–177. <https://doi.org/10.1002/jimdis.12348>.

[11] F.M. Platt, A. d’Azzo, B.L. Davidson, E.F. Neufeld, C.J. Tiffit, Lysosomal storage diseases, *Nat Rev Dis Primers* 4 (2018) 27. <https://doi.org/10.1038/s41572-018-0025-4>.

[12] G. Moresco, O. Rondinone, A. Mauri, J. Costanza, C. Santaniello, P. Colapietro, E. Micaglio, G. Marfia, C. Pesenti, F. Grilli, B. Rinaldi, E. Prada, G. Scuvera, R. Villa, M.F. Bedeschi, M.R. Miozzo, D. Milani, L. Fontana, Pitfalls of whole exome sequencing in undefined clinical conditions with a suspected genetic etiology, *Genes* 14 (2023) 637–655. <https://doi.org/10.1007/s13258-022-01341-x>.

[13] N.C. Lee, The incorporation of next-generation sequencing into pediatric care, *Pediatrics & Neonatology* 64 (2023) S30–S34. <https://doi.org/10.1016/j.pedneo.2022.11.002>.

[14] A.P.J. de Koning, W. Gu, T.A. Castoe, M.A. Batzer, D.D. Pollock, Repetitive elements may comprise over two-thirds of the human genome, *PLoS Genet* 7 (2011) e1002384. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1002384>.

[15] A. Anna, G. Monika, Splicing mutations in human genetic disorders: examples, detection, and confirmation, *J Appl Genet* 59 (2018) 253–268. <https://doi.org/10.1007/s13353-018-0444-7>.

[16] S.E. de Bruijn, A. Fiorentino, D. Ottaviani, S. Fanucchi, U.S. Melo, J.C. Corral-Serrano, T. Mulders, M. Georgiou, C. Rivolta, N. Pontikos, G. Arno, L. Roberts, J. Greenberg, S. Albert, C. Gilissen, M. Aben, G. Rebello, S. Mead, F.L. Raymond, J. Corominas, C.E.L. Smith, H. Kremer, S. Downes, G.C. Black, A.R. Webster, C.F. Inglehearn, L.I. van den Born, R.K. Koeneke, M. Michaelides, R.S. Ramesar, C.B. Hoyng, S. Mundlos, M.M. Mhlana, F.P.M. Cremers, M.E. Cheetham, S. Roosing, A.J. Hardcastle, Structural Variants Create New Topological-Associated Domains and Ectopic Retinal Enhancer-Genes Contact in Dominant Retinitis Pigmentosa, *The American Journal of Human Genetics* 107 (2020) 802–814. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2020.09.002>.

[17] D.M. Ibrahim, S. Mundlos, Three-dimensional chromatin in disease: What holds us together and what drives us apart?, *Current Opinion in Cell Biology* 64 (2020) 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.ceb.2020.01.003>.

[18] J.L. Goodier, Restricting retrotransposons: a review, *Mob DNA* 7 (2016) 16. <https://doi.org/10.1186/s13100-016-0070-z>.

[19] D.C. Hancks, H.H. Kazazian, Roles for retrotransposon insertions in human disease, *Mob DNA* 7 (2016) 9. <https://doi.org/10.1186/s13100-016-0065-9>.

- [20] D.C. Hancks, H.H. Kazazian, Active human retransposons: variation and disease, *Curr Opin Genet Dev* 22 (2012) 191–203. <https://doi.org/10.1016/j.gde.2012.02.006>.
- [21] M. Laugsch, M. Bartusel, R. Rehimi, H. Alirzayeva, A. Karaolidou, G. Crispatsu, P. Zentis, M. Nikolic, T. Bleckwehl, P. Kolovos, W.F.J. Van Ijcken, T. Šarić, K. Koehler, P. Frommolt, K. Lachlan, J. Baptista, A. Rada-Iglesias, Modeling the Pathological Long-Range Regulatory Effects of Human Structural Variation with Patient-Specific hiPSCs, *Cell Stem Cell* 24 (2019) 736–752.e12. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2019.03.004>.
- [22] J.A. Meinel, V. Yumiceba, A. Künstner, K. Schultz, N. Kruse, F.J. Kaiser, P.-M. Holterhus, A. Claviez, O. Hiort, H. Busch, M. Spielmann, R. Werner, Disruption of the topologically associated domain at Xp21.2 is related to 46, XY gonadal dysgenesis, *J Med Genet* 60 (2023) 469–476. <https://doi.org/10.1136/jmg-2022-108635>.
- [23] S. Richards, N. Aziz, S. Bale, D. Bick, S. Das, J. Gastier-Foster, W.W. Grody, M. Hegde, E. Lyon, E. Spector, K. Voelkerding, H.L. Rehm, Standards and Guidelines for the Interpretation of Sequence Variants: A Joint Consensus Recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology, *Genet Med* 17 (2015) 405–424. <https://doi.org/10.1038/gim.2015.30>.
- [24] N.B. Tan, R. Stapleton, Z. Stark, M.B. Delatycki, A. Yeung, M.F. Hunter, D.J. Amor, N.J. Brown, C.A. Stutter, G. McGillivray, P. Yap, M. Regan, B. Chong, M. Farjull Fernandez, J. Marum, D. Phelan, L.S. Pais, S.M. White, S. Lunke, T.Y. Tan, Evaluating systematic reanalysis of clinical genomic data in rare disease from single center experience and literature review, *Molecular Genetics & Genomic Medicine* 8 (2020) e1508. <https://doi.org/10.1002/mgg3.1508>.
- [25] G. Bullich, L. Matalonga, M. Pujadas, A. Papakonstantinou, D. Piscià, R. Tonda, R. Artuch, P. Gallano, G. Garrabou, J.R. González, D. Grinberg, M. Guitart, S. Laurie, C. Lázaro, C. Luengo, R. Martí, M. Milà, D. Ovelheiro, G. Parra, A. Pujol, E. Tizano, A. Macaya, F. Palau, A. Ribes, L.A. Pérez-Jurado, S. Beltran, A. Schlüter, A. Rodríguez-Palmero, A. Cáceres, A. Nascimento, A. García-Cazorla, A. Cueto-González, A. Marcé-Grau, A.R. Nel.ío, A. Martínez-Monseny, A. Sánchez, B. García, B. Pérez-Dueñas, B. Gel, B. Fusté, C. Hernández-Ferrer, C. Casasnovas, C. Ortez, C. Arjona, C. Hernandez-Davallillo, D.N. de Benito, D.P. Amador, D. Gómez-Andrés, D. Yubero, D. Pelegrí-Sisó, E. Verdura, E. García-Arumí, E. Castellanos, E. Gabau, E. Tobías, F. López-Grondona, F. Cardellach, F.J. García-García, F. Munell, F. Tort, G. Aznar, G. Olivé-Cirera, G. Tell, G. Muñoz-Pujol, I. Paramonov, I. Blanco, I. Madrigal, I. Valenzuela, I. Gut, I. Cusco, J.-R. Trotta, J. Cruz, J. Díaz-Manera, J.C. Miilsenda, J. M. Grau, J. García-Villoria, J. Armstrong, J. Cantó, J. Sala-Coromina, L. Rodríguez-Revenga, L. Alias, L. Gort, L. González-Quereda, M. Costa, M. Fernández-Callejo, M. López-Sánchez, M.I. Álvarez-Mora, M. Gut, M. Serrano, M. Raspall-Chaure, M. del Toro, M. Bayés, N.B. Díez, N. Spataro, N. Capdevila, O. Ugarteburu, P. Muñoz-Cabello, P.R. Duque, R. Rabionet, R. Rojas-García, R. Calvo, R. Urreiziti, S. Bernal, S. Boronat, S. Balcells, T. Vendrell, Systematic Collaborative Reanalysis of Genomic Data Improves Diagnostic Yield in Neurologic Rare Diseases, *The Journal of Molecular Diagnostics* 24 (2022) 529–542. <https://doi.org/10.1016/j.jmoldx.2022.02.003>.
- [26] A.J. Robertson, N.B. Tan, A.B. Spurdle, A. Mekte-Jimenez, C. Sullivan, N. Waddell, Re-analysis of genomic data: An overview of the mechanisms and complexities of clinical adoption, *Genetics in Medicine* 24 (2022) 798–810. <https://doi.org/10.1016/j.gim.2021.12.011>.
- [27] P. Liu, L. Meng, E.A. Normand, F. Xia, X. Song, A. Ghazi, J. Rosenfeld, P.L. Magoulas, A. Braxton, P. Ward, H. Dai, B. Yuan, W. Bi, R. Xiao, X. Wang, T. Chiang, F. Vetrini, W. He, H. Cheng, J. Dong, C. Gijavanekar, P.J. Benke, J.A. Bernstein, T. Eble, Y. Eroglu, D. Erwin, L. Escobar, J.B. Gibson, K. Gripp, S. Kleppe, M.K. Koenig, A.M. Lewis, M. Natowicz, P. Mancias, L. Minor, F. Scaglia, C.P. Schaaf, H. Streff, H. Vernon, C.L. Uhles, E.H. Zackai, N. Wu, V.R. Sutton, A.L. Beaudet, D. Muzny, R.A. Gibbs, J.E. Posey, S. Lalani, C. Shaw, C.M. Eng, J.R. Lupski, Y. Yang, Reanalysis of Clinical Exome Sequencing Data, *N Engl J Med* 380 (2019) 2478–2480. <https://doi.org/10.1056/NEJMc1812033>.
- [28] ACMG Board of Directors, Laboratory and clinical genomic data sharing is crucial to improving genetic health care: a position statement of the American College of Medical Genetics and Genomics, *Genetics in Medicine* 19 (2017) 721–722. <https://doi.org/10.1038/gim.2016.196>.
- [29] A.A. Philippakis, D.R. Azzariti, S. Beltran, A.J. Brookes, C.A. Brownstein, M. Brudno, H.G. Brunner, O.J. Buske, K. Carey, C. Doll, S. Dumitriu, S.O.M. Dyke, J.T. den Dunnen, H.V. Firth, R.A. Gibbs, M. Girdea, M. Gonzalez, M.A. Haendel, A. Hamosh, I.A. Holm, L. Huang, M.E. Hurler, B. Hutton, J.B. Krier, A. Misyura, C.J. Mungall, J. Paschall, B. Paten, P.N. Robinson, F. Schiettecatte, N.L. Sobreira, G.J. Swaminathan, P.E. Taschner, S.F. Terry, N.L. Washington, S. Züchner, K.M. Boycott, H.L. Rehm, The Matchmaker Exchange: A Platform for Rare Disease Gene Discovery, *Human Mutation* 36 (2015) 915–921. <https://doi.org/10.1002/humu.22858>.
- [30] K.M. Boycott, D.R. Azzariti, A. Hamosh, H.L. Rehm, Seven years since the launch of the Matchmaker Exchange: The evolution of genomic match-making, *Human Mutation* 43 (2022) 659–667. <https://doi.org/10.1002/humu.24373>.
- [31] S. Laurie, D. Piscià, L. Matalonga, A. Corvó, M. Fernández-Callejo, C. García-Linares, C. Hernández-Ferrer, C. Luengo, I. Martínez, A. Papakonstantinou, D. Picó-Amador, J. Protasio, R. Thompson, R. Tonda, M. Bayés, G. Bullich, J. Camps-Puchadas, I. Paramonov, J.-R. Trotta, A. Alonso, M. Attimonelli, C. Bérout, V. Bros-Facer, O.J. Buske, A. Cañada-Pallarés, J.M. Fernández, M.G. Hansson, R. Horvath, J.O.B. Jacobsen, R. Kaliyaperumal, S. Lair-Préterre, L. Licata, P. Lopes, E. López-Martín, D. Mascalzoni, L. Monaco, L.A. Pérez-Jurado, M. Posada de la Paz, J. Rambla, A. Rath, O. Riess, P.N. Robinson, D. Salgado, D. Smedley, D. Spalding, P.A.C. 't Hoen, A. Töpf, I. Zaharieva, H. Graessner, I.G. Gut, H. Lochmüller, S. Beltran, The RD-Connect Genome-Phenome Analysis Platform: Accelerating diagnosis, research, and gene discovery for rare diseases, *Human Mutation* 43 (2022) 717–733. <https://doi.org/10.1002/humu.24353>.
- [32] J.D. French, S.L. Edwards, The Role of Non-coding Variants in Heritable Disease, *Trends Genet* 36 (2020) 880–891. <https://doi.org/10.1016/j.tig.2020.07.004>.
- [33] S. Marwaha, J.W. Knowles, E.A. Ashley, A guide for the diagnosis of rare and undiagnosed disease: beyond the exome, *Genome Med* 14 (2022) 23. <https://doi.org/10.1186/s13073-022-01026-w>.
- [34] C.F. Wright, D.R. FitzPatrick, H.V. Firth, Paediatric genomics: diagnosing rare disease in children, *Nat Rev Genet* 19 (2018) 253–268. <https://doi.org/10.1038/nrg.2017.116>.
- [35] A. Alfares, T. Aloraini, L.A. subaie, A. Alissa, A.A. Qudsi, A. Alahmad, F.A. Mutairi, A. Alswaid, A. Alothaim, W. Eyaid, M. Albalwi, S. Alturki, M. Alfdhel, Whole-genome sequencing offers additional but limited clinical utility compared with reanalysis of whole-exome sequencing, *Genetics in Medicine* 20 (2018) 1328–1333. <https://doi.org/10.1038/gim.2018.41>.
- [36] A.S.A. Cohen, E.G. Farrow, A.T. Abdelmoity, J.T. Alaimo, S.M. Amudhavalli, J.T. Anderson, L. Bansal, L. Bartik, P. Baybayan, B. Belden, C.D. Berrios, R.L. Biswell, P. Buczkowicz, O. Buske, S. Chakraborty, W.A. Cheung, K.A. Coffman, A.M. Cooper, L.A. Cross, T. Curran, T.T.T. Dang, M.M. Elfrink, K.L. Engleman, E.D. Fecske, C. Fieser, K. Fitzgerald, E.A. Fleming, R.N. Gadea, J.L. Gannon, R.N. Gelineau-Morel, M. Gibson, J. Goldstein, E. Grundberg, K. Halpin, B.S. Harvey, B.A. Heese, W. Hein, S.M. Herd, S.S. Hughes, M. Ilyas, J. Jacobson, J.L. Jenkins, S. Jiang, J.J. Johnston, K. Keeler, J. Korlach, J. Kussmann, C. Lambert, C. Lawson, J.-B. Le Pichon, J.S. Leeder, V.C. Little, D.A. Louiselle, M. Lypka, B.D. McDonald, N. Miller, A. Modrcin, A. Nair, S.H. Neal, C.M. Oermann, D.M. Pacicca, K. Pawar, N.L. Posey, N. Price, L.M.B. Puckett, J.F. Quezada, N. Raju, W.J. Rowell, E.T. Rush, V. Sampath, C.J. Saunders, C. Schwager, R.M. Schwend, E. Shaffer, C. Smail, S. Soden, M.E. Strenk, B.R. Sullivan, B.R. Sweeney, J.B. Tam-Williams, A.M. Walter, H. Wel-
- sh, A.M. Wenger, L.K. Willig, Y. Yan, S.T. Younger, D. Zhou, T.N. Zion, I. Thiffault, T. Pastinen, Genomic answers for children: Dynamic analyses of >1000 pediatric rare disease genomes, *Genetics in Medicine* 24 (2022) 1336–1348. <https://doi.org/10.1016/j.gim.2022.02.007>.
- [37] S.L. Amarasinghe, S. Su, X. Dong, L. Zappia, M.E. Ritchie, G. Goull, Opportunities and challenges in long-read sequencing data analysis, *Genome Biol* 21 (2020) 30. <https://doi.org/10.1186/s13059-020-1935-5>.
- [38] S.M. Hiatt, J.M.J. Lawlor, L.H. Handley, R.C. Ramaker, B.B. Rogers, E.C. Partridge, L.B. Boston, M. Williams, C.B. Plott, J. Jenkins, D.E. Gray, J.M. Holt, K.M. Bowling, E.M. Bebin, J. Grimwood, J. Schmutz, G.M. Cooper, Long-read genome sequencing for the molecular diagnosis of neurodevelopmental disorders, *Human Genetics and Genomics Advances* 2 (2021) 100023. <https://doi.org/10.1016/j.xhgg.2021.100023>.
- [39] L.K. Conlin, E. Aref-Eshghi, D.A. McEldrew, M. Luo, R. Rajagopalan, Long-read sequencing for molecular diagnostics in constitutional genetic disorders, *Human Mutation* 43 (2022) 1531–1544. <https://doi.org/10.1002/humu.24465>.
- [40] D.E. Miller, L. Lee, M. Galey, R. Kandhaya-Pillai, M. Tischkowitz, D. Amalath, A. Vithlani, K. Yokote, H. Kato, Y. Maezawa, A. Takada-Watanabe, M. Takemoto, G.M. Martin, E.E. Eichler, F.M. Hisama, J. Oshima, Targeted long-read sequencing identifies missing pathogenic variants in unsolved Werner syndrome cases, *J Med Genet* 59 (2022) 1087–1094. <https://doi.org/10.1136/jmedgenet-2022-108485>.
- [41] W.-W. Liao, M. Asri, J. Ebler, D. Doerr, M. Haunness, G. Hickey, S. Lu, J.K. Lucas, J. Monlong, H.J. Abel, S. Buonaiuto, X.H. Chang, H. Cheng, J. Chu, V. Colonna, J.M. Eizenga, X. Feng, C. Fischer, R.S. Fulton, S. Garg, C. Groza, A. Guarracino, W.T. Harvey, S. Heumos, K. Howe, M. Jain, T.-Y. Lu, C. Markello, F.J. Martin, M.W. Mitchell, K.M. Munson, M.N. Mwaniki, A.M. Novak, H.E. Olsen, T. Pesout, D. Porubsky, P. Prins, J.A. Sibbesen, J. Sirén, C. Tomlinson, F. Villani, M.R. Vollger, L.L. Antonacci-Fulton, G. Baid, C.A. Baker, A. Belyaeva, K. Billis, A. Carroll, P.-C. Chang, S. Cody, D.E. Cook, R.M. Cook-Deegan, O.E. Cornejo, M. Diekhans, P. Ebert, S. Fairley, O. Fedrigo, A.L. Felsenfeld, G. Formenti, A. Frankish, Y. Gao, N.A. Garrison, C.G. Giron, R.E. Green, L. Haggerty, K. Hoekzema, T. Hourlier, H.P. Ji, E.E. Kenny, B.A. Koenig, A. Kolesnikov, J.O. Korbel, J. Kordosky, S. Koren, H. Lee, A.P. Lewis, H. Magalhães, S. Marco-Sola, P. Marijon, A. McCartney, J. McDaniel, J. Mountcastle, M. Nattestad, S. Nurk, N.D. Olson, A.B. Popejoy, D. Puiui, M. Rautiainen, A.A. Regier, A. Rhie, S. Sacco, A.D. Sanders, V.A. Schaefer, B.I. Schultz, K. Shafin, M.W. Smith, H.J. Sofia, A.N. Abou Tayoun, F. Thibaud-Nissen, F.F. Tricoli, J. Wagner, B. Walenz, J.M.D. Wood, A.V. Zimin, G. Bourque, M.J.P. Chaisson, P. Flicek, A.M. Phillippy, J.M. Zook, E.E. Eichler, D. Haussler, T. Wang, E.D. Jarvis, K.H. Miga, E. Garrison, T. Marschall, I.M. Hall, H. Li, B. Paten, A draft human pangenome reference, *Nature* 617 (2023) 312–324. <https://doi.org/10.1038/s41586-023-05896-x>.
- [42] A. Soriano-Sexto, D. Gallego, F. Leal, N. Castejón-Fernández, R. Navarrete, P. Alcaide, M.L. Couce, E. Martín-Hernández, P. Quijada-Fraile, L. Peña-Quintana, R. Yahyaoui, P. Correcher, M. Ugarte, P. Rodríguez-Pombo, B. Pérez, Identification of Clinical Variants beyond the Exome in Inborn Errors of Metabolism, *Int J Mol Sci* 23 (2022) 12850. <https://doi.org/10.3390/ijms232112850>.
- [43] V.A. Yépez, M. Gusic, R. Kopajtich, C. Mertes, N.H. Smith, C.L. Alston, R. Ban, S. Beblo, R. Berutti, H. Blessing, E. Ciara, F. Distelmaier, P. Freisinger, J. Häberle, S.J. Hayflick, M. Hempel, Y.S. Itkiss, Y. Kishita, T. Klopstock, T.D. Krylova, C. Lamperti, D. Lenz, C. Makowski, S. Mosegaard, M.F. Müller, G. Muñoz-Pujol, A. Nadel, A. Ohtake, Y. Okazaki, E. Procopio, T. Schwarzmayr, J. Smet, C. Staufner, S.L. Stenton, T.M. Strom, C. Terrile, F. Tort, R. Van Coster, A. Vanlander, M. Wagner, M. Xu, F. Fang, D. Ghezzi, J.A. Mayr, D. Piekutowska-Abramczuk, A. Ribes, A. Rötig, R.W. Taylor, S.B. Wortmann, K. Murayama, T. Meitinger, J. Gagneur, H. Prokisch, Clinical implementation of RNA sequencing for Mendelian disease diagnostics, *Genome Medicine* 14 (2022) 38. <https://doi.org/10.1186/s13073-022-01019-9>.

[44] L.S. Kremer, D.M. Bader, C. Mertes, R. Kopačič, G. Pichler, A. Iuso, T.B. Haack, E. Graf, T. Schwarzmayr, C. Terrile, E. Koňařiková, B. Repp, G. Kastenmüller, J. Adamski, P. Lichtner, C. Leonhardt, B. Funalot, A. Donati, V. Tiranti, A. Lombes, C. Jardel, D. Gläser, R.W. Taylor, D. Ghezzi, J.A. Mayr, A. Rötig, P. Freisinger, F. Distelmaier, T.M. Strom, T. Meitinger, J. Gagneur, H. Prokisch, Genetic diagnosis of Mendelian disorders via RNA sequencing, *Nat Commun* 8 (2017) 15824. <https://doi.org/10.1038/ncomms15824>.

[45] S.L. Stenton, L.S. Kremer, R. Kopačič, C. Ludwig, H. Prokisch, The diagnosis of inborn errors of metabolism by an integrative "multi-omics" approach: A perspective encompassing genomics, transcriptomics, and proteomics, *J Inheri Metab Dis* 43 (2020) 25–35. <https://doi.org/10.1002/jimd.12130>.

[46] B.B. Cummings, J.L. Marshall, T. Tukiainen, M. Lek, S. Donkervoort, A.R. Foley, V. Bolduc, L.B. Waddell, S.A. Sandaradura, G.L. O'Grady, E. Estrella, H.M. Reddy, F. Zhao, B. Weisburd, K.J. Karczewski, A.H. O'Donnell-Luria, D. Birnbaum, A. Sarkozy, Y. Hu, H. Gonorazky, K. Claeys, H. Joshi, A. Bournazos, E.C. Oates, R. Ghaoui, M.R. Davis, N.G. Laing, A. Topf, Genotype-Tissue Expression Consortium, P.B. Kang, A.H. Beggs, K.N. North, V. Straub, J.J. Dowling, F. Muntoni, N.F. Clarke, S.T. Cooper, C.G. Bönnemann, D.G. MacArthur, Improving genetic diagnosis in Mendelian disease with transcriptome sequencing, *Sci Transl Med* 9 (2017) eaal5209. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aal5209>.

[47] L. Frésard, C. Smail, N.M. Ferraro, N.A. Teran, X. Li, K.S. Smith, D. Bonner, K.D. Kernohan, S. Marwaha, Z. Zappala, B. Balliu, J.R. Davis, B. Liu, C.J. Prybol, J.N. Kohler, D.B. Zastrow, C.M. Reuter, D.G. Fisk, M.E. Grove, J.M. Davidson, T. Hartley, R. Joshi, B.J. Strober, S. Utiramerur, Undiagnosed Diseases Network, Care4Rare Canada Consortium, L. Lind, E. Ingelsson, A. Battle, G. Bejerano, J.A. Bernstein, E.A. Ashley, K.M. Boycott, J.D. Merker, M.T. Wheeler, S.B. Montgomery, Identification of rare-disease genes using blood transcriptome sequencing and large control cohorts, *Nat Med* 25 (2019) 911–919. <https://doi.org/10.1038/s41591-019-0457-8>.

[48] E. Aref-Eshghi, E.G. Bend, S. Colaiacovo, M. Caudle, R. Chakrabarti, M. Napier, L. Brick, L. Brady, D.A. Carere, M.A. Levy, J. Kerkhof, A. Stuart, M. Saleh, A.L. Beaudet, C. Li, M. Kozenko, N. Karp, C. Prasad, V.M. Siu, M.A. Tarnopolsky, P.J. Ainsworth, H. Lin, D.I. Rodenhiser, I.D. Krantz, M.A. Deardorff, C.E. Schwartz, B. Sadikovic, Diagnostic Utility of Genome-wide DNA Methylation Testing in Genetically Unsolved Individuals with Suspected Hereditary Conditions, *Am J Hum Genet* 104 (2019) 685–700. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2019.03.008>.

[49] E. Aref-Eshghi, J. Kerkhof, V.P. Pedro, M. Barat-Houari, N. Ruiz-Pallares, J.-C. Andrau, D. Lacombe, J. Van-Gils, P. Fergelot, C. Dubourg, V. Cormier-Daire, S. Rondeau, F. Lecoquierre, P. Saugier-Verber, G. Nicolas, G. Lesca, N. Chattron, D. Sanlaville, A. Vitobello, L. Faivre, C. Thauvin-Robinet, F. Laumonier, M. Raynaud, M. Alders, M. Mannens, P. Henneman, R.C. Hennekam, G. Velasco, C. Francastel, D. Ulveling, A. Cioffi, S. Pizzi, M. Tartaglia, S. Heide, D. Héron, C. Mignot, B. Keren, S. Whalen, A. Afenjar, T. Bienvenu, P.M. Campeau, J. Rousseau, M.A. Levy, L. Brick, M. Kozenko, T.B. Balci, V.M. Siu, A. Stuart, M. Kadour, J. Masters, K. Takano, T. Kleefstra, N. de Leeuw, M. Field, M. Shaw, J. Gecz, P.J. Ainsworth, H. Lin, D.I. Rodenhiser, M.J. Friez, M. Tedder, J.A. Lee, B.R. DuPont, R.E. Stevenson, S.A. Skinner, C.E. Schwartz, D. Genevieve, B. Sadikovic, Evaluation of DNA Methylation Episignatures for Diagnosis and Phenotype Correlations in 42 Mendelian Neurodevelopmental Disorders, *Am J Hum Genet* 106 (2020) 356–370. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2020.01.019>.

[50] B. Sadikovic, M.A. Levy, J. Kerkhof, E. Aref-Eshghi, L. Schenkel, A. Stuart, H. McConkey, P. Henneinan, A. Venema, C.E. Schwartz, R.E. Stevenson, S.A. Skinner, B.R. DuPont, R.S. Fletcher, T.B. Balci, V.M. Siu, J.L. Granadillo, J. Masters, M. Kadour, M.J. Friez, M.M. van Haelst, M.M.A.M. Mannens, R.J. Louie, J.A. Lee, M.L. Tedder, M. Alders, Clinical epigenomics: genome-wide DNA methylation analysis for the diagnosis of Mendelian disorders, *Genet Med* 23 (2021) 1065–1074. <https://doi.org/10.1038/s41436-020-01096-4>.

[51] J. Coenen-van der Spek, R. Relator, J. Kerkhof, H. McConkey, M.A. Levy, M.L. Tedder, R.J. Louie, R.S. Fletcher, H.W. Moore, A. Childers, E.R. Farrelly, N.L. Champagne, M.J. Lyons, D.B. Everman, R.C. Rogers, S.A. Skinner, A. Renck, D.R. Matalon, S.K. Dills, B. Monteleone, S. Demirdas, A.J.M. Dingemans, L. Donker Kaat, S.M. Kolk, R. Pfundt, P. Rump, B. Sadikovic, T. Kleefstra, K.M. Butler, DNA methylation epigenotype for Witteveen-Kolk syndrome due to SIN3A haploinsufficiency, *Genetics in Medicine* 25 (2023) 63–75. <https://doi.org/10.1016/j.gim.2022.10.004>.

[52] J.-L. Guéant, C. Chéry, A. Oussalah, J. Nadaf, D. Coelho, T. Josse, J. Flayac, A. Robert, I. Koscinski, I. Gastin, P. Filhine-Tresarrieu, M. Pupavac, A. Brebner, D. Watkins, T. Pastinen, A. Montpetit, F. Hariri, D. Tregouët, B.A. Raby, W.K. Chung, P.-E. Morange, D.S. Froese, M.R. Baumgartner, J.-F. Benoist, C. Ficocioglu, V. Marchand, Y. Motorin, C. Bonnemains, F. Feillet, J. Majewski, D.S. Rosenblatt, APRDX1 mutant allele causes a MMA2CHC secondary epimutation in cblC patients, *Nat Commun* 9 (2018) 67. <https://doi.org/10.1038/s41467-017-02306-5>.

[53] B. Sadikovic, M.A. Levy, J. Kerkhof, E. Aref-Eshghi, L. Schenkel, A. Stuart, H. McConkey, P. Henneinan, A. Venema, C.E. Schwartz, R.E. Stevenson, S.A. Skinner, B.R. DuPont, R.S. Fletcher, T.B. Balci, V.M. Siu, J.L. Granadillo, J. Masters, M. Kadour, M.J. Friez, M.M. van Haelst, M.M.A.M. Mannens, R.J. Louie, J.A. Lee, M.L. Tedder, M. Alders, Clinical epigenomics: genome-wide DNA methylation analysis for the diagnosis of Mendelian disorders, *Genet Med* 23 (2021) 1065–1074. <https://doi.org/10.1038/s41436-020-01096-4>.

[54] S. Chan, E. Lam, M. Saghbini, S. Bocklandt, A. Hastie, H. Cao, E. Holmlin, M. Borodkin, Structural Variation Detection and Analysis Using Bionano Optical Mapping, *Methods Mol Biol* 1833 (2018) 193–203. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-8666-8_16.

[55] M.J.P. Chaisson, A.D. Sanders, X. Zhao, A. Malhotra, D. Porubsky, T. Rausch, E.J. Gardner, O.L. Rodrigue, L. Guo, R.L. Collins, X. Fan, J. Wen, R.E. Handsaker, S. Fairley, Z.N. Kronenberg, X. Kong, F. Hormozdiari, D. Lee, A.M. Wenger, A.R. Hastie, D. Antaki, T. Anantharaman, P.A. Audano, H. Brand, S. Cantalieri, H. Cao, E. Cerveira, C. Chen, X. Chen, C.-S. Chin, Z. Chong, N.T. Chuang, C.C. Lambert, D.M. Church, L. Clarke, E. Farrell, J. Flores, T. Galeev, D.U. Gorkin, M. Gujral, V. Gurylev, W.H. Heaton, J. Korlach, S. Kumar, J.Y. Kwon, E.T. Lam, J.E. Lee, J. Lee, W.-P. Lee, S.P. Lee, S. Li, P. Marks, K. Viaud-Martinez, S. Meiers, K.M. Munson, F.C.P. Navarro, B.J. Nelson, C. Nodzak, A. Noor, S. Kyriazopoulou-Panagiotopoulou, A.W.C. Pang, Y. Qiu, G. Rosanio, M. Ryan, A. Stütz, D.C.J. Spierings, A. Ward, A.E. Welch, M. Xiao, W. Xu, C. Zhang, Q. Zhu, X. Zheng-Bradley, E. Lowy, S. Yakneen, S. McCarrroll, G. Jun, L. Ding, C.L. Koh, B. Ren, P. Flicek, K. Chen, M.B. Gerstein, P.-Y. Kwok, P.M. Lansdorp, G.T. Marth, J. Sebat, X. Shi, A. Bashir, K. Ye, S.E. Devine, M.E. Talkowski, R.E. Mills, T. Marschall, J.O. Korbel, E.E. Eichler, C. Lee, Multi-platform discovery of haplotype-resolved structural variation in human genomes, *Nat Commun* 10 (2019) 1784. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-08148-z>.

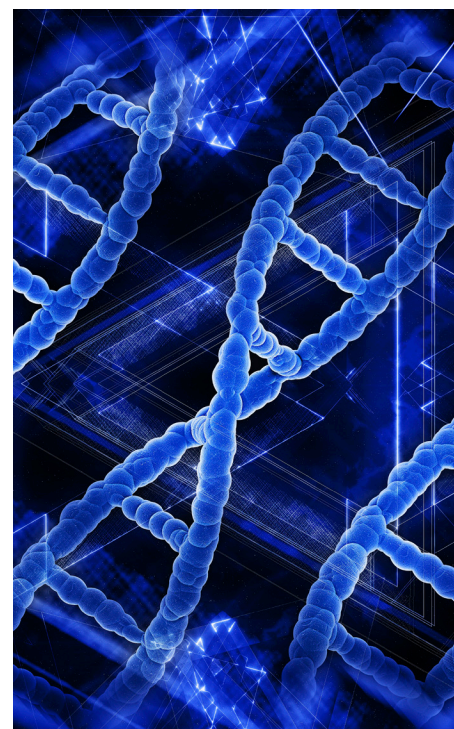
[56] H. Krude, S. Mundlos, N.C. Øien, R. Opitz, M. Schuelke, What can go wrong in the non-coding genome and how to interpret whole genome sequencing data, *Medizinische Genetik* 33 (2021) 121–131. <https://doi.org/10.1515/medgen-2021-2071>.

[57] W. Burke, E. Parens, W.K. Chung, S.M. Berger, P.S. Appelbaum, The Challenge of Genetic Variants of Uncertain Clinical Significance, *Ann Intern Med* 175 (2022) 994–1000. <https://doi.org/10.7326/M21-4109>.

[58] R.J. Rodenburg, The functional genomics laboratory: functional validation of genetic variants, *Journal of Inherited Metabolic Disease* 41 (2018) 297–307. <https://doi.org/10.1007/s10545-018-0146-7>.

[59] D. Casas-Alba, J. Hoenicka, A. Vilanova-Adell, L. Vega-Hanna, J. Pijuan, F. Palau, Diagnostic strategies in patients with undiagnosed and rare diseases, *Diagnostic Strategies in Patients with Undiagnosed and Rare Diseases* 6 (2022) 322–332. <https://doi.org/10.20517/jtgg.2022.03>.

[60] Y. Hitomi, K. Tokunaga, Significance of functional disease-causal/susceptible variants identified by



whole-genome analyses for the understanding of human diseases, *Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci* 93 (2017) 657–676. <https://doi.org/10.2183/pjabb.93.042>.

[61] J. Dekker, M.A. Marti-Renom, L.A. Mirny, Exploring the three-dimensional organization of genomes: interpreting chromatin interaction data, *Nat Rev Genet* 14 (2013) 390–403. <https://doi.org/10.1038/nrg3454>.

[62] M.H. Wojcik, C.M. Reuter, S. Marwaha, M. Mahmoud, M.H. Duyzend, H. Barseghyan, B. Yuan, P.M. Boone, E.E. Groopman, E.C. Délot, D. Jain, A. Sanchez-Juan, L.M. Starita, M. Talkowski, S.B. Montgomery, M.J. Bamshad, J.X. Chong, M.T. Wheeler, S.I. Berger, A. O'Donnell-Luria, F.J. Sedlitz, D.E. Miller, Beyond the exome: What's next in diagnostic testing for Mendelian conditions, *The American Journal of Human Genetics* 110 (2023) 1229–1248. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2023.06.009>.

[63] S. Köhler, N.A. Vasilevsky, M. Engelstad, E. Foster, J. McMurry, S. Aymé, G. Baynam, S.M. Bello, C.F. Boerkoel, K.M. Boycott, M. Brudno, O.J. Buske, P.F. Chinnery, V. Cipriani, L.E. Connell, H.J.S. Dawkins, L.E. DeMare, A.D. Devereau, B.B.A. de Vries, H.V. Firth, K. Freson, D. Greene, A. Hamosh, I. Helbig, C. Hum, J.A. Jahn, R. James, R. Krause, S.J. F. Laulederkind, H. Lochmüller, G.J. Lyon, S. Ogishima, A. Olry, W.H. Ouwehand, N. Pontikos, A. Rath, F. Schaefer, R.H. Scott, M. Segal, P.I. Sergouniotis, R. Sever, C.L. Smith, V. Straub, R. Thompson, C. Turner, E. Turro, M.W.M. Veltman, T. Vulliamy, J. Yu, J. von Ziegenweid, A. Zankl, S. Züchner, T. Zemojtel, J.O.B. Jacobsen, T. Groza, D. Smedley, C.J. Mungall, M. Haendel, P.N. Robinson, The Human Phenotype Ontology in 2017, *Nucleic Acids Res* 45 (2017) D865–D876. <https://doi.org/10.1093/nar/gkw1039>.

[64] CIBERER, Programa de Enfermedades raras No Diagnosticadas (ENoD), (n.d.). <https://www.ciberer.es/programas-transversales/proyectos/otros-proyectos/programa-de-enfermedades-raras-no-diagnosticadas-enod> (accessed June 30, 2023).

REVISIÓN SOBRE GANGLIOSIDOSIS GM1 Y GM2

Laura López de Frutos

Regional Medical Director Azafaros

Fundación Española para el Estudio y Terapéutica de la Enfermedad de Gaucher y otras lisosomales.FEETEG

Zaragoza. España

llopezdefrutos@gmail.com

Resumen

Las gangliosidosis son un grupo de enfermedades neurodegenerativas caracterizadas por el acúmulo de gangliósidos en el interior del lisosoma, y se clasifican en función del sustrato acumulado. Su herencia es autosómica recesiva y el diagnóstico complejo dada su baja frecuencia y la inespecificidad de los síntomas. Actualmente, ninguna de ellas dispone de un tratamiento específico a pesar de existir múltiples ensayos clínicos en marcha, proporcionando esperanza a los pacientes y sus familias.

Palabras clave: Gangliosidosis; GM1; GM2; Tay-Sachs; Sandhoff

Abstract

Gangliosidoses are a group of neurodegenerative diseases characterized by the accumulation of gangliosides within the lysosome and, they are classified according to the non-metabolized substrate. Their inheritance is autosomal recessive and, the diagnosis is complex given their low frequency and the lack of specific symptomatology. Currently, none of them has a specific treatment despite multiple clinical trials ongoing in that field, providing some hope to the patients and families.

me and, they are classified according to the non-metabolized substrate. Their inheritance is autosomal recessive and, the diagnosis is complex given their low frequency and the lack of specific symptomatology. Currently, none of them has a specific treatment despite multiple clinical trials ongoing in that field, providing some hope to the patients and families.

Keywords: Gangliosidoses; GM1; GM2; Tay-Sachs; Sandhoff

1. Introducción

Las gangliosidosis son enfermedades lisosomales, de herencia autosómica recesiva. Son enfermedades progresivas y neurodegenerativas.

Los gangliósidos son glucoesfingolípidos que contienen al menos, un ácido siálico

y se encuentran en elevada proporción en el cerebro. Proviene mayoritariamente de la lactosilceramida. El más simple contiene solamente un ácido siálico extra (GM3) y su estructura puede hacerse más compleja con la adición de más ácidos siálicos (GD3, GT3) u otros azúcares (GM2, GM1; Figura 01) [1,2]. Abundan en el cerebro, siendo críticos para el neurodesarrollo y la plasticidad neuronal, pero también se encuentran en otros tejidos localizándose principalmente en la membrana celular y contribuyendo a su organización y a la transducción de señales [3]

2. GANGLIOSIDOSIS GM1

La gangliosidosis GM1 (MIM#230500; MIM#230600) se debe a un defecto en la actividad de la enzima beta-galactosidasa (β GAL; EC.3.2.1.23) cuya función es la hi-

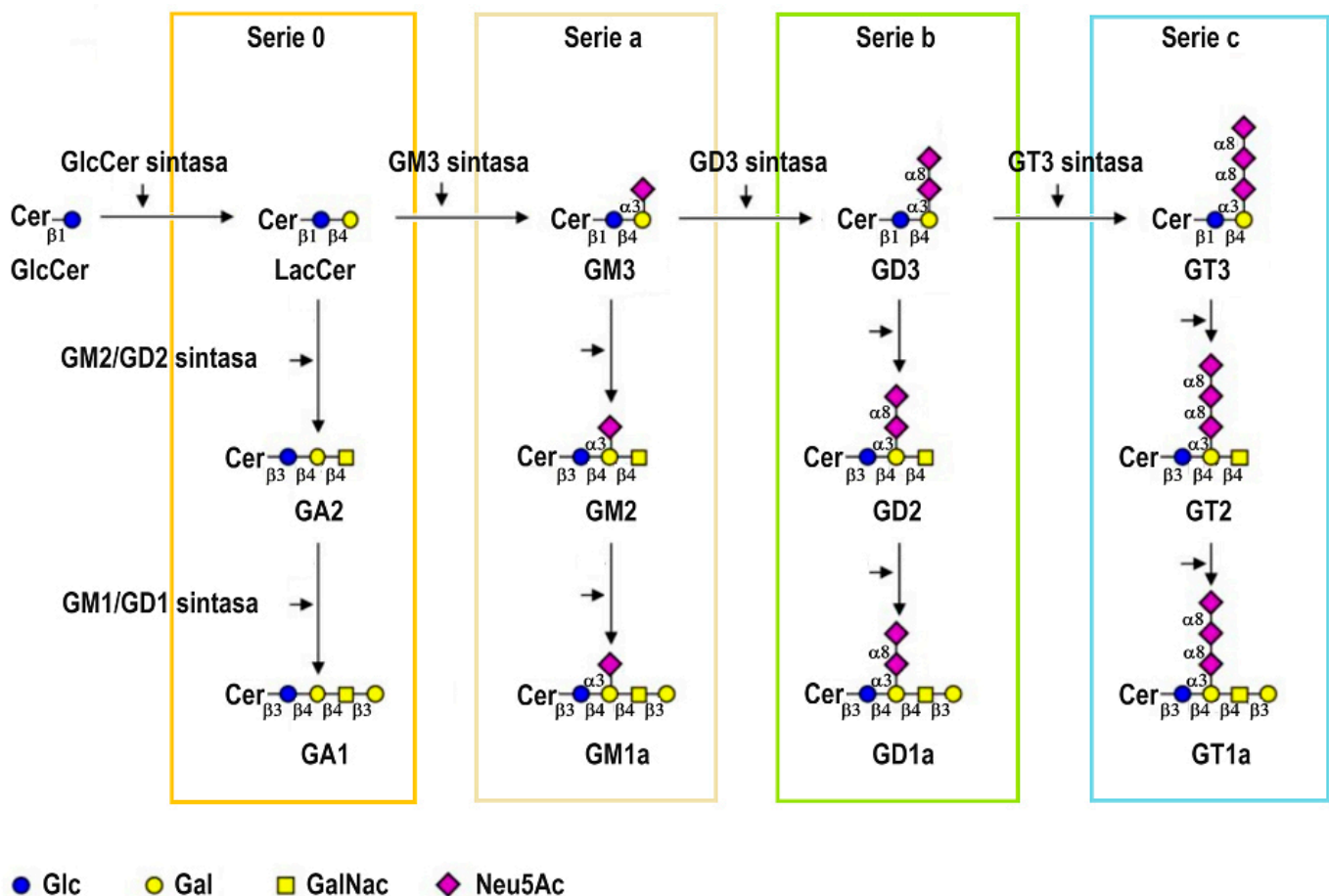


Figura 1. Esquema parcial de la biosíntesis de gangliósidos. GlcCer: Glucoceramida; LacCer: Lactoceramida; Glc: Glucosa; Gal: Galactosa; GalNac: N-Acetilgalactosamina; Neu5Ac: Ácido N-Acetilneuramínico. Figura modificada de Julien S. et al. 2013

drolisis de galactosas unidas mediante un enlace β , siendo sus principales sustratos el gangliósido GM1, queratán sulfato y otros oligosacáridos proteicos que contienen galactosa y lactosilceramida. El déficit de esta enzima induce la acumulación de todos ellos, con la excepción de lactosilceramida que también puede ser degradada por otras enzimas [4,5].

Esta enzima está codificada por el gen GLB1 (MIM*611458), localizado en el cromosoma 3. La presencia de dos variantes patogénicas (bialélicas) en este gen, se asocia a GM1 y a la enfermedad de Morquio (mucopolisacaridosis tipo IVB) [3,5].

GLB1 consta de 16 exones, y codifica para una proteína de 677 aminoácidos (β GAL). A causa de un ayuste alternativo que elimina los exones 3, 4 y 6 también codifica una proteína de 456 aminoácidos, la proteína de unión a elastina (s-bGLA; EBP) sin actividad enzimática pero asociada al correcto desarrollo del tejido conectivo.

Hasta la fecha se han descrito cerca de 300 variantes asociadas a patogenicidad en el gen GLB1, siendo la mayoría de ellas (211) variantes de cambio de sentido [6].

La incidencia de gangliosidosis GM1 se estima de 1:100.000-200.000 recién nacidos [5], considerándose en Europa una enfermedad ultrarrara, y a pesar de tratarse de una enfermedad pan-étnica su frecuencia puede variar, siendo más prevalente en algunas áreas geográficas como el sur de Brasil, Malta, Japón o Chipre [3,5].

2.1. GM1 vs Morquio B

Tanto la enfermedad de Morquio B como la GM1 están causadas por variantes en el mismo gen, aunque presentan marcadas diferencias clínicas ya que una tiene mayoritariamente manifestaciones esqueléticas y la otra, neurológicas.

Esto se debe principalmente al sustrato acumulado en cada una de las enfermedades. En la enfermedad de Morquio B el déficit enzimático afecta solamente a la degradación de queratán sulfato, un glucosaminoglicano presente principalmente a nivel de hueso, cartilago y córnea [7].

Uno de los motivos que podría explicar estas diferencias se encuentra en la localización de las variantes genéticas que causa cada una de las enfermedades. Las variantes asociadas a GM1 se localizan mayoritariamente en los exones 2, 6, 15 y 16 que codifican para el dominio responsable de la actividad catalítica de la enzima, induciendo una marcada disminución de ésta [5]. En cambio, las variantes que se han asociado a Morquio B se localizan mayoritariamente en la región de unión al ligando, localizada más próxima a la región 3' del gen [5].

Además de la localización, el tipo de variante también puede verse asociado ya que no se han descrito variantes de cambio o de pérdida de sentido asociadas a enfermedad de Morquio B.

Aún así existe controversia sobre la necesidad de considerar ambas enfermedades como una única entidad con un amplio espectro fenotípico [8,9].

2.1. Clasificación clínica

La GM1 presenta un espectro continuo de síntomas, pero como en otras enfermedades lisosomales, los pacientes se clasifican según la edad de presentación de los síntomas [5].

Tabla 1. Ensayos intervencionales recogidos en clinicaltrials.gov.

IDENTIFICADOR	TRATAMIENTO	MOLÉCULA	ESTADO	FECHA	RESULTADOS
NCT04273269	TG	LYS-GM101	Terminado	2023	
NCT04713475	TG	PBMG01	Terminado*	2023	
NCT03952637	TG	AAV9-GLB1	Activo	2023	
NCT04221451	TRS	Venglustat	Activo	2023	
NCT02030015	TRS	Miglustat + Dieta keto	Completo	2021	James Utz J et al. 2017
NCT00383448	Trasplante	HSCT	Completo	2019	Miller WP et al. 2011
NCT00176904	Trasplante	CU	Completo	2017	

TG: Terapia Génica; TRS: Terapia de Reducción de Sustrato; HSCT: Progenitores hematopoyéticos; CU: Células madre de Cordón umbilical. *: Información basada en la nota de prensa emitida por la compañía patrocinadora del estudio el pasado 20 de Diciembre de 2023

2.1.1. Tipo 1 o forma infantil

Se trata de la forma más homogénea en relación con los síntomas. Uno de los síntomas más precoces es el hídrops fetal, posteriormente la enfermedad progresa y a los 3-4 meses de edad se puede apreciar una regresión psicomotora así como una respuesta exagerada a los sobresaltos. La mancha rojo cereza es característica, con una frecuencia del 50% en los pacientes. Con la edad van apareciendo más síntomas como convulsiones, estrabismo y pérdida de visión. Esta forma de la enfermedad es la más grave, siendo terminal entre los dos y los cuatro años de edad [3,5].

2.1.2. Tipo 2 o forma infantil tardía / juvenil

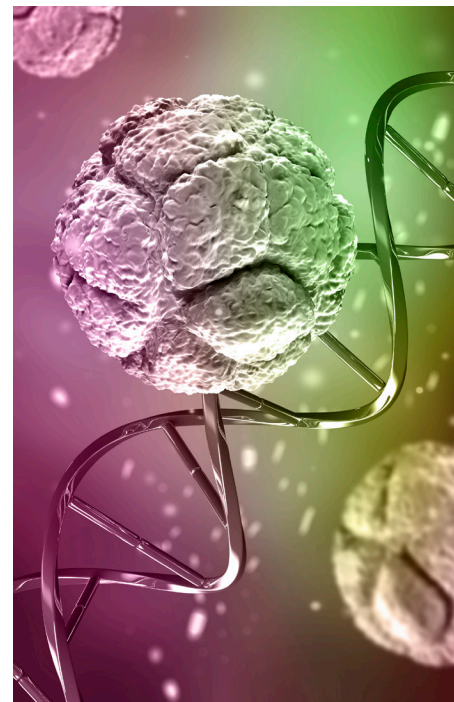
Esta forma de la enfermedad se presenta también con una regresión del desarrollo, entre los 7 meses de edad y los 5 años, considerándose formas juveniles aquellas en las que la enfermedad se manifiesta a partir de los 3 años de edad [5]. Aquellos hitos del desarrollo que se habían adquirido se pierden progresivamente, aparecen problemas locomotores, hipotonía y atrofia muscular, así como convulsiones, disartria y disfagia. Algunos pacientes pueden presentar espasticidad, escoliosis, hiperreflexia o ataxia. En esta forma la esperanza de vida es mayor, de modo que los pacientes pueden llegar a la adolescencia o a la edad adulta [3]. Existe controversia sobre la necesidad de dividir este tipo en dos subtipos diferentes (tipo 2^a o infantil tardía y tipo 2b o juvenil) [5].

2.1.3. Tipo 3 o forma adulta/crónica

Esta forma de la enfermedad es la más común en población japonesa, con una progresión de la enfermedad mucho más lenta. La mayoría de pacientes no debutan hasta la adolescencia o la edad adulta temprana, normalmente con leves anomalías vertebrales, atrofia muscular, hipotonía, problemas foniatricos y corta estatura. La mácula rojo cereza es poco frecuente en este grupo de pacientes, en cambio la distonía es mucho más común que en las otras dos formas de la enfermedad [3,5].

2.2.- Diagnóstico

La prueba diagnóstica por excelencia es la cuantificación de la actividad de la enzima deficitaria (b-Galactosidasa). Aunque cada



vez se diagnostican más pacientes mediante el estudio genético de GLB1, la presencia de variantes de significado incierto, y el gran número de variantes patogénicas descritas, dificultan el diagnóstico genético [3].

Actualmente, ningún país incluye la gangliosidosis GM1 en sus programas de cribado neonatal.

2.4. Tratamiento

Actualmente no hay ningún fármaco dirigido específicamente al tratamiento de GM1 y los cuidados administrados son paliativos [3], pero existen múltiples ensayos clínicos con el objetivo de probar nuevos tratamientos que podrían resultar eficaces (Tabla 1).

2.4.1. Tratamiento de sustitución enzimática (TSE)

Dada la naturaleza de la enfermedad, uno de los requisitos imprescindibles para los tratamientos es la capacidad de cruzar la

Tabla 2. Ensayos observacionales recogidos en clinicaltrials.gov.

IDENTIFICADOR	ESTADO	FECHA	RESULTADOS
NCT04310163	Completo	2023	No publicados
NCT04041102	Reclutando	2023	No publicados
NCT00668187	Reclutando	2023	No publicados
NCT05109793	Activo	2023	No publicados
NCT04470713	Completo	2021	No publicados
NCT04624789	Reclutando	2020	Ries M et al. 2022
NCT04320329	Desconocido	2020	No publicados

barrera hematoencefálica. Eso reduce las posibilidades terapéuticas de las terapias clásicas de reemplazo enzimático para las que se han probado diferentes estrategias como su encapsulación en nanopartículas, la inyección intraventricular o los troyanos para facilitar el paso por la barrera hematoencefálica. Hasta la fecha, ninguna de estas estrategias ha llegado a fase de ensayos clínicos con humanos [5].

2.4.2. Terapia de reducción de sustrato (TRS)

Las terapias de reducción de sustrato se basan en el uso de pequeñas moléculas con capacidad para cruzar la barrera hematoencefálica, e inhibir la síntesis de las moléculas acumuladas. Miglustat está aprobado para el tratamiento de otras enfermedades lisosomales como Gaucher tipo 1, y Niemann-Pick tipo C esta última, con severa afectación neurológica, pero su uso en GM1 se ha probado en pocos pacientes, y su está limitado por la intensidad de los efectos adversos gastrointestinales, a pesar de eso se ha demostrado una mejora en la supervivencia de los pacientes con GM1 tratados con miglustat y terapia cetogénica [10].

El estudio NCT04221451 cerró el reclutamiento hace dos años y actualmente se encuentra activo. Su objetivo es evaluar la farmacodinámica, farmacocinética y seguridad de una nueva terapia de reducción de sustrato. El estudio es mayoritariamente para GM2 e incluye pocos pacientes con GM1 [11].

2.4.3. Terapia génica

Se han realizado tres estudios con terapia génica (NCT04273269, NCT04713475, NCT03952637), pero en los tres casos el estudio ha sido discontinuado, aunque en ninguno de ellos se ha debido a efectos adversos [11].

2.4.4. Trasplante de progenitores hematopoyéticos

A nivel clínico se han desarrollado múltiples ensayos con el objetivo de evaluar la eficacia del trasplante progenitores hematopoyéticos en pacientes con enfermedades neurodegenerativas, incluyendo GM1, pero los resultados para el grupo de pacientes con esta enfermedad no han sido reportados (NCT00383448, NCT00176904,

NCT01626092) [11] o su efecto a nivel neurológico ha sido escaso o nulo [12].

2.5. Estudios de Historia Natural

Dado el desconocimiento general sobre la evolución de la enfermedad, diferentes grupos de investigación están desarrollando estudios de historia natural, para tener un mayor conocimiento de la progresión de la enfermedad (Tabla 2). Algunos de los estudios registrados en clinicaltrials.gov y que siguen abiertos se detallan a continuación [11]:

- NCT04041102: El Dr. Can Ficicioglu (Universidad de Pensilvania; US) lidera este estudio que se desarrolla en se desarrolla en US, Canadá, LATAM y Europa, para pacientes con formas infantiles o juveniles de la enfermedad. El objetivo es reclutar a 40 pacientes y realizar el seguimiento durante 3 años.
- NCT05109793: El proyecto PRONTO se desarrolla en US, LATAM y Europa e incluye pacientes con formas infantiles tardías o juveniles de la enfermedad. El objetivo es reclutar 35 pacientes con GM1 o GM2 y realizar el seguimiento durante 4 años.
- NCT00668187: La Dra. Janine Jarnes (Universidad de Minnesota; US) lidera este estudio unicéntrico que incluye todas las formas de GM1 y GM2 con el objetivo de incluir 52 pacientes y monitorizarlos durante 5 años.
- NCT04624789: El Dr. Eugen Mengel (SphinCS; Alemania) dirige este estudio unicéntrico incluyendo todas las formas de GM1 y GM2. El objetivo es realizar el seguimiento de la enfermedad en 40 pacientes durante 5 años.

A pesar de que todos los estudios tienen el mismo objetivo, la frecuencia de las visitas, así como las evaluaciones clínicas que se realizan son diferentes en todos ellos.

3. GANGLIOSIDOSIS GM2

Las gangliosidosis GM2 (MIM#272800; MIM#268800; MIM#272750) se deben a la no degradación de esta molécula, provocándose un acúmulo de la misma y un déficit de GM3. La enzima responsable de

este proceso es la Hexosaminidasa (Hex; EC 3.2.1.52) que hidroliza los residuos de N-acetilgalactosamina.

Hex se forma por la dimerización de las subunidades α y β pudiendo dar lugar a tres isoenzimas: HexA ($\alpha\beta$), HexB ($\beta\beta$) y HexS ($\alpha\alpha$). Y, además, necesita de una proteína activadora (GM2-AP) para ejercer correctamente su función.

La presencia de variantes asociadas a patogenicidad en los dos alelos de uno de los genes que codifica para α o β , da lugar a la gangliosidosis GM2, así como la presencia de variantes en el gen que codifica para GM2-AP. En función del gen afectado, tendremos tres tipos de gangliosidosis GM2: Enfermedad de Tay-Sachs (TSD), enfermedad de Sandhoff (SD) o la variante AB (GM2AB) causada por el déficit de la proteína activadora GM2-AP (Tabla 3).

3.1. Enfermedad de Tay-Sachs (TSD)

Es la variante más común de gangliosidosis GM2 causando prácticamente el 80% de los casos y su incidencia aproximada es de 1 cada 100.000 nacidos vivos, a pesar de ser más frecuente en ciertas poblaciones como los judíos askenazí o en descendiente de la Europa del este [16].

Se trata de una enfermedad autosómica recesiva causada por la presencia de variantes en el gen *HEXA* (MIM*606869), provocando un déficit o una alteración estructural de la subunidad α de la enzima HexA.

Este gen, compuesto por 14 exones, se localiza en el cromosoma 15 y, hasta la fecha se han descrito 250 variantes asociadas a TSD en su secuencia [6]. La variante más frecuente es NM_000520.6:c.533G>A que provoca la sustitución de una arginina por una histidina en el dominio catalítico de la enzima, alterando su función y estabilidad [17].

La presencia de variantes en este gen afecta a la capacidad funcional de HexA y HexS, siendo la actividad catalítica mucho mayor en la primera (99.98% vs 0.02%)[18].

3.2. Enfermedad de Sandhoff


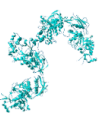

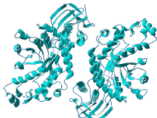
Se desconoce la prevalencia de la enfermedad de Sandhoff (SD) en la población, aunque se estima en un rango entre 1 cada 500.000 o cada 1.500.000 según la población. A pesar de su baja incidencia hay poblaciones específicas donde se observan más casos como la población creole en el norte de Argentina, los maronite en Chipre o los méis en el norte de Saskatchewan (Canadá) [19].

La enfermedad se debe a la presencia de variantes patogénicas en los dos alelos del gen *HEXB* (MIM*606873), que codifica para la subunidad β de HexA y HexB. Actualmente se han descrito hasta 172 variantes asociadas a la enfermedad[6], siendo las más notables NM_00521.4:c.76delA común en la población chipriota, NM_000521.4:c.115delG frecuente en la población méis y NM_000521.4:c.445+1A>G más común en la población Argentina [17,19]. En los tres casos se trata de variantes que alteran el marco de lectura o regiones de ajuste, impidiendo la síntesis de una proteína funcional.

3.3. Déficit de activador GM2-AP (variante AB)

La hidrólisis de GM2, requiere de la enzima HexA pero también de una proteína activadora (GM2-AP) codificada por el

Tabla 3. Clasificación de las gangliosidosis GM2 en función del gen afectado.

ENFERMEDAD	Tay-Sachs (MIM#272800)	Sandhoff (MIM#268800)	Déficit de GM2-AP (MIM#272750)
GEN	<i>HEXA</i> (MIM*606869)	<i>HEXB</i> (MIM*606873)	<i>GM2A</i> (MIM*613109)
PROTEÍNA	Subunidad α (PDB:2GJX) [13] 	Subunidad β (PDB:2GJX) [13] 	Proteína activadora (PDB:1PUB) [14] 
ISOENZIMA	<i>HexS</i>	<i>HexA</i> (PDB:2GJX)[13]	<i>HexB</i> (PDB:1NOU)[15] 

Las estructuras han sido obtenidas de Protein DataBank (<https://www.rcsb.org/>) y editadas mediante Swiss-PDB Viewer.

gen GM2A (MIM*613109) localizado en el cromosoma 5. Esta proteína forma un complejo con el sustrato, separándolo de la membrana lisosomal y permitiendo su interacción con la enzima [20,21].

Esta es la forma menos frecuente de la enfermedad con menos de 30 casos descritos, y solamente 25 variantes descritas, asociadas a patogenicidad [6,20]. De los casos descritos, la gran mayoría son formas infantiles severas, en las que los síntomas de la enfermedad debutan en el primer año de vida, aunque también se ha descrito un caso de presentación adulta [20].

3.4. Clasificación clínica

Dado que TSD, SD y el déficit de GM2-AP convergen en la misma disfunción metabólica, las similitudes clínicas entre ellas permiten ajustarse a una única clasificación, que, como en otras enfermedades lisosomales, presenta un continuo de síntomas y se clasifica según la edad de inicio de éstos.

3.4.1. Forma aguda infantil

Presenta prácticamente una actividad enzimática nula y en consecuencia las formas clínicas más severas. A partir de los 3-6 aparece una debilidad muscular progresiva, con espasmos mioclónicos y una reacción exagerada a los sobresaltos, también en esas edades se observa una disminución de la atención visual y movimientos oculares inusuales, detectándose una mancha roja cereza en la mácula de los pacientes. Entre los 6 y los 10 meses de edad aproximadamente, se llega a un estancamiento y progresiva regresión en la adquisición de hitos del desarrollo, incapacidad de sentarse o girar. Las convulsiones aparecen cerca del primer año de vida y el deterioro a partir del segundo año es evidente, con dificultad para tragar, un empeoramiento de las convulsiones y dificultades respiratorias que pueden provocar la muerte antes de los tres años de edad, aunque actualmente con los cuidados paliativos a nivel respiratorio y alimentario, ésta puede retrasarse hasta los 5-7 años [16,19,22,23].

3.4.2. Forma juvenil subaguda

Menos agresiva que la forma infantil, pero con un espectro de síntomas más difuso que dificulta su diagnóstico, que muestra una mínima actividad residual. Debuta entre los 2 y los 5 años de edad con una mayor dificultad para conseguir los hitos del desarrollo motor y lingüístico, siendo los primeros síntomas la alteración de la marcha, debilidad en la musculatura de la cadera (aproximadamente 88% de los casos), disartria y una pérdida progresiva de los hitos adquiridos así como un deterioro cognitivo. En los pacientes con SD también son frecuentes las acroparestesias [19]. A finales de la primera década la espasticidad, disfagia y las convulsiones se detectan en la mayoría de pacientes, así como una disminución en la agudeza visual sin alteración macular, a partir de los diez años se inicia un estado vegetativo que suele culminar con la muerte antes de los 15 años, normalmente por aspiración [16,23]. Al igual que con la gangliosidosis GM1 este grupo engloba una gran variabilidad en la edad de inicio de síntomas así como en su intensidad, y por ese motivo existe una tendencia a crear una clasificación que divida este grupo en forma infantil tardía y forma juvenil [24].

3.4.3. Forma adulta

Es en general la forma de presentación menos frecuente, a pesar de ser la más común

en algunas regiones, como entre la población japonesa. Es la forma menos agresiva, con actividades residuales entre el 5 y el 20% de la actividad HexA normal. La sintomatología aparece en la adolescencia o adultos jóvenes, pero el debut puede extenderse hasta la segunda o tercera década de vida. El fenotipo es variable pero mayoritariamente incluye un deterioro motor progresivo que aparece en forma de debilidad muscular y dificultad para subir escaleras, distonía y degeneración espino-cerebelar. La disfunción cerebelar suele ser también uno de los primeros signos de la enfermedad junto a dismetría, disartria y alteraciones oculares. Aproximadamente los 40% de los pacientes presentan alteraciones psiquiátricas (demencia, esquizofrenia, alucinaciones...) siendo más común en los pacientes con TSD que en los afectados de SD. Con los correctos cuidados paliativos los pacientes pueden llegar a edad geriátrica. [19,23,25,26]

La principal diferencia en la sintomatología entre las diferentes enfermedades que engloban las gangliosidosis GM2, es la presencia de organomegalias en los pacientes con SD, que no se detecta en pacientes TSD donde la enfermedad es únicamente neurológica [16].

3.5. Diagnóstico

El diagnóstico de gangliosidosis GM2 se establece por una reducida actividad de la enzima HexA que puede acompañarse de una reducción en la actividad de HexB.

La caracterización genética es el método más utilizado para diferenciar TSD y SD.

A causa de la elevada incidencia de TSD en algunas poblaciones, existen regiones en las que se realiza el diagnóstico prenatal a grupos étnicos específicos [25], como por ejemplo en Israel, donde las familias judías askenazí tienen acceso al diagnóstico prenatal, o en Arabia Saudí donde se ofrece el estudio a aquellas familias en las que se ha diagnosticado un miembro afecto.

En el caso de los afectados del déficit de proteína activadora, las pruebas "in vitro" no detectan una reducción de la actividad enzimática, por lo que es imprescindible el diagnóstico genético en aquellos casos con elevada sospecha y estudio enzimático negativo.

3.6. Tratamiento

Actualmente, no hay ningún tratamiento específico para las gangliosidosis GM2, a pesar de existir múltiples opciones en fases de desarrollo pre-clínico o en ensayo clínico.

3.6.1. Tratamiento de sustitución enzimática (TSE)

El tratamiento de sustitución enzimática es una alternativa que se ha utilizado con éxito en otras enfermedades de depósito lisosomal, pero en este caso encuentra dos factores limitantes importantes, por un lado la necesidad de sintetizar una enzima funcional con las dos subunidades de HexA, y por otro la necesidad de actuar sobre el sistema nervioso central, atravesando la barrera hematoencefálica y distribuyéndose en el cerebro. Existen grupos de investigación que han conseguido desarrollar la enzima y administrarla mediante inyección intraventricular cerebral con buenos resultados, pero hasta la fecha únicamente se han ensayado en modelos animales de SD [16].

3.6.2. Tratamiento de reducción de sustrato (TRS)

Este tratamiento consiste en la inhibición enzimática en los pasos previos a la formación de los gangliosidos, de modo que impiden su síntesis y por lo tanto, su acumulación.

A pesar de no estar aprobado para la gangliosidosis GM2, miglustat (un inhibidor de GluCer sintasa) se ha administrado en diversos ensayos clínicos, y como fuera de ficha técnica en pacientes con formas infantiles, juveniles y adultas de la enfermedad. A pesar de no haberse detectado una mejoría estadísticamente significativa si que parece que los pacientes, sobre todo las formas más tempranas, podrían beneficiarse ligeramente de este tratamiento al entretener la progresión [27]. Actualmente, en Israel, hay un ensayo clínico (NCT03822013) para valorar la eficacia de este tratamiento en pacientes con TSD (Tabla 4).

Venglustat es otro inhibidor de GluCer sintasa, capaz de cruzar la barrera hematoencefálica y distribuirse en el sistema nervioso [28], que, actualmente está en ensayo clínico (NCT04221451).

Nizubaglustat podría englobarse entre las terapias de reducción de sustrato a pesar de tener un mecanismo de acción dual, ya que por un lado actúa como un TRS inhibiendo GluCer sintasa, pero además tiene un segundo modo de acción regulando la síntesis de Ceramida y S1P y normalizando el pH lisosomal mediante la inhibición de la glucocerebrosidasa no lisosomal [29]. Este compuesto también se encuentra en ensayo clínico (NCT05758922)

3.6.3. Chaperonas farmacológicas

Las chaperonas farmacológicas son pequeñas moléculas que actúan estabilizando la

Tabla 4. Ensayos observacionales recogidos en clinicaltrials.gov.

IDENTIFICADOR	TRATAMIENTO	MOLÉCULA	ESTADO	FECHA	RESULTADOS
NCT00672022	TRS	Miglustat	Completo	2008	
NCT01102686	Chap	Pirimetamina	Completo	2012	
NCT00679744	Chap	Pirimetamina	Retirado	2013	
NCT00418847	TRS	Miglustat	Completo	2016	
NCT00176904	Trasplante	Stem Cells (CU)	Completo	2017	
NCT00383448	Trasplante	HSCT	Completo	2019	Miller WP et al. 2011**
NCT02030015	TRS	Miglustat + Dieta keto	Completo	2021	James Utz J et al. 2017
NCT04798235	TG	TSHA-101	Activo	2023	
NCT03822013	TRS	Miglustat	Reclutando	2023	
NCT05758922	TRS	Nizubaglustat	Activo	2023	
NCT03759665	TRS	IB-1001	Completo	2023	
NCT04221451	TRS	Venglustat	Activo	2023	
NCT04669535	TG	AXO-AAV-GM2	Activo	2023	

TG: Terapia Génica; TRS: Terapia de Reducción de Sustrato; Chap: Tratamiento con chaperonas farmacológicas; HSCT: Progenitores hematopoyéticos; CU: Células madre de Cordón umbilical.

enzima. Cuando las variantes patogénicas implican un mal plegamiento de la enzima y su retención en el retículo endoplásmico, la chaperona permite retrasar la degradación y que la enzima pueda transportarse al orgánulo donde desarrollará su función.

Respecto a su uso en el tratamiento de gangliosidosis GM2, se ha descrito que la pirimetamina, un tratamiento para la toxoplasmosis, retarda la degradación de HexA el tiempo suficiente como para permitir que la enzima llegue al lisosoma y realice su función[30]. El ensayo clínico con esta molécula (NCT00679744) se paralizó por falta de presupuesto.

3.6.4. Otras moléculas

La forma N-acetilada de la L-leucina es un profármaco que puede ser internalizado a través de las membranas y distribuirse en todos los tejidos, incluyendo sistema nervioso. Su forma activa actúa a nivel de la mitocondria y el lisosoma, reduciendo la neuroinflamación y normalizando el potencial de membrana[31,32]. Este compuesto se encuentra actualmente en ensayo clínico (NCT03759665)

3.6.5. Terapia génica

El principal reto para la terapia génica en las gangliosidosis GM2, es la necesidad de generar la enzima con las dos subunidades (a y b), superar este reto implicaría poder tratar con un único fármaco TSD y SD, pero excluiría las GM2 por déficit de proteína activadora. Actualmente, existen dos ensayos clínicos en marcha para TSD y SD, mientras que la terapia génica para GM2-AP está actualmente en fases de desarrollo preclínico [21].

El ensayo inicialmente patrocinado por Sio-Gene (NCT04669535) para evaluar la seguridad, dosis y eficacia de la administración de AXO-AAV-GM2 mediante infusión bilateral talámica e intracisternal/intratecal en formas infantiles y juveniles, y el ensayo con TSHA-101 mediante infusión intratecal para evaluar seguridad y eficacia en formas adultas de TSD [11].

4.- Referencias

1. Yu RK, Tsai YT, Ariga T, Yanagisawa M. Structures, biosynthesis, and functions of gangliosides—an overview. *J Oleo Sci* [Internet]. 2011 [cited 2023 Dec 5];60:537–44. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21937853/>
2. Julien S, Bobowski M, Steenackers A, Le Bourhis X, Delannoy P. How Do Gangliosides Regulate RTKs Signaling? *Cells* [Internet]. 2013 [cited 2024 Jan 8];2:751–67. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24709879/>
3. Rha AK, Maguire AS, Martin DR. GM1 Gangliosidosis: Mechanisms and Management. *Appl Clin Genet* [Internet]. 2021 [cited 2024 Jan 4];14:209–33. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33859490/>
4. Suzuki Y, Nanba E, Matsuda J, Higaki K, Oshima A. β -Galactosidase Deficiency (β -Galactosidosis): GM1 Gangliosidosis and Morquio B Disease. In: Valle DL, Antonarakis S, Ballabio A, Beaudet AL, Mitchell GA, editors. *The Online Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease* [Internet]. New York, NY: McGraw-Hill Education; 2019. Available from: <http://ommbid.mhmedical.com/content.aspx?aid=1181466673>
5. Nicoli ER, Annunziata I, d'Azzo A, Platt FM, Tiffit CJ, Stepien KM. GM1 Gangliosidosis—A Mini-Review. *Front Genet* [Internet]. 2021 [cited 2023 Mar 16];12. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33859490/>

6. Stenson PD, Mort M, Ball E, Edward V, Evans K, Hayden M, Heywood S, et al. The Human Gene Mutation Database: towards a comprehensive repository of inherited mutation data for medical research, genetic diagnosis and next-generation sequencing studies. *Hum Genet* [Internet]. 2017 [cited 2020 Mar 18];136:665–77. Available from: <https://www.hgmd.org/>
7. Okumiya T, Sakuraba H, Kase R, Sugiura T. Imbalanced substrate specificity of mutant β -galactosidase in patients with Morquio B disease. *Mol Genet Metab* [Internet]. 2003 [cited 2024 Jan 8];78:51–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12559848/>
8. Kingma SDK, Ceulemans B, Kenis S, Jonckheere AI. Are GM1 gangliosidosis and Morquio type B two different disorders or part of one phenotypic spectrum? *JIMD Rep* [Internet]. 2021 [cited 2024 Jan 5];59:90. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33859490/>
9. Moore T, Bernstein JA, Casson-Parkin S, Cowan TM. β -Galactosidosis in Patient with Intermediate GM1 and MBD Phenotype. *JIMD Rep* [Internet]. 2013 [cited 2024 Jan 8];7:77. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23575039/>
10. Jarnes Utz JR, Kim S, King K, Ziegler R, Schema L, Redtree ES, et al. Infantile Gangliosidosis: Mapping a Timeline of Clinical Changes. *Mol Genet Metab* [Internet]. 2017 [cited 2023 Mar 16];121:170. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2879705/>
11. Home | ClinicalTrials.gov [Internet]. [cited 2024 Jan 4]. Available from: <https://clinicaltrials.gov/>
12. Shield JPH, Stone J, Steward CG. Bone marrow transplantation correcting beta-galactosidase activity does not influence neurological outcome in juvenile GM1-gangliosidosis. *J Inher Metab Dis* [Internet]. 2005 [cited 2024 Jan 4];28:797–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16151914/>
13. Lemieux MJ, Mark BL, Cherney MM, Withers SG, Mahuran DJ, James MNG. Crystallographic Structure of Human β -Hexosaminidase A: Interpretation of Tay-Sachs Mutations and Loss of GM2 Ganglioside Hydrolysis. *J Mol Biol* [Internet]. 2006 [cited 2024 Jan 26];359:913. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12909021/>
14. Wright CS, Zhao Q, Rastinejad F. Structural analysis of lipid complexes of GM2-activator protein. *J Mol Biol* [Internet]. 2003 [cited 2024 Jan 26];331:951–64. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12909021/>
15. Mark BL, Mahuran DJ, Cherney MM, Zhao D, Knapp S, James MNG. Crystal Structure of Human β -Hexosaminidase B: Understanding the Molecular Basis of Sandhoff and Tay-Sachs Disease. *J Mol Biol* [Internet]. 2003 [cited 2024 Jan 26];327:1093–109. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12662933/>
16. Picache JA, Zheng W, Chen CZ. Therapeutic Strategies For Tay-Sachs Disease. *Front Pharmacol* [Internet]. 2022 [cited 2024 Jan 23];13. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35865957/>
17. Leal AF, Benincore-Florez E, Solano-Galarza D, Jaramillo RGG, Echeverri-Peña OY, Suarez DA, et al. GM2 Gangliosidosis: Clinical Features, Pathophysiological Aspects, and Current Therapies. *Int J Mol Sci* [Internet]. 2020 [cited 2023 Mar 16];21:1–27. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33859490/>
18. Ikonne JU, Rattazzi MC, Desnick RJ. Characterization of Hex S, the major residual beta hexosaminidase activity in type O GM2 gangliosidosis (Sandhoff-Jatzkewitz disease). *Am J Hum Genet* [Internet]. 1975 [cited 2024 Jan 26];27:639. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1762835/>
19. Xiao C, Tiffit C, Toro C. Sandhoff Disease. *GeneReviews*® [Internet]. 2022 [cited 2024 Jan 25]; Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK579484/>
20. Ganne B, Dauriat B, Richard L, Lamari F, Ghorab K, Magy L, et al. GM2 gangliosidosis AB variant: first case of late onset and review of the literature. *Neurol Sci* [Internet]. 2022 [cited 2024 Jan 26];43:6517–27. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35925454/>
21. Deschenes NM, Cheng C, Ryckman AE, Quinville BM, Khanal P, Mitchell M, et al. Biochemical Corre-

- tion of GM2 Ganglioside Accumulation in AB-Variant GM2 Gangliosidosis. *Int J Mol Sci* [Internet]. 2023 [cited 2024 Jan 26];24. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10253223/>
22. Gravel RA, Kaback MM, Proia RL, Sandhoff K, Suzuki K, Suzuki K. The GM2 Gangliosidosis. In: Valle DL, Antonarakis S, Ballabio A, Beaudet AL, Mitchell GA, editors. *The Online Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease* [Internet]. New York, NY: McGraw-Hill Education; 2019. Available from: <http://ommbid.mhmedical.com/content.aspx?aid=1181467110>
23. Toro C, Shirvan L, Tiffit C. HEXA Disorders. In: Adam M, Feldman J, Mirzaa G, editors. *GeneReviews*® (WA): University of Washington; 1999.
24. King KE, Kim S, Whitley CB, Jarnes-Utz JR. The juvenile gangliosidosis: A timeline of clinical change. *Mol Genet Metab Rep* [Internet]. 2020 [cited 2023 Mar 16];25:100676. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33859490/>
25. Ramani PK, Parayil Sankaran B. Tay-Sachs Disease. Updated 2023 Jan 25. Treasure Island (FL): StatsPearls Publishing; 2024.
26. Toro C, Zainab M, Tiffit CJ. The GM2 gangliosidosis: Unlocking the mysteries of pathogenesis and treatment. *Neurosci Lett* [Internet]. 2021 [cited 2024 Jan 29];764. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34450229/>
27. Mansouri V, Tavasoli AR, Khodarahmi M, Dakkali MS, Daneshfar S, Ashrafi MR, et al. Efficacy and safety of miglustat in the treatment of GM2 gangliosidosis: A systematic review. *Eur J Neurol* [Internet]. 2023 [cited 2024 Jan 26];30:2919–45. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37209042/>
28. Marshall J, Nietupski JB, Park H, Cao J, Bangari DS, Silvescu C, et al. Substrate Reduction Therapy for Sandhoff Disease through Inhibition of Glucosylceramide Synthase Activity. *Mol Ther* [Internet]. 2019 [cited 2024 Jan 29];27:1495–506. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31208914/>
29. Paquet Luzy C, Doppler E, Polasek TM, Giorgino R. First-in-human single-dose study of nuzubaglutat, a dual inhibitor of ceramide glucosyltransferase and non-lysosomal glucosylceramidase: Safety, tolerability, pharmacokinetics, and pharmacodynamics of single ascending and multiple doses in healthy adults. *Mol Genet Metab* [Internet]. 2024 [cited 2024 Jan 29];141:108113. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38113551/>
30. Maegawa GHB, Tropak M, Buttner J, Stockley T, Kok F, Clarke JTR, et al. Pyrimethamine as a potential pharmacological chaperone for late-onset forms of GM2 gangliosidosis. *J Biol Chem* [Internet]. 2007 [cited 2024 Jan 29];282:9150–61. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17237499/>
31. Churchill GC, Strupp M, Factor C, Bremova-Ertl T, Factor M, Patterson MC, et al. Acetylation turns leucine into a drug by membrane transporter switching. *Sci Rep* [Internet]. 2021 [cited 2024 Jan 29];11. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34349180/>
32. Naef V, Marchese M, Ogi A, Fichi G, Galatolo D, Licitra R, et al. Efficient Neuroprotective Rescue of Sacsin-Related Disease Phenotypes in Zebrafish. *Int J Mol Sci* [Internet]. 2021 [cited 2024 Jan 29];22. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34445111/>

TRATAMIENTO DE LA DISFUNCIÓN LISOSOMAL NEURONAL CAUSADA POR LA DEFICIENCIA DE β -GLUCOCEREBROSIDASA CON UN CONSTRUCTO PARA TRANSPORTE ENZIMÁTICO AL CEREBRO

COMENTARIOS AL ARTÍCULO:

“Targeting neuronal lysosomal dysfunction caused by β -glucocerebrosidase deficiency with an enzyme-based brain shuttle construct”

Pilar Giraldo Castellano

FEETEG. Zaragoza. España
giraldocastellano@gmail.com

La publicación de Gehrlein A et al(1), es relevante y nos induce a pensar en los avances que se están produciendo en las estrategias para hacer llegar las enzimas terapéuticas al santuario del sistema nervioso central.

Los tratamientos de las enfermedades lisosomales con implicaciones neurológicas, están limitados por la dificultad para atravesar barrera hematoencefálica, en el caso de las variantes en el gen *GBA1* que causan la enfermedad de Gaucher la afectación neurológica varía desde los pacientes con el tipo 2 de la enfermedad que presentan las lesiones neurológicas mas graves y precoces hasta los tipo 3 con manifestaciones neurológicas mas tardías y silentes. Por otra parte, tanto los homocigotos como los portadores de alelos con variantes en *GBA1* tienen mayor riesgo de padecer enfermedades neurodegenerativas esporádicas y complejas, como la enfermedad de Parkinson (EP) y la demencia con cuerpos de Lewy (DCL).

Se parte de la hipótesis, de que a consecuencia de la acumulación de glicoesfingolípidos en el sistema nervioso central (SNC), se desencadena la neurodegeneración asociada a la EP. En ese contexto el aumento de la actividad de la glucocerebrosidasa lisosomal en el cerebro puede ser una terapia adecuada para restaurar la homeostasis lisosomal tanto en la EG neuronopática como en las enfermedades neurodegenerativas asociadas a *GBA1*. Sin embargo, los tratamientos disponibles para la EG no consiguen restaurar la actividad glucocerebrosidasa en el SNC.

Los autores utilizando el conocimiento de que una proteína como la transferrina atraviesa la barrera hematoencefálica (BHE) a través de la unión con su receptor (TfR), transportando el hierro unido a la transferrina al cerebro. Fusionan un fragmento de un anticuerpo TfR con glucocerebrosidasa recombinante humana o murina para generar una proteína de fusión que denominan “lanzadera cerebral de glucocerebrosidasa” (GCase-BS), para realizar un estudio preclí-

nico como prueba de concepto que apoya el uso de GCase-BS para el tratamiento de la acumulación neurotóxica de los sustratos glucosilesfingosina y glucosilceramida asociada a *GBA1*.

Para realizar el estudio han utilizado líneas celulares de Neuroblastoma humano (H4), neuronas generadas por células madre humanas, neuronas inmortalizadas de ratón, células IPSC derivadas a macrófagos y microglía humanas y varios modelos de ratón con variantes D409V en *GBA1* y homocigotos V394L que semejan a los fenotipos de EG de tipo 2 y 3.

Animamos a los interesados en profundizar en la confluencia entre una enfermedad lisosomal y una enfermedad neurodegenerativa del adulto, la lectura del artículo que es de libre acceso en Pub-Med.

4 Referencias

Gehrlein A, Udayar V, Anastasi N, Morella ML, Ruf I, Brugger D, von der Mark S, Thoma R, Rufer A, Heer D, Pfahler N, Jochner A, Niewoehner J, Wolf L, Fueth M, Ebeling M, Villaseñor R, Zhu Y, Deen MC, Shan X, Ehsaei Z, Taylor V, Sidransky E, Vocadlo DJ, Freskgård PO, Jagasia R. Targeting neuronal lysosomal dysfunction caused by β -glucocerebrosidase deficiency with an enzyme-based brain shuttle construct. *Nat Commun.* 2023 Apr 12;14(1):2057. doi: 10.1038/s41467-023-37632-4.



DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA DE FENOTIPOS CLÍNICOS DE ENFERMEDAD DE GAUCHER Y VARIANTES PATOGENÉTICAS EN EL GEN *GBA* DE PACIENTES MEXICANOS

Livia Tlaxcala Castillo, Talia Wegman Ostrosky, José Elías García Ortiz

Grupo de Expertos en Enfermedades Lisosomales en Enfermedad de Gaucher. México

jose.garciaor@imss.gob.mx

Resumen

La enfermedad de Gaucher (EG) es una enfermedad rara, clasificada en tres formas clínicas según las manifestaciones neurológicas. Causada por variantes patogénicas en el gen *GBA*, conlleva a la deficiencia de la beta-glucocerebrosidasa y la acumulación de glucocerebrósido. Este estudio examinó 103 pacientes mexicanos en el Instituto Mexicano del Seguro Social, identificando 29 variantes patogénicas, destacando c.1226A>G (p.N409S) y c.1448T>C (p.L483P). El genotipo prevalente fue c.1226A>G; c.1448T>C (0,361). El 80% presentó EG tipo 1, mientras el 20% se distribuyó entre tipo 3 (18%) y tipo 2 (2%). Se evidenció una distribución geográfica, con formas no neuronopáticas predominantes en el norte y neuronopáticas en el centro-occidente, con mínima presencia en el sur. El análisis molecular proporcionó perfiles clínicos, moleculares y geográficos definidos. Destacan las frecuencias alélicas prevalentes de las variantes mencionadas. Este trabajo revela la diversidad genética y variabilidad clínica de la EG en la población mexicana, subrayando la importancia de considerar factores geográficos en su presentación.

Palabras clave: Enfermedad de Gaucher, México, enfermedades lisosomales, GEEL

Abstract

Gaucher disease (GD) is a rare disease, classified into three clinical forms according to neurological manifestations. Caused by pathogenic variants in the *GBA* gene, it leads to beta-glucocerebrosidase deficiency and glucocerebroside accumulation. This study examined 103 Mexican patients at the Mexican Social Security Institute, identifying 29 pathogenic variants, notably c.1226A>G (p.N409S) and c.1448T>C (p.L483P). The prevalent genotype was c.1226A>G; c.1448T>C (0.361). Eighty percent had type 1 GD, while 20% were distributed between type 3 (18%) and type 2 (2%). A geographical distribution was evident, with non-neuronopathic forms predominating in the north and neuronopathic forms in the central-west, with minimal presence in the south. Molecular analysis provided defined clinical, molecular and geographical profiles. The prevalent allele frequencies of the above-mentioned variants stand out. This work reveals the genetic diversity and clinical variability of GD in the Mexican population, highlighting the importance of considering geographical factors in its presentation.

Key words: Gaucher disease, Mexico, lysosomal diseases, GEEL

Introducción

La enfermedad de Gaucher (EG) es una enfermedad rara y perteneciente a las enfermedades lisosomales (EL). Se origina por la deficiencia de la enzima lisosomal β -glucocerebrosidasa, la cual es una glicosidasa hidrolasa lisosomal que descompone el enlace β -glucosídico presente en la glucosilceramida, [1] esta enzima es codificada por el gen *GBA* (glucosidase beta acid, OMIM 606463) situado en el la región cromosómica 1q21-31 [2], [3]. La ausencia de actividad enzimática conduce a la acumulación de los glicoesfingolípidos glucosilceramida y glucosilesfingosina en los lisosomas de macrófagos y monocitos [4], dando lugar a diversas manifestaciones y síntomas en tejido esquelético, médula ósea, bazo, hígado, pulmones y cerebro [5]

Existen tres formas clínicas de la enfermedad de Gaucher (EG) que se clasifican según la presencia o ausencia de signos neurológicos [6] La forma clínica más común, conocida como tipo 1, no presenta manifestaciones neurológicas y se observa con mayor frecuencia en todos los grupos poblacionales. Por otro lado, los tipos 2 y 3, que son neuropáticos, se diferencian por la gravedad de la hepatomegalia y el deterioro neurológico progresivo, en el tipo 2, considerado agudo, y por neuropatía crónica con variado compromiso visceral en el tipo 3 [7]

Se han reportado más de 400 variantes genéticas patogénicas en el gen *GBA*, pero algunas de ellas son más comunes. Entre las variantes más frecuentes, la c.1226A>G es más prevalente en la población judía asquenazí, acompañada de las variantes c.84dup, c.1448T>C y c.115+1G>A, las cuales están asociadas a EG tipo 1. [2], [8], [9]. Individuos homocigotos para la variante c.1226A>G (p.Asn409Ser) han demostrado la capacidad de permanecer sin síntomas durante largos periodos, en contraste con los individuos homocigotos para la variante c.1448T>C (p.Leu483Pro), quienes presentan un riesgo significativo de desarrollar deterioro neurológico, expresándose como enfermedad de Gaucher tipo 2 o tipo 3. [9], [10] En un estudio reciente, se identificaron en pacientes mexicanos tres nuevas variantes genéticas. Dos de ellas se encontraron en estado heterocigoto, correspondiendo a la variante c.494G>A/p.Cys165Try en dos pacientes y la variante c.820G>A/p.Glu274Lys en uno. [11]

Es importante resaltar que el resto de variantes patogénicas presentes en las po-

blaciones estudiadas puede variar considerablemente e incluso, presentar variantes únicas.

Aunque la enfermedad de Gaucher ha sido documentada en todo el mundo, las estimaciones generales de incidencia en la población general varían entre 0.39 y 5.80 por cada 100,000 nacimientos [12]. Desde una perspectiva étnica, se ha observado una incidencia más elevada en personas de ascendencia judía ashkenazí, estimándose en 1/ 450 nacimientos para el tipo 1. Y en ciertas regiones geográficas, como Norrbotten y Västerbotten en Suecia, se ha identificado una incidencia elevada, alcanzando 1/50,000 nacimientos para el tipo 3 de GD. [1], [13], [14] Wang et al. realizaron una revisión sistemática que incluyó datos de 14 áreas/países. Su análisis proporcionó información sobre la prevalencia al nacimiento de la EG en distintas regiones, destacando que en Oceanía, Europa, América del Norte y Asia la prevalencia fue de 1.8 casos, 1.7 casos, 1.3 casos y 1.1 casos por cada 100,000 nacimientos vivos, respectivamente [15]. En México, la frecuencia estimada de la EG se sitúa en 1/50,000 nacidos vivos [6]. La discrepancia en estas cifras podría explicarse por las dificultades para identificar a estos pacientes y que la esperanza de vida de los pacientes no es lo suficientemente larga como la de una persona sana. [16]

Es relevante destacar que, a pesar de que la consanguinidad tiende a aumentar la prevalencia de la EG en comunidades pequeñas, este aspecto no parece ser un problema significativo en la población mexicana, caracterizada por un alto nivel de mestizaje. No obstante, en poblaciones geográficamente aisladas podrían surgir situaciones similares [6]. Dado el escaso número de estudios sobre casos de la enfermedad de Gaucher en México, se destaca la necesidad de una mayor atención y estudio en el ámbito epidemiológico, considerando las disparidades geográficas y étnicas que influyen en su distribución.

El objetivo de este artículo es describir las características demográficas, distribución de fenotipos clínicos y variantes genéticas en pacientes con enfermedad de Gaucher en México.

Material y métodos

A través de la revisión de los expedientes médicos de pacientes atendidos por el Grupo de Expertos en Enfermedades Lisoso-

Tabla 1. Características demográficas de la población de estudio.

Características pacientes con EG	Total (N= 103)
Sexo	♂ 51 (49.51%) ♀ 52 (50.48%)
Edad (Promedio)	31 años (rango: 2-75)
Tipo clínico	1: 80 (78%); 2: 0 (0%); 3: 22 (21%); 3c: 1 (1%)
Tipo	
No neuropático	80 (78%)
Neuropático	20 (22%)
Tratamiento	SI: 101 (98%); NO: 2 (2%)
Tipo de TRE	
Velaglucoerasa	14 (13.5%)
Taliglucerasa	17 (16.5%)
Imiglucerasa	66 (64%)
Principales Variantes patogénicas del gen GBA	
c.1448T>C	41 (40.29%)
c.12226A>G	37 (35.44%)
c.84dupG	4 (3.40%)

males - Capítulo Gaucher, se identificaron como expedientes activos aquellos en los que los pacientes fueron sometidos a evaluación en al menos tres ocasiones durante la última década. Los datos analizados incluyeron variables demográficas como la edad, el género y la ubicación del paciente, así como el tipo específico de Enfermedad de Gaucher (EG), variantes patogénicas presentes en el gen GBA, hallazgos clínicos y las manifestaciones neurológicas. También se examinaron aspectos relativos al tratamiento con terapia de reemplazo enzimático (TRE). A partir de extracción de ADN, en todos los pacientes se realizó secuenciación completa del gen GBA por electroforesis capilar en equipo ABI 310 Genetic Analyzer (Applied Biosystems) y el alineamiento de los electroferogramas producidos fueron contrastados con la secuencia de referencia del gen GBA depositada en la base de datos GenBank (Ref Seq: NG_009783.1).

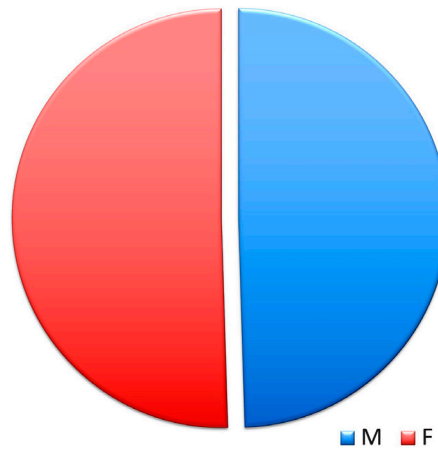


Figura 1. Distribución por sexo.

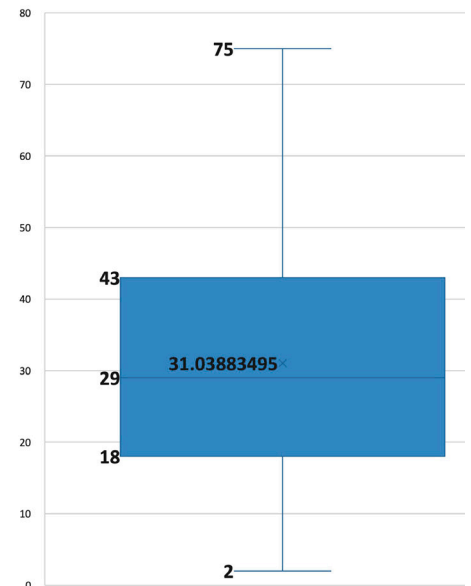


Figura 2. Edad promedio y extremos.

Cumplimiento ético

Este trabajo está sujeto al código de ética del Instituto Mexicano del Seguro Social. Todos los pacientes o sus tutores incluidos en este estudio proporcionaron su consentimiento informado antes de la recopilación de muestras de sangre para llevar a cabo el análisis enzimático y molecular.

Resultados

Se identificaron un total de 103 pacientes. 51 hombres y 52 mujeres (Figura 1) con edades comprendidas entre los 2 y 75 años (edad promedio 31 años) (Figura 2). 16 casos fueron familiares (principalmente 2 afectados por la familia); el 78% de los pacientes estaban afectados con EG tipo 1 y el 22% eran de tipo neuronopático (21% tipo 3 y 1% tipo 3c). (Figura 3). Los datos demográficos de estos pacientes se encuentran resumidos en la Tabla 1. 101 pacientes estaban bajo TRE y 2 pacientes con EG tipo 1 estaban solo bajo vigilancia; el 64% de los pacientes estaban en tratamiento con imiglucerasa, el 16,5% con taliglucerasa y el 13,5% con velaglucoerasa. (Figura 4) La dosis inicial estándar de ERT en todos los

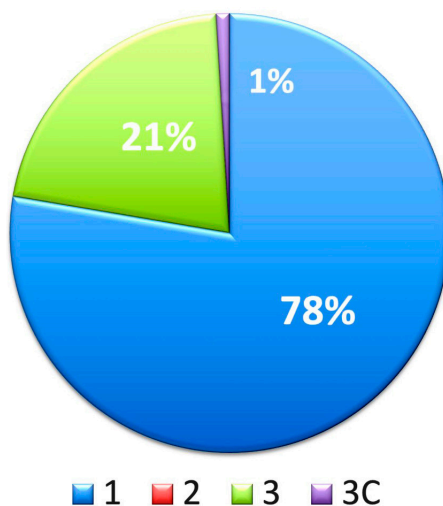


Figura 3. Distribución por tipos de EG

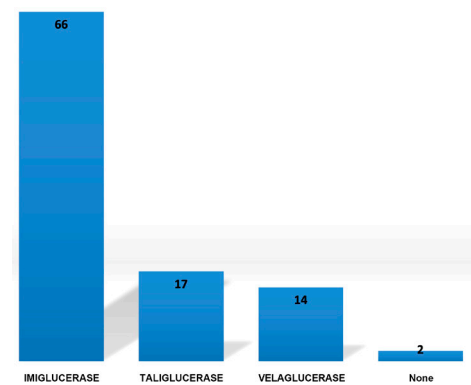


Figura 4. Distribución de pacientes por tipo de TRE.

Tabla 2. Distribución de genotipos en pacientes Mexicanos con Enfermedad de Gaucher.

Variante patogénica 1		Variante patogénica 2		%
c.1226A>G	p.N409S	c.1448T>C	p.L483P	33.98
c.1448T>C	p.L483P	c.1448T>C	p.L483P	23.30
c.1226A>G	p.N409S	c.84dupG	p.L29Afs*18	3.88
c.1226A>G	p.N409S	c.1226A>G	p.N409S	2.91
c.1226A>G	p.N409S	c.408_412del5bp	p.Pro137Cysfs*7	2.91
c.1226A>G	p.N409S	c.494G>A	p.C165Y	2.91
c.1226A>G	p.N409S	c.84dupG	p.L29Afs*18	1.94
c.1226A>G	p.N409S	c.685G>A	p.A190T	1.94
c.1226A>G	p.N409S	c.681T>G	p.N227K	1.94
c.1342G>C	p.N448H	c.1448T>C	p.L483P	1.94
c.1226A>G	p.N409S	c.509G>T	p.R170L	0.97
c.1226A>G	p.N409S	c.1184C>T	p.S395F	0.97
c.1226A>G	p.N409S	c.703T>C	p.S235P	0.97
c.1226A>G	p.N409S	c.847T>C	p.T283H	0.97
c.1226A>G	p.N409S	c.485T>C	p.M162T	0.97
c.1226A>G	p.N409S	c.887G>A	p.R296Q	0.97
c.1226A>G	p.N409S	c.820G>A	p.Q247K	0.97
c.1226A>G	p.N409S	c.534delT	p.Asp179metfs*21	0.97
c.1226A>G	p.N409S	c.408_412del	p.Pro137Cysfs*7	0.97
c.1226A>G	p.N409S	c.680A>G	Complex C	0.97
c.1226A>G	p.N409S	c.1448T>C	Rec Ncil	0.97
c.1226A>G	p.N409S	c.1448T>C	Rec exon 8	0.97
c.1226A>G	p.N409S	REC EXON 6-10 GBA / PGBA		0.97
c.259C>T	p.R87W	c.509G>T	p.R170L	0.97
c.485T>C	p.M162T	c.928A>G	p.S310G	0.97
c.721G>A	p.G241R	c.1226A>G	p.N409S	0.97
c.509G>T	p.R170L	c.1574G>A	p.G525D	0.97
c.1226A>G	p.N409S	c.115+1G>A	IVS2+1G>A	0.97
c.1342G>C	p.D448H	c.1342G>C	p.D448H	0.97
c.847T>C	p.Y283H	c.847T>C	p.Y283H	0.97
c.847T>C	p.Y283H	c.1448T>C	p.L483P	0.97
c.754T>A	p.F252I	c.847T>C	p.Y283H	0.97
c.1058T>G	p.L353R	c.1058T>G	p.L353R	0.97

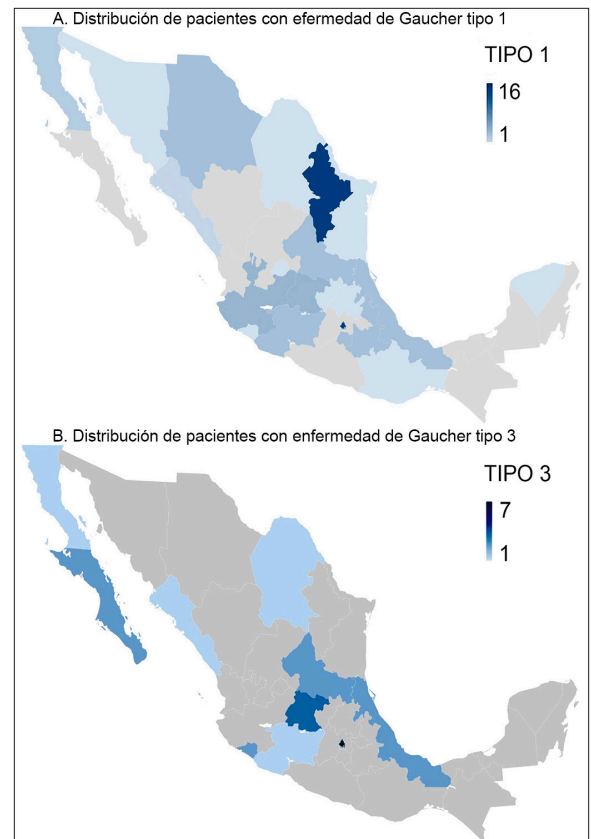


Figura 6. Representación geográfica de subtipos de Enfermedad de Gaucher en pacientes Mexicanos.

Tabla 3. Distribución geográfica de pacientes y variantes patogénicas.

Estado	Tipo 1 N (%)	Tipo 3 N (%)	Variante encontrada más frecuente % casos)
Aguascalientes	1 (1)	0	c.1226A>G (1)
Baja California	3 (2.9)	1 (1)	c.1226A>G (2.9) c.1448T>C (1)
Baja California Sur	2 (1.94)	0	c.1448T>C (1.94)
Chihuahua	4 (3.88)	0	c.1226A>G (3.88)
Ciudad de México	16 (15.53)	7 (6.79)	c.1226A>G (10.67) c.1448T>C (6.79) c.1342G>C (6.79) c.259C>T (1) c.485T>C (1) c.721G>A (1)
Coahuila	1 (1)	1 (1)	c.1448T>C (1) c.509G>T (1)
Colima	1 (1)	2 (1.94)	c.1448T>C (2.9)
Hidalgo	2 (1.94)	0	c.1226A>G (1)
Guanajuato	5 (4.85)	3 (2.91)	c.1226A>G (4.85) c.1448T>C (2.91)
Jalisco	5 (4.85)	0	c.1226A>G (4.85)
Michoacán	4 (3.88)	1 (1)	c.1226A>G (3.88) c.1448T>C (1)
Morelos	4 (3.88)	0	c.1226A>G (3.88)
Nuevo León	16 (15.53)	0	c.1226A>G (15.53)
Oaxaca	1 (1)	0	c.1226A>G (1)
Puebla	4 (3.88)	3c (1)	c.1226A>G (2.91) c.1342G>C (1) c.847T>C (1)
Queretaro	1 (1)	0	c.1226A>G (1)
San Luis Potosi	4 (3.88)	2 (1.94)	c.1226A>G (1.94) c.847T>C (1) c.754T>A (1) c.1448T>C (1.94)
Sinaloa	2 (1.94)	1 (1)	c.1226A>G (1.94) c.1448T>C (1)
Sonora	1 (1)	0	c.1226A>G (1)
Tamaulipas	1 (1)	0	c.1226A>G (1)
Veracruz	4 (3.88)	2 (1.94)	c.1226A>G (2.91) c.485T>C (1) c.1448T>C (1.94)
Yucatán	1 (1)	0	c.1058T>G (1)

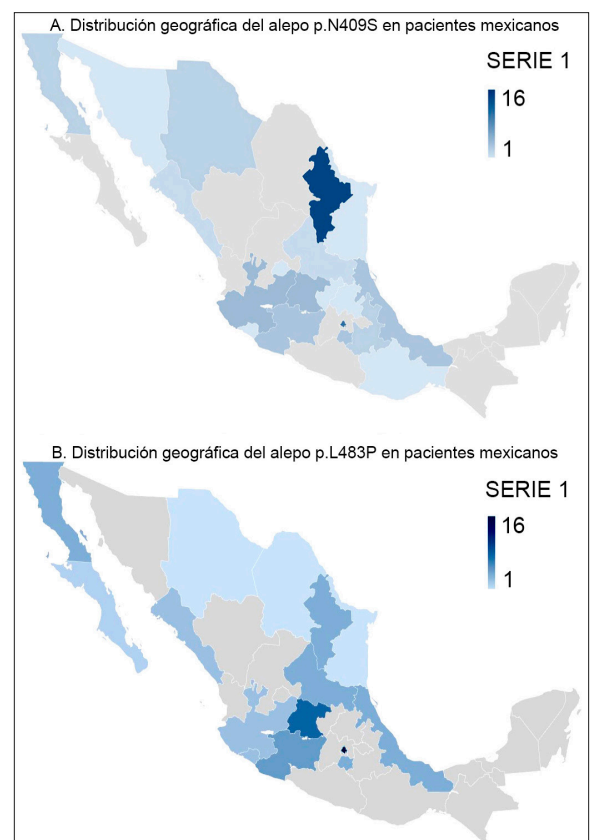


Figura 7. Representación geográfica de los alelos p.N409S y p.L483P en pacientes Mexicanos.

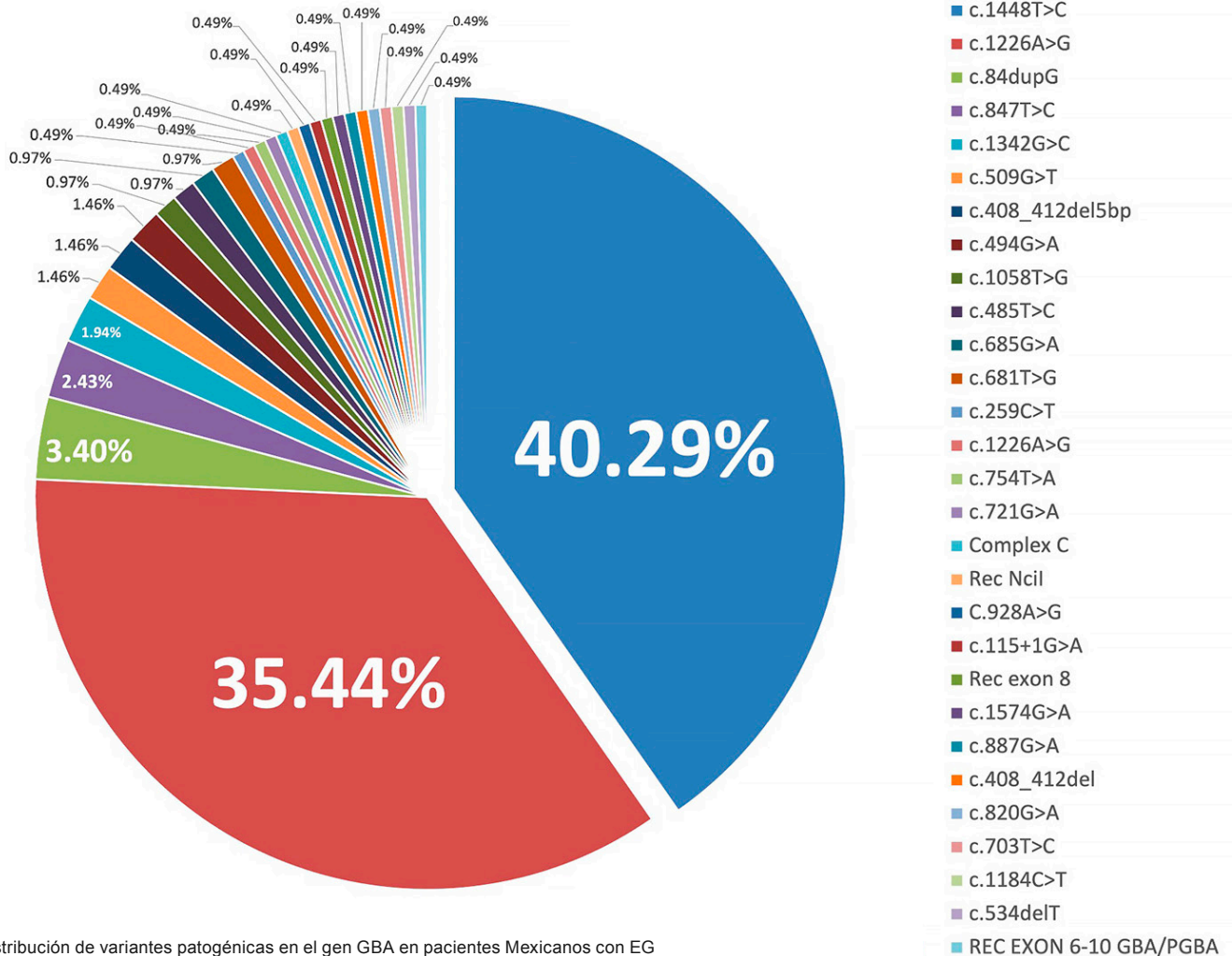


Figura 5. Distribución de variantes patogénicas en el gen GBA en pacientes Mexicanos con EG

pacientes fue de 60 UI/kg/cada 2 semanas y se pudo reducir progresivamente a 30 UI/kg/cada 2 semanas en aquellos pacientes que cumplieron criterios de acuerdo con las guías clínicas locales [17], [18].

Se identificaron un total de 29 variantes patogénicas en el gen GBA (Figura 5): c.1448T>C (p.L483P) y c.1226A>G (p.N409S) fueron los alelos más prevalentes (frecuencias alélicas de 0.4029 y 0.3544 respectivamente), c.84dupG se observó en el 3,40% de la muestra. En toda la muestra, sólo se observaron 4 alelos recombinantes (3,88%). La Tabla 2 muestra los 33 genotipos observados en este grupo de pacientes donde el genotipo c.1226A>G (p.N409S); c.1448T>C (p.L483P) y c.1448T>C (p.L483P); c.1448T>C (p.L483P) fueron los más prevalentes (33,9% y 23,30%, respectivamente). En cuanto a la distribución geográfica del lugar de residencia y tratamiento de los pacientes, la tabla 3 presenta la distribución en 32 estados de la República Mexicana. Con base en el subtipo clínico se observa una mayor presencia del tipo 1 en el norte del país y de forma tipo 3 en la región centro-occidente y sólo un paciente (tipo 1) en la región sureste del país (Figura 6 A y B). Una correlación de la distribución de los alelos p.N409S y p.L483P se presenta en la figura 7A y B.

Discusión

En México no existen registros oficiales sobre EG, sin embargo, se ha estimado

que aproximadamente hay 300 pacientes identificados en el país y aproximadamente 130 se encuentran en tratamiento. En este trabajo, se presentan 103 individuos afectados con EG y sus resultados pueden extrapolarse al resto de pacientes en la población mexicana. Es de destacar que el porcentaje de formas neuropáticas es 4 veces mayor que lo esperado en poblaciones caucásicas, aunque pacientes de EG tipo 2 no fueron incluídos en la base de datos de pacientes de este reporte ya que solo se incluíeron pacientes vivos. Esta mayor frecuencia de fenotipos neuronopáticos puede explicarse por la frecuencia alélica de c.1448TC (p.L483P): 0.4029, y no por un sesgo en la falta de captación de pacientes con formas atenuadas, como era propuesto anteriormente (Figura 5). El segundo alelo en frecuencia fue c.1226A>G (p.N409S): 0.3544, lo cual explica el genotipo más frecuente observado en este grupo de pacientes: c.1448T>C (p.L483P); c.1448T>C (p.L483P) presente en el 34% de la muestra (Tabla 2) Es notable también la baja frecuencia de alelos recombinantes observados (3%, Tabla 2). Por otra parte, existe una tendencia en la distribución geográfica de pacientes con formas no neuropáticas en la zona norte del país en comparación con la región central y occidental donde las formas neuronopáticas se observan con mayor frecuencia además de que en la región sureste del país prácticamente no se tienen pacientes registrados, al contar con solo un paciente con EG tipo 1 en el estado de Yucatán. Aunque no se cuenta con la

información de todos los pacientes identificados en el país, esta muestra de pacientes del Instituto Mexicano del Seguro social, ofrece una aproximación integral al perfil clínico, molecular y geográfico de la enfermedad de Gaucher en la población mexicana. La variabilidad en la distribución de formas neuropáticas, con una mayor prevalencia en el centro y occidente en comparación con las formas no neuronopáticas en el norte, sugiere una asociación con la ascendencia caucásica, más frecuente en poblaciones de esta región [19], resaltando la importancia de futuros análisis en esta población.

Referencias bibliográficas

[1] P. K. Mistry, G. Lopez, R. Schiffmann, N. W. Barton, N. J. Weinreb, and E. Sidransky, "Gaucher disease: Progress and ongoing challenges," *Mol Genet Metab*, vol. 120, no. 1-2, pp. 8-21, Jan. 2017, doi: 10.1016/j.ymgme.2016.11.006.

[2] M. Horowitz, S. Wilder, Z. Horowitz, O. Reiner, T. Gelbart, and E. Beutler, "The human glucocerebrosidase gene and pseudogene: Structure and evolution," *Genomics*, vol. 4, no. 1, pp. 87-96, Jan. 1989, doi: 10.1016/0888-7543(89)90319-4.

[3] B. Cormand, M. Montfort, A. Chabás, L. Vilageliu, and D. Grinberg, "Genetic fine localization of the β -glucocerebrosidase (GBA) and prosaposin (PSAP) genes: implications for Gaucher disease," *Hum Genet*, vol. 100, no. 1, pp. 75-79, Jun. 1997, doi: 10.1007/s004390050468.

[4] E. Beutler, T. Gelbart, and C. R. Scott, "Hematologically important mutations: Gaucher disease," *Blood Cells Mol Dis*, vol. 35, no. 3, pp. 355-364, Nov. 2005, doi: 10.1016/j.bcmd.2005.07.005.

[5] B. E. Rosenbloom and N. J. Weinreb, "Gaucher Disease: A Comprehensive Review," *Crit Rev Oncog*, vol. 18, no. 3, pp. 163–175, 2013, doi: 10.1615/CritRevOncog.2013006060.

[6] S. Franco-Ornelas, "Consenso Mexicano de Enfermedad de Gaucher," *Revista Médica del Instituto Mexicano del Seguro Social*, vol. 48, no. 2, pp. 167–186, 2010, Accessed: Jan. 10, 2024. [Online]. Available: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=457745507010>

[7] M. Jmoudiak and A. H. Futerman, "Gaucher disease: pathological mechanisms and modern management," *Br J Haematol*, vol. 129, no. 2, pp. 178–188, Apr. 2005, doi: 10.1111/j.1365-2141.2004.05351.x.

[8] N. Cindik et al., "Gaucher disease with communicating hydrocephalus and cardiac involvement.," *Clin Cardiol*, vol. 33, no. 1, pp. E26-30, Jan. 2010, doi: 10.1002/clc.20348.

[9] J. Stirnemann et al., "A Review of Gaucher Disease Pathophysiology, Clinical Presentation and Treatments.," *Int J Mol Sci*, vol. 18, no. 2, Feb. 2017, doi: 10.3390/ijms18020441.

[10] P. Dubiela et al., "Alpha-Synuclein mRNA Level Found Dependent on L444P Variant in Carriers and Gaucher Disease Patients on Enzyme Replacement Therapy," *Biomolecules*, vol. 13, no. 4, p. 644, Apr. 2023, doi: 10.3390/biom13040644.

[11] R. Silva García et al., "Gaucher Disease: Identification and Novel Variants in Mexican and Spanish Patients," *Arch Med Res*, vol. 52, no. 7, pp. 731–737, Oct. 2021, doi: 10.1016/j.arcmed.2021.05.001.

[12] L. Nalysnyk, P. Rotella, J. C. Simeone, A. Hamed, and N. Weinreb, "Gaucher disease epidemiology and natural history: a comprehensive review of the literature," *Hematology*, vol. 22, no. 2, pp. 65–73, Feb. 2017, doi: 10.1080/10245332.2016.1240391.

[13] G. A. GRABOWSKI, "Gaucher Disease: Gene Frequencies and Genotype/Phenotype Correlations," *Genet Test*, vol. 1, no. 1, pp. 5–12, Jan. 1997, doi: 10.1089/gte.1997.1.5.

[14] National Organization for Rare Disorders (NORD)., "Rare Disease Database." Accessed: Jan. 10, 2024. [Online]. Available: <https://rarediseases.org/rare-diseases/gaucher-disease/>

[15] M. Wang, F. Li, J. Zhang, C. Lu, and W. Kong, "Global Epidemiology of Gaucher Disease: an Updated Systematic Review and Meta-analysis," *J Pediatr Hematol Oncol*, vol. 45, no. 4, pp. 181–188, May 2023, doi: 10.1097/MPH.0000000000002506.

[16] N. J. Weinreb et al., "Life expectancy in Gaucher disease type 1," *Am J Hematol*, vol. 83, no. 12, pp. 896–900, Dec. 2008, doi: 10.1002/ajh.21305.

[17] *Diagnóstico y Tratamiento de la Enfermedad de Gaucher Neuronopática*. México: Secretaría de Salud, 2012.

[18] *Guía de Práctica Clínica y Tratamiento de la Enfermedad de Gaucher tipo I*. México: Secretaría de Salud, 2013.

[19] M. Sohail et al., "Mexican Biobank advances population and medical genomics of diverse ancestries." *Nature*, vol 622, pp. 775-789. doi: 10.1038/s41586-023-06560-0



LA INTELIGENCIA ARTIFICIAL EN EL CAMPO DE LA SALUD Y EN ENFERMEDADES DE BAJA FRECUENCIA

Francisco Bauzá Mingueza^{1,2}; Pierpaolo Bruscolini^{1,2}; David Íñiguez Dieste^{1,2,3}

¹Instituto de Biocomputación y Física de Sistemas Complejos (BIFI). Universidad de Zaragoza. Zaragoza. España

²Departamento de Física Teórica de la Universidad de Zaragoza. Zaragoza. España

³Fundación ARAID. Zaragoza. España

francisco.bauza@bifi.es

Resumen

La evolución acelerada de la Inteligencia Artificial (IA) en la última década se ha visto impulsada por la conjunción de una potencia de cálculo sin precedentes y la abundancia de datos. Este progreso ha redefinido la atención médica, donde la IA ha destacado en mejoras significativas, como la precisión diagnóstica del cáncer y la personalización de tratamientos farmacológicos.

La integración de la IA en el análisis de biomarcadores ha sido fundamental para desentrañar complejas combinaciones de datos genómicos y clínicos, permitiendo avances significativos en el diagnóstico y tratamiento de diversas afecciones y se está aplicando también en el caso de las enfermedades raras.

Sin embargo, estos logros no eximen de desafíos éticos, entre ellos, la protección de la privacidad de los datos médicos y la necesidad de transparencia en los algoritmos utilizados. En este contexto ético la Unión Europea ha aprobado recientemente un marco regulatorio para la IA. En este campo en constante evolución, la atención ética y regulatoria se presenta como un componente esencial, demandando un equilibrio cuidadoso entre los beneficios y los riesgos, guiado por principios éticos sólidos y marcos regulatorios efectivos.

Palabras clave: Inteligencia Artificial, Machine Learning, plegamiento de proteínas, osteoporosis, enfermedad de Gaucher, bioética

Artificial intelligence in the field of healthcare and rare diseases

Abstract

The accelerated evolution of Artificial Intelligence (AI) in the last decade has been driven by the combination of unprecedented computing power and data abundance. This progress has redefined healthcare, where AI has excelled in significant improvements, such as diagnostic accuracy in cancer and the personalization of pharmacological treatments.

The integration of AI in biomarker analysis has been essential for unraveling complex combinations of genomic and clinical data,

enabling significant advances in the diagnosis and treatment of various conditions, including rare diseases.

However, these achievements do not exempt us from ethical challenges, including the protection of medical data privacy and the need for transparency in the algorithms used. In this ethical context, the European Union has recently approved a regulatory framework for AI. In this constantly evolving field, ethical and regulatory attention emerges as an essential component, demanding a careful balance between benefits and risks, guided by strong ethical principles and effective regulatory frameworks.

Key words: artificial intelligence, Machine learning, protein folding, Gaucher disease, bioethics

Introducción

John McCarthy organizó en 1956 la que se considera la primera conferencia importante en Inteligencia Artificial. En la propuesta de la conferencia, McCarthy y los otros participantes escribieron: "La conferencia propondrá la conjetura de que, cada aspecto de aprender o cualquier otra característica de la inteligencia puede en principio ser descrito con tanta precisión que una máquina puede ser hecha para simularlo". La Inteligencia Artificial (IA) trata de replicar la inteligencia humana en sistemas informáticos, incluyendo a los robots. De todos los diferentes aspectos que conforman la inteligencia, lo más importante, cuando hablamos de IA, es la capacidad de analizar y tomar decisiones en función de la información o datos de los que se dispone. En el caso concreto de la medicina y la salud, uno de los aspectos que más nos puede interesar es la función de detección y predicción de enfermedades en pacientes que puede llevar a cabo la IA, si bien existen muchas más aplicaciones.

A pesar de que ya en los años 70 y 80 ya se podía hablar de IA y se trabajaba con redes neuronales y sistemas expertos, es cierto que en la última década la IA ha experimentado un crecimiento abrumador, tanto en el aspecto teórico, tecnológico como en popularidad. Actualmente la IA es capaz de resolver problemas como el reconocimiento de imágenes, el procesamiento del lenguaje o el cálculo de la estructura de proteínas,

de forma mucho más eficiente que otros métodos. El hecho de que esta "explosión" de la IA haya ocurrido ahora es porque han confluído principalmente varios factores que llevaban tiempo fraguándose: la posibilidad de disponer de alta potencia de cálculo con grandes *clusters* de ordenadores o el uso de procesadores especializados como las GPUs y la gran disponibilidad de extensas bases de datos de diferentes ámbitos, así como la capacidad de procesar estos datos mediante el uso de las técnicas de Big Data. La unión de estos factores ha favorecido especialmente el desarrollo de un tipo de herramientas de IA como son las redes neuronales profundas o *deep learning* que a su vez es lo que ha creado las aplicaciones más "espectaculares" desde el punto de vista de la sociedad (aplicaciones de reconocimiento de imágenes, Chat GPT, etc.). Sin embargo, diversos modelos de IA pueden ser aplicados también en problemas donde se dispone de un volumen de datos inferior, como es el caso de las enfermedades de baja frecuencia.

Aplicación de la IA en medicina

La IA y las técnicas de *machine learning* ya se habían estado aplicando durante años en el campo de la salud y la medicina con el desarrollo, por ejemplo, de modelos de propensión a sufrir una determinada afección, estimación para cada persona de qué tratamientos pueden ir mejor, o modelos de clasificación para mejorar el diagnóstico y la detección temprana. La principal novedad en estos últimos años es la capacidad de analizar de forma integrada datos de diferentes tipos y, en particular, datos no estructurados como imágenes, textos, etc. De esta manera, aplicada a la medicina de precisión, la IA permite analizar grandes cantidades de datos de muy diferentes tipos (genómicos, bioquímicos, sociales, imagen médica, etc.) y modelarlos de forma conjunta.

Algunos casos concretos, dentro de la medicina de precisión, en los que la IA ha tenido un impacto significativo son la mejora de la precisión en el diagnóstico del cáncer y la personalización de tratamientos farmacológicos para pacientes individuales [1]. El cáncer es una enfermedad compleja y heterogénea que puede presentar desafíos en su diagnóstico preciso. Sin embargo, los algo-

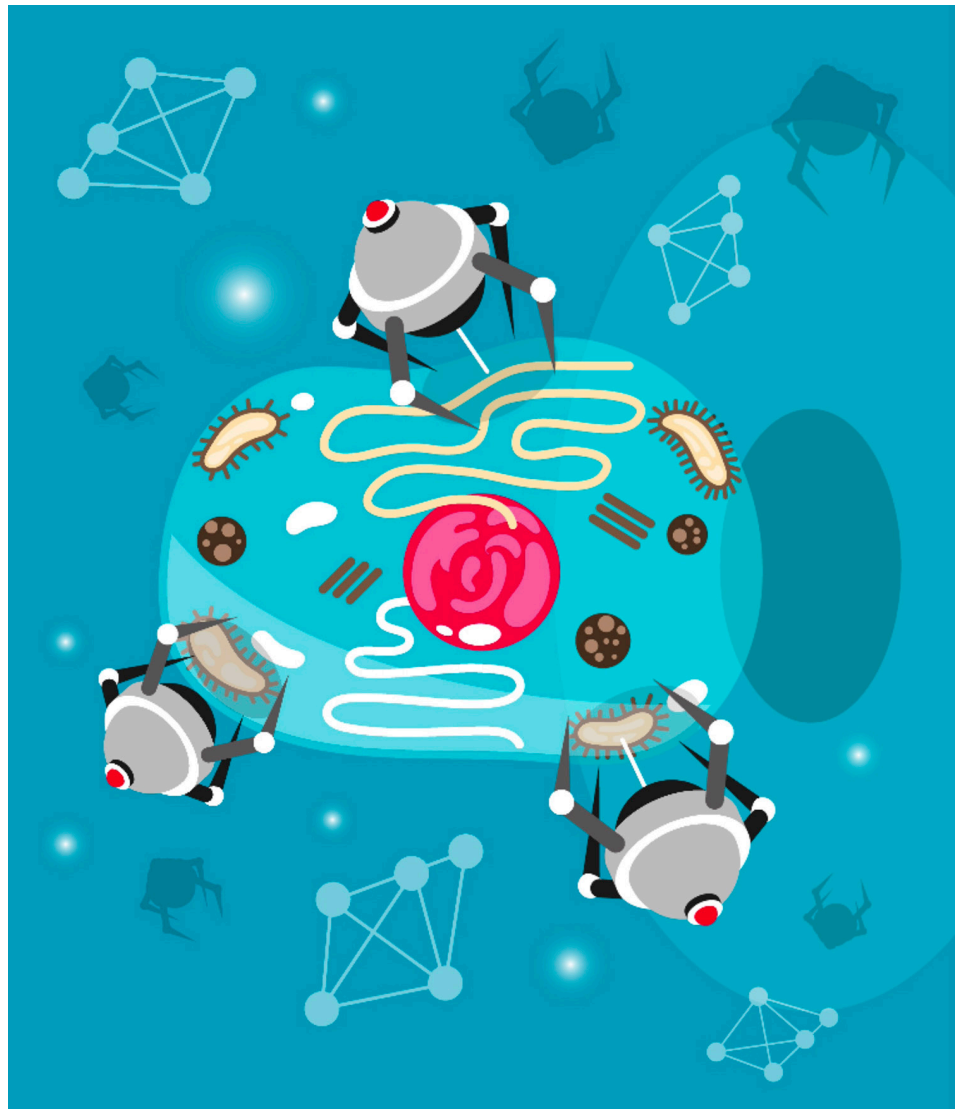
ritmos de IA pueden analizar imágenes médicas y patrones genéticos para identificar características sutiles que pueden ser indicativas de cáncer, lo que permite una detección temprana y un tratamiento oportuno, mejorando las tasas de supervivencia de los pacientes. En cuanto a la personalización de tratamientos farmacológicos, al analizar datos genómicos y biomarcadores específicos, los algoritmos de IA pueden identificar qué medicamentos son más efectivos para un paciente en particular y ajustar las dosis para maximizar los resultados, mejorando la eficacia del tratamiento, reduciendo los efectos secundarios y minimizando la exposición a medicamentos innecesarios.

Otra aplicación de la IA fundamental para la medicina y que ha experimentado un gran desarrollo en los últimos años es la predicción del plegamiento de proteínas. La proteómica comprende el conjunto de técnicas que se utilizan para el estudio de las proteínas. Sus objetivos son describir el conjunto de proteínas que se expresan en los distintos tipos celulares, tejidos o fluidos biológicos e identificar sus funciones. Actualmente, estas técnicas se utilizan también para dilucidar los mecanismos implicados en el desarrollo de las enfermedades, para descubrir nuevos biomarcadores para el diagnóstico y el pronóstico, así como para la identificación de nuevas dianas terapéuticas. La aparición de softwares de IA como AlphaFold [2] o RoseTTAFold [3] ha supuesto un gran avance. RoseTTAFold es un programa informático basado en IA que permite predecir las estructuras de proteínas naturales y diseñar proteínas completamente nuevas. La importancia radica en que las nuevas proteínas se pueden utilizar para desarrollar nuevas vacunas o nuevos medicamentos para tratar diversas enfermedades.

Aplicación de la IA en enfermedades raras y análisis de biomarcadores

La integración de la IA en el análisis de biomarcadores representa un gran avance en la comprensión y tratamiento de enfermedades raras, como la enfermedad de Gaucher. La IA tiene la capacidad de alumbrar y desentrañar la *a priori* compleja combinación de biomarcadores provenientes de diversas fuentes, como la genómica, proteómica y datos clínicos, pudiendo llegar a conclusiones sin precedentes en el diagnóstico, la predicción y la toma de decisiones generales de novedosas terapias contra enfermedades raras. La utilización de algoritmos de *machine learning* más allá de las redes neuronales, como pueden ser algoritmos de k-vecinos o árboles de clasificación, en el diseño de modelos de regresión o clasificación para el diagnóstico de enfermedades raras pueden ayudar a detectar esas combinaciones complejas de biomarcadores con una mayor componente explicativa que las redes neuronales.

En nuestro grupo de investigación, junto con la empresa Kampal Data Solutions, la Fundación FEETEG y otros colaboradores [4], hemos llevado a cabo investigaciones en las que a partir del análisis de una serie de variables demográficas, clínicas y genéticas, hemos podido estimar la propensión a sufrir afecciones relacionadas con la enfermedad de Gaucher, como por ejemplo crisis óseas. Desde que la terapia de reemplazo enzimático para la enfermedad de Gaucher (MIM#230800) estuvo disponible, tanto el conocimiento como la historia na-



tural de la enfermedad han cambiado. Sin embargo, aún quedan necesidades no cubiertas, como la identificación de pacientes con riesgo de desarrollar crisis óseas durante la terapia y complicaciones tardías como cáncer o Parkinson. El Registro Español de la Enfermedad de Gaucher trabaja desde 1993 en la recopilación de datos demográficos, clínicos, genéticos, analíticos, de imagen y de seguimiento de más de 400 pacientes. Los objetivos de este estudio fueron descubrir correlaciones entre las características de los pacientes en el momento del diagnóstico e identificar características de riesgo para el desarrollo de complicaciones tardías; para ello se aplicó un enfoque de aprendizaje automático que involucra redes de correlación y análisis de árboles de decisión.

Se seleccionaron un total de 358 pacientes, 340 casos de enfermedad de Gaucher tipo 1 y 18 casos tipo 3. El 18% habían sido esplenectomizados y el 39% tenían enfermedad ósea avanzada. El 81% de los casos portaban genotipo heterocigoto. El 47% de ellos fueron diagnosticados antes del año 2000. La edad media de diagnóstico y tratamiento fue 28 y 31,5 años (años) respectivamente. El 4% desarrolló gammapatía monoclonal de significado indeterminado o enfermedad de Parkinson, el 6% cáncer y el 10% murió antes de este estudio. La esplenectomía previa se correlaciona con el desarrollo de complicaciones esqueléticas y enfermedad

ósea grave ($p = 0,005$); Los niveles séricos de IgA y el retraso en la edad al inicio del tratamiento ($> 9,5$ años desde el diagnóstico) también se correlacionan con una enfermedad ósea grave en el momento del diagnóstico y con la incidencia de crisis ósea durante el tratamiento. Niveles elevados de IgG (> 1750 mg/dL) y edad mayor de 60 años en el momento del diagnóstico se encontró que estaban relacionados con el desarrollo de cáncer. Al modelar el árbol de decisión, los pacientes con diagnóstico y tratamiento retrasados fueron los más graves y con mayor riesgo de complicaciones. Nuestro trabajo confirma observaciones previas, resalta la importancia de diagnóstico y terapia tempranos e identifica nuevas características de riesgo, como niveles altos de IgA e IgG para complicaciones a largo plazo.

Actualmente estamos trabajando en el desarrollo del proyecto OSTEOPAI, con financiación obtenida en la convocatoria 2021 de Transición Ecológica y Digital (TED) del Plan estatal de investigación científica, técnica y de innovación y que tiene como objetivo el desarrollo de un modelo predictivo de predisposición a la pérdida de densidad mineral ósea mediante técnicas de inteligencia artificial. Es un proyecto coordinado entre nuestro grupo de la Universidad de Zaragoza, la Fundación FEETEG (Dra. Pilar Giraldo y colaboradores) y el Instituto de Investigación Sanitaria Aragón (Dr. Ralf Köhler y colaboradores).

La osteoporosis es una enfermedad muy habitual y con mucho impacto en la salud general, una de cada 10 personas mayores de 60 la padece (y 2 de cada 5 mayores de 80). Consiste en la pérdida de masa y estructura ósea, lo que implica la posibilidad de fracturas. Tiene múltiples causas, desde malos hábitos, causas hormonales, o factores epigenéticos. El proyecto OSTEOPAI tiene el objetivo de desentrañar esas causas y ser capaces de predecir la predisposición de una persona a sufrir esta enfermedad. Para ello estamos trabajando con datos de personas que padecen la enfermedad de Gaucher, para los que tenemos una muy buena base de datos gracias al registro de la fundación FEETEG. Aunque esta base de datos es pequeña dada la baja prevalencia de la enfermedad, conteniendo 400 personas aproximadamente, el 65% de estos pacientes desarrollan osteoporosis, por lo que la muestra en ese sentido está bastante poblada. Además de distintos indicadores demográficos, analíticos, clínicos, genéticos, etc., de esta base de datos, contamos con una muestra de 80 de ellos con información de microRNAs, que se consideran un buen biomarcador para la detección de diversas enfermedades. A partir del análisis de todas estas variables, nos encontramos

en la fase de desarrollo de modelos de IA que nos permitan determinar la citada propensión a padecer osteoporosis en este tipo de pacientes, donde esperamos obtener indicaciones para una futura aplicabilidad a la población general.

Bioética y limitaciones legales de la IA

La IA —como el resto de las tecnologías diseñadas por el ser humano— puede derivar en aplicaciones nocivas o beneficiosas para las personas, al igual que ocurrió en su momento con la pólvora o más recientemente con el conocimiento de la energía nuclear. Un ejemplo reciente de aplicación de la IA en el que podemos observar esta doble vertiente es la tecnología del reconocimiento facial, puede servir por una parte para introducir más capas de seguridad en ciertas aplicaciones o desarrollar herramientas muy útiles de visión por computador, pero por otra parte se puede utilizar para monitorizar a personas sin su consentimiento o para llevar a cabo suplantaciones de identidad.

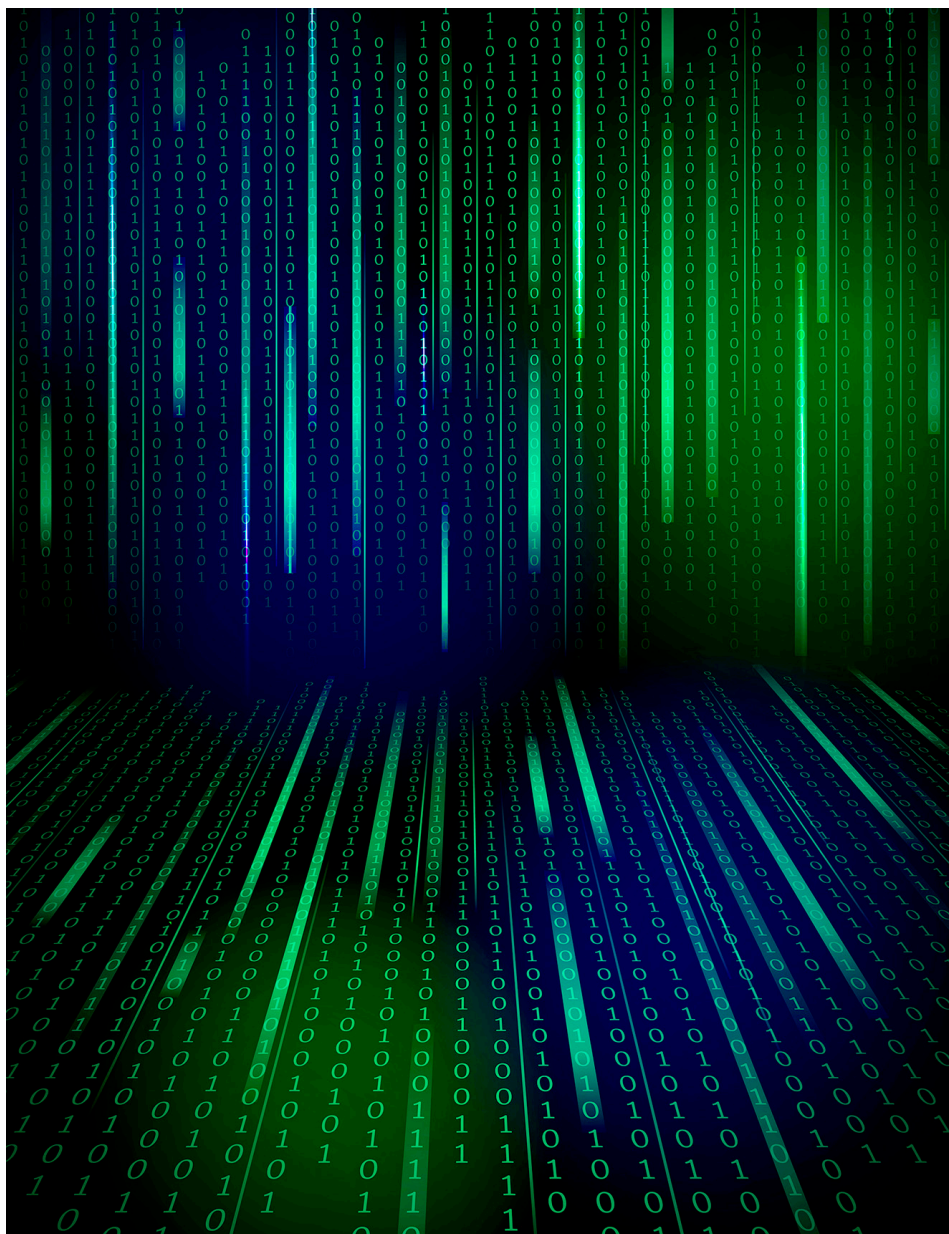
La aplicación de la inteligencia artificial a la sanidad también plantea preocupaciones en

el campo de la ética. Entre ellas, la privacidad de los datos médicos, el desconocimiento del funcionamiento de determinados algoritmos o que puedan producirse sesgos en la toma de decisiones médicas.

No solo deben preocuparnos los dilemas éticos y de seguridad que nos plantea actualmente la IA sino también los que pueden surgir en los próximos años. Este es un campo de estudio que está en continuo desarrollo y claramente de forma vertiginosa. El científico José Ignacio Latorre (físico teórico y autor del libro “Ética para máquinas”) afirma que “... lo que se nos viene encima es como asomarse a un abismo. No tenemos por qué caer, pero necesitamos muchísimo cuidado”. En medio de la disyuntiva entre limitar el uso de la IA para preservar valores éticos y asegurar la seguridad de los ciudadanos, y seguir potenciando y desarrollando la inteligencia artificial por todos los beneficios que conlleva, la Unión Europea aprobó el pasado 8 de diciembre de 2023 la primera ley sobre Inteligencia Artificial a gran escala [5]. Esta nueva ley plantea una escala de riesgo para las herramientas y aplicaciones de IA. Las aplicaciones calificadas con el nivel de riesgo mayor, denominado “peligro inaceptable” y que incluye aplicaciones de reconocimiento de emociones en el lugar de trabajo o alguna aplicación de categorización de personas (conocido como social scoring), estarán prohibidas en la UE. Por debajo del nivel de peligro inaceptable está el nivel de “alto riesgo”, que incluye las aplicaciones aplicadas a sistemas médicos. La normativa exigirá, para las aplicaciones de alto riesgo, sistemas de mitigación de riesgos, registros de actividad, información clara al usuario y supervisión humana de la aplicación.

Referencias

- [1] <https://www.bigdata-social.com/inteligencia-artificial-investigacion-medicina-personalizada/>
- [2] <https://alphafold.ebi.ac.uk/>
- [3] Baek M, et al. Accurate prediction of protein structures and interactions using a 3-track network. Science. July 2021.
- [4] Andrade-Campos et al. Orphanet Journal of Rare Diseases (2020) 15:256. <https://doi.org/10.1186/s13023-020-01520-7>
- [5] <https://artificialintelligenceact.eu/es/el-acto/>



ENFERMEDAD DE FABRY Y AMILOIDOSIS. DOS ENFERMEDADES RARAS

M^a Esther Franco García

Hematóloga. Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa. Zaragoza. España

mefrancog@gmail.com

Resumen

Lograr el diagnóstico adecuado de un paciente que sufre una enfermedad rara siempre es complejo, no sólo por el proceso diagnóstico que precisa de pruebas diagnósticas específicas, sino también porque llegar a pensar que estamos ante una enfermedad rara requiere descartar antes muchas otras enfermedades más comunes, lo que es lento y complejo (salvo que ya haya algún caso diagnosticado de esa enfermedad en la familia). Esta situación ocurre ante las dos enfermedades de depósito comentadas en este artículo, la enfermedad de Fabry y la amiloidosis, que además pueden compartir muchos de sus síntomas clínicos, por lo que aparecen de forma conjunta entre las posibles causas de miocardiopatía hipertrófica no debida a mutaciones de los genes sarcoméricos y entre las causas infrecuentes de proteinuria. Tanto amiloidosis como enfermedad de Fabry son enfermedades de depósito cuyo número de casos posiblemente esté infradiagnosticado. Además, en ambas puede aparecer gammapatía monoclonal; en el caso de los pacientes con enfermedad de Fabry se piensa que aparece por reacción inmune al acúmulo de globotriaosilceramida que ocurre en esta enfermedad.

Palabras clave: enfermedad de Fabry, amiloidosis, miocardiopatía hipertrófica, proteinuria.

Abstract

Achieving the proper diagnosis of a patient who suffers from a rare disease is always complex, not only because of the diagnostic process that generally requires specific diagnostic tests, but also because coming to think that we are dealing with a rare disease requires first ruling out many other more common diseases, which is slow and complex (unless there is already a diagnosed case of that disease in the family). This situation occurs in the two storage diseases discussed in this article, Fabry disease and amyloidosis, which can also share many of their clinical symptoms, which is why they appear together among the possible causes of hypertrophic cardiomyopathy not due to mutations of sarcomeric genes and among the rare causes of proteinuria. Both, amyloidosis and Fabry disease are storage diseases whose number of cases is possibly underdiagnosed. Furthermore, monoclonal gammopathy can appear in both; in the case of patients with Fabry disease is thought to appear due to an immune reaction to the accumulation of globotriaosylceramide that occurs in this disease.

Keywords: Fabry disease, amyloidosis, hypertrophic cardiomyopathy, proteinuria.

Introducción

En casi todos los países de la Unión Europea (UE) se consideran enfermedades raras (ER) las que tienen una prevalencia <5 casos/10.000 habitantes. Estas ER generalmente asocian altas tasas de morbi-mortalidad (1).

Según datos de Orphanet (2), el portal sobre enfermedades raras y medicamentos huérfanos, se estima que existen en el mundo unas 6.200 ER ya identificadas de un total de más de 7.000 y que más de 300 millones de personas en el mundo sufren alguna ER, al menos 3 millones de ellos en España.

Este artículo trata sobre dos ER que se incluyen en el diagnóstico etiológico de la miocardiopatía infiltrativa (3,4) y que en ocasiones presentan síntomas y signos semejantes. Realizar el correcto diagnóstico es preciso para poder optar a los tratamientos específicos disponibles para cada una de ellas.

Las enfermedades de depósito lisosomal (EDL) son ER y consisten en trastornos hereditarios causados por el déficit de alguna de las más de 40 enzimas específicas lisosomales necesarias para el metabolismo (5).

Enfermedad de Fabry (6,7)

La enfermedad de Anderson-Fabry (EF) es una EDL de herencia recesiva ligada al cromosoma X, se presenta en 1/40.000 recién nacidos varones, con una prevalencia entre 1/40.000 a 1/117.000 habitantes, siendo más frecuentes los fenotipos atenuados o de aparición tardía. Los estudios de detección en recién nacidos indican que su verdadera prevalencia está subestimada. Aunque es más frecuente en caucásicos, puede afectar a todas las razas.

La EF se produce por mutaciones del gen *GLA* localizado en el cromosoma X (Xq22.1) que ocasionan déficit o ausencia de la enzima lisosomal alfa-galactosidasa A (alfa-GAL),

cuya función es degradar al ácido grasoglobotriaosilceramida (GL3) (figura 1). Como resultado de esta carencia los lisosomas se llenan de GL3, especialmente en las células de los vasos sanguíneos de la piel, las células de los riñones, del corazón y del sistema nervioso originando el progresivo daño en estos órganos desde la infancia.

Por el tipo de herencia todos los hombres afectados sufren la enfermedad y las mujeres son portadoras de EF, presentando generalmente síntomas menos graves que los varones y que aparecen a edad más avanzada o no teniendo síntomas, por la diferente distribución del defecto genético predominante en los órganos.

Para el diagnóstico de EF en varones el método más eficiente es medir la actividad de la enzima alfa-GAL en plasma, leucocitos, lágrimas o fibroblastos de la piel y demostrar su deficiencia total o parcial. En mujeres medir la actividad enzimática de alfa-GAL no es suficiente, porque hay portadoras que tienen actividad normal. En los varones afectados los estudios genéticos para identificar la mutación del gen *GLA* son positivos en casi el 100% y éste es el método más fiable para el diagnóstico de mujeres portadoras. Se recomienda el asesoramiento genético a las personas afectadas y sus familias, ofreciendo además la posibilidad de diagnóstico prenatal temprano y también de diagnóstico genético preimplantacional si se conoce la mutación familiar en el gen *GLA*. Los estudios en gota de sangre seca en recién nacidos permiten identificar varones afectados al demostrar actividad reducida de alfa-GAL, seguida de la secuenciación del gen *GLA*. Es fundamental el estudio familiar para detección precoz de los casos y poder ofrecer precozmente el tratamiento adecuado.

Los síntomas que pueden sufrir los pacientes con EF a lo largo de su vida son muy variados, e incluyen: acroparestesias (dolor quemante especialmente en manos y pies), brotes de dolor osteoarticular intenso,



Figura 1. Depósito en enfermedad de Fabry: globotriaosilceramida

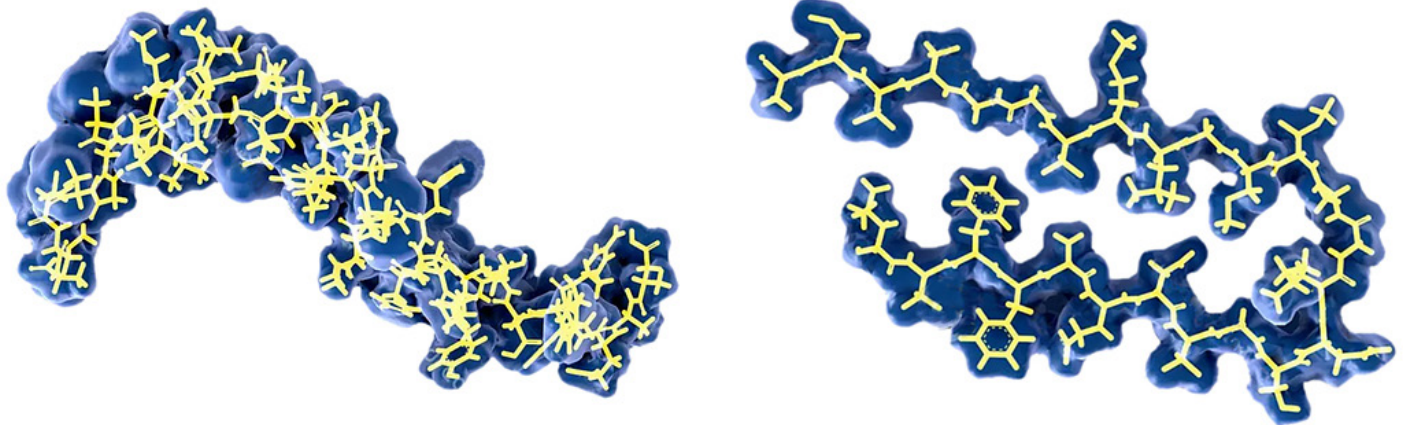


Figura 2. Depósito en amiloidosis: amiloide

síndrome del túnel carpiano bilateral, proteinuria con progresiva insuficiencia renal, insuficiencia cardíaca, alteraciones vasculares, neurológicas o digestivas (diarreas), hipohidrosis (sudoración disminuida), pérdida de audición y otras alteraciones como angioqueratomas (pequeñas manchas rojas oscuras en la piel más frecuentes entre el ombligo y las rodillas) u opacidades corneales (córnea verticillata) que pueden ser clave para la sospecha diagnóstica.

La EF tiene 2 formas de presentación, la clásica en varones con < 1% de actividad de enzima alfa-GAL, que ya desde niños o adolescentes presentan alguno o varios de los síntomas de esta enfermedad y la forma variante que es de aparición tardía, con actividad enzima alfa-GAL > 1% y con clínica más variable, diagnosticándose en pacientes de mediana edad o mayores cuya afectación puede limitarse a afectación renal (EF variante renal) o a afectación cardíaca (EF variante cardíaca), siendo la presentación tardía la más común en las mujeres portadoras afectadas.

Los pacientes con EF precisan un plan de tratamiento integral y multidisciplinar, en el que el tratamiento de reemplazo enzimático (TRE) es la piedra angular. La enzima sintética, producida con tecnología de ADN recombinante, se infunde por vía intravenosa. Actualmente hay dos formas de enzima disponibles en USA y Europa para tratamiento de la EF en niños y adultos: agalsidasa alfa (Replagal® de Takeda) y agalsidasa beta (Fabrazyme® de Sanofi). La TRE sustituye la enzima deficiente y reduce los glicoesfingolípidos (GL3) acumulados en las células del organismo, con lo que estabiliza, ralentiza y previene el deterioro orgánico, especialmente si se inicia el tratamiento antes de que se instaure el daño de los órganos; también mejora el dolor neuropático, la intolerancia al calor y otros signos y síntomas. Se recomienda el inicio de la TER en varones con manifestaciones clínicas a cualquier edad o antes de los 15 años si son asintomáticos, así como en mujeres portadoras que presenten signos o síntomas por la EF. En USA y Europa está aprobada la terapia oral con migalastat (Galafold® de Amicus Therapeutics) para tratamiento de EF en pacientes a partir de 16 años y con diagnóstico confirmado de ser portador de alguna de las mutaciones de la EF susceptibles de responder a este tratamiento (variantes detalladas en la ficha técnica del fármaco), que representan el 35-50% de la población actual con diagnóstico de EF. Migalastat es una chaperona farmacológica (pequeña molé-

cula que ayuda a las proteínas mutantes a adoptar la forma adecuada y realizar su correcta función) que puede unirse, estabilizar y mejorar la actividad enzimática residual de ciertas mutaciones.

Además del tratamiento específico, también requieren terapias complementarias para manejo de las alteraciones neurológicas, renales (incluso hemodiálisis o trasplante si precisa), cardíacas y otras que puedan aparecer.

El pronóstico de la EF ha mejorado últimamente por las mejoras en hemodiálisis, por el trasplante renal y fundamentalmente por el uso precoz de la TRE, que evita complicaciones a largo plazo si se inicia antes de que ocurra el daño orgánico.

La investigación sobre el tratamiento de la EF continúa y actualmente hay ensayos clínicos cuya información está disponible en la web <https://clinicaltrials.gov/>

Amiloidosis (8,9)

La amiloidosis es también una ER que incluye varios trastornos caracterizados por el depósito extracelular de fibrillas insolubles compuestas por proteínas de plegamiento anómalo agrupadas irregularmente que se acumulan en los órganos (figura 2), interfiriendo físicamente con su estructura y funcionamiento, provocando variados signos y síntomas y pudiendo llegar a causar insuficiencia de uno o varios órganos.

Según el tipo de amiloide, su causa y la extensión de su afectación se describen los diversos tipos de amiloidosis: amiloidosis localizada si sólo afecta a una zona concreta o amiloidosis sistémica si la afectación no es localizada. Los principales tipos de amiloidosis sistémicas son la amiloidosis AL o primaria o de cadenas ligeras, la amiloidosis AF o familiar o hereditaria o ATTR, la amiloidosis sistémica senil o ASS o ATTRwt (wild type) y la amiloidosis AA o secundaria.

La prevalencia de la amiloidosis en general es desconocida; la incidencia global estimada de la amiloidosis primaria es de 1/95.800, con predominio en varones; la prevalencia global media estimada de la amiloidosis familiar es de 1/450.000 (rango 1/120.000-830.000); la incidencia estimada de la amiloidosis secundaria es de 1-2/1.000.000, aunque se ha observado una tendencia decreciente (10).

La amiloidosis AL la origina el exceso de producción de una cadena ligera de inmunoglobulina monoclonal en pacientes con una

enfermedad clonal de células plasmática o linfoproliferativa de células B que se puede depositar en piel, grasa, sistema nervioso, corazón, tubo digestivo (incluso la lengua), riñones, médula ósea, hígado, bazo y vasos sanguíneos. En la médula ósea la infiltración por células plasmáticas será < 10% en la amiloidosis AL o ≥ 10% en el caso de la amiloidosis AL asociada a mieloma múltiple (MM), hasta un 20% de MM asocian amiloidosis AL.

La amiloidosis AF la causa la herencia de un gen mutado que codifica una proteína que produce el hígado con propensión al mal plegamiento, generalmente la transtiretina (ATTR); hay más de 130 mutaciones descritas del gen *TTR* (transtiretina) asociadas con amiloidosis. La penetrancia de la ATTR y su edad de aparición son muy variables, pero son constantes dentro de las familias y los grupos étnicos. La ATTR causa neuropatía sensitivo-motora periférica, alteraciones del sistema nervioso autónomo, insuficiencia renal crónica y miocardiopatía; el síndrome del túnel carpiano bilateral suele iniciarse años antes de la clínica neurológica. Cuando la miocardiopatía es la manifestación principal del depósito de TTR se llama miocardiopatía amiloide transtiretina.

La amiloidosis sistémica senil o ATTRwt se produce por la agregación y depósito de TTR de tipo salvaje (no mutado) y cursa principalmente con afectación cardíaca, por lo que cada vez se diagnostica más en el contexto del estudio de la miocardiopatía infiltrativa en pacientes de edad media o avanzada. El síndrome del túnel carpiano y otras alteraciones musculares pueden ocurrir varios años antes de que la miocardiopatía infiltrante de clínica. Aún son desconocidos los factores genéticos y epigenéticos que conducen a que se produzca la amiloidosis ATTRwt.

Como tanto la amiloidosis senil como la amiloidosis AL o la amiloidosis familiar pueden causar miocardiopatía y en los pacientes de edad avanzada es más frecuente la existencia de gammapatía monoclonal (GM) que puede producir una proteína amiloide, es necesario tipificar el tipo de amiloide para no realizar diagnósticos erróneos de amiloidosis AL, que podrían implicar el inicio inadecuado de poliquimioterapia, no indicada en amiloidosis senil ni en la familiar.

La amiloidosis AA o secundaria puede deberse a infecciones, procesos inflamatorios crónicos o a enfermedades malignas que propician que las citocinas inflamatorias

(IL-1, TNF, IL-6) sintetizadas en estos trastornos crónico o las sintetizadas de forma ectópica por células tumorales ocasionen la producción hepática aumentada del amiloide A sérico (SAA) cuyas fibrillas se agregan y se depositan produciendo la amiloidosis sistémica secundaria. Las infecciones que con mayor frecuencia la causan son: tuberculosis, bronquiectasias, osteomielitis y lepra; los trastornos inflamatorios incluyen artritis reumatoidea, artritis idiopática juvenil, enfermedad de Crohn, fiebre mediterránea familiar y enfermedad de Castleman. La afectación por amiloidosis secundaria predomina en riñones, bazo, hígado, glándulas suprarrenales y ganglios linfáticos; la afectación del corazón o del sistema nervioso ocurre de forma más tardía.

Las formas localizadas de amiloidosis generalmente se deben a la producción local de sustancia amiloide, siendo los lugares con más frecuencia afectados el sistema nervioso central (enfermedad de Alzheimer o angiopatía amiloide cerebrovascular), piel, vías aéreas superiores o inferiores, parénquima pulmonar, vejiga y uréteres, ojos y mamas. La amiloidosis localizada en el cerebro está causada predominantemente por depósito de proteína beta amiloide y fuera de este órgano suele causar el depósito de cadenas ligeras de inmunoglobulinas clonales.

La clínica de la amiloidosis sistémica varía en función de los órganos y tejidos en los que se deposite el amiloide. En riñón se deposita preferentemente en la membrana glomerular y causa proteinuria, incluso desarrollando síndrome nefrótico; el daño renal puede progresar hasta insuficiencia renal terminal. El depósito en el corazón origina miocardiopatía hipertrófica restrictiva, con disfunción diastólica que evoluciona a insuficiencia cardíaca, arritmia por alteraciones de la conducción cardíaca y con frecuencia aparece hipotensión arterial. El depósito en el hígado causa hepatomegalia y colestasis intrahepática (la ictericia es infrecuente), incluso hipertensión portal. La afectación gastrointestinal causa alteraciones en la motilidad, diarrea, malabsorción, hemorragia, cuadros pseudobstructivos y la macroglosia (lengua grande) puede verse en algunas amiloidosis primarias. También pueden afectarse las vías respiratorias (disnea, ronquera, sibilancias, hemoptisis y obstrucción), los pulmones (en especial la amiloidosis AL), el cerebro (más riesgo de hemorragia e ictus isquémico), al sistema nervioso periférico (parestias en dedos de pies y manos, frecuente en amiloidosis AL y en ATTR) o en tejidos blandos (síndrome del túnel carpiano bilateral, precede en el tiempo al fallo cardíaco que ocurre en la miocardiopatía de la amiloidosis senil). Otros signos de este depósito de amiloide pueden ser hematomas frecuentes (característicos alrededor de los ojos "ojos de mapache") por aumento de la fragilidad capilar.

El diagnóstico de amiloidosis exige demostrar por biopsia el depósito de sustancia fibrilar amiloide en al menos un órgano afectado, donde se detecta la proteína amiloide que muestra birrefringencia verde manzana con microscopía de luz polarizada tras la tinción con rojo Congo, posteriormente esta proteína amiloide ha de ser tipificada, utilizando técnicas bioquímicas e inmunohistológicas y se ha de evaluar la severidad de la afectación orgánica.

En general, el número de diagnósticos de amiloidosis está aumentando por la mejora en las técnicas analíticas e histológicas (pro-BNP, troponina ultrasensible, cromatografía, técnicas de inmunohistoquímica) y de imagen (ecocardiografía, resonancia magnética cardíaca, gammagrafía con diferentes marcadores) y porque cada vez se piensa más en que alguno de los diversos tipos de amiloidosis pueda ser la causa de cuadros inespecíficos de gravedad.

Además, si la sospecha es de amiloidosis primaria, hay que realizar estudio de proteínas en suero y en orina para buscar la existencia de una enfermedad clonal de células plasmáticas que produzca una gammapatía monoclonal. Se realizará: cuantificación de cadenas ligeras libres de inmunoglobulina en suero e inmunofijación en suero y orina junto a estudio de médula ósea con citometría de flujo o inmunohistoquímica para establecer y cuantificar el porcentaje de células plasmáticas y su clonalidad; si hay > 10% de células plasmáticas clonales habrá que descartar la existencia de un MM según los criterios habituales del IMWG.

El tratamiento de la amiloidosis contempla su tratamiento específico y el tratamiento de soporte dirigido a paliar la alteración funcional del órganos afectados y a mejorar la calidad de vida del paciente. Lo óptimo es realizarlo dentro de un equipo multidisciplinar que incluya control y tratamiento nefrológico, cardiológico, digestivo y neurológico y hematológico si se trata de amiloidosis AL. Como existen tratamientos específicos para la mayoría de los tipos de amiloidosis, es fundamental el diagnóstico correcto de la misma.

En la amiloidosis AL es necesario el inicio precoz de tratamiento antineoplásico contra las células plasmáticas clonales para preservar la función de los órganos y mejorar la supervivencia. La mayoría de los esquemas de tratamiento de la amiloidosis primaria se basan en los utilizados en el tratamiento del MM y actualmente incluyen daratumumab (anticuerpo monoclonal humanizado antiCD38) que ha supuesto un gran avance terapéutico. Así, la combinación de daratumumab, ciclofosfamida, bortezomib y dexametasona (e incluso junto a lenalidomida) en pacientes con amiloidosis AL recién diagnosticados ha mostrado buenos resultados, con una alta tasa de respuesta hematológica, que se pueden intensificar con autotrasplante de precursores hematológicos tras la quimioterapia, en pacientes en buenas condiciones físicas. En amiloidosis AL otros tratamientos como birtamimab (anticuerpo monoclonal que neutraliza la toxicidad de las cadenas ligeras) o CAEL-101 (anticuerpo monoclonal anti-amiloide) están en estudio.

En la amiloidosis ATTR se dispone de tratamientos eficaces que incluyen trasplante de hígado, fármacos estabilizadores del tetrámero (diflunisal y tafamidis) y fármacos silenciadores de genes (patisiran, inotersen y vutrisiran)

En el tratamiento de la amiloidosis ATTRwt se han utilizado también fármacos estabilizadores del tetrámero (tafamidis). En ATTRwt el trasplante de hígado no es eficaz porque la proteína amiloidogénica es una TTR estructuralmente normal.

Para la amiloidosis secundaria a la fiebre mediterránea familiar el tratamiento habitual es la colchicina oral. Para otros tipos de amiloidosis secundaria, el tratamiento es el

del control de la infección, de la enfermedad inflamatoria o del cáncer subyacente y también se puede usar colchicina o fármacos anti-IL1, anti-IL6 y anti-TNF para interrumpir la señalización de citocinas, disminuyendo el proceso inflamatorio que conduce a la producción hepática de AAS.

El pronóstico depende del tipo de amiloidosis, del órgano comprometido y del grado de compromiso. Actualmente con la atención apropiada y específica para la enfermedad, muchos pacientes tienen una excelente expectativa de vida. El peor pronóstico corresponde a aquellos con amiloidosis primaria y miocardiopatía avanzada, que pueden tener una mediana de supervivencia < 1 año. El pronóstico en la amiloidosis AA depende en gran medida de la eficacia del tratamiento de la enfermedad de base subyacente y suele ser bueno.

Como hemos visto, la clínica de la amiloidosis sistémica es bastante inespecífica, lo que con frecuencia demora el diagnóstico y el tratamiento, por lo que hay que plantear la posibilidad diagnóstica de amiloidosis ante pacientes con enfermedad multisistémica progresiva que afecta a corazón y/o riñón, en especial si cursa con componente monoclonal en suero. Las nuevas técnicas de imagen como la gammagrafía con diferentes marcadores y la resonancia magnética cardíaca, junto con la biopsia del órgano afecto son fundamentales para su diagnóstico.

Fabry y amiloidosis

Los avances de técnicas de imagen de diagnóstico cardiológico permiten la mejor identificación de algunas cardiopatías, entre ellas las miocardiopatías infiltrativas que causan hipertrofia. Estas miocardiopatías hipertróficas (MCH) son un grupo heterogéneo de trastornos caracterizados por aumento del espesor de la pared cardíaca junto a disfunción diastólica progresiva que causan insuficiencia cardíaca.

La MCH (11,12) es el trastorno cardíaco hereditario conocido más común, con una prevalencia de 1 caso/500 adultos, siendo causa importante de discapacidad y muerte a cualquier edad; en las fases más avanzadas de la enfermedad aparece la hipertrofia ventricular izquierda (HVI) que deriva en insuficiencia cardíaca y dilatación ventrículo-auricular. De causa heterogénea, las mutaciones en los genes sarcoméricos (*MYBPC3* y *MHY7*, mutados en el 80% de los casos genotipados) causan hasta en el 60% de los casos, otro 10-15% de las MCH pueden deberse a otras enfermedades no causadas por estas mutaciones sarcoméricas, de mucha menor frecuencia y capaces de reproducir el fenotipo de la MCH, entre ellas la EF y la amiloidosis (13). Las pruebas de diagnóstico específicas de cada enfermedad y las pruebas genéticas las diferencian de la MCH sarcomérica.

La EF es causa de MCH no sarcomérica y supone aproximadamente el 0,5-2% de los pacientes con MCH. En estudios de cohortes la prevalencia de EF entre los pacientes con HVI es mayor que entre población general (del 0,3-0,9% entre los pacientes con HVI) (7); estos datos hacen pensar que la EF está infradiagnosticada.

En estas miocardiopatías infiltrativas el diagnóstico por ecocardiografía convencional ha de complementarse con las nuevas técnicas de imagen como gammagrafía,

PET/TC y RM cardiaca que tienen un papel fundamental en el diagnóstico, evaluación clínica y seguimiento de la enfermedad sin la necesidad de emplear técnicas invasivas (3,4,13). En el PET/TC y RM cardiaca pueden mostrar alteraciones en fases precoces de la enfermedad, cuando aún los biomarcadores cardíacos (troponina y pro-BNP) son normales y no hay cambios morfológicos en ecocardiografía.

Aunque las historias naturales de la EF y de la amiloidosis son diferentes, ambas pueden ser causa de insuficiencia cardíaca con fracción de eyección conservada (especialmente en caso de amiloidosis) junto a afectación multiorgánica.

Como parece que tanto el número de casos de EF como de amiloidosis puede estar infraestimado, y dada la importancia del diagnóstico precoz para evitar que se produzca el daño orgánico por depósito, se han buscado “banderas rojas” que hagan pensar en la existencia de estas dos ER. Así, se debe sospechar EF en varones > 30-35 años y mujeres > 40-45 años con HVI inexplicable, incluso en ausencia de afectación renal, cerebrovascular o cutánea (12). Los signos cardiológicos que harían sospechar amiloidosis son ecocardiograma o RM cardiaca con signos de MCH junto a datos bioquímicos de alteración de las concentraciones y del cociente de cadenas ligeras libres con inmunofijación positiva en suero u orina (13). Si aparecen estas alteraciones, se debe realizar estudio para descartar amiloidosis AL, lo que puede requerir biopsia del órgano afecto que mostrará el depósito de amiloide. Si se confirma el diagnóstico de amiloidosis AL junto a la MCH, se deberá descartar la coexistencia con un MM con amiloidosis cardiaca.

Pero la EF y la amiloidosis no sólo pueden compartir síntomas y signos cardiológicos, también pueden tener semejante clínica de neuropatía periférica, alteraciones gastrointestinales con diarreas, síndrome del túnel carpiano bilateral y desarrollo de insuficiencia renal crónica que en población adulta. Tanto la amiloidosis como la EF también se incluyen como causas infrecuentes en el estudio de la proteinuria (14).

Como vemos, la amiloidosis y la EF comparten posibles signos y síntomas, por otro lado inespecíficos (13) (figura 3), lo que hace que ambos diagnósticos deban contemplarse ante pacientes adultos que presenten sintomatología inespecífica de entre la referida y con deterioro progresivo multiorgánico que curse con MCH, asocie o no proteinuria e insuficiencia renal.

Es conocido que algunas EDL como la enfermedad de Gaucher pueden presentar gammapatía monoclonal (GM) que puede cursar como gammapatía monoclonal de

significado incierto (GMSI), como MM o como amiloidosis AL; esta asociación también se ha descrito en la EF. Aunque el mecanismo subyacente a esta relación no está claro, se ha visto que la TRE en Gaucher estabiliza la evolución de dicha GM, lo que sugiere que la acumulación de lisoglucosilceramida (LGL1) podría ser esencial para el desarrollo de la gammapatía; esto también se ha sugerido respecto al acúmulo de GL3 y su relación con la GM en los casos de EF. Aunque el tipo de glicoesfingolípidos acumulado en Gaucher y en la EF son diferentes, la reacción inmune al acúmulo del glicoesfingolípido podría estar asociada con la gammapatía relacionada con estas EDL. Se ha visto que la ERT estabilizó los niveles séricos de GM en algunos casos de EDL, sin haber recibido terapia específica para la gammapatía. Estas observaciones sugieren que la inmunoglobulina monoclonal en pacientes con EDL podría ser reactiva contra el glicoesfingolípido específico y, por lo tanto, su reducción mediante TRE podría prevenir la aparición de la gammapatía monoclonal si se inicia precozmente, antes de que el glicoesfingolípido se acumule mucho (15).

Conclusiones

Tanto amiloidosis como EF son ER que actualmente se consideran dentro de las causas de miocardiopatía infiltrativa y de enfermedad renal crónica que cursa con proteinuria, en adultos de edad media o de edad avanzada. Además, tampoco hay que olvidar la muy infrecuente posibilidad de que ambos procesos (EF y amiloidosis) coincidan en un mismo paciente. Para incrementar la sospecha clínica y realizar un diagnóstico más precoz se han establecido unas “banderas rojas” que alerten para sospechar EF o amiloidosis, porque establecer un adecuado diagnóstico es imprescindible para que el paciente tenga la opción de recibir de forma lo más precoz posible el tratamiento específico de cada una de estas dos enfermedades, para mejorar su calidad de vida y pronóstico.

Bibliografía

- 1- Posada M, Martín-Arribas C, Ramírez A, Villaverde A, Abaitua I. Enfermedades raras. Concepto, epidemiología y situación actual en España Rare diseases. Concept, epidemiology and state of the question in Spain. An. Sist. Sanit. Navar. 2008; 31 (Supl. 2): 9-20.
- 2- Conoce más sobre las ER. FEDER. Disponible en: <https://www.enfermedades-raras.org/enfermedades-raras/conoce-mas-sobre-er>
- 3- Beirao I, Cabrita A, Torres M, Silva F, Aguiar P, Gomes AM. Anderson-Fabry Disease: A Rare Disease That Mimics Com-

mon Cardiac, Neurological, Renal, and Other Disorders: Approach for the Differential Diagnosis and Follow-Up. Journal of Inborn Errors of Metabolism & Screening. 2016;4: 1-11.

4- Geenty P. Echocardiography in Infiltrative Cardiomyopathy: Amyloidosis and Fabry Disease. Tesis Doctoral. Faculty of Medicine and Health, Westmead Clinical School. The University of Sydney. 2021. Disponible en: <https://hdl.handle.net/2123/29152>

5- Enfermedades hereditarias frecuentes de depósito lisosomal. Disponible en: <https://bestpractice.bmj.com/topics/es-es/1021>

6- Enfermedad de Fabry. Disponible en: <https://rarediseases.info.nih.gov/espanol/11877/enfermedad-de-fabry>

7- Averbuch T, White JA, Fine NM. Anderson-Fabry disease cardiomyopathy: an update on epidemiology, diagnostic approach, management and monitoring strategies. Front. Cardiovasc. Med. 10:1152568. doi: 10.3389/fcvm.2023.1152568

8- Amiloidosis. Descripción general. Disponible en: [https://www.mayoclinic.org/es/diseases-conditions/amyloidosis/symptoms-causes/syc-](https://www.mayoclinic.org/es/diseases-conditions/amyloidosis/symptoms-causes/syc-20353178)

20353178

9- Berk JL, Sanchorawala V. Amiloidosis. Manual MSD (2023). Disponible en: <https://www.msmanuals.com/es/professional/trastornos-endocrinal/C3%B3glicos-y-metab%C3%B3licos/amiloidosis/amiloidosis#>

10- Amiloidosis. Disponible en: https://www.orphana.net/consorcio/cgi-bin/OC_Exp.php?In-g=ES&Expert=69

11- Pasipoularides A. Retos y controversias en miocardiopatía hipertrófica: visión integral desde la investigación básica, clínica y genética. Rev Esp Cardiol. 2018;71:146-5410.1016/j.recesp.2017.05.026

12- Limongelli G, Masarone D, Verrengia M, Gravino R, Salerno G, Castelletti S, et al. Diagnostic clues for the diagnosis of nonsarcomeric hypertrophic cardiomyopathy (phenocopies): Amyloidosis, fabry disease, and mitochondrial disease. J Cardiovasc Echography 2018;28:120-3.

13- Gosciniak P, Baron T, Milczarek S, Kostkiewicz M, Machalinski B. Updates for the diagnosis and management of cardiac amyloidosis. Adv Clin Exp Med. 2022;31:175-185.

14- Waheed S. Evaluación de la proteinuria. BMJ Best Practice. Disponible en: <https://bestpractice.bmj.com/topics/es-es/875>

15- Taguchi K, Moriyama A, Kodama G, Nakayama Y, Fukami K. The Coexistence of Multiple Myeloma-associated Amyloid Light-chain Amyloidosis and Fabry Disease in a Hemodialysis Patient. Intern Med. 2017; 56: 841-846. DOI: 10.2169/internalmedicine.56.7623

SIMILITUDES CLÍNICAS FABRY Y AMILOIDOSIS
• Miocardiopatía infiltrativa, miocardiopatía hipertrófica con disfunción diastólica
• Proteinuria, insuficiencia renal progresiva
• Neuropatía periférica
• Diarreas crónicas
• Síndrome del túnel carpiano bilateral

Figura 3. Similitudes clínicas de EF y amiloidosis sistémica

NUEVOS VIENTOS, NUEVAS OPORTUNIDADES: DESARROLLANDO UN PROGRAMA PARA ENFERMEDAD DE GAUCHER EN UN PAÍS CON RECURSOS LIMITADOS

Alfredo Wong Chang

Hematólogo. Hospital Nacional Edgardo Rebagliati Martín. Essalud. Lima. Perú
alfredog.wong@gmail.com

Resumen

En el Perú, así como en otras partes del mundo, la pandemia por COVID-19 forzó a un cambio generacional brusco en la población médica. Afrontando a hematólogos sin experiencia previa al manejo de pacientes con Enfermedad de Gaucher. Esta necesidad permitió el desarrollo de un programa de novo que priorizara la capacitación, así como la estandarización de conceptos y protocolos de manejo. Este programa tomaba 3 pautas que debían ser replicadas. Primero definir el estatus basal de los pacientes mediante la valoración de objetivos terapéuticos, seguimiento con Lyso GB1 y Resonancia Magnética Corporal total, segundo implementar el desarrollo de un programa de fármaco vigilancia y por último la estandarización de reportes de seguimiento e informes de imágenes. La recopilación de toda esta información ha permitido sentar las bases adecuadas para desarrollar a futuro otros puntos importantes como son la identificación de mutación genéticas más comunes y la detección de portadores. Demostrando que es posible desarrollar un programa que impacta favorablemente en la vida de los paciente, aun en un país de recursos limitados.

Palabras clave: enfermedad de Gucher, protocolo diagnóstico, protocolo tratamiento, informes de imágenes

New winds, New Chances:

Developing a Gaucher Disease Program in a Limited-Resource Country

Abstract

In Peru, as well as in other parts of the world, the COVID-19 pandemic forced a sudden generational change in the medical population. Facing Hematologists with no prior experience managing patients with Gaucher Disease. This need allowed the development of a de novo program that prioritized training, as well as the standardization of management concepts and protocols. This program took 3 main ideas that had to be replicated. First, define the baseline status of patients through the assessment of therapeutic objectives, follow-up with Lyso GB1 and Total Body Magnetic Resonance. Second, implement the development of a drug surveillance program and finally the standardization of follow-up reports and image reports. The compilation of all this information allowed us to lay the appropriate foundations to develop other important points in the future, such as the identification of the genetic mutations and the detection of carriers. Demonstrating that it is possible to

develop a program that favorably impacts the lives of patients, even in a country with limited resources.

Key words: Gucher's disease, diagnostic protocol, treatment protocol, imaging reports

Introducción

Como en todas partes del mundo, la pandemia por COVID 19 golpeo fuertemente el sistema de salud en el Perú, llegando a catalogarlo como el país con la mayor tasa de mortalidad per cápita a nivel global (1). La pérdida súbita de personal médico de mayor edad por mortalidad, aislamiento por comorbilidades o trabajo remoto, obligó a una generación joven de hematólogos asumir pacientes con diversas patologías que no manejaban en su día a día y esto no fue ajeno para los pacientes con Enfermedad de Gaucher. La falta de expertise en afrontar una patología compleja como la Enfermedad de Gaucher, generaba un problema serio al sistema de salud, pero también representaba una gran oportunidad para desarrollar un programa de novo que permitiera estandarizar conceptos tanto de diagnóstico como manejo y seguimiento. Es así como nace el primer programa para Enfermedad de Gaucher en el Perú con tres pilares primordiales

1) Impulsar la capacitación en Enfermedad de Gaucher a la nueva generación de hematólogos

2) Desarrollar un Grupo de estudio que permitiera estandarizar conceptos y protocolos de manejo, así como estimular la comunicación entre colegas a nivel nacional

3) Finalmente, la recopilación de datos nacionales para uso futuro.

"No hay viento favorable para un barco sin rumbo" dice el dicho. La propuesta de estos objetivos nos permitió trazar estrategias concretas y darle cuerpo a este nuevo programa. Transformar aquellos vientos adversos en oportunidades, nos ha permitido consolidar los resultados que se mostraron a continuación.

Enfermedad de Gaucher en el Perú

Para el año 2023 la población en el Perú alcanzaba los 33 millones de habitantes (2). Si hacemos un cálculo rápido y tomamos como referencia que la incidencia para la enfermedad de Gaucher es de 1:100 000 habitantes (3), deberíamos tener al menos 330 casos registrados. Como en la mayoría de los países de Latinoamérica, el número de pacientes con enfermedad de Gaucher se encuentra subdiagnosticado (4), y el Perú

no es la excepción, con solo 35 casos reportados. De estos 35 casos solo 25 reciben tratamiento de forma continua, distribuidos en 3 ciudades principales: Lima (Capital), Arequipa (Sur), Chiclayo (Norte) (Gráfico N°1). Esto se debe a que en estas ciudades se encuentran hospitales de alta complejidad. Acotar además que no se tiene implementado el tratamiento domiciliario.

El sistema de salud en el Perú es fraccionado, teniendo al Ministerio de Salud o SIS que corresponde a casi el 63% de la población, ESSALUD o Seguridad Social que representa el 30% de la población, las fuerzas armadas el 2%, privados 3% y aquellos que no poseen ningún seguro 2%.

Pese a que se cuenta con normativa que prioriza la atención y tratamiento de pacientes con enfermedades raras de forma universal independientemente de la cobertura, en el Perú solo reciben tratamiento de reemplazo enzimático (TRE) aquellos pacientes que cuentan con ESSALUD (Seguridad Social) con solo algunas excepciones en el MINSA y Fuerzas Armadas. Cabe mencionar además que la TRE solo esta aprobada para pacientes con diagnóstico de Gaucher tipo I.

El primer paciente tratado con TRE en el Perú se realizó en el año 1994 gracias a un estudio de investigación, posteriormente en el 2011 se inició el tratamiento con Imiglucerasa (Cerezyme®) y desde octubre del 2020 con Imiglucerasa (Abcertin®). A nivel nacional en la actualidad solo se cuenta con acceso a Imiglucerasa.



Figura N° 1. Distribución Geográfica de acceso a tratamiento para Enfermedad de Gaucher

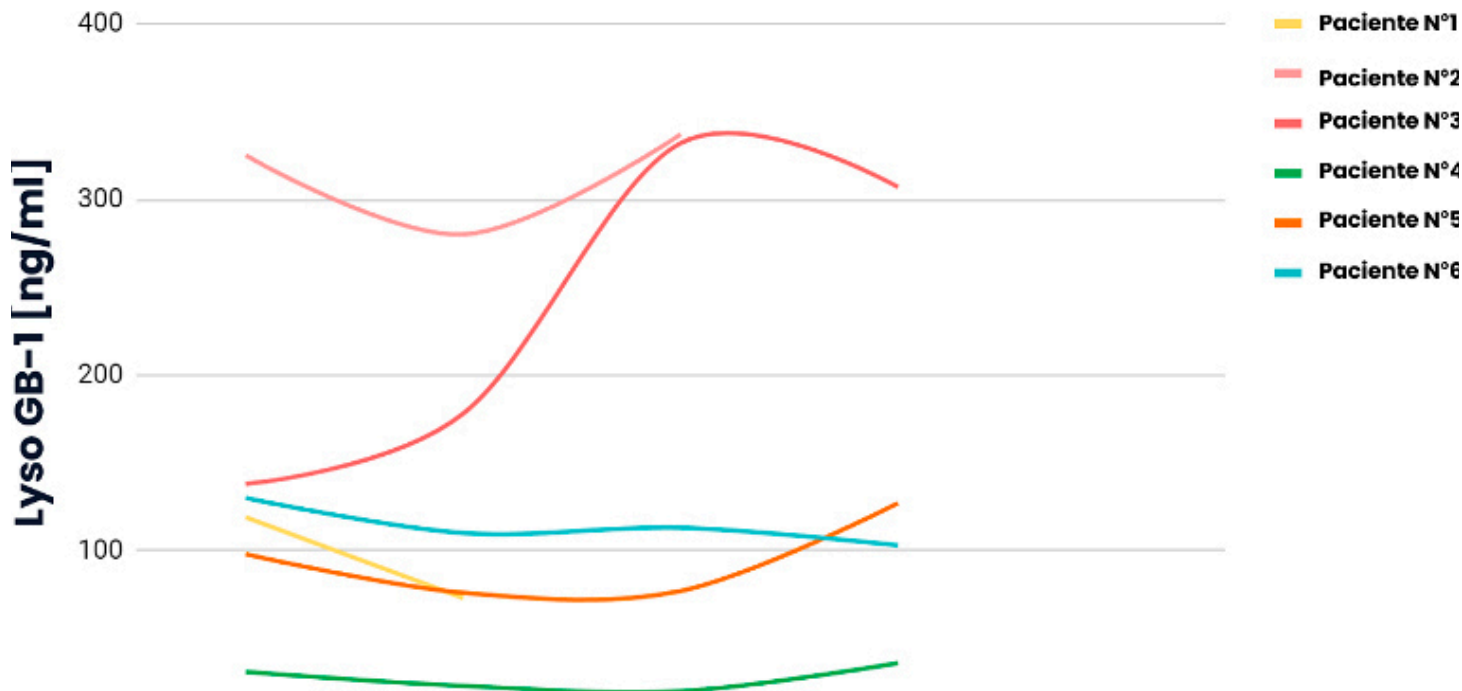


Figura N° 2. Seguimiento de Lyso GB-1 [ng/ml] de 6 Pacientes

Modelo de Reporte de Seguimiento

Nombre del Paciente: **Fecha del Reporte:** 31/08/2023
Código **Fecha de Nacimiento:** 08/02/1999
Región de residencia: Chimbote/Ancash
Médico Tratante: Dr. Alfredo Wong
Institución: EsSalud – HOSPITAL NACIONAL EDGARDO REBAGLIATI MARTINS
Fecha de inicio TRE con Abcertin: 08/02/1921
Fecha de ingreso al PSP T-cuido: 25/11/2020
Dosis prescrita: 59UI x kg
Peso actual: 68kg **N° viales por infusión:** 20 viales / Imiglucerasa 200UI
 10 viales / Imiglucerasa 400UI
Última infusión realizada: 28/08/2023

ADHERENCIA AL TRATAMIENTO / CUMPLIMIENTO AL TRATAMIENTO

Proyectado y Real. Porcentaje de Adherencia al tratamiento al 01/02/2023-al 31/08/2023

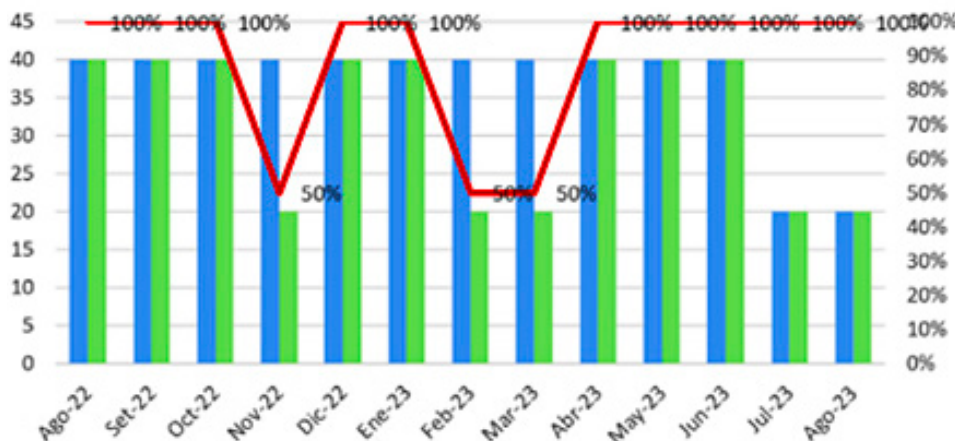


Figura N° 4. Modelo de Reporte de Seguimiento de Paciente

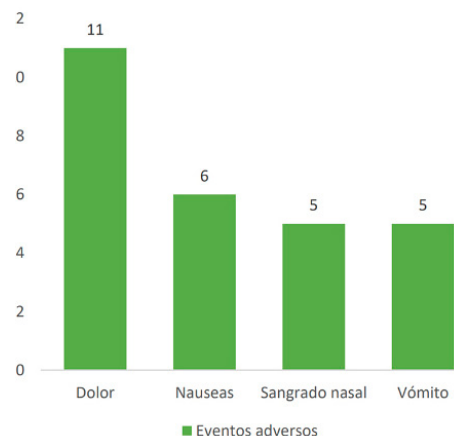


Figura N° 3. Reporte de Eventos Adversos más comunes

Estrategias del Programa de Gaucher

Las coordinaciones del programa iniciaron a finales del 2020 priorizando dos líneas. Primero, el desarrollo de un programa de capacitación continuo sobre la Enfermedad de Gaucher y el segundo enfocado netamente en el manejo de los pacientes ya diagnosticados. Para esto se tomaron las siguientes pautas a replicar:

1. Definir el Estatus Basal de los pacientes
2. Desarrollar un programa de farmacovigilancia para el reporte de efectos adversos
3. Estandarizar reportes

Para la revisión del Estatus basal de los pacientes se evaluó la respuesta mediante objetivos terapéuticos (5), asegurándonos que se cumpla el tratamiento a 60UI/Kg una vez cada 2 semanas, y definiendo que se utilizaría al Lyso GB1 como biomarcador de seguimiento cada 6 meses (Grafico N°2). Ante la ausencia de laboratorios locales que pudieran procesar las muestras, se optó por realizarlas en el extranjero a cargo de la industria. Y, por último, al uso de la Resonancia Corporal total como estudio de imágenes de elección de forma anual.



En cuanto al programa de farmacovigilancia, este sería realizado por un agente externo que registraría los eventos adversos antes durante y después de las infusiones reportadas en perspectiva del paciente, así como el reporte de adherencia al tratamiento y programación de estudios (Gráfico N°3).

Y finalmente la estandarización de reportes de evaluación periódica para que incluya Peso, Talla, Fecha de diagnóstico e inicio de TRE, fechas de las últimas infusiones y resultados de Hemograma, Lyso GB1, RM Corporal Total, Cuestionario SF36 y reporte de Densitometría ósea. (Gráfico N°4). En cuanto al reporte de RM Corporal total esta debía incluir como mínimo la volumetría de hígado y bazo además del score Bone-Marrow-Burden (BMB) y la comparación con lesiones previas.

En estos 3 años de trabajo el enrolamiento de paciente al programa ha sido de forma progresiva, contando a la fecha con 23 pacientes.

Perspectivas actuales y Futuras para el Programa

Luego de estandarizar el manejo y los reportes de los pacientes durante los primeros años, este 2023 nos hemos avocado principalmente a reforzar las pautas para diagnóstico y situaciones especiales, esperando continuar con las capacitaciones en los

años venideros. Gracias al apoyo de otros colegas que se han ido sumando a esta iniciativa, se ha logrado formar un capítulo de estudio dentro de la sociedad Peruana de Hematología, lo que nos permitirá generar un registro formal para la investigación futura de la enfermedad de Gaucher en el Perú. Ya habiendo sentado unas bases sólidas de información, se está planeando como siguiente paso iniciar con los estudios genéticos de los pacientes, así como la identificación de mutaciones más comunes en la población peruana, la valoración de portadores y familiares directos. Esto demuestra que es posible desarrollar un programa replicable para otras enfermedades raras y que impacta en los pacientes, aun en un país con recursos limitados. Sólo nos queda seguir aprovechando estos nuevos vientos en pro de una población tan vulnerable, como son los pacientes con enfermedad de Gaucher.

Referencias

- Schwab A, Seas C. The COVID-19 Pandemic in Peru: What Went Wrong?. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 2021;104(4):1176-1178. doi:10.4269/ajtmh.20-1323
- Instituto Nacional de Estadísticas e Informática. Nota de Prensa N°104. 10 Julio 2023. Lima- Peru

- Castillon G, Chang SC, Moride Y. Global Incidence and Prevalence of Gaucher Disease: A Targeted Literature Review. *J Clin Med*. 2022 Dec 22;12(1):85. doi: 10.3390/jcm12010085. PMID: 36614898; PMCID: PMC9821068.

- Drellichman, Guillermo, Linares, Adriana, Villalobos, Jacobo, Cabello, Juan Francisco, Kerstenetzky, Marcelo, Kohan, Regina M., & Martins, Ana María. (2012). Enfermedad de Gaucher en Latinoamérica: Un informe del Registro Internacional y del Grupo Latinoamericano para la Enfermedad de Gaucher. *Medicina (Buenos Aires)*, 72(4), 273-282

- Biegstraaten M, Cox TM, Belmatoug N, Berger MG, Collin-Histed T, Vom Dahl S, Di Rocco M, Fraga C, Giona F, Giraldo P, Hasanhodzic M, Hughes DA, Iversen PO, Kiewiet AI, Lukina E, Machaczka M, Marinakis T, Mengel E, Pastores GM, Plöckinger U, Rosenbaum H, Serratrice C, Symeonidis A, Szer J, Timmerman J, Tytki-Szymańska A, Weisz Hubshman M, Zafeiriou DI, Zimran A, Hollak CEM. Management goals for type 1 Gaucher disease: An expert consensus document from the European working group on Gaucher disease. *Blood Cells Mol Dis*. 2018 Feb;68:203-208. doi: 10.1016/j.bcmd.2016.10.008. Epub 2016 Oct 24. PMID: 28274788.

LO MEJOR DEL WORLD SYMPOSIUM 2024

Comité editorial de en-LISOS



Más de 1800 participantes. Mas de 400 comunicaciones. 10 Premios WORLDSymposium para jóvenes investigadores.

WORLDSymposium Young Investigator Awards

Se requiere integridad en CTSD del retículo endoplásmico para CLN6.

Yuki Shiro. Tokushima University, Tokushima. Japan

Las enfermedades neurodegenerativas se caracterizan por la acumulación aberrante de agregados proteicos aberrantes.

Es fundamental identificar los componentes clave del sistema de mantenimiento de la homeostasis proteica y dilucidar las bases moleculares de la protección contra la agregación proteica. El grupo de la Universidad de Tokushima ha demostrado previamente que la aBCristaline (aBC) anclada a la membrana del retículo endoplásmico evita la agregación del mutante R120G de la aBC. Este hecho implica que algunas proteínas situadas en la membrana sean capaces potencialmente de prevenir la agregación de proteínas. Han aislado las proteínas CLN6 y CTSD como aglutinante de aBC y las dos proteínas inhiben la agregación de CLN6. El estudio ha explorado la actividad de antiagregación de CTSD al inactivar CLN6 con la mutación A58V CTSD. Demuestran que pro-CTSD previene la formación de agregados a través de la coordinación con CLN6 destacando las propiedades funcionales de CTSD y su contribución al mantenimiento de la homeostasis proteica.

El tratamiento con Losartan en ratones MPS1 tiene efectos beneficiosos sobre las vías de activación y la estructura aórtica.

Esteban Alberto Gonzalez. Universidade Federal do Rio Grande do Sul Porto Alegre. Brazil

La MPS tipo 1 es la enfermedad de depósito lisosomal causada por la deficiencia en alfa-L-iduronidasa provocando el acúmulo de glicosaminoglicanos. La dilatación de aorta y las complicaciones cardiovasculares son

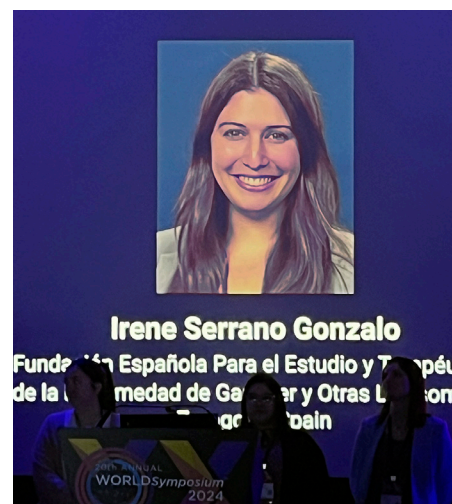
frecuentes. El grupo de la Universidad Federal de Río Grande ha demostrado que la administración de Losartan al ratón MPS1 produce reducción del diámetro aórtico y mejoría de las alteraciones cardíacas. El estudio se ha realizado en 6 ratones, 2 wild type, 2 MPS1 no tratados y 2 MPS1 tratados con Losartan a dosis de 0,6 g/L durante 2 meses. El estudio inmunohistoquímico de las aortas demostró incremento de las roturas de elastina en los ratones MPS1 no tratados y aumento de expresión de pSTAT3 y pERK1/2 junto con reducción de pSMAD2/3, mientras que el número de roturas de elastina era normal en los tratados. La expresión del mRNA de TGF- β aparecía elevada en comparación con los ratones WT. Losartan reduce pSTAT3 e incrementa pSMAD2/3. El estudio apoya la posible eficacia de Losartan en el tratamiento de MPS1 y ya se está diseñando un ensayo clínico en estos pacientes.

¿Pueden predecir los miRNA la gravedad de la afectación ósea en la enfermedad de Gaucher?

Irene Serrano Gonzalo. Fundación Española para el Estudio y Terapéutica de la Enfermedad de Gaucher y otras Lisosomales. (FEETEG). Zaragoza. España

Las manifestaciones óseas son una de las complicaciones más prevalentes e invalidantes en pacientes con enfermedad de Gaucher (EG). Las alteraciones óseas se evalúan mediante técnicas de imagen (RM, DXA) utilizando diferentes puntuaciones para valorar su gravedad. Sin embargo, no existen biomarcadores que permitan predecir estas manifestaciones ni sus complicaciones. Se han identificado algunos miARN que se han relacionado con enfermedades óseas.

El objetivo de este estudio es identificar un perfil de expresión de miRNA a partir de exosomas plasmáticos y asociarlo con la



Investigadora predoctoral de FEETEG en la presentación del trabajo premiado en WORLD. San Diego. US. 6 Febrero 2024

gravedad de la afectación ósea en pacientes con EG. Se han incluido 60 pacientes al diagnóstico o no tratados, clasificados en 3 grupos en función de su S-MRI: con enfermedad leve (MiBD; S-MRI <5), enfermedad moderada (MoBD; S-MRI: 5-11) o grave (SBD; S- RM>11). Además, se ha estudiado a 60 pacientes con EG no tratados y con diferentes grados de pérdida de densidad mineral ósea, clasificados mediante DXA en tres grupos: grupo normal, osteopenia y osteoporosis. Se aplicó tecnología NGS para determinar la expresión de miRNA en los exosomas. Al comparar entre grupos se encontraron 12 miRNA expresados diferencialmente. hsa-miR-184 se encuentra expresado diferencialmente en los grupos MoDB y SBD, validado mediante ddPCR y se ha observado que su expresión disminuye significativamente al aumentar la gravedad ósea, otros de los miRNA detectados muestran diferentes grados de expresión.

Terapia génica lentiviral ex vivo en Mucopolisacaridosis tipo IVA

Betul Celi. University of Delaware. Wilmington, DE. United States

La mucopolisacaridosis IVA (MPS IVA) esta provocada por variantes en el gen de la N-acetilgalactosamina-6-sulfato-sulfatasa (GALNS). La deficiencia de GALNS produce la acumulación de glucosaminoglicanos en diferentes tejidos como válvulas cardíacas, cartílago, huesos provocando una displasia esquelética progresiva. No hay un tratamiento eficaz para evitar la displasia esquelética.

Bajo la hipótesis de que la aplicación de terapia génica ex vivo de células hematopoyéticas con un vector lentiviral conteniendo el gen *GALNS* puede producir niveles suprafisiológicos de GALNS. Se obtuvieron precursores hematopoyéticos de ratones donantes que se transdujeron con CBh- ó COL2A1-hGALNS LVs. A los ratones knockout MPSIVA recién nacidos los acondicionaron con Busulfan y les administraron los precursores hematopoyéticos transducidos, realizando un seguimiento de 16 semanas. Se detectó la actividad enzimática mas elevada en hígado y médula ósea. La inmunohistoquímica confirmó la expresión de GALNS en hígado y tibia y la microCT mostro mejora de la morfología con ambos vectores y una corrección completa de las lesiones cardíacas. Estos datos apoyan esta línea de tratamiento en pacientes.

Terapia génica ex vivo simple vs transducción dual en deficiencia múltiple de sulfatasas.

Vi Pham. University of Pennsylvania. Philadelphia, PA. United States

La deficiencia múltiple de sulfatasas es una enfermedad ultrarara de depósito lisosomal caracterizada por la deficiencia funcional de todas las sulfatasas. Esta causada por variantes en el gen *SUMF1* que codifica a un factor modificador que activa a 17 sulfatasas en la vía metabólica. Los pacientes presentan manifestaciones clínicas combinadas de mucopolisacaridosis y leucodistrofia metacromática. Actualmente no existe ningún tratamiento para esta entidad. El grupo de la Universidad de Pennsylvania ha diseñado vectores lentivirales que codifican a *SUMF1* y a otra sulfatasa muy implicada en la vía ARSA, la terapia génica ex vivo con ARSA esta autorizada por la EMA. In vitro los fibroblastos de los pacientes transducidos con los vectores lentivirales mostraron mejoría bioquímica y fenotípica incluyendo incremento de actividad sulfatasas y reducción de acúmulo de glicosaminoglicanos. In vivo, en ratones ambos vectores demostraron eficacia en el rescate del fenotipo bioquímico y del comportamiento tras la terapia génica ex vivo. Para aumentar mas los resultados se co-transdujeron fibroblastos de pacientes afectados con ambos vectores conteniendo *SUMF1* y ARSA comprobando que la expresión conjunta de ambos mejora el rescate bioquímico in vitro.

Células madre hematopoyéticas autólogas editadas con enfoque curativo para la enfermedad de Gaucher tipo 1

Luisa Pimentel Vera. Stanford University. Stanford, CA. United States

La enfermedad de Gaucher producida por el déficit de la enzima glucocerebrosidasa ácida conduce a la acumulación de glucolípidos en diferentes tejidos, fundamentalmente en macrófagos. Las manifestaciones clínicas son muy variables. El tratamiento actual autorizado son la terapia de reemplazo enzimático y el tratamiento por reducción de sustrato. Sin embargo ambos tratamientos se han de mantener de por vida. El trasplante de células hematopoyéticas se utilizó anteriormente como terapia única, sin embargo la búsqueda de donante y las complicaciones inmunológicas limitan el procedimiento.

Mediante técnica CRISPR/Cas9 el grupo de la Universidad de Stanford editan células hematopoyéticas dirigidas hacia la línea monocito-macrófago. Para demostrar la eficacia de estas células se diseñó un modelo de ratón con amplias manifestaciones hematológicas, óseas y viscerales. La administración de las propias células madre editadas resuelve las manifestaciones clínicas de la enfermedad. Con otros experimentos de trasplante autólogo con las células hematopoyéticas editadas permiten establecer un umbral en el que el nivel de actividad betaglucocerebrosidasa puede normalizar los parámetros de la enfermedad y evitar acúmulo posterior establecen que el 10% de la actividad enzimática normal es suficiente.

Desarrollo clínico de células madre hematopoyéticas autólogas editadas por el genoma para el tratamiento de la mucopolisacaridosis tipo 1

Edina Poletto. Stanford University. Stanford, CA. United States

La mucopolisacaridosis tipo 1 (MPS1) es una enfermedad de depósito lisosomal sin tratamiento curativo. En el grupo de la Universidad de Stanford se ha desarrollado una plataforma de edición del genoma para la producción de enzimas lisosomales en células madre hematopoyéticas. El sistema consiste en un complejo de ribonucleoproteínas sgRNA/Cas9 aplicado por electroporación asociada a una plantilla de reparación utilizando AAV6. Esta plataforma se ha aplicado con éxito a ratones MPS1 obteniendo corrección bioquímica, fenotípica e incluso cerebral. A partir de estos conocimientos se ha emprendido la edición de células madre hematopoyéticas utilizando desde 1.000 a 10.000 genomas vectoriales por célula con una recuperación celular final del 97% ± 27 y la actividad IDUA que promedia un 2676% mas que el control. Los ensayos de control de calidad se optimizaron para preservar el producto final y garantizar la dosis máxima de células para la aplicación clínica. Con esta técnica consiguen reducir el número de células efectivas de 12 a 6 millones manteniendo su integridad. Demostrando la viabilidad del procedimiento de fabricación que allana el camino para el desarrollo de ensayos clínicos y terapias mas efectivas no solamente aplicables a MPS1.

Desarrollo y aplicación de una técnica rápida de detección de anticuerpos en pacientes con enfermedad de Fabry en tratamiento de reemplazo enzimático.

Tomas Baldwin. University College London. London. United Kingdom

La enfermedad de Fabry, enfermedad de depósito lisosomal provocada por la deficiencia de alfa-galactosidasa A cuya herencia esta ligada al cromosoma X. La aplicación de enzimas recombinantes sustitutivas ha mejorado la calidad y expectativa de vida de los pacientes. Sin embargo, hasta el 40% de los pacientes varones desarrollan anticuerpos anti-enzima (ADA) lo que puede limitar la eficacia. Las pruebas de detección no están muy disponibles y son de lenta ejecución. En este estudio el grupo de la Universidad de Londres ha desarrollado una técnica rápida de "cebo y captura" seguida de una detección proteómica específica de todas las proteínas que se unen a la ERT. En 10 minutos se puede cuantificar el complejo de inmunoproteínas reactivas (IgG1-4, IgA1-2, IgE, IgM, Complemento C3-9), utilizando 15 mL de suero del paciente. Se ha aplicado a una serie de 48 mujeres y 51 varones en tratamiento, el 17% de las mujeres y el 25% de los varones presentaban positividad para ADA. IgG4 ha sido la inmunoglobulina mas prevalente en hombres y correlaciona con inhibición y con los niveles de Liso Gb3. El complemento también esta involucrado en el 50% de los hombres y el 25% de las mujeres. En algunos pacientes solamente se detecta complemento que correlaciona con niveles elevados de liso Gb3 e inhibición de la actividad entre 4-49%. Los ADA en enfermedad de Fabry son complejos con varias inmunoproteínas involucradas que potencialmente inhiben la eficacia del tratamiento.

Los antuerpos IgG anti-IDUA alteran la cortical ósea de los ratones MPS1 tratados con terapia de reemplazo enzimático.

Sarah Hurt. Washington University. Saint Louis, MO. United States

La MPS1 es una enfermedad de depósito lisosomal causado por variantes genéticas en el gen de la alfa-L-iduronidasa (IDUA). El fracaso de la ERT en el tratamiento de la enfermedad esquelética puede deberse al desarrollo de anticuerpos anti-IDUA. Anteriormente se ha demostrado que estos anticuerpos alteran la distribución tisular de la ERT en modelos animales. Para demostrar que los anticuerpos anti-IDUA reducen la eficacia del ERT para la enfermedad esquelética en MPS1, el grupo de la Universidad de Washington inmunizaron conejos contra IDUA, confirmando la presencia de anticuerpos IgG anti-IDUA en suero, y demostrando que estos impedían la absorción del ERT en fibroblastos MPS1.

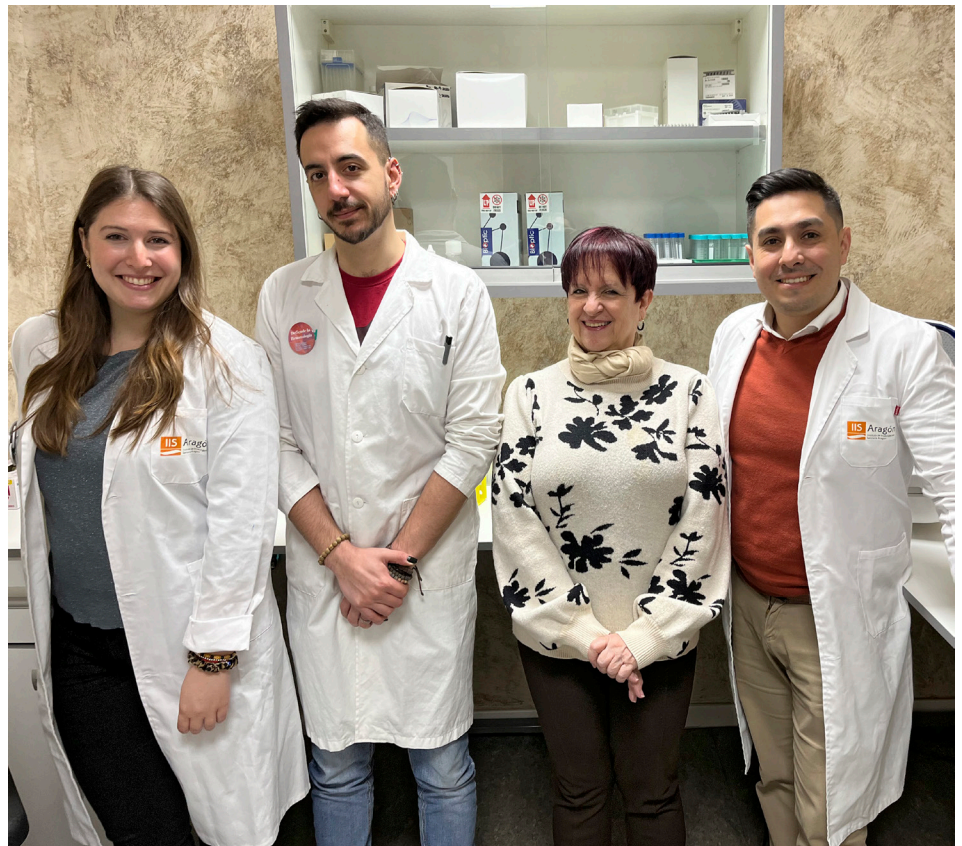
En dos cohortes de ratones MPS1 en tratamiento con ERT en dosis IV semanales, algunos ratones también recibían inyecciones intraperitoneales de suero de conejos inmunizados con IgG anti IDUA para imitar los anticuerpos desarrollados por los pacientes. Los controles fueron ratones MPS en tratamiento y ratones portadores normales. En la primera cohorte de ratones MPS1 en tratamiento de reemplazo enzimático e IgG a las 6 semanas mostraban menos actividad IDUA en corazón, bazo y riñón en comparación con los ratones en tratamiento sin asociar IgG. En la cohorte de ratones tratados durante 20 semanas con ERT+IgG tenían menos actividad IDUA en corazón y mayor actividad beta-hexosaminidasa (biomarcador de almacenamiento) en pulmón y riñón que los ratones solamente tratados con ERT. Por el

contrario, los ratones sometidos a terapia inmunosupresora para reducir la respuesta inmune humoral contra la ERT, mejoraría la densidad mineral ósea.

Análisis en dos fases de la respuesta de anticuerpos específicos frente a cerliponasa en pacientes con CLN2.

Lena Marie Westermann. University Medical Center Hamburg-Eppendorf. Hamburg. Germany

La lipofuscinosis ceroide neuronal tipo 2 (CLN2), enfermedad de depósito lisosomal neurodegenerativa causada por variantes en el gen *TPP1* que codifica la enzima lisosomal tripeptidil peptidasa 1 (*TPP1*). Los niños desarrollan los síntomas clínicos entre los 1,5-4 años incluyendo convulsiones, deterioro psicomotor y pérdida de visión. La terapia de remplazo enzimático intraventricular con *TPP1* recombinante es el único tratamiento aprobado que ha demostrado la ralentización de la pérdida de función motora y lenguaje. Como en otras ERT la reacción inmune a la enzima y el riesgo de producción de anticuerpos específicos produce una pérdida de eficacia del fármaco. El objetivo del estudio realizado en el Centro Médico Eppendorf de Hamburgo, fue analizar la respuesta de anticuerpos específicos en los biofluidos de los pacientes CLN2 que reciben ICV-ERT como tratamiento estándar. Para ello desarrollan un estudio de dos fases para detectar de forma sensible células HEK293TGPI-TPP1 por citometría de flujo, seguido de enzimoanálisis de adsorción (ELISA) para cuantificar el título de anticuerpos. En una cohorte de 43 pacientes CLN2 que recibieron ICV-ERT, se ha medido la titulación de anticuerpos rhT-PP1 en suero y LCR. Los datos se correlacionaron con las características clínicas de los pacientes. El procedimiento muestra utilidad para evaluar la influencia de la presencia de anticuerpos en la eficacia del tratamiento con Cerliponasa alfa.



Grupo de investigación de la FEETEG. De izquierda a derecha Irene Serrano, Carlos Lahoz, Pilar Giraldo e Isidro Arévalo

INFORMACIÓN E INSTRUCCIONES PARA LOS AUTORES

La Revista **en-LISOS** es una publicación en versión electrónica que edita dos números por año y acepta manuscritos en español dedicados a las enfermedades lisosomales. Cuenta con un Comité Editorial compuesto por expertos nacionales e internacionales.

Admite artículos originales, artículos de revisión, casos clínicos, cartas al editor y editoriales sobre cualquier aspecto relacionado con las enfermedades lisosomales. Los trabajos deben ser inéditos, no haberse enviado simultáneamente a otras revistas ni estar aceptados para su publicación. En el caso de que se hayan publicado de forma parcial ó como resumen, deberá indicarse en el manuscrito.

Dirección de correo electrónico para el envío de artículos: feeteg@fehha.org

PREPARACIÓN Y ENVÍO DE MANUSCRITOS

El manuscrito constará de tres partes:

1. título del trabajo, nombre y apellidos de cada autor, nombre del departamento/s e institución/es donde se ha realizado el trabajo, nombre y dirección del autor responsable de la correspondencia (incluyendo correo electrónico de contacto), agradecimientos, ayudas o fuentes de financiación total o parcial, conflictos de interés (o su inexistencia).

2. el cuerpo del artículo, que se dividirá en los apartados:

a) Originales: Resumen de 250 palabras máximo, Resumen en inglés. Palabras clave, Introducción: Debe exponer claramente los antecedentes y el objetivo del trabajo, así como resumir las razones que han motivado su realización. Materiales y métodos: Debe describir claramente los criterios de selección del material del estudio, sujetos y diseño del mismo. Deben señalarse claramente los métodos de evaluación estadística. Los autores deben detallar en este apartado los procedimientos éticos que han seguido, necesarios para experimentos con animales, pacientes, manejo de datos confidenciales, consentimiento informado y que cuentan con la autorización del comité de ética de su institución.

Resultados: Deben describirse únicamente los datos más relevantes y no repetirlos en el texto si ya se han mostrado mediante tablas o figuras.

Discusión: Deben de contrastarse los resultados con lo referido en la literatura y con los objetivos e hipótesis planteados en el estudio. Al final de este apartado se incluirán las conclusiones.

b) Revisiones: Resumen estructurado, Palabras clave, Introducción, Desarrollo (con los subtítulos que el autor crea conveniente) y Conclusiones.

c) Correspondencia y notas clínicas: Introducción, Caso/s clínico/s descritos detalladamente. Las referencias a fármacos deben realizarse a través del nombre genérico. Las unidades de parámetros biológicos y de laboratorio deben ajustarse a las normas internacionales, Discusión

Bibliografía: Las referencias se identificarán en el texto mediante números arábigos entre corchetes, alineados con la escritura [1-3,6]. Se enumerarán correlativamente por orden de aparición en el texto y se describirán en la hoja correspondiente según el formato de referencia adoptado por el Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals (<http://www.icmje.org>). En las citas con múltiples autores (más de seis autores), se deberá incluir únicamente los 6 primeros autores del trabajo, seguido de et al. En el caso de 6 o menos autores, se deberá incluir en la cita a todos ellos.

3. Tablas y pies de figuras, cada una de ellas separadas por un salto de página. Cada tabla irá encabezada por su título, deberán presentarse a doble espacio, numerados en forma consecutiva en el orden citado dentro del texto, y el significado de las abreviaturas, así como las notas explicativas al pie. Los pies de figura se incluirán a doble espacio y contendrán la información necesaria para interpretar correctamente la figura sin recurrir al texto. Deben referenciarse en el texto por orden.

Las figuras se presentarán de forma individual, cada una en un archivo pdf o jpg. Toda la iconografía debe ser original. En caso contrario, se debe citar la referencia del origen y el autor deberá obtener el permiso previo de la editorial respectiva.

Los textos deberán estar procesados en Word a doble espacio en fuente tipográfica Arial de 11 puntos y comenzando en página nueva cada una de las secciones:

Se recomienda incluir 3 a 6 palabras clave, para facilitar la inclusión en índices internacionales. Y emplear los términos del MeSH (Medical Subject Headings) y DeCS (Descriptor en Ciencias de la Salud).

Abreviaturas: Deben usarse solamente abreviaturas estándares. Debe evitarse el uso de abreviaturas en el título del trabajo y minimizar al máximo su aparición en el resumen. Las abreviaturas utilizadas por el autor deben definirse y describirse en el texto la primera vez que se mencionen.

ASPECTOS ÉTICOS

Los procedimientos en humanos deben ajustarse a las normas éticas de la Declaración de Helsinki de 1975 (World Medical Association Declaration of Helsinki) Ethical principles for medical research involving human subjects. JAMA 2000; 284:3043-5, así como al acuerdo que al respecto publicó la Secretaría de Salud el 26 de enero de 1982, y a las Normas del Comité de Ética y de Investigación de la Institución donde se efectuó un trabajo original. Los estudios en animales deben seguir la normativa específica (Institute of Laboratory Animal Resources, National Research Council. Guide for the care and use of laboratory animals. Washington, DC. National Academy Press. 1996). Con relación a la confidencialidad de los datos, se debe informar acerca del modo en que se ha protegido el anonimato de los participantes y la privacidad de su información, siguiendo la normativa del Reglamento General de Protección de Datos (RGPD 2016/679).

Conflicto de intereses: Los autores deben describir cualquier relación financiera o personal que tengan con otras personas u organizaciones y que pudieran dar lugar a conflicto de intereses en relación con el artículo que se remite para publicación.

en-LISOS

Propiedad & publicación de la Fundación FEETEG

EDITORES

Pilar Giraldo Castellano. Presidenta de FEETEG
Mercedes Roca Espiau. Radiodiagnóstico. FEETEG

EDITORES ASOCIADOS

José Elías García Ortiz. Centro de Investigación Biomédica de Occidente. Guadalajara. México
Paula Rozenfeld. Investigadora Independiente CONICET. La Plata. Argentina
Feliciano Ramos Fuentes. Dpto. Pediatría. Universidad de Zaragoza
Laura López de Frutos. Bióloga. Genetista. Zaragoza
Jorge Cebolla Sanz. Bioquímico. Veterinario. Zaragoza
Marcio Andrade Campos. Hematólogo. Barcelona
Ignacio de Blas Giral. Dpto. Patología Animal. Universidad de Zaragoza
Esther Franco García. Hematóloga. Zaragoza
Domingo González Lamuño. Presidente de AECOM
Jesús Villarrubia Espinosa. Hematólogo. H. Ramón y Cajal. Madrid
Eduardo López Santamaría. Presidente Asociación AELALD
Teresa Pérez Valero. Presidenta de ASPHER
Soledad Prieto Rodríguez. Presidenta de AEEFEG

CONSEJO EDITORIAL

Francesc Palau Martínez. Hospital Sant Joan de Déu. Barcelona
Ralf Koehler. Investigador ARAID. Universidad de Zaragoza

DISEÑO

Andrés Ferrer

SECRETARÍA GENERAL

Concepción Pérez Valero



en-LISOS ha sido creada para facilitar la comunicación en lengua española entre los miembros de la gran comunidad de hispanoparlantes dedicados al estudio y manejo de las enfermedades de depósito lisosomal (EDL).

Pretende mejorar la comunicación y ofrecer información actual con respecto a los avances importantes en diagnóstico, seguimiento y tratamiento de las EDL proporcionando resúmenes concisos y fáciles de leer de hallazgos recientes importantes en investigación básica, clínica y traslacional. La información presentada en no representa necesariamente las opiniones, creencias o posiciones de la Revista. **en-LISOS** no se responsabiliza de ningún error u omisión en los contenidos; la confianza en cualquier información presentada corre por cuenta y riesgo del usuario.

El contenido de la publicación no puede ser reproducido, ni transmitido por ningún procedimiento electrónico o mecánico, incluyendo la fotocopia o grabación magnética, ni registrado por ningún sistema de recuperación de información, en ninguna forma, ni por ningún medio, sin la previa autorización por escrito del propietario del Copyright. Los manuscritos se aceptan en forma de resumen en el caso de que hayan sido publicados previamente con el consentimiento expreso de los editores de la revista.

El contenido de la Revista está protegido por el copyright © 2022 FEETEG. Reservados todos los derechos.

ISSN 2794-0357