

Instituto de Neurología y Neurocirugía

ERRORES INNATOS DEL METABOLISMO. ENFERMEDADES LISOSOMALES

M. Sc. Caridad Menéndez Saíenz,¹ Dra. Claudina Zaldívar Muñoz² y Dra. Alina González-Quevedo Monteagudo³

RESUMEN

Dentro de los errores innatos del metabolismo se encuentran las enfermedades de almacenamiento lisosomal o enzimopatías lisosomales, las cuáles se caracterizan por un déficit enzimático específico, la excreción de metabolitos por la orina y la acumulación de los compuestos no degradados en diferentes órganos y tejidos que ocasionan la disfunción de éstos. Tienen un patrón de herencia autosómico recesivo, excepto para la enfermedad de *Fabry* y la enfermedad de Hunter en las que el patrón de herencia está ligado al cromosoma X. Estas enfermedades tienen una baja incidencia en general, aunque hay poblaciones donde algunas de ellas tienen una alta incidencia. Su importancia radica en la magnitud que representan como problema de salud, por la pobre calidad de vida de esos pacientes, así como su fallecimiento prematuro, motivo por el cual hay que evitar los nacimientos de nuevos niños afectados.

DeCS: ERRORES INNATOS DEL METABOLISMO/diagnóstico; ENFERMEDADES POR ALMACENAMIENTO LISOSOMICO/genética; TECNICAS Y PROCEDIMIENTOS DIAGNOSTICOS.

Aunque desde principios del siglo XIX (1810) *Wollaston* descubrió el primer error innato del metabolismo, no fue hasta 1908 cuando *Garrot* estableció el término e intuyó que un bloqueo metabólico podía ser el defecto primario que determinara las alteraciones observadas en éstos.

El establecimiento de un bloqueo metabólico como defecto primario, abría una

nueva etapa en la medicina. La investigación de la variabilidad genética ha contribuido al avance en los conocimientos de las vías metabólicas, de la fisiología y la biología humana y del papel de los orgánulos celulares.¹

El progreso al principio fue lento, pero se aceleró en la década del 50 con el desarrollo de nuevas tecnologías, como son: los

¹ Master en Bioquímica Clínica. Investigadora Agregada. Instituto de Neurología y Neurocirugía.

² Profesora Titular. Facultad en Biología. Universidad de La Habana.

³ Especialista de II Grado en Bioquímica. Investigadora Titular. Instituto de Neurología y Neurocirugía.

métodos cromatográficos, las técnicas electroforéticas de separación de proteínas, la enzimología con una gran variedad de sustratos, incluidos los marcados radioisotópicamente. Las técnicas de cultivo celulares incrementaron progresivamente la capacidad de detectar nuevos errores innatos del metabolismo y analizar sus consecuencias metabólicas. El desarrollo de la tecnología del ADN proporcionó además la posibilidad de descifrar directamente las causas de los errores innatos del metabolismo, es decir las mutaciones y al integrar esos conocimientos con los de la bioquímica metabólica y la biología celular, permitió comprender cómo se alteran la síntesis, la modificación postraduccional, el procesamiento y la localización de numerosos productos genéticos clínicamente relevantes y las consecuencias para el individuo.²

Los errores innatos del metabolismo o enfermedades metabólicas hereditarias se definen como trastornos bioquímicos determinados genéticamente en la estructura y/o función de las moléculas protéicas. El diagnóstico preciso de los errores innatos del metabolismo en edades tempranas de la vida es esencial para el éxito de los tratamientos (en los casos que sean susceptibles de éstos) y para realizar un buen cuidado médico y psicosocial de los pacientes y su familia. Además es un requisito previo para un asesoramiento genético óptimo.³

Estas enfermedades aunque tienen una baja incidencia (1/15 000),⁴ son muy importantes desde el punto de vista de su magnitud como problema de salud, por su gravedad y constituyen la causa de muertes prematuras, severos trastornos neurológicos, retraso mental y en general pobre calidad de vida; dependencia de otras personas, institucionalización, gastos de

salud elevados y como consecuencia cargas familiares, sociales y económicas muy notables.⁵

El análisis bioquímico constituye la base del diagnóstico de estas enfermedades, pero el punto de partida de cualquier investigación es la hipótesis diagnóstica formulada sobre la base de los signos y síntomas clínicos de alarma, y el clínico ha de saber reconocerlas y tomar la decisión de cuáles son los pacientes que han de ser remitidos al laboratorio de genética bioquímica.

La detección de las enfermedades metabólicas hereditarias se apoya sólo en una parte muy pequeña de los programas de diagnóstico precoz y en realidad dependen fundamentalmente del índice de sospecha clínica y laboratorios de diagnóstico especializado.⁶

Las investigaciones bioquímicas tienen una complejidad creciente y la colaboración interdisciplinaria entre pediatras, genetistas y bioquímicos especializados es muy necesaria para conseguir buenos resultados diagnósticos.

Dentro de los errores innatos del metabolismo, ocupa un capítulo importante el que se relaciona con los trastornos genéticamente determinados del lisosoma, lo cual da lugar a las enfermedades lisosomales, que serán expuestas a continuación.

ENFERMEDADES LISOSOMALES, CARACTERÍSTICAS GENERALES

Las enfermedades lisosomales son trastornos hereditarios que se producen por la incapacidad de degradar las macromoléculas por un defecto funcional específico. Esta disfunción provoca la

acumulación de macromoléculas en el lisosoma y es la causa de la enfermedad.

Los lisosomas fueron descubiertos por *De Duve*,⁷ pero la relación que existe entre los lisosomas y las enfermedades de almacenamiento fue establecida por *Hers*^{8,9} cuando demostró que el déficit de la enzima maltasa ácida (á-glucosidasa) provocaba la acumulación de glucógeno en el interior de los lisosomas, en los pacientes que padecían la enfermedad de Pompe (Glucogenosis Tipo II).

Hasta el presente se han descrito alrededor de 40 tipos de enfermedades por almacenamiento lisosomal y si consideramos los diferentes subtipos y variantes llegan hasta 50.¹⁰⁻¹²

En la mayoría de los casos éstas enfermedades son a causa de la deficiencia de una hidrolasa lisosomal (o de una subunidad de la enzima) implicada en la degradación de macromoléculas, pero también puede ser por la deficiencia de una proteína activadora de la enzima¹³ o de un transportador de la membrana lisosomal encargada de facilitar la salida de pequeñas moléculas hacia el exterior del organelo.¹⁴

Para su descripción se acostumbra convencionalmente a agrupar las enfermedades lisosomales bajo los nombres químicos de los sustratos no degradados que se acumulan: lipidosis, mucopolisacaridosis y glucoproteinosis.¹¹

Se transmiten con herencia autosómica recesiva, excepto 2 de ellas que están ligadas al cromosoma X (enfermedad de Hunter y enfermedad de Fabry).

Su incidencia global no se conoce con exactitud, pero en cualquier caso las frecuencias individuales estimadas son bajas (aproximadamente 1 a 4/100 000 nacimientos), por ejemplo, 1/24 000: síndrome de Sanfilippo, 1/100 000: síndrome de Hunter y de Hurler. Debemos señalar que algunas de estas enfermedades prevalecen en determinadas poblaciones como la

enfermedad de Gaucher y la enfermedad de Tay Sachs en los judíos ashkenasis (con una incidencia 1/ 6000 y 1/2 500 respectivamente) o la aspartilglucosaminidasa y la enfermedad Salla al nordeste de Finlandia (frecuencia de portadores de 1/40).¹⁵ Los cuadros clínicos vienen determinados por la distribución del acúmulo en los tejidos, que a su vez es función de la localización fisiológica del sustrato implicado: sistema nervioso, órganos viscerales, tejido conjuntivo, etc. El proceso de acumulación del sustrato en los lisosomas comienza en el período fetal, pero muchas enfermedades no darán síntomas clínicos hasta el primer año de vida, y en las formas juveniles y adultas los síntomas se presentan mucho más tardíamente. El espectro de síntomas es amplio y la variación de fenotipos también; no obstante la mayoría de los pacientes muestran un desarrollo fatal con cuadros neurodegenerativos severos y en algunos casos dismorfias, alteraciones óseas diversas, afectación ocular, anomalías cutáneas y organomegalia (hepato y esplenomegalia). Para una mejor comprensión de la afección lisosomal es preciso considerar algunos aspectos básicos, como son: la biología del orgánulo, las causas genómicas y los mecanismos que llevan a la heterogeneidad clínica y bioquímica, con ello se accede en mejores condiciones al conocimiento de las posibilidades de diagnóstico, así como de las perspectivas terapéuticas y opciones preventivas que se expondrán más adelante.¹⁶

HETEROGENEIDAD GENÉTICA

El concepto original de enfermedad lisosomal congénita establecía que debía ser deficitaria una enzima implicada en el proceso degradativo del sustrato que se

acumulaba en el lisosoma. Efectivamente la mayoría de las enfermedades lisosomas son consecuencia de mutaciones diversas en los genes estructurales codificadores de las hidrolasas lisosomales, pero también se han demostrado defectos genéticamente determinados que conciernen a las proteínas que intervienen en el proceso de postraducción, localización en el orgánulo y maduración de las hidrolasas, cuya consecuencia es igualmente el acúmulo intralisosomal de sustrato. En resumen y atendiendo a las causas genómicas de las enfermedades lisosomales, se pueden establecer las siguientes categorías:

- Enfermedades a causa de mutaciones, generalmente aisladas que conciernen a genes estructurales codificadores de las hidrolasas. Si la mutación impide la transcripción a ARNm o su traducción, habrá incluso una ausencia de proteína enzimática detectable inmunológicamente. Pero la mayoría constituyen mutaciones que llevan a la síntesis de una proteína enzimática con sus propiedades catalíticas alteradas.
- Enfermedades en las cuales la proteína enzimática lisosomal no es empaquetada y procesada correctamente en los lisosomas por incapacidad de generar la señal de reconocimiento (manosa-6-fosfato), como sucede en las mucopolisidosis II / III (defectos en el procesamiento y localización de las hidrolasas ácidas).
- Enfermedades en las que la proteína enzimática es inestable en los compartimentos prelisosomal o lisosomal; por ejemplo, la galactosialidosis, a causa del déficit de una proteína activadora de la degradación proteolítica intralisosomal.
- Enfermedades por defectos en algunas de las proteínas activadoras específicas

de hidrolasas que catabolizan los esfingolípidos (SAP).

- Enfermedades en las que se afecta el mecanismo de transporte de la membrana de los metabolitos que deben salir del lisosoma, como por ejemplo lo que sucede en las enfermedades lisosomales.

En todas estas enfermedades la acumulación de los materiales no degradados conlleva a la interrupción de las funciones celulares y orgánicas, y ocasiona los signos y síntomas clínicos de las diferentes entidades patológicas. Sin embargo, la correlación entre la alteración genotípica y su expresión fenotípica es, en general, compleja. Además el carácter recesivo de las enfermedades de origen lisosomal aumenta su heterogeneidad, pues ambos alelos pueden ser portadores de mutaciones distintas que convierten al paciente en un compuesto genético. Frecuentemente estas enfermedades despliegan un amplio espectro de presentación clínica y sólo en algunas de ellas es posible relacionar las mutaciones del gen estructural con los diversos grados de severidad del trastorno metabólico.¹⁷

Esta heterogeneidad fenotípica es atribuible principalmente a:

1. Los fenómenos de alelismo múltiple en el *locus* del gen que dirige la síntesis de la enzima anómala; por ejemplo, los distintos fenotipos de los síndromes de Hurler, de Scheie y de Hurler-Schele por el déficit de la enzima α -L-Iduronidasa.
2. Mutaciones en diferentes *locis* que afectan a proteínas distintas, pero con actividad catalítica semejante, como ejemplo los subgrupos A, B, C y D de la enfermedad de Sanfilippo con fenotipos aparentemente semejantes, pero resultantes de 4 lesiones enzimáticas distintas.

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

Las hidrolasas ácidas implicadas en las enfermedades por depósito lisosomal en general, existen en 2 o más formas moleculares (isoenzimas), aunque generalmente solo una de ellas es responsable de su patogénesis. Factores como la variación en la expresión de una enzima según el tipo celular, o el tejido, o los cambios evolutivos, contribuyen también a la variabilidad clínica y bioquímica de estos trastornos.¹⁸

DIAGNÓSTICO CLÍNICO

Un aspecto primordial de las enfermedades lisosomales, al igual que en muchos otros trastornos metabólicos hereditarios, es su carácter progresivo o degenerativo. El retraso en el desarrollo o la pérdida de habilidades previamente adquiridas, la evidencia de visceromegalias, de malformaciones óseas o de signos oculares, son hallazgos que aconsejan plantear un diagnóstico de enfermedades por depósito lisosomal.

La tosquedad de los rasgos faciales y las alteraciones esqueléticas (gibosidad, ensanchamiento de los huesos largos, hipoplasia del odontoides, cifosis) son características de las mucopolisacaridosis, algunas glucoproteinosis y mucolipidosis. En varias enfermedades de las manifestaciones dermatológicas pueden ser reveladoras (anquiroqueratoma en la enfermedad de la Fabry, fucosidosis tipo 2 e hirsutismo y engrosamiento de la piel en la MPS). Otros signos posibles son macroglosia (enfermedad de Pompe, gangliosidosis GM, mucolipidosis II y MPS) y las anomalías oculares (opacidad corneal, cataratas, mancha rojo cereza retiniana, atrofia óptica, etc.¹⁹

La anatomía patológica tiene una destacada importancia. Los compuestos que se acumulan en los lisosomas, por sus propiedades fisicoquímicas, dan lugar a estructuras observables mediante técnicas de microscopía. De hecho, las primeras descripciones de enfermedades lisosomales fueron realizadas por clínicos y anatomopatológicos, y precedieron en general varios años a la identificación bioquímica de los sustratos y a la demostración de los defectos enzimáticos que los causaban y contribuyeron a la comprensión de la patogenia.

Algunos métodos se aplican a muestras accesibles en vida del paciente y tienen un valor de orientación reconocido, como la tinción melacromática de una biopsia de nervio (leucodistrofia metacromática) y la microscopía electrónica de una biopsia cutánea o de mucosa recta. La demostración de linfocitos vacuolados, granulaciones en los neutrófilos o células espumosas en la médula ósea, son también sugestivas de una implicación patológica del sistema lisosomal.²⁰

DIAGNÓSTICO BIOQUÍMICO

El diagnóstico definitivo de las enfermedades por depósito lisosomal se basa mayoritariamente en la demostración del déficit enzimático específico en suero, en leucocitos y en fibroblastos de piel cultivados; la demostración bioquímica del acúmulo en los tejidos se puede realizar en muchas enfermedades lisosomales, pero por razones obvias de accesibilidad de algunos materiales biológicos, esta última opción queda restringida a circunstancias especiales. Cuando los sustratos no degradados se excretan en orina, su estudio es muy revelante y por razones de estrategia bioquímica pueden ser el punto de partida previo a los estudios enzimáticos. Según la orientación clínica se seleccionan los materiales biológicos idóneos, así como las pruebas bioquímicas y su secuencia de ejecución.²¹

ANÁLISIS ENZIMÁTICO

Para la determinación de las actividades enzimáticas lisosomales se emplean sustratos naturales o sintéticos, obtenidos estos últimos, al unir la porción glucídica en su configuración anomérica correcta a moléculas fácilmente valorables por fluorimetría o colorimetría. La mayoría de los diagnósticos se establecen al determinar el defecto enzimático primario con la única excepción de las mucopolisacaridosis II y III, en las cuales se valora el efecto secundario resultante en la elevación de varias hidrolasas ácidas en el suero del paciente o la deficiencia conjunta de esas enzimas en fibroblastos cutáneos cultivados.

En el diagnóstico enzimático de portadores es difícil lograr una confianza estadística, pues el margen de diferencia

entre los intervalos de valores de los heterocigotos y los controles sanos es estrecho o bien se superponen.²²

ANÁLISIS QUÍMICO DEL MATERIAL ALMACENADO

Se utiliza sólo en aquellos casos en que se pueda disponer de un material de fácil acceso, como por ejemplo la excreción urinaria de glucolípidos en la leucodistrofia metacromática, el déficit múltiple de sulfatasas en la enfermedad de Fabry; la de oligosacáridos en las gangliosidosis GM₁ y GM₂ (tipo Sandhoff) y glucogenosis II, en las glucoproteinosis y en las mucosulfatidosis; la de glucosamino-glucanos en las mucopolisacaridosis, gangliosidosis GM₁ y mucosulfatidosis; la de ácido siálico en las sialurias. En todos estos casos la detección del compuesto acumulado en orina proporciona una evidencia preliminar muy útil para orientar las pruebas enzimáticas.

El estudio químico del almacenamiento en los tejidos es actualmente de capital importancia en el estudio de pacientes atípicos y de nuevas variantes, ya ha sido crucial para la comprensión de los mecanismos fisiopatológicos y la base del de cubrimiento de muchas enfermedades lisosomales, especialmente las esfingolipidosis.²³

Los estudios de composición lipídica de tejidos, con algunas limitaciones, pueden aplicarse a muestras formolizadas que no permiten determinaciones enzimáticas; incluso los cortes parafinados pueden ser recuperables. Esto permite diagnosticar retrospectivamente pacientes ya fallecidos, facilitar a la familia el acceso al consejo genético y al diagnóstico prenatal.²⁴ Las técnicas que se emplean para la identi-

ficación y cuantificación de compuestos son extremadamente variadas, y son especialmente utilizados todo tipo de métodos cromatográficos: cromatografía en capa fina en capa fina, HPLC (cromatografía líquida de alta resolución) y cromatografía de gases capilares.²⁶

DETECCIÓN DE LA LESIÓN GÉNICA

El desarrollo de técnicas sencillas para la detección de mutaciones al nivel de ADN ha facilitado la identificación de muchos trastornos monogénicos. Sin embargo la tecnología del ADN no es necesaria para el diagnóstico de los homocigotos afectados de enfermedades de depósito lisosomal. En casos concretos se emplea para obtener información sobre las diferentes mutaciones que causan el trastorno y su epidemiología, para la diferenciación entre formas de una misma enfermedad (enfermedad de Gaucher), para mejorar la detección del estado de heterocigoto en las enfermedades ligadas al cromosoma X (enfermedad de Hunter), en casos aislados de diagnóstico prenatal, en las familias con pseudodeficit (leucodistrofia metacromática) y en general teniendo como objetivo la investigación.²⁵

Con escasas excepciones se ha clonado la mayoría de los genes o fragmentos de ADN que codifican las enzimas y proteínas implicadas en los trastornos lisosomales. La mayor esperanza en este campo sería su utilización para algún tipo de tratamiento de sustitución génica.¹⁰

TRATAMIENTO Y PREVENCIÓN

Desde los primeros intentos terapéuticos de sustitución enzimática en la enfermedad de Pompe, se han descrito

diversas aproximaciones para corregir la lesión metabólica en las enfermedades de origen lisosomal, con la inclusión de la administración de plasma no fraccionado o de leucocitos, el empleo de inyecciones de la enzima purificada de plasma, placenta o bazo y la implantación de una fuente de producción enzimática (trasplante de fibroblastos, de células amnióticas epiteliales y trasplante de riñón, hígado y bazo).²⁶

Si bien algunos de estos tratamientos han resultado eficaces para reducir determinadas manifestaciones clínicas, no han aportado ninguna mejoría en aquellas enfermedades que afectan el sistema nervioso central. El trasplante de médula ósea (TMO) ha sido considerado, sin embargo, beneficioso por lo menos en algunas de estas enfermedades, inicialmente se ensayó este procedimiento de 2 pacientes con MPS, los cuales tuvieron mejoría de la capacidad corneal y de la visceromegalia, aunque no modificó las anomalías óseas.²⁷

El TMO se puede considerar el prelude para la terapia génica, pues si un nivel continuamente incrementado de la enzima, tal como el que suministra el TMO, resultase en una mejoría clínica, se facilitaría con ello el desarrollo de nuevas tecnologías que permitirían la introducción del gen deficitario en las propias células del paciente.

En ausencia de un tratamiento eficaz o definitivo, el cuidado de estas enfermedades es básicamente sintomático.

Dada la gravedad de las enfermedades lisosomales y la limitación de recursos terapéuticos, es importante la prevención de nuevos casos en las familias afectadas, a través del consejo genético. Para ello es preciso haber llegado al diagnóstico bioquímico exacto y se estará entonces en condiciones de ofrecer la información

necesaria sobre el tipo de herencia, riesgo de recurrencia, desarrollo clínico más probable y disponibilidad de metodología para detectar heterocigotos portadores y para el diagnóstico prenatal, para lo cual se emplean células de líquido amniótico cultivadas o biopsia de vellocidades de corio. La prevención es secundaria, puesto que requiere la identificación previa de un caso índice.

En países con una alta incidencia de enfermedad de Tay-Sachs (1/2 000) como Israel, Inglaterra. Canadá y Estado Unidos de Norteamérica se han implantado programas de detección de heterocigotos.²⁸⁻³²

En la enfermedad de Gaucher la terapia de reemplazo enzimático con la utilización glucocerebrosidasa (aglucerasa, Ceredase) está dando resultados alentadores.³³

SUMMARY

Among the metabolism inborn errors, there are the lysosomal storage diseases or lysosomal enzymopathies that are characterized by an specific enzymatic deficiency, excretion of metabolites in urine and accumulation of non-degraded compounds in various organs and tissues causing their dysfunction. These diseases have a recessive autosomal heredity, except for Fabry's disease and Hunter's disease in which the pattern of heredity is chromosome X-linked. These diseases have a low incidence in general although there are populations where they show a high incidence. Their importance lies in what they represent as a health problem because of the poor quality of life of these patients and their early death, therefore, it is necessary to prevent the birth of new infants affected with these diseases.

Subject headings: METABOLISM INBORN ERRORS/diagnosis; LYSOSOMAL STORAGE DISEASES/genetics; DIAGNOSTIC TECHNIQUES.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Pampols T. Del Cromosoma al Gen. Libro Commemorativo del 25 Aniversario del Instituto de Bioquímica Clínica. Barcelona, 1995;173-209.
2. Diez A. Errores congénitos del metabolismo. Congreso de Pediatría. Cuba, 1984; 47-55.
3. Galjaard H. Genetic Metabolic Diseases. Early Diagnosis and Prenatal Analysis. Elsevier/North/Holland. Biomedical Press 1980;82-121.
4. Hopwood JJ, Morris CP. The mucopolysaccharidoses: Diagnosis, molecular genetics and treatment. Mol Biol Med 1990;381-404.
5. Imarzuki M, Gushi K, Kriwit WI. Long term effects of bone marrow transplantation for inborn errors of metabolism a study of four patients with lysosomal storage diseases. Acta Paediatr ((Jpm) 1994;feb 36(1):30-6.
6. Maya A. Situación actual de los programas de detección neonatal en España. Premio Reina Sofía de Investigación sobre Prevención de las Deficiencias 1994;177-185.
7. Duve Ch, Pressman BC, Gianetto R, Wattiaux R, Appelmans F. Tissue fraction studies. Intracellular distribution patterns of enzymes in rat liver tissue. Biochem J 1955;60:604-617.
8. Hers HG. Alpha-glucosidase deficiency in generalized glycogen storage disease (Pompe's disease). Biochem J 1963;86:11-16.
9. Hers HG. In bom bysosomal diseases Gastroenterology 1965;48:625.

10. Reuser A, Poretz R, Kross MA, Visser WJ, Willemsen R. Lysosomal storage diseases: celular pathology, clinical and genetic heterogenelly, therapy. *Ann Biol Clin* 1994; 52:721-728.
11. Chabás A, Coll MJ. Malalties lisosòmiques. Del Cromosoma al Gen. Libro conmemorativo de los 25 años del Instituto de Bioquímica Clínica. Corporación Sanitaria 1995;317-88.
12. Gieselmann V. Lysosomal storage diseases. *Biochim Biophys Acta* 1995;1270:103-36.
13. Furst W, Sandhoff K. Activator proteins and topology of lysosomal sphingolipids catabolism *Biochim Biophys Acta* 1992;1126:1-16.
14. Pisoni RL, Theone JG. The transport system of mammalian lysosome. *Biochim Biophys Acta* 1991;1071:351-73.
15. Gort L. Análisi molecular de la mucopolisacaridosi I, la mucopolisacaridosi II i la leucodistròfia metacromàtica en els pacients espanyols. Utilitat diagnòstica i correlació genotip-fenotip. Tesis Doctoral 2000; 17-67.
16. Watts RWE, Gibbs DA. *Lysosomal Storage Diseases: Biochemical and Clinical Aspects*. London and Philadelphia Taylor & Francis, 1986;1-33.
17. Scriver CR, Beaudet AL, Sly W, Valle D. *The metabolic and molecular basic of inherited diseases*. Nueva York: Mac Graw-Hill 1995;2465-94.
18. Pámpols T, Briones P, Coll MJ, Chabás A, Clusellas N, Girós ML, et al. Investigaciones encaminadas a la prevención de las anomalías cromosómicas y las enfermedades metabólicas hereditarias. Premio Reina Sofia de Investigación sobre Prevención de las Deficiencias 1996;100-73.
19. Neufeld EF, Muenzer J. The Mucopolysaccharidoses. En: Scriver CR, Beaudet AL, Sly SW, Valle D (eds). *The metabolic and molecular bases of inherited disease*. Ed. McGraw-Hill. 1995;2465-94.
20. Galjaard H. *Genetic Metabolic Diseases. Early diagnosis and Prenatal Analysis* Elseviers/North/Holland. Biomedical Press 1980;641-55.
21. Chabás A, Coll MJ. Malalties lisosòmiques. Del Cromosoma al Gen. Libro conmemorativo de los 25 años del Instituto de Bioquímica Clínica. Corporación Sanitaria 1995;336-41.
22. Hers HG, Van Hoff F. *Lysosomes and storage diseases*. Academic Press, 1973.
23. Philip D, Dembure A. Screening for mucopolysaccharidoses. *Techniques in Diagnostic Human Biochemical Genetics. A Laboratory Manual* 1991;77-86.
24. Neufeld EF, Muenzer J. The Mucopolysaccharidoses. En: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D (eds). *The Metabolic and molecular bases of inherited disease*. Ed. McGraw-Hill, 1989;1565-87.
25. Gal A, Beck M, Sewell AC, Morris CP, Schwinger E, Hopwood JJ. Gene diagnosis and carrier detection in Hunter syndrome by the iduronate-2-sulphatase o DNA probe. *J Inher Metab Dis* 1992;15:342.
26. Brooks DA. Immune response to enzyme replacement therapy in lysosomal storage disorder patients and animal models. *Molec Genet Metab* 1999;68:268-75.
27. Bordigoni P, Vidaihet M, Lena M, Mairs I, Gelot S. Bone marrow transplantation for Sanfilippo syndrome. En: Hobbs JR (ed). *Correction of certain genetic diseases by transplantation* Londres: COGENT 1989;114.
28. Kleijer WJ, Van Diggelen OP. First trimester diagnosis of Hunter syndrome on chorionic villi. *Lancet* 1984;2:472.
29. Yuen M, Fensom AH. Diagnosis of classical Morquio's disease: N-acetylgalactosamine 6-sulphate sulphatase activity in cultured fibroblasts, leukocytes, amniotic cells and chorionic villi. *J Inher Metab Dis* 1985; 8:80.
30. Di Natale P, Pannone N. First-Trimester prenatal diagnosis of Sanfilippo C disease. *Prenatal Diagn* 1987;7:603.
31. Poenaru L. First trimester prenatal diagnosis of metabolic diseases: A survey of countries from the European Community. *Prenat Diagn* 1987;7:333.
32. Nowakowski RW, Thompson JN. Sanfilippo syndrome type D. A spectrophotometric assay with prenatal diagnostic potential. *Pediatr Res* 1989;26:462.
33. Paige K, Mazur A, Manor O, Charow J, Esplin J, Gribble J, et al. Acceleration of retarded growth in children with Gaucher diseases after treatment with alglucerase. *The Journal of Pediatrics* 1996;129(1):149-53.

Recibido: 3 de octubre del 2001. Aprobado: 6 de octubre del 2001.

M. Sc. *Caridad Menéndez Sainz*. Instituto de Neurología y Neurocirugía, 29 y D, Vedado, municipio Plaza de la Revolución, Ciudad de La Habana, Cuba.