

UNIVERSIDAD POPULAR AUTONOMA DEL ESTADO DE PUEBLA
MAESTRIA EN CIENCIAS DE LA SALUD

**Caracterización Molecular del Gen *IDUA* en una Familia Afectada con
Mucopolisacaridosis tipo I**

Autor

Federico Osorio Antonio
Maestro en Ciencias de la Salud

Director de Tesis
Ma. Del Rocío Baños Lara
Doctora en Ciencias Bioquímicas
Directora del Centro de Investigación Una Nueva Esperanza

Sede del estudio:

Hospital Infantil de Tlaxcala

Número de registro del protocolo de investigación:

HIT/CI2016/004

Lugar de realización

Tlaxcala, Tlaxcala. México.

Fecha

Mayo 2019



UPAEP – Secretaría General

Dirección General de Apoyos Académicos

Dirección del Centro de Recursos para el Aprendizaje y la Investigación.

Biblioteca Central - **Karol Wojtyla**

Tesis Digitales Restricciones de uso:

DERECHOS RESERVADOS ©

PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de textos, imágenes, gráficas, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente de donde la obtuvo mencionando el autor o autores involucrados en el documento.

Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

ÍNDICE GENERAL

1 Tabla de contenido

1. INDICE DE TABLAS, CUADROS Y FIGURAS	4
TABLAS	4
FIGURAS	4
2. ABREVIATURAS, ACRÓNIMOS Y SÍMBOLOS	5
3. RESUMEN	6
4. ABSTRACT	8
5. ANTECEDENTES GENERALES	10
5.1 LOS LISOSOMAS	11
5.2 SÍNTESIS DE ENZIMAS LISOSMALES	11
5.3 TRANSPORTE DE MACROMOLÉCULAS HACIA LOS LISOSOMAS	12
5.4 MUCOPOLISACARIDOSIS	13
6. ANTECEDENTES ESPECÍFICOS	17
6.1 MUCOPOLISACARIDOSIS TIPO I	17
7. JUSTIFICACION	22
8. HIPÓTESIS	22
9. OBJETIVOS	23
GENERALES	23
PARTICULARES	23
10. MATERIAL Y MÉTODOS	23
TIPO Y DISEÑO DEL PROYECTO	23
CLASIFICACIÓN DE FEINSTEIN:	23
DEFINICIÓN DEL UNIVERSO DE TRABAJO	24
DEFINICIÓN DE UNIDADES DE OBSERVACIÓN Y DEL GRUPO CONTROL	24
Criterios de inclusión:	24
Criterios de exclusión:	24
Criterios de Eliminación:	24
ESTRATEGIA DE MUESTREO	24
RECOLECCIÓN DE LA INFORMACIÓN	24
11. RESULTADOS	25
12. DISCUSION DE RESULTADOS	30

13.	CONCLUSIONES	31
14.	PERSPECTIVAS	33
15.	LINEAMIENTOS BIOETICOS.....	33
16.	REFERENCIAS BIBLIORÁFICAS.....	35
17.	ANEXOS	39

1. INDICE DE TABLAS, CUADROS Y FIGURAS

TABLAS

Tabla 1. Tipos de glucosaminoglicanos y composición bioquímica	13
Tabla 2. Clasificación de las Mucopolisacaridosis	16
Tabla 3. Variantes patogénicas en el gen <i>IDUA</i> causantes de MPSI.....	30
Tabla 4. Resultados del estudio genético en los 4 miembros de la familia.....	30

FIGURAS

Figura 1. A síntesis de enzimas lisosomales, B fagocitosis, digestión y eliminación de moléculas por los lisosomas	13
Figura 2. Metabolismo del dermatan sulfato	19
Figura 3. Metabolismo del heparán sulfato.	20
Figura 4. Gen <i>IDUA</i> , localización cromosómica en 4p16.3 y sus 14 exones.....	20
Figura 5. Árbol Genealógico familiar de 3 generaciones.....	27
Figura 6. Fenotipo del paciente	28
Figura 7. Signos radiológicos de disostosis múltiple.....	28
Figura 8. Secuencia del gen <i>IDUA</i> y la delección (c.46-57del), en el exón 1.....	30
Figura 9. Secuencia del gen <i>IDUA</i> , con dos variantes en la unión exón/intrón.	30
Figura 10. Locus, estructura del gen y sitio de las variantes encontradas en la familia estudiada.	31
Figura 11. Modo de herencia de la mucopolisacaridosi tipo I en la familia estudiada.....	32

2. ABREVIATURAS, ACRÓNIMOS Y SÍMBOLOS

MPS1.- Mucopolisacaridosis tipo I

IDUA. - Gen codificante de la enzima alfa-I-iduronidasa.

EAL. - Enfermedades por almacenamiento lisosomal

GAGs. – Glucosaminoglicanos

IL.- Interleucinas

TNF- α .- Factor de necrosis tumoral alfa

FGF. - Factor de crecimiento de fibroblastos

HGF. - Factor de crecimiento de hepatocitos

VEGF. - Factor de crecimiento endotelial vascular

TGF- β .- Factor de crecimiento transformante beta

MIP-1 β . - Proteínas inflamatorias de macrófagos 1 beta.

HGMD. - The Human Gene Mutation Database

FDA. - Food and Drug Administration

EMA. - Agencia Europea de Medicamentos

ANVISA. – Agencia Nacional de Vigilancia Sanitaria

DNA. - Acido desoxirribonucleico

3. RESUMEN

Introducción. La Mucopolisacaridosis tipo I (MPSI) es una enfermedad genética con herencia autosómica recesiva causada por defectos del gen *IDUA*, que codifica la enzima alfa-l-iduronidasa involucrada en la degradación de dermatán y heparán sulfato a nivel lisosomal. La incidencia es de 1 por cada 100,000 nacidos vivos. Los afectados nacen con manifestaciones inespecíficas como hernia umbilical o inguinal e infecciones recurrentes de vías respiratorias; en el primer año la facies se vuelve tosca, aparece cifosis lumbar entre los 2 a 3 años, posteriormente displasia esquelética y discapacidad intelectual progresivos, opacidad corneal, hepato-esplenomegalia, cardiomiopatía, hipoacusia, rinitis crónica e hidrocefalia; la muerte ocurre en los primeros 10 años de vida por falla cardiorrespiratoria. Las formas leves de la enfermedad pueden tener una sobrevida entre los 20 y 30 años o incluso puede ser normal.

Objetivo general. Confirmar el diagnóstico de MPSI en una familia y explicar los mecanismos bioquímicos y moleculares que causan la enfermedad.

Material y Métodos. Mediante análisis clínico, radiológico, bioquímico y genético, se estudió a una familia conformada por 4 miembros, dos hijos del sexo masculino, uno de ellos con datos clínicos compatibles con MPSI y ambos padres,

Resultados. Los resultados más relevantes fueron: la actividad de la enzima α -l-iduronidasa en el paciente bajo sospecha de MPSI fue baja, de 0,1 $\mu\text{mol/l/h}$ (referencia normal: $\geq 2,5 \mu\text{mol/l/h}$), en el hermano la actividad enzimática fue normal de 5,6 $\mu\text{mol/l/h}$. En los padres no se les realizó la determinación de la actividad enzimática. El análisis molecular del gen *IDUA* en el paciente, mostró una mutación heterocigota (c.46_57del) en un alelo y dos variantes (c.299G>A p.R100K) y (c.299+1G>T) en el otro alelo, este genotipo es compatible con un fenotipo grave de la enfermedad; en el hermano se encontraron las variantes (c.299G>A p.R100K) y (c.299+1G>T) en uno de sus alelos, y se encuentra en estado portador asintomático; en el padre una mutación heterocigota (c.45_57del) en uno de sus alelos, también portador asintomático, en la madre no se reportaron variantes patogénicas .

Conclusiones. – La MPSI es una enfermedad por almacenamiento lisosomal, comparte muchas características clínicas con otras mucopolisacaridoses, e incluso con otras enfermedades lisosomales que dificultan su diagnóstico. El análisis molecular es imprescindible para un adecuado asesoramiento genético. El presente trabajo permitió identificar dos mutaciones no descritas previamente en la literatura, además los resultados normales en los alelos maternos permiten concluir que presenta mosaicismo germinal fenómeno no descrito en los casos de mucopolisacaridosis tipo I.

Palabras clave: Mucopolisacaridosis tipo I, gen *IDUA*, enzima α -L-iduronidasa, mosaicismo germinal.

4. ABSTRACT

Introduction. Mucopolysaccharidosis Type I (MPSI) is a genetic disease with autosomal recessive inheritance caused by defects of the gene IDUA, that encodes the enzyme α -l-iduronidase involved in the degradation of dermatan and heparan sulfate at lysosomal level. The incidence of MPSI is 1 per 100,000 live births. Those affected are born with nonspecific manifestations such as umbilical or inguinal hernias, and they recurrently suffer from respiratory tract infections; In the first year the facies becomes crude, lumbar kyphosis appears between 2 to 3 years, later, skeletal dysplasia and progressive intellectual disability, corneal opacity, hepato-splenomegaly, cardiomyopathy, hearing loss, chronic rhinitis and hydrocephalus happens; death occurs in the first 10 years of life by cardiorespiratory failure. Mild forms of the disease may survive 20 to 30 years old or may even be normal.

General Objective. Confirm the diagnosis of MPS I in a family and explain the biochemical and molecular mechanisms that cause the disease.

Material and Methods. Through clinical, biochemical and molecular analyses, a family of four members, two children of the male sex, one of them with clinical data compatible with MPS1 and both parents, were studied.

Results. The activity of the enzyme α -l-iduronidase in the patient suspecting of MPSI was atypical, of 0.1 $\mu\text{mol/L/h}$ (normal reference: $\geq 2.5 \mu\text{mol/L/h}$), in the brother enzymatic activity was normal of 5.6 $\mu\text{mol/L/h}$. The determination of the enzymatic activity was not performed in the parents. The molecular analysis of the gene IDUA in the patient, it showed a heterozygous mutation (c .46 _ 57del) in one allele and two variants (c. 299G > A p. R100K) and (c. 299 + 1G > T) in the other allele; this genotype is compatible with a serious phenotype of the disease. In the brother the variants (c. 299G > P. R100K) and (c. 299 + 1G > T) were found in one of the alleles, then the brother is an asymptomatic carrier; in the father, a heterozygous mutation (C .45 _ 57del) in one of it alleles was found, then he was an asymptomatic carrier also. Pathogenic variants were not reported in the mother.

Conclusions. – MPSI is a lysosomal storage disease, shares many clinical features with other mucopolysaccharidosis, and even with other lysosomal diseases that hinder their diagnosis, molecular analysis is essential for a suitable Genetic counseling. The present work allowed to identify two mutations not previously described in the literature, in addition the normal results in the maternal alleles allow to conclude that it presents germinal mosaicism phenomenon not described in the cases of mucopolysaccharidosis type I.

Key Words: Mucopolysaccharidosis type I, Gene IDUA, enzyme α -L-iduronidase, Germinal mosaicism.

5. ANTECEDENTES GENERALES

Las enfermedades por almacenamiento lisosomal (EAL), son un grupo heterogéneo de 51 trastornos genéticos también conocidos como errores innatos del metabolismo, que resultan de un metabolismo lisosomal defectuoso y subsecuente acumulo de sustratos no degradados (1–4).

La incidencia de las EAL es muy poco conocida, individualmente la incidencia es baja, sin embargo algunos estudios en diferentes poblaciones describen una incidencia colectiva de 7.5 a 23.5 por cada 100,000 habitantes; en general actualmente se considera que la incidencia es 1 por cada 8,000 nacidos vivos (2,4).

La principal característica de las EAL es la acumulación de diferentes moléculas dentro de los lisosomas alterando su homeostasis y aunque las proteínas lisosomales están ubicuamente distribuidas, la acumulación de sustratos ocurre en aquellas células, tejidos y órganos donde se mueve mayor cantidad de este tipo de compuestos orgánicos complejos. El cuadro clínico es generalmente multisistémico y progresivo, el índice de progresión y la edad de inicio es variable y depende de la actividad enzimática residual. Quienes las padecen, mayormente tienen afectación a nivel ocular, hematológico, esquelético, cardiovascular y neurológico y existe sobreposición en la sintomatología de los diferentes trastornos (1,2,5,6).

La clasificación más utilizada de las EAL, es aquella que toma en cuenta el tipo de sustrato acumulado (1), así las EAL se clasifican en:

- Esfingolipidosis; por acumulo de esfingolípidos.
- Mucopolisacaridosis; por acumulo de mucopolisacáridos o glucosaminoglicanos.
- Mucolipidosis; por acumulo de glucolípidos, glucosaminoglicanos y oligosacáridos.
- Glucoproteinosis; por acumulo de glucoproteínas.

La mayoría de las EAL, son causadas por mutaciones en los genes que codifican a las enzimas hidrolasas lisosomales, sin embargo existen otros mecanismos como alteraciones

en el exporte de catabolitos, alteraciones en el tráfico de las membranas o en los canales iónicos que también pueden ocasionar almacenamiento lisosomal de estos productos (7), por lo tanto, es necesario revisar la fisiología de los lisosomas para una mejor comprensión de estos trastornos.

1. LOS LISOSOMAS

Los lisosomas son organelos celulares rodeados por una membrana, descritos inicialmente en 1955 por Christian de Duve, considerados como los centros de reciclaje de sustratos complejos, caracterizados por tener un pH ácido y contener alrededor de 60 hidrolasas lisosomales, principalmente proteasas, lipasas y glicosilasas, responsables de la degradación de proteínas, polisacáridos y lípidos complejos en aminoácidos, polisacáridos y ácidos grasos libres. Los productos de degradación son transportados fuera de los lisosomas vía exportadores específicos, incrustados en la membrana lisosomal o por vía vesicular, para mantener la homeostasis o para su reutilización en las vías biosintéticas (1,7).

2. SÍNTESIS DE ENZIMAS LISOSMALES

La síntesis de las hidrolasas lisosomales conllevan varios pasos; todas son glucoproteínas sintetizadas en el retículo endoplásmico rugoso, gracias a la señal en el extremo amino-terminal son traslocadas al retículo endoplásmico liso, donde sufren glicosilación en el extremo N-terminal y pierden la secuencia señal, posteriormente se mueven al compartimento de Golgi donde adquieren un ligando manosa-6-fosfato, para este último proceso, se requieren de dos enzimas una fosfotransferasa (N-acetilglucosamina-1-fosfotransferasa) y una diesterasa, esta marca asegura que la hidrolasa llegue al compartimento lisosomal, una vez ahí, se une al receptor manosa-6-fosfato, que internaliza a la enzima, y el pH bajo hace que se disocie esta marca y del receptor, por lo que la parte final es la maduración de la enzima a través de diferentes mecanismos; proteólisis, plegamiento y agregación (figura 1-A) (6).

3. TRANSPORTE DE MACROMOLÉCULAS HACIA LOS LISOSOMAS

Los sustratos que son transportados hacia el interior de los lisosomas pueden ser de origen extracelular o intracelular y pueden llegar por diferentes rutas, por la vía de la endocitosis y/o fagocitosis para los sustratos extracelulares o por la vía de la autofagia para sustratos intracelulares. Inicialmente son llevados a los endosomas tempranos, y posteriormente a los endosomas tardíos para finalmente llegar a los lisosomas donde son digeridos y posteriormente eliminados de la célula a través de exocitosis o dependiendo de las moléculas que se traten muchas de ellas pueden ser recicladas dentro de la misma célula (figura 1-B) (6,7).

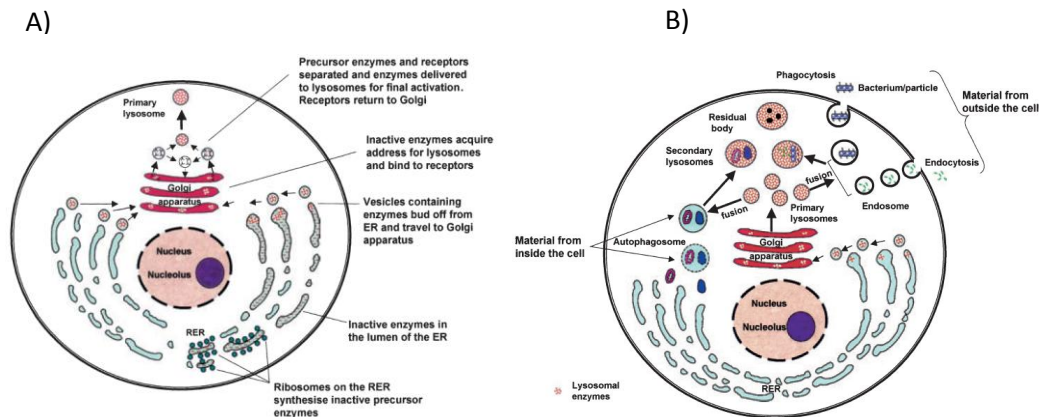


Figura 1.- A síntesis de enzimas lisosomales, B fagocitosis, digestión y eliminación de moléculas por los lisosomas (6)

Estudios recientes han permitido reconocer que los lisosomas no solo son organelos de reciclaje de la célula, actualmente se sabe que también juegan un papel importante en otras funciones celulares importantes incluyendo detección de nutrientes, vías de señalización, tráfico de vesículas y crecimiento celular (2).

Como ya se comentó con anterioridad, para el buen funcionamiento lisosomal se requiere de una acción orquestada de hidrolasas lisosomales, una maquinaria de acidificación controlada por los canales iónicos, proteínas de membrana y exportadores de catabolitos. Cuando se altera alguno de estos mecanismos debido a mutaciones en genes que codifican para cada uno de estos elementos indispensables para la homeostasis

lisosomal, sobreviene la acumulación de sustratos que condicionan las enfermedades por atesoramiento lisosomal. De acuerdo con la deficiencia enzimática y al sustrato acumulado las enfermedades se clasifican en varios tipos como se ha mencionado antes, esfingolipidosis, mucopolisacaridosis, mucopolipidosis y glucoproteínosis (2,3).

4. MUCOPOLISACARIDOSIS

Las mucopolisacaridosis, son las EAL más frecuentes, su incidencia al nacimiento varía según el país, región o grupo étnico y se calcula en 1.04 a 4.8 por 100,000 nacimientos (8). Son enfermedades causadas por almacenamiento de mucopolisacáridos o glucosaminoglicanos (GAGs), estas macromoléculas están constituidas por cadenas largas de dímeros formados por un aminoazúcar y un ácido urónico los cuales se encuentran sulfatados y se unen a proteínas formando proteoglicanos.

Los GAGs forman parte de la matriz extracelular de todos los tejidos cumpliendo múltiples funciones en cada uno de ellos, como la retención de grandes cantidades de agua y sodio formando geles para mantener la hidratación de la matriz extracelular. En el cartílago esto permite el soporte de fuerzas de compresión, también puede unirse a citocinas como IL-2, IL-7, IL-8, TNF- α , quimiocinas como MIP-1 β , SDF-1, factores de crecimiento como FGFs, receptores de FGF, HGF, VEGF, TGF- β etc. También se ha descrito que forman una estructura endotelial llamada glucocálix, una estructura que se encuentra en el endotelio vascular y que tiene la función de conservar la distensibilidad y permeabilidad vascular, protección contra el estrés oxidativo endotelial y disminución de la agregación leucocitaria y plaquetaria. En las membranas celulares sirven como correceptores de algunos factores de crecimiento que tienen función tirosina-cinasa, además interactúan con integrinas y varias moléculas de adhesión celular controlando las interacciones entre células vecinas y la movilidad celular. Alteraciones en el mecanismo de degradación y reciclaje a nivel lisosomal, condiciona trastornos llamados mucopolisacaridosis y el sustrato almacenado dependerá de la enzima lisosomal faltante. Actualmente se conocen 6 tipos de glucosaminoglicanos de acuerdo a los grupos sulfato y los radicales ácidos que conforman los dímeros (tabla 1) (9).

Tabla 1 Tipos de glucosaminoglicanos y composición bioquímica (9)

Glucosaminoglicano	Composición bioquímica
Ácido Hialurónico	N-Acetilglucosamina, Acido-D-glucorónico
Heparán sulfato	N-acetilglucosamina, acido-D-glucorónico, L-idurónico
Heparina	D.glucosamina/N-acetilglucosamina, acido-L-idurónico/D-glucorónico
Queratán sulfato	N-acetilglucosamina, D-Galactosa
Condroitin sulfato	N-acetilglucosamina, acido-D-glucorónico
Dermatan sulfato	N-acetilgalactosamina, acido L-idurónico

Las mucopolisacaridoses son enfermedades metabólicas causadas por acúmulo de glucosaminoglicanos a nivel lisosomal y se debe a defectos en las enzimas que metabolizan estas macromoléculas, su acumulo intra lisosomal causa daño y estrés metabólico que conlleva a falla multiorgánica con reducción importante de la expectativa de vida. La mayoría de las MPS se heredan de forma autosómica recesiva (AR) excepto la MPS tipo 2 que tiene un patrón de herencia ligada al X recesiva. Actualmente se conocen 11 tipos, que se clasifican de acuerdo a la deficiencia enzimática, GAGs acumulados y tipo de herencia (tabla 2) (3,10,11)

Tabla 2. Clasificación de las mucopolisacaridosis (modificado de 3,9)

TRASTORNO	ENZIMA DEFICIENTE	GAG ACUMULADO	TIPO DE HERENCIA
MPSI (fenotipo leve, moderado o grave)	α -L-Iduronidasa	Dermatán y Heparán sulfato	Autosómico recesivo
MPS II (síndrome de Hunter)	Iduronato-2- sulfatasa	Dermatán y Heparán sulfato	Recesivo ligado al X
MPS III (síndrome de Sanfilipo) A B C D	Heparan-N-sulfatasa α -N Acetilglucosaminidasa Acetil-CoA: α -glucosaminida acetiltransferasa. N-acetilglucosamina-6 sulfatasa	Heparán sulfato	Autosómico recesivo
MPS IV (síndrome de Morquio) A B	Galactosa-6-sulfatasa β - Galactosidasa	Keratán sulfato Condroitin sulfato Keratán sulfato	Autosómico recesivo
MPS VI (síndrome de Maroteaux Lamy)	Arylsulfatasa B	Dermatán y Heparán sulfato	Autosómico recesivo
MPS VI (síndrome de Sly)	β - Glucoronidasa	Dermatán y Heparán sulfato	Autosómico recesivo
MPS IX	Hialuronidasa	Hialuronan	Autosómico recesivo

Para la degradación de los glucosaminoglicanos, se requieren cuatro exoglucosidasas, cinco sulfatasas y una transferasa no hidrolítica; su deficiencia puede condicionar acúmulo de estos GAGs y causar mucopolisacaridosis.

Las MPS, son enfermedades crónicas progresivas, que muestran signos y síntomas en múltiples sistemas y órganos. Todos los tipos de MPS comparten muchas características clínicas, aunque en grados variables. Principalmente afecta el sistema musculoesquelético,

ocasionando rigidez y contracturas articulares, síndrome del túnel del carpo, dedos en garra, disostosis múltiple, hipoplasia de las apófisis odontoides, en algunos casos en vez de rigidez, se presentan hipermovilidad articular, y anomalías del crecimiento, otras manifestaciones clínicas son opacidad corneal, valvulopatía, hernia inguinal, facies tosca y en algunos casos retraso mental profundo. La severidad del cuadro clínico dependerá del porcentaje de actividad enzimática residual. En los casos donde la ausencia es completa, la enfermedad inicia la infancia y es de grado severo, en contraste en aquellos casos donde la actividad enzimática se conserva cercana a la normal, el inicio es tardío, incluso en la adolescencia o edad adulta con signos y síntomas muy leves (10,12).

El diagnóstico de las MPS debe de realizarse lo más temprano posible para evitar daño irreversible a los órganos y sistemas y optimizar los resultados del tratamiento, particularmente en aquellos padecimientos donde existe tratamiento mediante trasplante de células troncales hematopoyéticas o terapia de reemplazo enzimático. La cuantificación de los GAGs en orina es un método útil para realizar tamizaje de enfermedades lisosomales, con una alta sensibilidad, pero baja especificidad, por lo que cada vez se usa menos para la detección de estos trastornos. El estándar de oro para el diagnóstico de cada una de las MPS es la determinación de la actividad enzimática, en cultivo de fibroblastos, leucocitos de sangre periférica, suero o plasma. También puede realizarse este estudio enzimático en biopsia de vellosidades coriales o amniocitos para diagnóstico prenatal. El estudio molecular puede seguir después del estudio bioquímico para identificar mutaciones presentes en individuos afectados y así establecer asesoramiento genético a las familiares en riesgo, para la toma de decisiones en la planeación de futuros embarazos.

El tratamiento de los pacientes con MPS requiere de evaluaciones regulares y de forma multidisciplinaria, ya que presenta muchas complicaciones sistémicas que requerirán de varias especialidades médicas. Anteriormente los cuidados paliativos eran la única opción de tratamiento, sin embargo, desde 1980, comenzaron a realizarse los primeros trasplantes de células troncales hematopoyéticas con buenos resultados;

actualmente este tipo de tratamiento y el trasplante de células troncales de cordón umbilical, han mostrado ser efectivos en la prevención de síntomas severos. Más recientemente la terapia de reemplazo enzimático con enzima recombinante ha mejorado aún más el pronóstico de los pacientes y las familias afectadas con estos padecimientos (11).

6. ANTECEDENTES ESPECÍFICOS

1. MUCOPOLISACARIDOSIS TIPO I

La mucopolisacaridosis tipo I, es una enfermedad genética con herencia autosómica recesiva ocasionada por deficiencia de la enzima α -L-Iduronidasa, necesaria para la degradación de los glucosaminoglicanos heparán y dermatán sulfato. Estos GAGs parcialmente degradados, se acumulan a nivel lisosomal en forma progresiva, causando daño a células y tejidos y secundariamente falla orgánica múltiple. La incidencia de la MPS I, se estima de 1 por cada 100 000 nacimientos en la población general.

Los síntomas y signos se presentan con un espectro que va de la forma más severa conocida como síndrome de Hurler, a la forma intermedia conocida como síndrome de Hurler/scheie hasta la forma leve conocida como síndrome de Scheie, esta variabilidad clínica está relacionada con la actividad enzimática residual, a menor actividad de la enzima el fenotipo clínico es más severo y de inicio más temprano, a mayor actividad enzimática residual el fenotipo es más leve y de inicio tardío, aunque se ha hecho esta clasificación en realidad la sintomatología es muy similar entre ellas, bioquímicamente también es difícil diferenciarlos ya que todas presentan elevación de los GAGs heparán y dermatán sulfato en orina, por lo que la clasificación es meramente clínica (13–15).

Las características clínicas comunes incluyen talla baja, dismorfismo craneofacial secundario e infiltración de tejidos blandos, ocasionando facies tosca que se presenta en el síndrome de Hurler y Hurler/scheie, en el 84 % y 72 % respectivamente. La opacidad corneal y hepatomegalia, se presenta en el 70 %, la disostosis múltiple en 43 %, y las hernias en el 53 %, Otros síntomas y signos descritos son glaucoma, hidrocefalia

comunicante, compresión medular, obstrucción de vías respiratoria, que condicionan apneas frecuentemente, hipoacusia, contracturas articulares, presencia de giba lumbar, anomalías valvulares cardíacas, displasia de cadera, síndrome del túnel del carpo, macroglosia, deterioro cognitivo, hipertrofia de amígdalas etc., el cuadro clínico está directamente relacionado con la forma de presentación (12,14–17).

La mucopolisacaridosis tipo I es causada por deficiencia de la enzima α -L-Iduronidasa, una hidrolasa lisosomal sintetizada en el retículo endoplásmico rugoso y traslocada a los lisosomas vía retículo endoplásmico liso y aparato de Golgi a través de la agregación de un ligando manosa-6-fosfato. Una vez en los lisosomas esta enzima se encarga de hidrolizar el residuo terminal α -L-Idurónico del dermatán y heparán sulfato (figuras 2 y 3) (13).

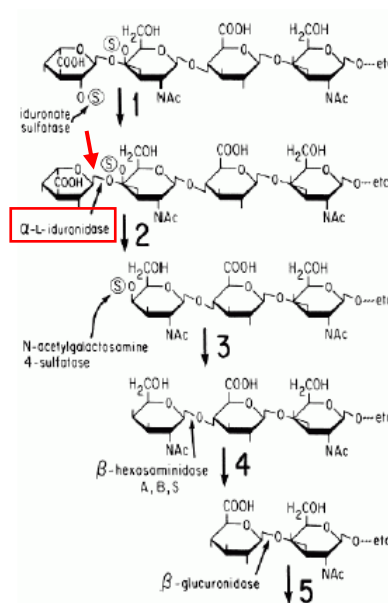


Figura 2. Metabolismo del dermatán sulfato. La deficiencia de α -L-Iduronidasa, no permite eliminar el residuo terminal α -L-Idurónico, acumulándose el dermatán sulfato a nivel lisosomal (13).

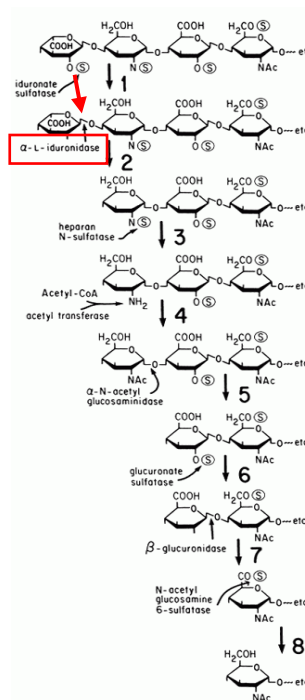


Figura 3. Metabolismo del heparán sulfato. La deficiencia de α -L-Iduronidasa, no permite eliminar el residuo terminal α -L-Idurónico, acumulándose el heparán sulfato a nivel lisosomal (13).

La enzima α -L-Iduronidasa, es codificada por el gen *IDUA*, que se localiza en el locus región 4p16.3, contiene 14 exones y se expande aproximadamente 19 kb (figura 4). La proteína α -L-Iduronidasa precursora tiene 653 aminoácidos, la cual es glucosilada y posteriormente procesada para su maduración (15,18,19).

Las mutaciones en este gen causan síntesis anormal de la enzima alterando su función, y como consecuencia alteración en el metabolismo y acúmulo de heparán y dermatan sulfato condicionando Mucopolisacaridosis tipo I.

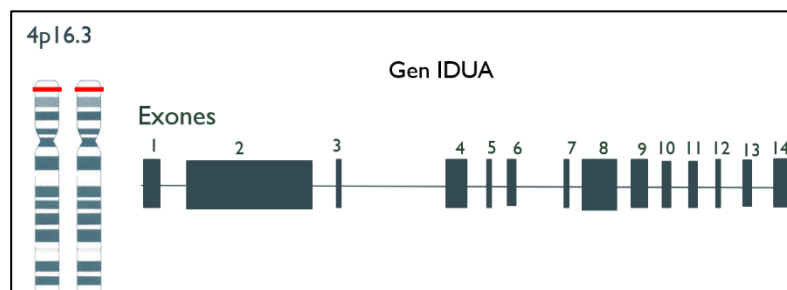


Figura 4. Gen *IDUA*, localización cromosómica en 4p16.3 y sus 14 exones.

La base de datos HGMD del inglés (The Human Gene Mutation Database) <http://www.hgmd.cf.ac.uk/ac/gene.php?gene=IDUA>, actualmente tiene registradas 221 variantes patogénicas del gen *IDUA*. Incluidas variantes sin sentido (*nonsense*) y de sentido erróneo (*missense*), en los sitios de *splicing*, en las regiones reguladoras, pequeñas deleciones, inserciones pequeñas, ins/del pequeña, grandes deleciones, inserciones/duplicaciones grandes y rearrreglos complejos, todas condicionan fenotipo de mucopolisacaridosis tipo I (Tabla 3).

Tabla 3. Variantes patogénicas en el gen *IDUA*, causantes de MPSI (HGMD)

TIPO DE VARIANTES	NUMERO VARIANTES
Mutaciones de sentido erróneo y sin sentido (<i>missense, nonsense</i>)	128
En el sitio de <i>splicing</i>	36
En las secuencias regulatorias	1
Pequeñas deleciones	31
Pequeñas inserciones	16
Inserción/delección pequeña	1
Deleciones grandes	4
Inserciones/duplicaciones grandes	1
Rearreglos complejos	3

Es probable que más variantes patológicas intragénicas existan, pero aún no han sido publicadas; en su mayoría han sido descritas a lo largo de los años, algunos como reporte de casos y otros como parte de estudios dirigidos al análisis molecular del gen (20–28).

La combinación entre la sintomatología inespecífica y el poco conocimiento acerca de la enfermedad, así como la baja incidencia, confunde a los padres y a los médicos, condicionando retraso en el diagnóstico; por lo tanto, pacientes con fenotipo leve permanecen sin diagnóstico durante muchos años, incluso aquellos casos severos llegan a diagnosticarse hasta el año o año y medio de edad. Regularmente los médicos generales y los pediatras son los de primer contacto, sin embargo, por las múltiples manifestaciones

pueden llegar inicialmente a cardiología, ortopedia, oftalmología etc. Debido a que actualmente existen métodos de tratamiento efectivos, es imperativo su diagnóstico temprano, por lo que más médicos deberían tener conocimiento acerca de esta patología (29–31).

La cuantificación de mucopolisacáridos es un método sensible pero no específico para tamizar mucopolisacaridosis tipo I, puede haber falsos negativos, por lo que un resultado negativo no excluye la enfermedad. Para el diagnóstico bioquímico, se requiere de la cuantificación de la actividad enzimática en fibroblastos, en leucocitos de sangre periférica, en suero o en gotas de sangre seca en papel filtro. El estudio molecular seguido del estudio enzimático confirma el diagnóstico y facilita el adecuado asesoramiento genético a las familias. Así mismo permite buscar portadores dentro de la familia.

Además de la confirmación diagnóstica se requieren evaluaciones multidisciplinarias, ya que se trata de una enfermedad multisistémica, por lo que es indispensable la valoración neurológica, oftalmológica, auditiva, cardiovascular, respiratoria, musculoesquelética, gastrointestinal y nutricional (29).

Anteriormente, el tratamiento de los pacientes con mucopolisacaridosis tipo 1, se limitaba a la prevención y manejo de las complicaciones por el equipo multidisciplinario, hasta la llegada del trasplante de células troncales hematopoyéticas. Actualmente este tipo de tratamiento es la única opción para prevenir la enfermedad neurodegenerativa, sin embargo, su aplicación es limitada debido a las complicaciones que conlleva el trasplante, el alto riesgo de falla del injerto y la alta tasa de mortalidad, este método de tratamiento está indicado en pacientes menores de 2 años con un coeficiente intelectual mayor a 70 (32).

En la actualidad existe también la terapia de reemplazo enzimático aprobada por la FDA (Food and Drug Administration), la Agencia Europea de Medicamentos (EMA) en el 2003 y en Brasil por la Agencia Nacional de Vigilancia Sanitaria (ANVISA) en el 2005. La enzima recombinante, es una variante polimórfica de la enzima humana, obtenida a través de tecnología recombinante de células ováricas de hámster chino, llamada

Laronidasa y se administra en forma parenteral a razón de 0.58 mg/kg semanalmente en forma indefinida. La terapia de reemplazo enzimático es usualmente indicada en pacientes de cualquier edad quienes presenten al menos una manifestación clínica conocida que pueda ser mejorada con la terapia (33).

Debido a la dificultad de los pacientes y cuidadores primarios de acudir semanalmente a recibir la terapia enzimática a las unidades médicas, se ha propuesto la terapia cada dos semanas administrando doble dosis en una sesión, los estudios realizados a la fecha reportan que no hay diferencia significativa entre la terapia semana y bisemanal, en los monitoreos de niveles de glucosaminoglicanos en orina, por lo que en muchas partes se han adoptado estas forma de tratamiento, sobre todo para pacientes a quienes se les dificulta cumplir con la terapia semanal (34).

2. JUSTIFICACION

La baja incidencia del padecimiento en la población general 1 por cada 100,000 nacimientos y el poco conocimiento clínico bioquímico y molecular del mismo, predispone al retraso en el diagnóstico temprano y al tratamiento oportuno del padecimiento. La mayoría de los casos se diagnostican tardíamente cuando el daño es irreversible; actualmente aunque existe mayor índice de detección, no existen centros de referencia para diagnóstico enzimático y molecular; así mismo no se conocen todas las mutaciones en el gen *IDUA* relacionadas con el padecimiento, por lo tanto es indispensable analizar la secuencia del gen en todos los pacientes con diagnóstico clínico de mucopolisacaridosis tipo I, para identificar las mutaciones causantes de la enfermedad, hacer una correlación genotipo-fenotipo, que permita establecer los mecanismos específicos causantes de la enfermedad, para iniciar el tratamiento y mejorar la calidad de vida de los pacientes y sus familias.

3. HIPÓTESIS

El análisis genético del gen *IDUA*, confirmará el diagnóstico de mucopolisacaridosis tipo 1

4. OBJETIVOS

GENERALES

Confirmar el diagnóstico de MPSI en una familia y explicar los mecanismos bioquímicos y moleculares que causan la enfermedad.

PARTICULARES

1. Realizar evaluación clínica a la familia en busca de síntomas y signos de MPSI.
2. Realizar estudios radiográficos en busca de disostosis múltiple.
3. Realizar estudios bioquímicos, incluidos, biometría hemática, química sanguínea, examen general de orina, pruebas de función hepática, perfil de enzimas musculares y determinación de actividad de la enzima alfa-l-iduronidasa para identificar alteraciones bioquímicas relacionadas con MPSI.
4. Secuenciar el gen *IDUA*, para identificar variantes patogénicas relacionadas con MPSI.
5. Analizar los mecanismos moleculares que causan la enfermedad con base en las variantes patogénicas que se identifiquen.

5. MATERIAL Y MÉTODOS

TIPO Y DISEÑO DEL PROYECTO

Se trata de un estudio observacional, descriptivo y transversal.

CLASIFICACIÓN DE FEINSTEIN:

Por su objetivo: Descriptivo

Por la recolección de los datos: transversal

Por la asignación del agente: Examen

Por su temporalidad: Transversal

Por los componentes del grupo: homodémico

DEFINICIÓN DEL UNIVERSO DE TRABAJO

Se estudiará a una familia conformada por 4 miembros, dos hijos del sexo masculino, y ambos padres.

DEFINICIÓN DE UNIDADES DE OBSERVACIÓN Y DEL GRUPO CONTROL

Criterios de inclusión:

No se consideran para este estudio

Criterios de exclusión:

No se consideran para este estudio

Criterios de Eliminación:

No se consideran para este estudio

ESTRATEGIA DE MUESTREO

No se considera tamaño ni tipo de muestreo para el estudio.

RECOLECCIÓN DE LA INFORMACIÓN

Fuentes de Información

Para el presente trabajo los datos se obtuvieron de la entrevista médica, y del expediente clínico del paciente.

METODOS ANALÍTICOS

Análisis clínico. Se realizó una historia clínica de la familia, mediante interrogatorio directo, y exploración física para identificar antecedentes de la enfermedad en otros miembros de la familia, así como signos y síntomas de MPSI.

Análisis radiográfico. Tiene como principio obtener imágenes del sistema esquelético de los individuos a través de la emisión de rayos X, fue realizado en el Instituto Tlaxcalteca de Atención Especializada a la Salud, ubicado en el Tlaxcala Tlaxcala.

Análisis bioquímico. Mediante equipo automatizado se realizó biometría hemática, química sanguínea, examen general de orina, pruebas de función hepática y perfil de

enzimas musculares. Estos análisis se hicieron en el laboratorio clínico del Hospital Infantil de Tlaxcala.

Determinación de la actividad enzimática. Tiene como principio evaluar la actividad residual de la enzima alfa-l-iduronidasa, en linfocitos de sangre periférica, mediante espectrometría de masas en tándem. Realizado en el laboratorio de *Centogene the rare disease company*, ubicados en Rostock Alemania

Análisis Genético. Tiene como principio analizar la secuencia de nucleótidos del gen *IDUA*, mediante secuenciación tipo Sanger, en este caso, de todas las regiones codificantes del gen y las uniones altamente conservadas exón-intrón. Realizado en el laboratorio de *Centogene the rare disease company*, ubicados en Rostock Alemania

11. RESULTADOS

Análisis clínico

La familia en estudio está conformada por la madre de 28 años, padre de 30 años ambos aparentemente sanos, sin antecedente de consanguinidad y dos hijos, el mayor de 5 años y el paciente de 1 año 8 meses. El hijo de 5 años, estaba aparentemente sano. El paciente bajo sospecha de MPSI proviene de la gesta 2, cursó con un embarazo normal, nacimiento de término por parto normal, peso al nacimiento de 3500 gramos y talla de 54 cm, con apgar de 7-9-9. En el periodo neonatal, cursó con asfixia leve recuperada, dificultad respiratoria, neumonía congénita e hiperbilirrubinemia, que requirió tratamiento hospitalario por 25 días, durante su estancia requirió ventilación mecánica, antimicrobianos y fototerapia. Su desarrollo psicomotor tuvo la siguiente cronología, fijó la mirada al mes, presentó sonrisa social al mes, sostén cefálico a los 5 meses, sedestación a los 8 meses, se giró a los 9 meses, emitió sonidos guturales a los 6 meses, balbuceó a los 8 meses; a su ingreso su lenguaje estaba a nivel de 7 palabras. Fue diagnosticado con retraso en el desarrollo psicomotor secundario a las complicaciones neonatales y enviado a estimulación temprana en su unidad médica.

Evolucionó sin mejoría en la adquisición de los hitos del neurodesarrollo, cursaba con cuadros repetitivos de infección respiratoria, que mejoraban con tratamiento,

gradualmente se agregó deformidad de la columna, por lo que fue enviado al hospital para valoración pediátrica, en su primera evaluación fue enviado a ortopedia y neurocirugía por sospecha de tumoración en columna y a neurología por el retraso en el neurodesarrollo. Las primeras valoraciones descartaron tumoración y se concluyó una escoliosis congénita, la valoración neurológica concluyó retraso en el desarrollo psicomotor, con sospecha de etiología genética por facies anormal del paciente y enviado al servicio de genética.

Durante la evaluación se realizó el árbol genealógico familiar donde se muestra al paciente, individuo III-4, su hermano III-3 y ambos padres II-9 y II-10. La familia refirió la presencia de dos primos del paciente con las mismas características, pero no fue posible localizarlos por cambio de domicilio (figura 5).

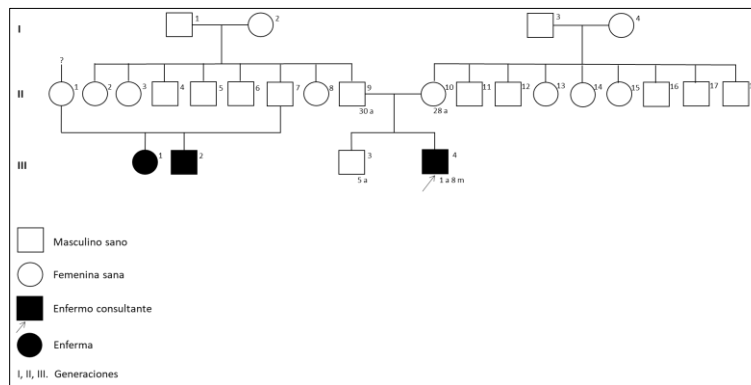


Figura 5. Árbol genealógico familiar de 3 generaciones.

La exploración física del paciente permitió identificar signos y síntomas de enfermedad por atesoramiento lisosomal, presentaba evidente retraso en el desarrollo psicomotor, no lograba mantenerse de pie, tenía la cara infiltrada, opacidad corneal, el puente nasal deprimido, las narinas antevertidas, con ronquido constante, mejillas prominentes, la cavidad oral mostró encías hipertróficas, erupción dental retrasada, cuello corto, tórax ancho, hepatomegalia a 3 centímetros del reborde costal, columna con giba lumbar, y presencia de manchas mongólicas en región lumbosacra, extremidades superiores e inferiores con piel infiltrada, limitación de los arcos de movilidad en articulaciones de codos, rodillas y ambas manos con tendencia a la deformidad en garra (figura 6). Ambos padres y el hermano mayor eran asintomáticos.

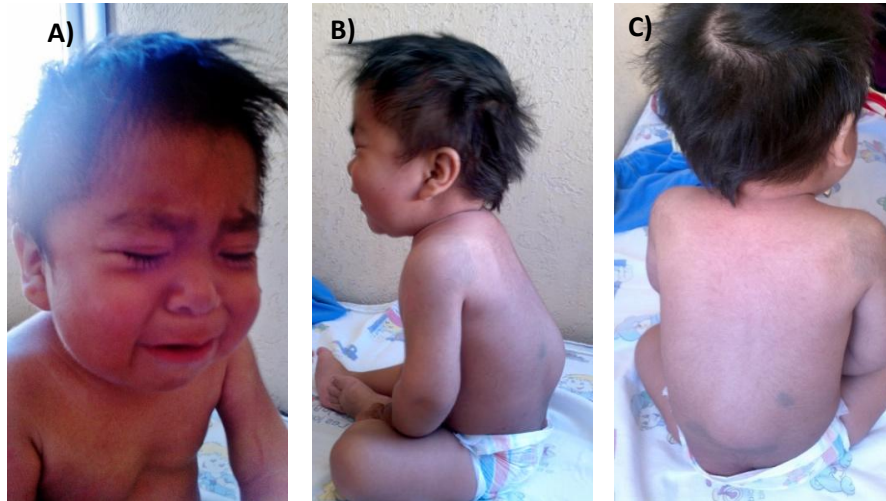


Figura 6. Fenotipo del paciente

Análisis radiológico

Las radiografías del paciente mostraron signos clínicos de disostosis múltiple, en la radiografía de la mano presentaba ensanchamiento de los huesos metacarpianos y las falanges, con evidencia de retraso en la maduración ósea, en la radiografía lateral de columna se observa cifoescoliosis lumbar y vertebras ovoideas con espículas en forma de gancho. (figura 7). los padres y el hermano no presentaron alteraciones esqueléticas.



Figura 7. Signos radiológicos de disostosis múltiple

Análisis bioquímico

Los estudios bioquímicos del paciente mostraron los siguientes resultados.

La biometría hemática con línea celular eritrocitaria, plaquetaria y leucocitaria en parámetros normales, la química sanguínea mostró glucemia normal, nitrógeno ureico, urea, creatinina en parámetros normales.

El examen general de orina con características macroscópicas y microscópicas normales, no se realizó determinación de glucosaminoglicanos en orina debido a que la prueba no estuvo disponible, las enzimas musculares creatina fosfoquinasa total y creatina fosfoquinasa fracción MB se reportaron normales, las pruebas de función hepática mostraron niveles de bilirrubinas normales y elevación de la transaminasa aspartato aminotransferasa y la transaminasa alanino aminotransferasa. No se realizó determinación de glucosaminoglicanos en orina debido a que la prueba no estuvo disponible. No fue necesario solicitar estudios bioquímicos a ambos padres debido a que estaban asintomáticos.

Análisis enzimático

La cuantificación de la actividad enzimática de alfa-l-iduronidasa en leucocitos de sangre periférica del paciente; se reportó disminuida con valor de 0.1 $\mu\text{mol/l/h}$ (referencia: $\geq 2.5 \mu\text{mol/l/h}$). Esta misma cuantificación se realizó en una muestra de sangre del hermano de 5 años, reportándose en rangos normales, 5.6 $\mu\text{mol/l/h}$. En los padres este estudio no fue realizado.

Análisis genético

La secuenciación de los 14 exones y las uniones exón/intrón del gen *IDUA* en el paciente, mostró una variante patogénica heterocigota en el exón 1 de uno de los alelos, consistente con una delección de 12 nucleótidos, (*c.46_57del*) que condiciona la pérdida de 4 aminoácidos en la cadena polipeptídica de la proteína (*p.S16_A19 del*) previamente descrita en la literatura; también mostró dos variantes heterocigotas en el exón 2

observándose un cambio del nucleótido G por A (c.299G>A p.R100K) y en el intrón 2 un cambio del nucleótido G por T (c.299+1G>T) del otro alelo, previamente no descritas en la literatura. (figura 7 y 8).

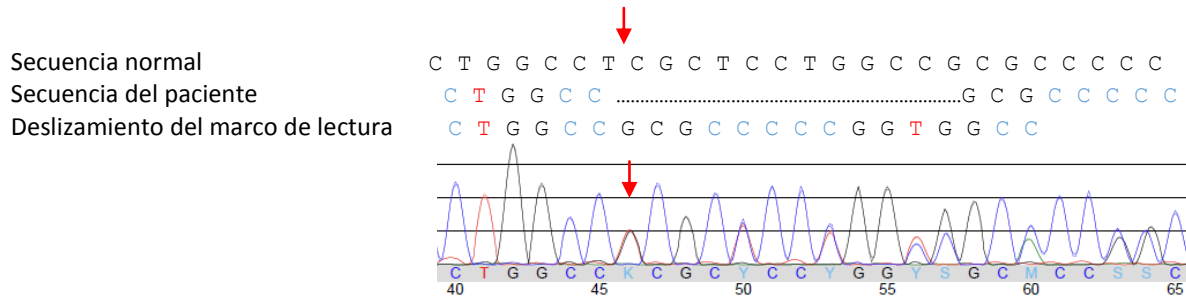


Figura 8. Secuencia normal del gen IDUA y secuencia del paciente que muestra la delección (c.46-57del), en el exón 1, lo que condiciona que se recorra el marco de lectura.

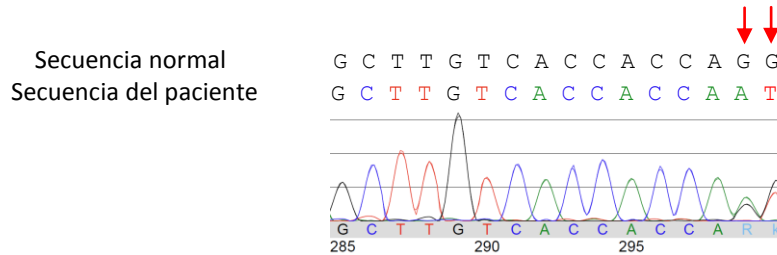


Figura 9. Secuencia normal del gen IDUA, y secuencia del paciente con dos variantes en la unión exón/intrón; c.299G>A en el exón 2 y c.299+1G>T en el intrón 2.

En el hermano se encontraron las mismas dos variantes en el exón e intrón 2; en el padre la variante patológica del exón 1, mientras que en la madre no se encontraron variantes patológicas en ambos alelos. En todos los individuos estudiados se observaron además algunos polimorfismos, en la secuencia del gen, sin relevancia clínica (Tabla 3).

Tabla 4. Resultados del estudio genético en los 4 miembros de la familia

Localización	Variantes en el paciente	Variantes en el hermano	Variantes en el padre	Variantes en la madre	Resultado
Exón 1	c.24C>A (het)	c.24C>A (het)	c.24C>A (het)	c.24C>A (homo)	SNP
Exón 1	c.46-57del (het)	-	c.46-57del (het)	-	Patogénica
Exón 2	c.299G>A(het)	c.299G>A(het)	-	-	Incierto
Intrón 2	c.299+1G>A (het)	c.299+1G>A (het)	-	-	Probable patogénica
Exón 7	c.891C>T (het)	-	c.891C>T (het)	-	SNP

12. DISCUSION DE RESULTADOS

La mucopolisacaridosis tipo 1 es una enfermedad ocasionada por mutaciones en el gen *IDUA*, localizado en la región 4p16.3 (18,19). En el presente estudio se encontró la variante patogénica *c.46_57del*, que corresponde con la delección de 12 nucleótidos en el exón 1, lo que condiciona la pérdida de 4 aminoácidos, en la posición 16 al 19 de la proteína, previamente reportada en la literatura. Esta delección probablemente impida el transporte correcto de la proteína al retículo endoplásmico así como su procesamiento y transporte hacia el lisosoma (28). El análisis molecular mostró también dos variantes, *c.299G>A* en el exón 2, que condiciona el cambio del aminoácido arginina por lisina en la posición 100 de la proteína y *c.299+1G>T* en el intrón 2 que afecta secuencias altamente conservadas necesarias para el splicing durante el procesamiento postranscripcional, ambas variantes no habían sido reportadas previamente en la literatura (figura 9), aunque una mutación parecida ha sido reportada previamente en la misma posición *c.299+1G>A*, esta variante podría condicionar fenómeno de exon skipping o salto del exón e incluir el intrón 2 durante el procesamiento postranscripcional y durante la traducción, en el caso previamente descrito la actividad de la enzima estaba patológicamente disminuida (27).

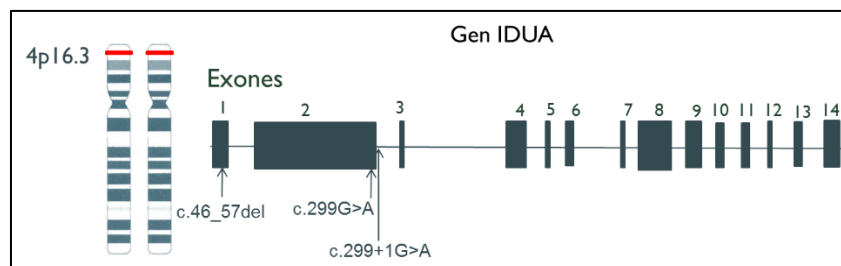


Figura 10. Locus, estructura del gen y sitio de las variantes encontradas en el estudio molecular de la familia en el presente estudio.

En el presente caso de MPS tipo I, se observa que el paciente presenta los datos clínicos de la enfermedad y los análisis radiológicos y bioquímicos coincidían con la posibilidad diagnóstica, finalmente el estudio genético permitió identificar las variantes patogénicas en el gen *IDUA*, relacionadas con la síntesis defectuosa de la enzima alfa-l-iduronidasa que

condicionó el acumulo de dermatán y heparán sulfato a nivel lisosomal en sus tejidos y órganos condicionándole la enfermedad. En la figura 10 se puede observar la segregación de estas variantes patogénicas, en el paciente, ambos alelos están mutados, la variante *c.46_57del*, proviene del alelo paterno, quien es portador asintomático y las dos variantes *c.299G>A* en el exón 2 y *c.299+1G>T* en el intrón 2, proviene del alelo materno. En el hermano, un alelo sano y las dos variantes *c.299G>A* en el exón 2 y *c.299+1G>T* en el intrón 2 proveniente del alelo materno, le condiciona un estado de portador asintomático. El estudio genético de ambos alelos del gen *IDUA* en la madre no mostró variantes patogénicas, por lo tanto podría considerarse la posibilidad de presentar mosaicismo germinal (35–37).

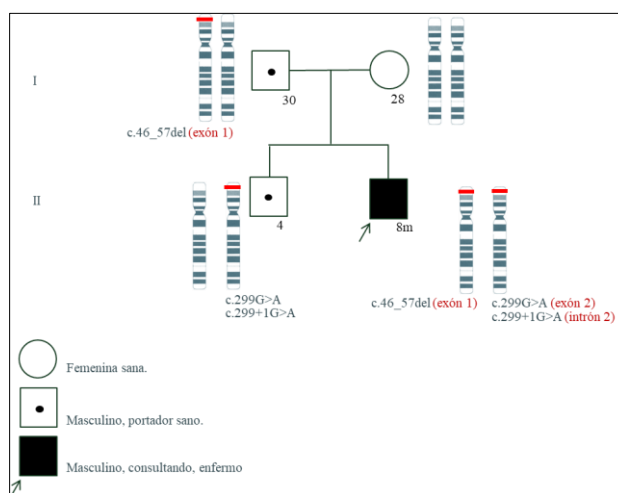


Figura 11. Modo de herencia de la mucopolisacaridosis tipo 1 en la familia estudiada.

13. CONCLUSIONES

En el presente trabajo se realizó un análisis clínico, radiológico, bioquímico y genético en una familia con la finalidad de confirmar el diagnóstico de MPSI en uno de los hijos y evaluar la situación clínica del otro hijo y de ambos padres.

La evaluación clínica de la familia, permitió identificar signos y síntomas de las EAL, aunque los datos clínicos estaban presentes desde antes del año, el diagnóstico fue tardío

debido a que las valoraciones médicas previas no identificaron el padecimiento, probablemente debido a que no están familiarizados con este tipo de trastornos.

Con la sospecha clínica se solicitaron en un primer tiempo, auxiliares de diagnóstico por imagen y bioquímicos, los estudios radiográficos de extremidades y columna, mostraron datos compatibles con disostosis múltiple, los estudios bioquímicos iniciales, mostraron algunos cambios bioquímicos inespecíficos, los datos previos apoyaron la sospecha diagnóstica por lo que se solicitó la determinación de la actividad de la enzima alfa-l-iduronidasa en leucocitos de sangre periférica, reportándose en niveles muy bajos en el paciente y normales en el hermano. Con estos resultados, se concluyó que el paciente presenta mucopolisacaridosis tipo I fenotipo grave también conocido como síndrome de Hurler.

Para completar el abordaje diagnóstico, justificar la terapia de reemplazo y dar asesoramiento genético a la familia, se realizó análisis genético del gen *IDUA* en los 4 miembros de la familia. Esto permitió identificar que el individuo afectado, tiene ambos alelos con variantes patogénicas causantes de enfermedad, en un alelo presenta una delección de 12 nucleótidos en el exón 1 *c.46_57del* lo que condiciona la pérdida de 4 aminoácidos en la posición 16 al 19 de la proteína, previamente reportada en la literatura, esta delección probablemente impida el transporte de la proteína al retículo endoplásmico, así como su procesamiento y transporte hacia el lisosoma, lo que finalmente ocasiona ausencia de la enzima a nivel lisosomal.

En el otro alelo se identificaron dos variantes, *c.299G>A* en el exón 2, que origina el cambio del aminoácido arginina por lisina en la posición 100 de la proteína y *c.299+1G>T* en el intrón 2 que afecta secuencias altamente conservadas necesarias para el corte y empalme de exones, (splicing) durante el procesamiento postranscripcional, ninguna de estas variantes ha sido reportadas previamente en la literatura. La variante *c.299+1G>T* podría condicionar el fenómeno de salto del exón (exón skipping) e incluir el intrón 2 durante el procesamiento postranscripcional del RNA mensajero y traducción de la proteína, condicionando alteraciones en el transporte y procesamiento postraducciona l o alterando completamente la función. Una variante patogénica similar ha sido reportada

previamente en la misma posición *c.299+1G>A*; en ese caso la actividad de la enzima estaba patológicamente disminuida.

En el otro hijo se identificaron las dos variantes *c.299G>A* y *c.299+1G>T*, sus niveles enzimáticos estuvieron en rangos normales, lo que hace suponer que ambas variantes se encuentran en un mismo alelo y le condiciona a este individuo un estado de portador sano.

En el análisis molecular del genoma paterno, se identificó la variante *c.46_57del* en un alelo y secuencia normal en el otro, lo que le condiciona un estado de portador sano.

Ambos alelos maternos se reportaron con secuencia normal del gen *IDUA*, análisis que se realizó por duplicado, considerando la situación clínica de ambos hijos, se podría considerar en este caso la posibilidad de mosaicismo germinal materno lo que explicaría el origen de las variantes *c.299G>A* y *c.299+1G>T* descritas previamente.

14. PERSPECTIVAS

Las mucopolisacaridosis son enfermedades metabólicas de baja frecuencia sin embargo no por ello de menor importancia para la salud pública en nuestro país, desde que la terapia de reemplazo enzimático está disponible en México, se han sumado cada vez más los esfuerzos para identificar y tratar estas enfermedades antes que se presenten las complicaciones irreversibles. Conocer el perfil genético de los pacientes con MPSI en nuestro país sería de mucho interés para establecer estrategias de diagnóstico genético en población afectada.

15. LINEAMIENTOS BIOETICOS

El presente trabajo se realizó con una familia que se atiende en el Hospital Infantil de Tlaxcala y actualmente recibe terapia de reemplazo enzimático en el Hospital Para el Niño Poblano, los resultados previamente descritos fueron solicitados bajo autorización de los padres y fueron entregados personalmente, como parte de la atención médica, los resultados fueron utilizados para complementar el asesoramiento genético.

Prevía autorización de la familia a través de la carta de consentimiento informado, los datos del presente trabajo se pretenden publicar en una revista internacional, salvaguardando los datos de acuerdo con la Ley Federal de Protección de Datos Personales en Posesión de Sujetos Obligados y la Ley de Protección de Datos Personales para el Estado de Tlaxcala.

16. REFERENCIAS BIBLIORÁFICAS

1. Pereira CS, Ribeiro H, Macedo MF. From Lysosomal Storage Diseases to NKT Cell Activation and Back. *Int J Mol Sci.* 2017;18(February):502.
2. Parenti G, Andria G, Ballabio A. *Lysosomal Storage Diseases : From Pathophysiology to Therapy.* 2015;
3. Alroy J, Lyons JA. *Lysosomal Storage Diseases. J Inborn Errors Metab & Screening.* 2014;1–20.
4. Kingma SDK, Bodamer OA. Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism Epidemiology and diagnosis of lysosomal storage disorders ; challenges of screening. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2014;1–13.
5. Parkinson-lawrence EJ, Shandala T, Prodoehl M, Plew R, Borlace GN, Brooks DA. *Lysosomal Storage Disease : Revealing Lysosomal Function and Physiology these diseases have informed our knowledge on.* 2010;102–15.
6. Vellodi A. *Lysosomal storage disorders. Br J Haematol.* 2004;128:413–31.
7. Xu H, Ren D. *Lysosomal Physiology. Annu Rev Physiol.* 2015;77:57–80.
8. Khan SA, Peracha H, Ballhausen D, Wiesbauer A, Rohrbach M, Gautschi M, et al. *Epidemiology of mucopolysaccharidoses. Mol Genet Metab [Internet].* 2017;121(3):227–40. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ymgme.2017.05.016>
9. Frati-munari AC. *Glicosaminoglicanos en las enfermedades vasculares. Rev Mex Angiol.* 2012;40(julio-septiembre):89–99.
10. Cimaz R, Torre F La. *Mucopolysaccharidoses. Curr Rheumatol Rep.* 2014;16(24):380–9.
11. Muenzer J. *Overview of the mucopolysaccharidoses. Rheumatology.* 2011;50(October):4–12.

12. Neufeld EF. Lysosomal storage diseases. 1991;
13. Neufeld EF, Muenzer J. PART 16: LYSOSOMAL DISORDERS Chapter 136: The Mucopolysaccharidoses Elizabeth F. Neufeld, Joseph Muenzer. 2010. 1-73 p.
14. Beck M, Arn P, Giugliani R, Muenzer J, Okuyama T, Taylor J, et al. Open The natural history of MPS I : global perspectives from the MPS I Registry. Nature. 2009;(February 2014).
15. Tebani A, Zanoutene-cheriet L, Adjtoutah Z. Clinical and Molecular Characterization of Patients with Mucopolysaccharidosis Type I in an Algerian Series. :1–8.
16. Suarez-guerrero JL, José P, Gómez I, Sebastian J, Flórez A, Adolfo G. Mucopolisacaridosis : características clínicas , diagnóstico y de manejo. Rev Chil Pediatría [Internet]. 2016;87(4):295–304. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.rchipe.2015.10.004>
17. Kaissi A Al, Hofstaetter J, Weigel G, Grill F, Ganger R, Kircher SG. The constellation of skeletal deformities in a family with mixed types of mucopolysaccharidoses. 2016;0(May):1–7.
18. Idua G, Scott HS, Ashton LJ, Eyret HJ, Baker E, Brooks TDA, et al. Chromosomal Localization of the Human α -L-iduronidase. 1990;802–7.
19. Scott H, Guo X, Hopwood JJ, Morris CP. SHORT COMMUNICATION Structure and Sequence of the Human α -L-Iduronidase Gene. Genomics. 1992;13:1311–3.
20. Bremer S, Ohlsson A, Brodtkorb E, Rootwelt H, Rootwelt T, Woldseth B, et al. A novel mucopolysaccharidosis type I associated splice site mutation and IDUA splice variants. Mol Genet Metab [Internet]. 2011;104(3):289–94. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ymgme.2011.07.012>
21. Prommajan K, Ausavarat S, Srichomthong C, Puangsricharern V, Suphapeetiporn K, Shotelersuk V. A novel p . E276K IDUA mutation decreasing α -L-iduronidase activity causes mucopolysaccharidosis type I. 2011;(December 2010):456–60.

22. Mandelli J, Wajner A, Pires RF, Coelho JC. Detection of Mucopolysaccharidosis Type I Heterozygotes Based on the Biochemical Characteristics of Leukocyte α -L-Iduronidase. 2002;33:20–4.
23. Matte U, Yogalingam G, Brooks D, Leistner S, Schwartz I, Lima L, et al. Identification and characterization of 13 new mutations in mucopolysaccharidosis type I patients. 2003;78:37–43.
24. Yogalingam G, Guo X, Muller VJ, Brooks DA, Clements R, Kakkis ED, et al. Identification and Molecular Characterization of α -L-Iduronidase Mutations Present in Mucopolysaccharidosis Type I Patients Undergoing Enzyme Replacement Therapy. 2004;207:199–207.
25. Francesca Bertola^{1*}, Mirella Filocamo^{2*}, Giorgio Casati¹, Matthew Mort³, Camillo Rosano⁴, Anna Tyłki-Szymanska, Beyhan Tüysüz⁶, Orazio Gabrielli⁷, Serena Grossi², Maurizio Scarpa⁸, Giancarlo Parenti^{9, 10}, Daniela Antuzzi¹¹, Jaime Dalmau¹², Maja Di Rocco¹³ and RP. MUTATION IN BRIEF IDUA Mutational Profiling of a Cohort of 102 European Patients with Mucopolysaccharidosis Type I : Identification and Characterization of 35 Novel α -L-iduronidase (IDUA) Alleles. 2011;2210(November 2010):2189–210.
26. Aradi SL, Ukel TT, Razo ME, Habbeer JS, Hkioua LC. Mucopolysaccharidosis I : α -L-Iduronidase. J Inherit Metab Dis. 2005;28:1019–26.
27. Wang X, Zhang W, Shi H, Qiu Z, Meng Y, Yao F, et al. Mucopolysaccharidosis I mutations in Chinese patients : identification of 27 novel mutations and 6 cases involving prenatal diagnosis. 2012;(1):443–52.
28. Bunge S, Kieijer WJ, Steglich C, Beck M, Zuther C, Morris CP, et al. Mucopolysaccharidosis type I : identification of 8 novel mutations and determination of the frequency of the two common α -L-iduronidase mutations (W402X and Q70X) among European patients. Hum Mol Genet. 1994;3(6):861–6.

29. Muenzer J, Wraith JE, Clarke LA. Mucopolysaccharidosis I : Management and treatment guidelines. *Pediatrics*. 2009;123(January):19–29.
30. Parini R, Deodato F, Rocco M Di, Lanino E, Locatelli F, Messina C, et al. Open issues in Mucopolysaccharidosis type. 2017;1–9.
31. Giugliani R, Federhen A, Verônica M, Rojas M, Vieira T. Mucopolysaccharidosis I , II , and VI : Brief review and guidelines for treatment. 2010;604:589–604.
32. Aldenhoven M, Jones SA, Bonney D, Borrill RE, Coussons M, Mercer J, et al. Biology of Blood and Marrow Transplantation Hematopoietic Cell Transplantation for Mucopolysaccharidosis Patients Is Safe and Effective : Results after Implementation of International Guidelines. *Biol Blood Marrow Transplant* [Internet]. 2015;21(6):1106–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbmt.2015.02.011>
33. Dornelles AD, Lapagesse L, Pinto DC, Paula AC De, Eduardo C, Lourenço CM, et al. Enzyme replacement therapy for Mucopolysaccharidosis Type I among patients followed within the MPS Brazil Network. 2014;29:23–9.
34. Dain D, Horovitz G, Acosta AX, Giugliani R, Hlavatá A, Hlavatá K, et al. Alternative laronidase dose regimen for patients with mucopolysaccharidosis I : a multinational , retrospective , chart review case series. *Orphanet J Rare Dis* [Internet]. 2016;1–8. Available from: <http://dx.doi.org/10.1186/s13023-016-0437-8>
35. Biesecker LG, Spinner NB. A genomic view of mosaicism and human disease. *Nat Publ Gr* [Internet]. 2013;14(5):307–20. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/nrg3424>
36. Zlotogora J. Germ line mosaicism. *Hum Genet*. 1998;102:381–6.
37. Hall JG. Review and Hypotheses : Somatic Mosaicism : Observations Related to Clinical Genetics. 1988;355–63.

17. ANEXOS

Anexo 1. Hoja de registro del protocolo en la institución donde se realizó el estudio



TLAXCALA
GOBIERNO DEL ESTADO
2011 - 2016

SALUD DE TLAXCALA
HOSPITAL INFANTIL DE TLAXCALA



San Matías Tepetomatitlán, Apetatitlán de Antonio Carvajal, Tlaxcala. A 29 de febrero de 2016

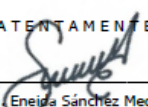
Asunto: Registro de Protocolo

Dr. Federico Osorio Antonio
P R E S E N T E

Por medio de la presente le envío un cordial saludo, y a la vez me permito informarle que de acuerdo a la solicitud realizada a esta Jefatura de Enseñanza e Investigación para registro de su Proyecto de Investigación titulado: **"Caracterización Molecular del Gen IDUA en una Familia Afectada con Mucopolisacaridosis tipo 1"**, se le ha otorgado el número de registro: **HIT/CI/2016/004**, mismo que será sometido a evaluación por el Comité de Investigación y al Comité de Ética en Investigación de éste Hospital Infantil de Tlaxcala en la siguiente reunión ordinaria.

Sin más por el momento le reitero el saludo y mi más distinguida consideración

ATENTAMENTE



Dra. Eneida Sánchez Medina
Jefa de Enseñanza e Investigación

c.c.p. archivo



**Desarrollo
para Todos**

20 de noviembre s/n San Matías
Tepetomatitlán, Antonio Carvajal, Tlax.
C.P. 90606

Tel. (246) 46 5 17 00
www.hit.gob.mx

Anexo II. Aprobación del comité ética en investigación



TLAXCALA
GOBIERNO DEL ESTADO

SALUD DE TLAXCALA
HOSPITAL INFANTIL DE TLAXCALA



San Matías Tepetomatitlán, Apetomatitlán de Antonio Carvajal Tlaxcala, a 25 de marzo de 2016

Asunto: Dictamen de evaluación del protocolo de investigación

**Dr. Federico Osorio Antonio
PRESENTE**

Por medio de la presente me permito informarle que de acuerdo a la solicitud realizada a la Jefatura de Enseñanza e Investigación para evaluación de su proyecto de Investigación titulado: **"Caracterización molecular del gen IDUA en una Familia afectada con mucopolisacaridosis tipo 1"** con número de registro **HIT/CI/2016/004**, le informo que se ha dictaminado como aprobado, por lo que a partir de la fecha podrá empezar con su proyecto de Investigación, comunicándole que presentar un Informe de los avances del mismo cada 6 meses en forma escrita al comité de investigación del hospital

Sin más por el momento le envío un cordial saludo

ATENTAMENTE



Dra. Enedina Sánchez Medina
Jefa de Enseñanza e Investigación

c.c.p. archivo



**Desarrollo
para Todos**

20 de noviembre s/n San Matías
Tepetomatitlán, Antonio Carvajal, Tlax.
C.P. 90606

Tel. (246) 46 5 17 00
www.hit.gob.mx

Anexo III. Carta de consentimiento informado



TLAXCALA
GOBIERNO DEL ESTADO

SALUD DE TLAXCALA
HOSPITAL INFANTIL DE TLAXCALA



CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

San Matías Tepetomatitlán, Apetatitlán de Antonio Carbajal, Tlaxcala. A 15 de febrero de 2016

Yo Juan Pasten Valadez
y Nicolasa Santos Díaz

Doy mi consentimiento, en forma libre, voluntaria y sin presiones al Dr. Federico Osorio Antonio del servicio de Genética del Hospital Infantil de Tlaxcala, para que realice los estudios y procedimientos necesarios, para el diagnóstico de la enfermedad de mi hijo y para que realice los estudios necesarios en toda mi familia para poder establecer, la causa de la enfermedad, incluyendo estudios de imagen y estudios de sangre, y estudios de genética, con la finalidad de conocer la enfermedad, su origen y el tratamiento para que mejore su salud.

El doctor Federico Osorio Antonio me ha explicado, que estos estudio se realizaren como parte de un proyecto de investigación titulado **"Caracterización Molecular del Gen IDUA en una Familia Afectada con Mucopolisacaridosis tipo 1"**, y para tal estudio, será necesario tomar fotografías de mi hijo y de los resultados de los estudios que se realicen, así mismo me ha explicado que los datos que se obtengan de este proyecto de investigación podrán ser publicados en foros médicos y en revistas científicas.

Nombre y firma del padre Juan Pasten Valadez

Nombre y firma de la madre Nicolasa Santos Díaz

Nombre y Firma del Investigador Dr. Federico Osorio Antonio



Desarrollo para Todos

20 de noviembre s/n San Matías Tepetomatitlán, Antonio Carbajal, Tlax., C.P. 90006

Tel. (244) 46 5 17 00
www.hi.tlax.gob.mx

Anexo IV. Hoja de autorización de la tesis firmada por todos los directores de la tesis.



Puebla, Puebla a 16 de mayo de 2019
Asunto: Autorización de impresión de tesis

Mtra. Rosaura Rosas
Directora de la Maestría en Ciencias de la Salud

Le saludo cordialmente y le informo que el alumno **Federico Osorio Antonio** estudiante de la Maestría en Ciencias de la Salud con ID no. 3377460 y matrícula no. 16540002, terminó satisfactoriamente su trabajo de tesis titulado:

Caracterización Molecular del Gen IDUA en una Familia Afectada con Mucopolisacaridosis tipo I

Como asesora metodológica de dicho proyecto, autorizo su impresión.

Quedo a sus órdenes,



Dra. Ma. del Rocío Baños-Lara
Profesor-Investigador UPAEP
Miembro del Sistema Nacional de Investigadores CONACyT, nivel I.
marocio.banos@upaep.mx
Centro de Investigación Oncológica Una Nueva Esperanza-UPAEP
Directora.