



FACULTAD DE MEDICINA  
UNIVERSIDAD DE CANTABRIA

## **GRADO EN MEDICINA**

### **TRABAJO FIN DE GRADO**

**Enfermedades lisosomales**

Lysosome diseases

**Autor: Dña. Elisa Fernández Rodríguez**

**Director/es: Dña. Ana Palanca Cuñado**

**Santander, Junio 2020**

## ÍNDICE

ÍNDICE.....	1
1. RESUMEN/ABSTRACT.....	2
2. BIOLOGÍA Y FISOLOGÍA DEL LISOSOMA.....	4
2.1 El lisosoma como centro de señalización.....	6
2.2 Adaptación lisosomal.....	8
2.3 Interacción con otros orgánulos.....	9
3. ENFERMEDADES DE ALMACENAMIENTO LISOSÓMICO.....	10
3.1 Epidemiología.....	11
3.2 Fisiopatología.....	11
3.3 Diagnóstico.....	16
3.3.1 Screening y prevención.....	16
3.4 Tratamiento.....	17
3.5 Enfermedades por depósito lisosomal más representativas.....	23
4. IMPLICACIONES NEUROLÓGICAS.....	29
4.1 Sistema del lisosoma y papel de las mutaciones GBA1.....	31
BIBLIOGRAFÍA.....	34

## 1. RESUMEN/ABSTRACT

### RESUMEN

Desde su descubrimiento el lisosoma ha sido considerado como un orgánulo citoplasmático rodeado de membrana que contiene hidrolasas ácidas y encargado de los procesos de degradación y reciclaje de residuos celulares. Sin embargo, en los últimos años, una creciente evidencia científica ha hecho que pase de ser visto como una estructura estática dedicada exclusivamente a estas funciones, a ser descrito como un orgánulo altamente dinámico.

Defectos en genes que codifican las proteínas lisosomales causan enfermedades por depósito lisosomal (EDL), de las cuáles han sido descritas más de 70 y la mayoría son de herencia autosómica recesiva. La patogénesis celular de estas enfermedades se entiende de manera incompleta, pero los últimos 30 años han sido caracterizados por un progreso notable en el tratamiento de estas patologías.

Los últimos descubrimientos también implican roles para la disfunción lisosomal en enfermedades más comunes incluyendo trastornos inflamatorios y autoinmunes, enfermedades neurodegenerativas, cáncer y trastornos metabólicos.

En este trabajo haremos una revisión bibliográfica describiendo los principales aspectos del lisosoma desde el punto de vista de la biología y la fisiología celular, clasificando las principales enfermedades por depósito lisosomal, además de describir las aplicaciones terapéuticas más relevantes y, finalmente, hablaremos de la implicación de la disfunción lisosomal en enfermedades neurodegenerativas focalizándonos especialmente en el Parkinson y el Alzheimer.

**Palabras clave:** lisosoma, autofagia, enfermedades por almacenamiento lisosomal, enfermedades neurodegenerativas.

## ABSTRACT

Since its discovery, the lysosome has been considered a cytoplasmic organelle surrounded by a membrane containing acid hydrolases and to be responsible for the degradation as well as the recycling processes of cellular degradation. However, in recent years, the growing scientific evidence has gone from seeing the lysosome as a static structure dedicated exclusively to these functions, to be described as a highly dynamic organelle.

Defects of the genes encoding lysosomal proteins cause the lysosomal deposition disease (LDS), of which there have been more than 70 different types described and the majority is inherited in the autosomal recessive manner. The cellular pathogenesis of these diseases is not fully understood, but the last 30 years have been characterized by remarkable progress in the treatment of these pathologies.

Latest discoveries involve also the role of the lysosomal dysfunction in more common diseases, such as inflammatory and autoimmune disorders, neurodegenerative diseases, cancer, and metabolic disorders.

A bibliographic revision would be done in this work, reviewing the main aspects of the lysosome from the biological and the cellular physiology point of view and we will classify the main diseases caused by the lysosomal deposition. Then, the most relevant therapeutic applications would be described and, finally, we will talk about the implication of lysosomal dysfunction in neurodegenerative diseases focusing especially on Parkinson's and Alzheimer's disease.

**Keywords:** lysosome, autophagy, lysosomal storage diseases, neurodegenerative diseases.

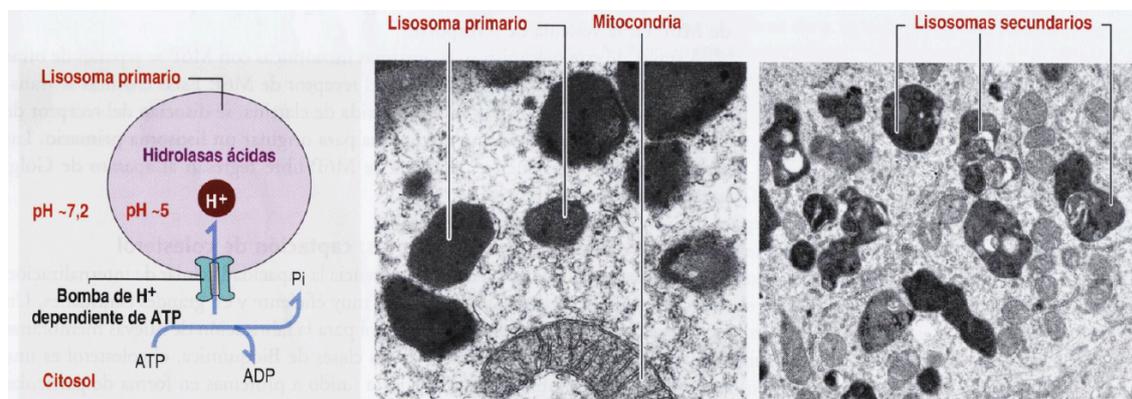
## 2. BIOLOGÍA Y FISIOLÓGÍA DEL LISOSOMA

El lisosoma fue descubrimiento por Christian de Duve en los años 50 y desde ese momento se conoce como un orgánulo citoplasmático rodeado de membrana responsable de la degradación de diferentes macromoléculas biológicas como proteínas, lípidos, carbohidratos y ácidos nucleicos. Estas macromoléculas alcanzan el lisosoma por varias rutas incluyendo las vías endocíticas, fagocíticas y autofágicas para ser degradadas en el lumen lisosomal por más de 60 hidrolasas ácidas para la subsiguiente reutilización para los procesos metabólicos de la célula. Además de las hidrolasas luminales, el lisosoma también contiene conjuntos específicos de proteínas integrales de membrana y proteínas asociadas, la última categoría está representada por proteínas que interactúan dinámicamente con la superficie del lisosoma bajo ciertas condiciones (1). Asimismo, la membrana lisosómica está dotada de una bomba dependiente de ATP que introduce iones  $H^+$  en el lisosoma con el fin de mantener el pH ácido, y en consecuencia presenta un revestimiento conocido como glucocalix que protege el perímetro lisosómico interno del ambiente ácido de la luz (fig 1, esquema).

Se han identificado dos tipos de lisosomas:

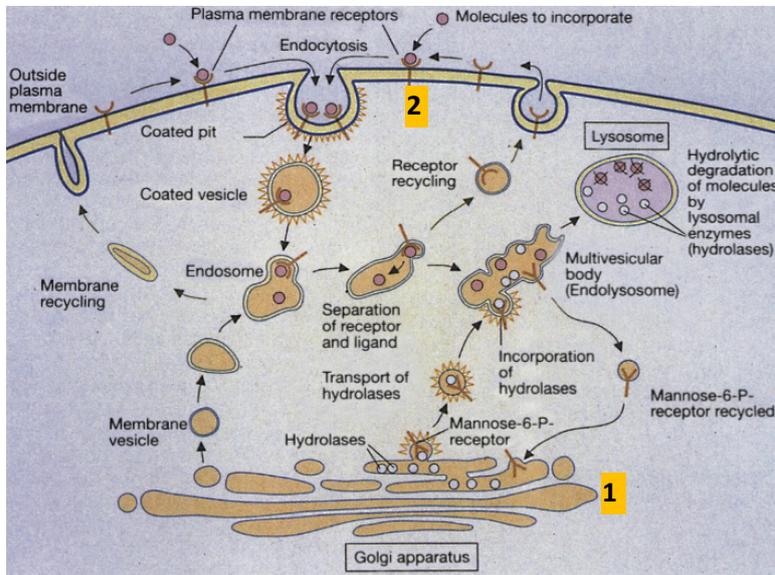
1) Lisosomas primarios: definidos como el lugar primario de almacenamiento de las hidrolasas lisosómicas (fig. 1, micrografía 1).

2) Lisosomas secundarios (fagolisosomas y autolisosomas): se consideran lisosomas implicados en el proceso de degradación de sustratos (fig 1, micrografía 2).



**Figura 1.** Esquema de un lisosoma y micrografías electrónicas de una región citoplasmática en la que se muestra la diferencia en la morfología de lisosomas primarios – gran electrodensidad y homogeneidad- y secundarios (extraído de *Kierszenbaum; 2016*).

La formación de lisosomas maduros es un proceso complejo, que implica la fusión de endosomas tardíos que contienen material absorbido en la superficie celular con las vesículas de transporte que brotan de la red *trans*-Golgi (Fig.2.1). Estas vesículas contienen diferentes enzimas hidrolíticas (agrupadas en nucleasas, proteasas, fosfatasas, lipasas, sulfatasas...), que se sintetizan en el retículo endoplásmico y se entregan a las vesículas de transporte a través de diversos sistemas, como las etiquetas



**Figura 2.** Formación de lisosomas y mediación de receptores (extraído de Eberhard Passarge; 2007).

de fosfato de manosa que son reconocidas por los receptores de fosfato de manosa (MPR) en la membrana o glucocerebrosidasa (GCasa) que es transportada a los lisosomas por la proteína integral de membrana lisosómica, una glucoproteína transmembrana de tipo III ubicada principalmente en endosomas y lisosomas (2).

La biogénesis lisosómica está sometida a un control genético coordinado. El factor de transcripción TFEB regula la expresión de varios genes lisosomales y también coordina la formación de autofagosomas y la fusión de estos con los primeros. La sobreexpresión del TFEB aumenta la formación de nuevos lisosomas durante el ayuno y la autofagia. Al igual que otros factores de transcripción, TFEB se somete a fosforilación y la desfosforilación a través de diferentes vías citosólicas y lisosómicas, procesos regulados por el complejo 1 de rapamicina (mTORC1), un controlador maestro del crecimiento celular (2).

A menudo los lisosomas han sido clasificados como el “sistema de eliminación de basura” de la célula, considerados durante mucho tiempo como orgánulos de "limpieza" que realizan su función de degradación independientemente del estado de la célula y en un relativo aislamiento de otros orgánulos. Además, se pensaba que eran estáticos, es decir, su localización citoplasmática no cambia con el tiempo. Esta visión ha sido dramáticamente anulada por varios descubrimientos recientes:

- Primero, se ha probado que el lisosoma participa en muchos otros procesos celulares más allá de la degradación, incluyendo señalización metabólica, regulación génica, inmunidad, reparación de la membrana plasmática, adhesión celular y migración.

- Segundo, se ha demostrado que el número, la composición y las funciones de los lisosomas varían en respuesta a señales ambientales, así como en función de las necesidades celulares y del organismo.

-Tercero, se ha descubierto que los lisosomas participan en la interacción física y funcional con otras estructuras celulares, incluida la formación de sitios de contacto con la membrana.

-Cuarto, se ha observado que los lisosomas se desplazan alrededor del citoplasma, a menudo cambiando de tamaño y forma o experimentando fusión o fisión, a medida que avanzan.

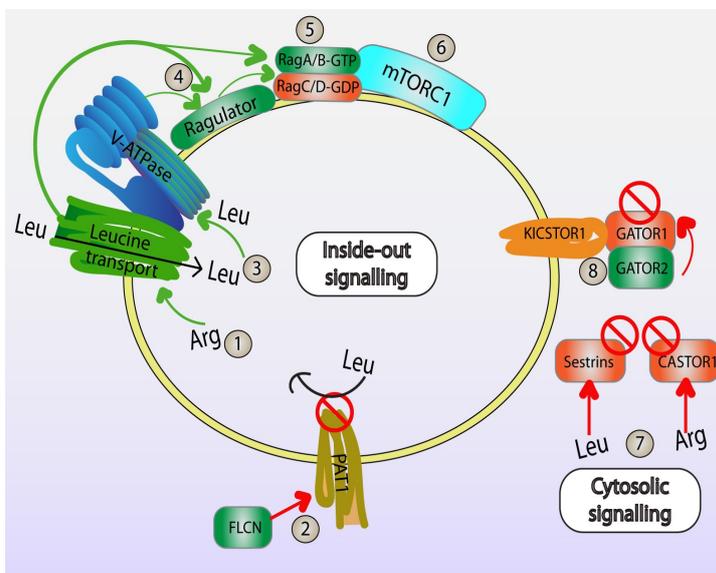
-Finalmente, cambios en la función lisosomal han sido implicados en la patología de enfermedades comunes incluyendo las neurodegenerativas, desórdenes metabólicos, así como cáncer (1).

## 2.1 EL LISOSOMA COMO CENTRO DE SEÑALIZACIÓN

Siendo el principal mediador del catabolismo celular, el lisosoma se encuentra en una posición única para utilizar la información sobre la degradación celular y los procesos de reciclaje como un *proxy* para detectar el estado nutricional de la célula (1).

**Detección de nutrientes lisosomales y señalización de mTORC1.** Un avance importante en este campo fue el descubrimiento de mTORC1, su función clave es apoyar el crecimiento y el anabolismo celular en presencia de nutrientes y factores de crecimiento, al tiempo que inhibe las vías catabólicas como la autofagia a través de la fosforilación de la quinasa tipo Unc-51 (ULK1). También regula la formación de lisosomas durante la autofagia, un proceso que ayuda a restaurar lisosomas funcionales durante el ayuno prolongado (3).

La activación de mTORC1 requiere su reclutamiento dinámico a la superficie lisosómica, que está mediada por la activación dependiente de aminoácidos de las RAG GTPasas heterodiméricas y su interacción con Ragulator (complejo proteico localizado en la superficie del lisosoma) como puede verse esquematizado en la figura 3.



**Figura 3.** Regulación dependiente de aminoácidos de mTORC1 (extraído de *Inpanathan S, Botelho RJ; 2019*).

**Señalización de Ca<sup>2+</sup> lisosomal.** El Ca<sup>2+</sup> lisosomal es clave para varias funciones lisosomales. La liberación de Ca<sup>2+</sup> es necesaria para la fusión de lisosomas con otras estructuras celulares, incluidos los endosomas, los autofagosomas y la membrana plasmática, regulando así el tráfico de la membrana endocítica, la autofagia y la reparación del daño de la membrana (4,5).

La homeostasis de Ca<sup>2+</sup> también es importante para la acidificación lisosómica, un requisito para la actividad de sus hidrolasas (6). Tres principales tipos de canales de calcio han sido identificados en las membranas lisosómicas de las células de los mamíferos: canales de cationes potenciales receptores transitorios de la familia mucolipina (TRPML), canales de dos poros (TPC) y el canal trimérico Ca<sup>2+</sup> de dos transmembranas P2X<sub>4</sub> (4,5).

Los canales de Ca<sup>2+</sup> lisosomales responden a variados estímulos, como pH, nutrientes y estrés celular, así como a pequeñas moléculas - ATP, fosfolípidos y esfingosina -, lo que sugiere que sus actividades pueden modularse de manera diferente según las condiciones de la célula. Probablemente el canal lisosómico mejor caracterizado es el TRPML1 también conocido como mucolipina 1 (7). Este canal libera calcio desde el lumen lisosomal al citosol y puede ser activado por varios estímulos, entre los que se incluyen el ayuno (8,9) y especies reactivas de oxígeno (10). Los principales procesos lisosomales que son regulados por TRPML1 mediante la liberación de calcio son: exocitosis lisosomal y reparación de la membrana plasmática (11), fusión autofagosoma-lisosoma, fusión endosoma-lisosoma (10), tamaño lisosomal y la reformación de estos (12). TRPML1 está también involucrado en un mecanismo de retroalimentación positiva con TFEB, en el cuál TRPML1 regula la fosforilación de TFEB y localización subcelular, mientras que TFEB regula la expresión del gen de TRPML1 (8,13). Además, TRPML1 es el principal mediador de la actividad de TFEB de producir el despeje intracelular de los sustratos acumulados en las enfermedades lisosomales (13).

**Muerte celular dependiente del lisosoma y respuesta al daño endolisosómico.** Ciertas condiciones como infecciones e hiperuricemia o tratamiento con drogas lisosomotrópicas pueden dañar el lisosoma por inducir su permeabilización o ruptura. Este daño finalmente produce la fuga de catepsinas, lo que a menudo conduce a una forma de muerte celular programada conocida como muerte celular dependiente de lisosomas (14). La muerte celular dependiente de lisosomas puede tomar la forma de apoptosis, por lo que las catepsinas activan proteolíticamente las proteínas proapoptóticas BID y BAX, lo que conduce a la activación de caspasas u otras formas de muerte celular como la piroptosis, la ferroptosis y la necroptosis.

El daño lisosomal también puede desencadenar un proceso conocido como respuesta al daño endolisosomal mediante el cual los lisosomas dañados se eliminan o reparan, para evitar la activación de las vías de muerte celular. La eliminación y el reciclaje de los lisosomas dañados se produce a través de una vía de autofagia selectiva denominada "lisofagia" que está mediada por miembros de la familia de proteínas galectina que actúan como sensores de daño lisosómico (15).

**Prolongación de la señalización lipídica.** Los lisosomas también tienen un rol crítico en el control de la homeostasis de los lípidos y en la señalización mediada por los mismos

(16). Una importante familia de lípidos integrada en la biología lisosomal es la fosfoinositida que regula varios aspectos dinámicos y funcionales de los mismos entre los que se incluyen su posicionamiento, biogénesis, fusión con autofagosomas y función en la transferencia de lípidos en los sitios de contacto de membrana (17).

Estudios recientes realizados en *Caenorhabditis elegans* también revelaron el papel del lisosoma en la señalización de la prolongación de la vida mediada por el lípido oleoiletanolamida (OEA) y la proteína LBP8. La OEA se genera mediante la lipólisis lisosómica a través de la actividad de la lipasa LIPL-4, el ortólogo de la LIPA humana. El complejo OEA-LBP8 se exporta posteriormente al citosol y se transloca al núcleo para activar los receptores de hormonas nucleares NHR49 y NHR80. Estos receptores inducen un programa de transcripción que regula la oxidación mitocondrial B y la tolerancia al estrés oxidativo. Esta cooperación entre lisosomas y mitocondrias promueve la longevidad (18).

## 2.2 ADAPTACIÓN LISOSOMAL

El lisosoma debería poder adaptar su función en respuesta a diversas condiciones ambientales para mantener la homeostasis. TFEB y la red de genes CLEAR permiten controlar globalmente la función lisosómica y la autofagia. TFEB pertenece a la familia MIT-TFE.

El TFEB ejerce un control amplio sobre la autofagia y la función lisosómica mediante la regulación de genes involucrados en múltiples pasos de la biogénesis del autofagosoma, la fusión del autofagosoma-lisosoma y las vías de degradación lisosómica, incluida la acidificación lisosómica, la homeostasis del calcio lisosomal, la exocitosis lisosómica y el posicionamiento del lisosoma. La sobreexpresión de TFEB también incrementa el número de lisosomas ya que promueve la biogénesis de nuevos lisosomas (19, 20).

Otros miembros de la familia MiT-TFE como TFE3, también regula la biogénesis lisosomal y autofagia y hay evidencia de cooperación entre TFEB y TFE3 en el contexto de la regulación metabólica (21). La sobreexpresión de TFEB, y en algunos casos TFE3, dio lugar a anomalías fenotípicas en una variedad de modelos celulares y de ratones con enfermedades asociadas con la acumulación de sustratos autofágicos / lisosómicos, como varios tipos de EDL (13,22), enfermedades neurodegenerativas comunes y trastornos metabólicos. Estas observaciones sugieren que la manipulación de la red CLEAR impulsada por MiT-TFE puede tener aplicaciones terapéuticas.

Además, tanto TFEB como TFE3 regulan otros procesos celulares importantes, como la respuesta de proteínas desplegadas, la endocitosis, la diferenciación de células madre y el reciclaje endosómico a través del complejo retrómer (23). Un estudio reciente mostró que TFEB y TFE3 también tienen papeles en la regulación del ritmo circadiano (24).

Se encontraron otros factores que regulan la biogénesis lisosómica y la autofagia. La proteína de bromodominio BRD4 y la metiltransferasa G9a actúan como represores de la transcripción de genes lisosomales y autofágicos (25).

STAT3, un miembro de la familia de factores de transcripción STAT, también es capaz de regular la función lisosómica y mejora la actividad de la ATPasa vacuolar en la membrana, aumentando así la acidificación lisosómica (26).

### 2.3 INTERACCIÓN CON OTROS ORGÁNULOS

Todos los eventos de fusión de lisosomas, incluidos aquellos con otros lisosomas, así como endosomas tardíos, autofagosomas, fagosomas, macropinosomas y la membrana plasmática están mediados por el ensamblaje de un complejo *trans*-SNARE compuesto por un R-SNARE y dos o tres Q-SNARE y son promovidos por la liberación de Ca<sup>2+</sup> de la luz del lisosoma. La fusión de lisosomas con cada tipo de orgánulo depende de un complejo *trans*-SNARE específico y un conjunto diferente de reguladores (1).

Un proceso de fusión de lisosomas más complejo es la fusión de lisosomas con autofagosomas en la autofagia. En los últimos años ha habido un creciente interés en el papel del lisosoma en la degradación autofágica de los sustratos autofágicos. Los lisosomas también contribuyen con un subconjunto de SNARE involucrados en la fusión (1).

Los lisosomas también pueden fusionarse con la membrana plasmática mediante un proceso denominado "exocitosis lisosómica". Este proceso media una serie de funciones lisosómicas importantes, como la reparación de la membrana (11), la formación de protusiones invasivas en las células cancerosas y la secreción de contenido lisosómico al espacio extracelular, como sucede en el proceso de resorción ósea.

El mantenimiento de la homeostasis celular requiere que los eventos de fusión de lisosomas sean seguidos por la reforma de los lisosomas a partir de orgánulos híbridos (27).

Los contactos de orgánulos lisosómicos tienen importantes consecuencias funcionales. Por ejemplo, se demostró que la maduración de los endosomas tempranos a los endosomas tardíos y luego a los lisosomas se acompañaba de una mayor formación de contactos con el RE. Estos contactos causan la reorganización de los túbulos del RE, al tiempo que contribuyen al florecimiento de los túbulos endosomales de reciclaje (28).

Otra función importante de los sitios de contacto con la membrana lisosoma-RE es la transferencia no vesicular de lípidos entre estos orgánulos. Por ejemplo, el colesterol libre generado por la hidrólisis de los ésteres de colesterol en la luz de los lisosomas se exporta fuera del lisosoma por acción concertada de las proteínas NPC1 y NPC2. Se cree que la transferencia posterior de colesterol libre al RE ocurre en los sitios de contacto con la membrana y está mediada por proteínas de transferencia de lípidos como ORP5 y ORPL1, y proteínas residentes en RE como VAPA y VAPB. Otra proteína de transferencia de lípidos, STARD3, media el transporte de colesterol en la dirección opuesta desde el RE hasta los endolisosomas (29).

Este proceso de transporte de reserva es independiente del control transcripcional global de los genes regulados por el colesterol y podría servir para mantener la homeostasis del colesterol en los orgánulos endolisosomales (29).

Otro desarrollo reciente en la biología de los lisosomas ha sido darse cuenta de que los lisosomas son estructuras altamente dinámicas. Los lisosomas se extienden por todo el citoplasma, aunque con una mayor concentración en la región perinuclear. Todos los lisosomas son potencialmente móviles, ya que con el tiempo algunos lisosomas estacionarios comienzan a moverse, mientras que algunos lisosomas en movimiento dejan de hacerlo. Además de permitir la respuesta a los niveles cambiantes de nutrientes, la motilidad del lisosoma es crítica para muchas otras funciones, incluidas la autofagia, la muerte microbiana, la presentación de antígenos, la adhesión y migración celular, y la invasión de células cancerosas (30).

### **3. ENFERMEDADES DE ALMACENAMIENTO LISOSÓMICO**

Los trastornos o enfermedades por almacenamiento lisosómico se deben a la acumulación gradual de componentes de la membrana plasmática en el interior de las células como consecuencia de una deficiencia hereditaria de las enzimas implicadas en su degradación (2). Henry Hers identificó por primera vez la deficiencia enzimática lisosómica específica (ácido- $\alpha$ -glucosidasa) responsable de la enfermedad de almacenamiento de glucógeno tipo 2, también llamada enfermedad de Pompe. Este descubrimiento permitió el desarrollo del concepto de enfermedades de almacenamiento lisosómico (EDL), de las cuales se han descrito más de 70. Son trastornos monogénicos del catabolismo lisosómico, la mayoría de los cuales se heredan como rasgos autosómicos recesivos, pero tres están ligados al cromosoma X (31).

Las mutaciones con pérdida de función en proteínas esenciales para la función lisosómica (como las enzimas lisosómicas, las proteínas integrales de la membrana lisosómica, las proteínas relacionadas con modificaciones tras la traducción y las proteínas transportadoras del tráfico lisosómico) causan trastornos por almacenamiento lisosómico y acumulación de sustratos que en última instancia conduce a la disfunción y muerte celular (2). La gravedad de la enfermedad se correlaciona vagamente con el tipo de mutación y la actividad residual de la proteína mutante, pero generalmente se clasifican según el tipo de trastorno y la edad de aparición de los signos clínicos como congénitos o infantiles (que generalmente tienen la presentación más severa), de tipo infantil tardío, juvenil y adulto (31).

Dos tercios de las enfermedades por depósito lisosómico (EDL) deriva en enfermedades neurodegenerativas y disfunción neuronal. Muchos de los individuos afectados resultan clínicamente normales al nacer, lo que indica que las alteraciones de la función lisosómica no afectan a la función neuronal en el desarrollo temprano del cerebro (2).

Es importante remarcar que los portadores de enzimas lisosómicos defectuosos, más que el material de almacenamiento lisosómico en sí, son los responsables de las patologías celulares en los trastornos por almacenamiento lisosómico (2).

### 3.1 EPIDEMIOLOGÍA

Como grupo, las EDL son comunes, con una incidencia estimada de 1 en 5000 a 1 en 5500 para las EDL que involucran enzimas lisosomales o defectos de la proteína integral de la membrana; sin embargo, las EDL individuales son raras, con incidentes estimados que varían de 1 en 50000 a 1 en 250000 nacimientos vivos. Las EDL más comunes son la enfermedad de Fabry (hasta 2.5 casos por cada 100000 hombres), la enfermedad de Gaucher (hasta 2 casos por cada 100000 individuos), la leucodistrofia metacromática (hasta 2.5 casos por cada 100000 individuos) y la enfermedad de Pompe (hasta 2.5 casos por cada 100000 individuos) (31).

### 3.2 FISIOPATOLOGÍA

Los lisosomas son responsables de la degradación y el reciclaje de las macromoléculas (incluyendo carbohidratos, lípidos, ácidos nucleicos y proteínas). Como se mencionó anteriormente, las mutaciones en los genes que codifican las proteínas lisosómicas, incluidas las hidrolasas lisosómicas, las proteínas de la membrana lisosómica, los transportadores de lípidos e iones, los modificadores o activadores enzimáticos, son la causa de las EDL. Las mutaciones en estos genes conducen al procesamiento y degradación aberrante de sustratos, al transporte deteriorado de lípidos y metabolitos y a la acumulación primaria progresiva de macromoléculas no degradadas o parcialmente degradadas dentro de los lisosomas. El almacenamiento secundario de sustratos también puede ocurrir en las EDL que resultan de defectos en las proteínas lisosomales no enzimáticas (por ejemplo, transportadores); aunque los mecanismos que conducen al almacenamiento secundario no se entienden completamente, podría ser el resultado de defectos de tráfico de sustancias. El tipo bioquímico de las macromoléculas almacenadas afecta de manera diferencial la función del lisosoma, ya que las diferentes macromoléculas tienen funciones en procesos celulares específicos, lo que subyace en la patología clínica variable de las EDL.

Los monocitos circulantes y los macrófagos tisulares (que forman el sistema fagocítico mononuclear) son las células primarias afectadas en la mayoría de las EDL debido a su papel en la eliminación fagocítica de los desechos celulares, células y microorganismos apoptóticos o necróticos. Estas células dan a lugar a una respuesta inmune central y procesos inflamatorios que pueden ser provocados por la pérdida de la integridad celular y la homeostasis en las EDL, de hecho, el almacenamiento de macromoléculas por los macrófagos en las EDL desencadena una inflamación que contribuye activamente a la progresión de la enfermedad.

Dada la complejidad de las presentaciones clínicas y la amplia gama de macromoléculas acumuladas en las EDL, muchas de las cuales aún se desconocen, es difícil definir las rutas patogénicas que son potencialmente comunes a todos los trastornos. En términos generales puede decirse que varias vías comunes están desreguladas, incluidos los déficits en el transporte y la degradación celular (como autofagia, endocitosis, fagocitosis y exocitosis lisosómica), homeostasis de calcio, estrés oxidativo, inflamatorio

y respuestas inmunes innatas y vías de muerte celular (incluida la apoptosis y en algunos casos necroptosis).

Además, el mecanismo general de progresión de la enfermedad incluye la inflamación crónica, incluida la neuroinflamación, que está relacionada con la disfunción celular y la muerte, y las respuestas autoinmunes a los autoantígenos específicos o metabolitos acumulados.

Cabe destacar que las vías secundarias comunes de las EDL se han implicado en otras afecciones adultas más comunes que se asocian principalmente con el envejecimiento, incluido el cáncer y las enfermedades neurodegenerativas. También tuvo lugar el descubrimiento de mecanismos paralelos entre las patologías pediátricas raras y las enfermedades comunes de los adultos, incluidas las enfermedades neurodegenerativas relacionadas con la edad (como la enfermedad de Parkinson y la enfermedad de Alzheimer, además de la fibrosis y el cáncer) (31).

ENFERMEDAD (GEN)	DEFECTO PRIMARIO (SUSTRATO/PRODUCTO)	SÍNTOMAS MÁS CARACTERÍSTICOS
<b>ESFINGOLIPIDOSIS</b>		
<b>ENF.DE FABRY (GLA)</b>	$\alpha$ -Galactosidasa	-Acroparestesias -Angioqueratoma -Anhidrosis o hipohidrosis -Opacidades corneales y lenticulares características -Enf.cardiaca (hipertrofia ventricular izquierda, cardiomiopatía o arritmia) y/o cardiovascular -Proteinuria o enfermedad renal terminal
<b>LIPOGRANULOMATOSIS DE FARBER (ASAH1)</b>	Ceramida	-Artritis poliarticular -Contracturas articulares -Nódulos subcutáneos -Voz ronca -Mancha rojo cereza macular
<b>ENF. DE GAUCHER: TIPO I, TIPO II, TIPO III Y FORMA LETAL PERINATAL (GBA)</b>	$\beta$ -Glucocerebrosidasa	-Agrandamiento del bazo y el hígado -Trombocitopenia -Anemia -Enf.ósea -Manifestaciones neurológicas (tipo II y III) -Permeabilidad letal de la piel
<b>GM1 GANGLIOSIDOSIS: TIPO I, TIPO II Y TIPO III (GLB1)</b>	$\beta$ -Galactosidasa	-Disfunción neurológica progresiva que varía según el subtipo
<b>GM2 GANGLIOSIDOSIS: ENF. DE TAY-SACHS (HEXA)</b>	$\beta$ -Hexosaminidasa	-Infantil: hipotensión, incapacidad para sentarse y sostener la cabeza, movimientos anormales de los ojos, disfagia, convulsiones -Juvenil: ataxia, disartria, disfagia, progresión de la hipotensión y convulsiones -Adultos: reducción gradual de las funciones motoras, cerebrales y espinocelulares
<b>GM2 GANGLIOSIDOSIS: ENF. DE SANDHOFF (HEXB)</b>	$\beta$ -Hexosaminidasa	-Infantil: deterioro neurológico progresivo, hipotonía, manchas bilaterales de color rojo cereza en la retina y convulsiones -Juvenil: demencia, ataxia cerebelosa, retraso mental y atrofia muscular espinal -Adultos: degeneración espinocerebelosa o trastornos de las neuronas motoras
<b>ENF. DE KRABBE (GALC)</b>	Galactosilceramidasa	-Infantil: irritabilidad, hipotonía y regresión psicomotora -Juvenil: variable comienzo y progresión desde la infancia a la edad adulta, debilidad muscular, pérdida de visión y regresión intelectual

**TABLA 1.** Enfermedades por depósito lisosomal (modificada de *Platt, d' Azzo et al; 2018*).

ENFERMEDAD (GEN)	DEFECTO PRIMARIO (SUSTRATO/PRODUCTO)	SÍNTOMAS MÁS CARACTERÍSTICOS
<b>MUCOPOLISACARIDOSIS</b>		
<b>MPS I: SÍNDROME DE HURLER (DUA)</b>	$\alpha$ -L-Iduronidasa	-Rasgos faciales gruesos -Hepatoesplenomegalia -Hernias -Opacidad corneal -Otitis media frecuente -Deterioro cognitivo (excepto formas atenuadas) -Disostosis
<b>MPS II: SÍNDROME DE HUNTER (IDS)</b>	Iduronato-2-sulfatasa	-Rasgos faciales gruesos -Hepatoesplenomegalia -Descamación cutánea -Otitis media frecuente -Hernias -Estenosis espinal -Disostosis múltiple
<b>MPS IIIA O SINDROME DE SANFILIPPO A (SGSH)</b>	N-Sulfoglucosamina sulfohidrolasa	-Dificultades conductuales -Discapacidad intelectual progresiva -Rasgos faciales gruesos -Macrocefalia -Hepatoesplenomegalia -Hernias -Disostosis múltiple
<b>MPS IVA O SINDROME DE MORQUIO A (GALNS)</b>	N-acetilgalactosamina-6-sulfatasa	-Baja estatura -Displasia esquelética severa -Articulaciones hiperextensibles -Hipoplasia odontoidea, -Opacidad corneal -hernias
<b>MPS VI O SINDROME DE MAROTEAUX-LAMY (ARSB)</b>	Ariulfatasa B	-Displasia esquelética -Baja estatura -Microcefalia -Macroglosia -Hepatoesplenomegalia -Apnea del sueño
<b>MPS VII O ENFERMEDAD DE SLY (GALC)</b>	$\beta$ -Glucuronidasa	-Infantil: hidrops fetal -Tardía infantil: macrocefalia, hidrocefalia, rasgos faciales gruesos, macroglosia, hepatoesplenomegalia, anomalías de las válvulas cardíacas, hernias, otitis media recurrente, nubosidad corneal

**TABLA 1 (cont.).** Enfermedades por depósito lisosomal (modificada de *Platt, d' Azzo et al; 2018*).

ENFERMEDAD (GEN)	DEFECTO PRIMARIO (SUSTRATO/PRODUCTO)	SÍNTOMAS MÁS CARACTERÍSTICOS
<b>ALMACENAMIENTO DE GLUCÓGENO</b>		
<b>ENF. DE POMPE (GAA)</b>	$\alpha$ -glucosidasa lisosomal (maltasa ácida)	-Infantil: cardiomegalia y severa hipotonía -Adulta: debilidad muscular y atrofia, incluyendo la del diafragma
<b>GLICOPROTEINOSIS</b>		
<b>SIALIDOSIS TIPO 1 (NEU 1)</b>	Neuraminidasa-1	-Trastornos de la marcha y ataxia debido a mioclono -Agudeza visual reducida -Mácula rojo cereza -Convulsiones -Cognición preservada
<b>ALMACENAMIENTO DE LÍPIDOS</b>		
<b>DEFICIENCIA DE LIPASA ÁCIDA: ENFERMEDAD DE WOLMAN Y ENFERMEDAD DE ALMACENAMIENTO DE ESTERES DE COLESTEROL (LIPA)</b>	Lipasa ácida lisosómica	-Infantil: hepatoesplenomegalia, ictericia, retraso del desarrollo, vómitos, diarrea, malabsorción, calcificación de las glándulas suprarrenales, anemia  -Juvenil y adulto: hepatoesplenomegalia, fibrosis hepática, malabsorción, niveles altos de colesterol y aterosclerosis a una edad temprana
<b>TRASTORNOS INTEGRALES DE PROTEÍNAS DE MEMBRANA</b>		
<b>ENF. DE NIEMANN-PICK TIPO C1 Y C2 (NPC1 Y NPC2)</b>	Transportador intracelular de colesterol NPC 1 y 2	-Ataxia -Parálisis de la mirada supranuclear vertical -Disonía -Enfermedad hepática -Esplenomegalia -Enfermedad pulmonar intersticial -Dificultad para tragar -Convulsiones

**TABLA 1 (cont.).** Enfermedades por depósito lisosomal (modificada de *Platt, d' Azzo et al; 2018*).

### 3.3 DIAGNÓSTICO

El diagnóstico de la mayoría de EDL es sencillo si se sospecha sobre la base de la presentación clínica; sin embargo, a menudo no se sospecha clínicamente un diagnóstico de EDL debido a los síntomas generales de estos trastornos y su rareza. Se debe considerar que cualquier niño entre 6 meses y 10 años que inicialmente tiene un período de desarrollo típico pero que se estabiliza y pierde habilidades previamente alcanzadas tiene una EDL hasta que se demuestre lo contrario.

El diagnóstico de EDL debe comenzar temprano para un tratamiento efectivo, un objetivo que a menudo no se cumple. En adultos, trastornos más comunes pueden presentarse con síntomas similares a las EDL incluyendo ataxia, mioclonos, demencia o síntomas psiquiátricos. Por otro lado, los jóvenes pueden presentar una meseta de habilidades académicas con regresión posterior, mayor dificultad para caminar y hablar, dificultades visuales o cambios de comportamiento, todos los cuales son síntomas generales con un diagnóstico diferencial amplio.

Las pruebas de diagnóstico definitivas para trastornos de deficiencia enzimática específica incluyen la evaluación de los niveles de enzimas lisosomales en leucocitos de sangre periférica usando sustratos fluorogénicos sintetizados artificialmente específicos para cada enzima. Los niveles de enzimas se expresan como la cantidad de sustrato escindido por miligramo de proteína total por unidad de tiempo y se comparan con un rango normal. Cuando los niveles de enzimas caen por debajo del rango normal, se puede confirmar el diagnóstico de una EDL específica mediante pruebas genéticas para identificar mutaciones en el gen que codifica la enzima deficiente. Sin embargo, los ensayos enzimáticos se realizan *in vivo* en sustratos artificiales y podrían no representar con precisión la actividad enzimática contra sustratos naturales *in vivo*.

Las pruebas genéticas para identificar mutaciones específicas se pueden realizar mediante secuenciación de ADN y pueden complementar los estudios de enzimas y sugerir pronóstico si esas mutaciones se han demostrado en otros pacientes. Sin embargo, si los pacientes no tienen consanguinidad parental o son miembros de una población de alto riesgo, generalmente son heterocigotos compuestos, lo que dificulta la correlación fenotipo-genotipo. Algunas EDL, como los trastornos de las proteínas integrales de la membrana, la mayoría de los NCL y los trastornos LRO, solo pueden diagnosticarse mediante secuenciación directa de genes (31).

#### 3.3.1 SCREENING Y PREVENCIÓN

##### **Detección del portador**

La detección de la enfermedad de Tay-Sachs es la EDL prototípica para el cribado de portadores basado en la población, ya que este trastorno tiene una frecuencia de portadores de 1 en 27 en los individuos judíos Ashkenazi. El cribado comunitario se inició a principios de la década de 1970 en Estados Unidos y consistió en un ensayo enzimático basado en plasma para identificar parejas que eran portadoras de la enfermedad de Tay-Sachs y, por lo tanto, tenían un riesgo del 25% de tener un hijo con este trastorno. Con esta información, las parejas podrían someterse a una amniocentesis o una muestra de vellosidades coriónicas para identificar a los fetos afectados y considerar la interrupción

del embarazo o podrían elegir adoptar a un niño. Las parejas ahora pueden someterse a una fertilización in vitro (FIV) seguida de un diagnóstico previo a la implantación para identificar embriones no afectados para la implantación uterina. La detección dentro de la comunidad judía Ashkenazi disminuyó el número de niños nacidos con la enfermedad de Tay-Sachs en Estados Unidos de 60 por año antes de 1970 a 3-5 por año en 1983 (una reducción del 90% en la incidencia dentro de esta población). El éxito de la detección de portadores en esta comunidad también ha provocado la detección en otros grupos de alto riesgo, incluidos los individuos francocanadienses, irlandeses y cajún. Más recientemente, el uso de la secuenciación de próxima generación para detectar las tres mutaciones comunes que causan la enfermedad de Tay-Sachs en individuos judíos Ashkenazi ha demostrado ser superior a las pruebas enzimáticas tradicionales, aunque la detección de variantes de importancia desconocida ha restringido el uso exclusivo de secuenciación de próxima generación para detección de portadores (31).

### **Examen del recién nacido**

El cribado universal del recién nacido es obligatorio para algunos trastornos en la mayoría de los países desarrollados, y el número de trastornos específicos varía según el país. La detección obligatoria de EDL es limitada, aunque la tecnología y la disponibilidad para dicha detección se está expandiendo rápidamente. Sin embargo, la controversia rodea la detección de EDL, ya que los análisis de detección identifican a los recién nacidos con deficiencias enzimáticas que podrían tener enfermedad de inicio en la edad adulta y que podrían no requerir tratamiento durante décadas (31).

### **Detección prenatal y prevención**

En familias que ya tienen un hijo con una EDL diagnosticada y se determinan las mutaciones específicas que causan la enfermedad, el uso de fecundación in vitro (FIV) con diagnóstico genético preimplantacional (PGD) para identificar embriones no afectados para la implantación ofrece a las parejas en riesgo la oportunidad de tener hijos que no presenten el desorden. El PGD es costoso, pero está aprobado en Reino Unido por la Autoridad de Fertilización y Embriología Humana para varias EDL, y está disponible en Estados Unidos, Canadá y Europa occidental. Como alternativa a la PGD, las parejas en riesgo pueden utilizar el diagnóstico prenatal durante el primer trimestre del embarazo con la interrupción de los fetos con EDL. El uso de óvulos o espermatozoides de un donante para producir un embrión sin que la EDL provoque mutaciones y el uso de la adopción son opciones adicionales para las parejas en riesgo (31).

## **3.4 TRATAMIENTO**

Aunque actualmente hay tratamientos disponibles para una serie de EDL, la mayoría de los trastornos no se pueden tratar y se manejan sintómicamente. Los resultados del tratamiento varían entre las EDL y varían de muy efectivos a mínimamente eficaces. La terapia combinada también es posible dado que es más probable que una combinación de medicamentos mitigue los síntomas de estas enfermedades complejas (31).

## TERAPIAS DISPONIBLES:

**-Trasplante de médula ósea (HSCT).** El trasplante de médula ósea se realizó por primera vez en un paciente de 1 año con síndrome de Hurler (la forma grave de MPS 1) en 1981. La razón para usar el trasplante de médula ósea fue que esta terapia proporcionaría una fuente duradera de células derivadas de médula ósea con niveles normales de enzimas que donarían enzimas a las células deficitarias del paciente. Esta terapia fue el primer tratamiento de una EDL que mostró éxito y se siguió utilizando a pesar de su alta morbilidad y mortalidad. Con el tiempo, el uso de sangre del cordón umbilical en lugar de la médula ósea, así como mejores regímenes de acondicionamiento y selección de donantes, redujeron los efectos adversos del trasplante y mejoraron la eficacia (31).

Actualmente, el HSCT es el estándar de atención para los bebés con síndrome de Hurler, debido al beneficio de esta terapia para prevenir el desarrollo de síntomas neurológicos, que no responden a la ERT intravenosa. El trasplante de sangre del cordón umbilical en pacientes con síndrome de Hurler menores de 9 meses evitó la aparición de síntomas neurológicos y periféricos y permitió el desarrollo cognitivo normal, mientras que el trasplante a pacientes mayores (26 meses de edad) permitió la mejora periférica pero no evitó la disminución de la cognición. El HSCT también se utilizó para otras EDL que no disponían de tratamiento disponible, siendo la más destacada la leucodistrofia metacromática y la enfermedad de Krabbe; sin embargo, los resultados fueron menos prometedores que con el síndrome de Hurler (31).

**-Terapia de reemplazo enzimático (ERT).** La terapia de reemplazo de enzimas para los trastornos de almacenamiento lisosómico implica la administración de una versión funcional del enzima defectuoso en la EDL en particular. Después de la administración, el enzima se dirige a las células diana (típicamente mediadas por los receptores manosa o manosa-6-fosfato), donde descompone su sustrato en los lisosomas, mejorando así la EDL (32).

El enfoque fue pionero con el uso de glucocerebrosidasa (Gcase) purificada de placenta en la década de 1980 para tratar pacientes con enfermedad de Gaucher, y luego se introdujo una versión recombinante de Gcase en la década de 1990. Tras el éxito de este enfoque en el tratamiento de la enfermedad de Gaucher, se han aprobado otras enzimas recombinantes para otras EDL, incluida la enfermedad de Fabry, la MPS (I, II, IV, VI y VII), la deficiencia de lipasa ácido lisosomal y la enfermedad de Pompe (32). Aunque la ERT ha proporcionado un tratamiento efectivo para pacientes con algunas EDL, tiene limitaciones; una importante es que no todos los órganos son accesibles para que se les administre enzima de forma exógena por lo que los síntomas ortopédicos, cardiovasculares, neurológicos y oculares son especialmente difíciles de tratar. Además, la barrera hematoencefálica impide la entrada de la enzima exógena en el parénquima cerebral; como resultado, el enzima requiere modificación para aprovechar los sistemas de transporte existentes (como los receptores de insulina o transferrina) o requiere la administración directa en el cerebro o el canal espinal. Por consiguiente, se utilizan métodos de administración intracerebroventricular e intratecal a través de los cuales se infunden enzimas recombinantes en el LCR a través de catéteres insertados en el ventrículo lateral o el espacio intratecal, respectivamente. La ERT dirigida a los ventrículos cerebrales ha sido aprobada recientemente para CLN2. Para los síntomas

periféricos, la ERT se administra por vía intravenosa. Dependiendo de la complejidad del enfoque requerido, las infusiones de ERT se pueden realizar en el hogar del paciente (31).

Otra limitación de la ERT es que la enzima terapéutica a menudo provoca la producción de anticuerpos, lo que puede reducir la eficacia del tratamiento y provocar eventos adversos, incluida la anafilaxia. Además, el alto costo de la ERT podría desalentar el uso de esta terapia, particularmente en países en desarrollo con presupuestos de salud limitados (31).

El beneficio terapéutico de la ERT es transitorio y, en consecuencia, esta terapia debe realizarse durante toda la vida. Sin embargo, los enzimas lisosomales y los enzimas recombinantes para ERT generalmente tienen una vida media larga in vivo y, por lo tanto, la administración de enzimas terapéuticas puede realizarse semanalmente, cada dos semanas o mensualmente. Como las EDL son progresivas, la ERT parece ser más efectiva si se comienza temprano (31).

**-Terapia de reducción de sustratos (SRT).** Las pequeñas moléculas utilizadas en las terapias de reducción de sustrato evitan la acumulación de sustratos de los enzimas defectuosos en las EDL al inhibir las enzimas involucradas en la producción de sustrato (32).

Miglustat fue el primer medicamento de este tipo aprobado para la enfermedad de Gaucher y la enfermedad de Niemann-Pick tipo C. Se encarga de inhibir la glucosilceramida sintasa (GCS), que cataliza el paso inicial en la formación de muchos glucosfingolípidos, por lo tanto, la inhibición de GCS reduce la acumulación deletérea de glucosfingolípidos dentro de los lisosomas. Además, puede cruzar la barrera hematoencefálica y, en consecuencia, puede retrasar la progresión de los síntomas neurológicos, incluida la mejora de la deglución, lo que reduce el número de muertes resultantes de la neumonía por aspiración. Como efecto secundario el Miglustat produce diarrea osmótica ya que también inhibe las disacaridasas en el tracto gastrointestinal. Eliglustat, otro inhibidor de GCS, pero que no penetra el SNC, también fue aprobado para la enfermedad de Gaucher en 2014 (32).

Los medicamentos SRT se administran por vía oral y son estables a temperatura ambiente. A diferencia de los fármacos ERT no son inmunogénicos pero tienen un índice de eficacia más lenta (31).

En principio, la SRT podría desarrollarse para todas la EDL, pero actualmente está restringida a las glicosfingolipidosis porque, hasta la fecha, solo se han identificado inhibidores biosintéticos específicos de esta vía. Los ensayos en otras esfingolipidosis están en progreso. Actualmente se están evaluando otros medicamentos SRT en ensayos clínicos, incluida la Genisteína (una isoflavona que reduce indirectamente la biosíntesis de proteoglicanos) para MPS III, Ibiglustat para la enfermedad de Gaucher y la enfermedad de Fabry y Lucerastat para la enfermedad de Fabry (31).

**-Terapia con chaperonas.** Otro enfoque terapéutico es el uso de chaperonas farmacológicas (PC) de molécula pequeña para aumentar la estabilidad de las proteínas que están mal plegadas debido a mutaciones sin sentido, lo que rescata parcialmente su actividad enzimática. Las PC son fáciles de administrar y tienen el potencial de llegar al SNC. No obstante, los ensayos preclínicos y clínicos han mostrado limitaciones importantes, que están relacionadas con el hecho de que solo algunas de las mutaciones responden al tratamiento con PC debido al riesgo asociado con la mayoría de estos compuestos que actúan como inhibidores competitivos del sitio activo del objetivo (33).

El único fármaco de chaperona aprobado es el Migalastat para el tratamiento de la enfermedad de Fabry, que mejora la hipertrofia ventricular y reduce la gravedad de la diarrea, el reflujo y la indigestión (31).

La naturaleza inhibitoria de las terapias de chaperona requiere dosificación cada dos días para permitir la mejora enzimática máxima. Los potenciadores alostéricos están en desarrollo para evitar el uso de inhibidores del sitio activo y permitirán la dosificación diaria convencional. Algunos de estos medicamentos de acompañamiento (incluido el Migalastat) pueden ingresar al SNC y, por lo tanto, podrían tratar los síntomas neurológicos en las EDL neuropáticas. Las terapias de chaperona para la enfermedad de Tay-Sachs y la enfermedad de Gaucher se encuentran actualmente en ensayos clínicos (31).

**-Modificadores de proteostasis.** Un enfoque terapéutico potencial para las EDL se basa en rescatar la función de proteínas mutantes mal plegadas mediante el aprovechamiento de la maquinaria de proteostasis endógena de la célula a través de la mejora de las proteínas de choque térmico como la proteína de choque térmico 70, que es una proteína que se sintetiza en respuesta al estrés y es parte de la red celular de chaperonas moleculares que ayudan en el plegamiento de proteínas.

La regulación de la proteostasis se ha propuesto como una estrategia para tratar dos EDL distintas causadas por una deficiencia de  $\beta$ -hexosaminidasa A, la enfermedad de Gaucher y la gangliosidosis GM2 (enfermedad de Tay-Sachs). La regulación de la proteostasis también se ha logrado mediante la sobreexpresión del gen TFEB en los fibroblastos de la enfermedad de Gaucher. La regulación negativa de la proteína FKBP10 residente en el RE también dio como resultado una proteostasis mejorada de  $\beta$ -glucocerebrosidasa (34).

**-Terapia de la lectura del codón de parada.** En muchos trastornos de almacenamiento lisosómico, se ha identificado que las mutaciones prematuras del codón de parada (también denominadas 'mutaciones sin sentido') conducen a la terminación prematura de la traducción y a la formación de enzimas truncadas no funcionales. Los fármacos de baja masa molecular como por ejemplo gentamicina pueden inducir la lectura de codones de parada prematuros y restaurar la producción de proteínas completas con actividades enzimáticas anormales o incluso normales.

Un ejemplo en el que esto se ha logrado en estudios con animales es en el ratón  $Idua^{tm1Kmke}$  (un modelo del síndrome de Hurler) con portador de una mutación homóloga a la mutación sin sentido humana W402X (35).

**-Terapias específicas y antiinflamatorias.** Para algunas EDL, como NPC, los modificadores específicos de la enfermedad se están evaluando en ensayos clínicos. Por ejemplo, la hidroxipropil- $\beta$ -ciclodextrina intratecal se está evaluando en ensayos clínicos de fase II / III sobre la base de datos clínicos prometedores de fase I / II de un estudio observacional. El mecanismo de acción preciso de este medicamento no se ha definido completamente, pero el fármaco moviliza el almacenamiento de colesterol y esfingolípidos del cerebro de modelos de animales con el NPC. Además terapias antiinflamatorias como el uso del adalimumab, un anticuerpo monoclonal anti-TNF, se está evaluando en el ensayo para varias EDL, incluidas MPS I y MPS II(31).

**-Terapia de genes.** La terapia génica para las EDL tiene una premisa similar a la ERT, con el importante beneficio de que la dosificación frecuente sería innecesaria o poco frecuente. En general, la terapia génica consiste en un casete de expresión que contiene el gen que codifica la enzima deficiente que se entrega a las células a través de un vector, generalmente un virus adenoasociado (AAV), un lentivirus o un sistema no viral. Estas células pueden secretar la enzima recombinante en la sangre, el LCR o los tejidos circundantes. El tropismo de los lentivirus y los AAV puede variar según las características de la envoltura viral (con lentivirus) o la cápside viral (con los AAV). Una característica positiva del serotipo AAV9 es que puede transducir células del SNC después de la infusión intravenosa, y las variantes de AAV basadas en este serotipo pueden diseñarse para mejorar la administración de genes. En consecuencia, varios vectores AAV9 están en ensayos clínicos para LSD (31).

La terapia génica más avanzada clínicamente para las EDL es un enfoque dual para la leucodistrofia metacromática en la que las células madre de médula ósea aisladas de los pacientes se transducen in vitro utilizando vectores lentivirales que codifican ARSA para sobreexpresar la enzima arilsulfatasa A faltante y posteriormente se vuelven a infundir en el paciente. Después del trasplante, las células migran al cerebro y a otros órganos, donde secretan arilsulfatasa A. Los pacientes con leucodistrofia metacromática que reciben este tratamiento han mejorado su calidad de vida en relación con sus hermanos no tratados. Las infusiones directas de AAV que expresan el gen corregido en sangre, LCR o tejidos también se han probado en estudios clínicos tempranos. En estos estudios, aunque solo algunas células serían genéticamente corregidas, la suposición es que un número suficiente de células sobreexpresará el producto génico para la corrección cruzada de células no genéticamente corregidas (31).

Los oligonucleótidos antisentido (ASOs) a menudo se consideran una herramienta para reducir la expresión de un gen mutado y actúan uniéndose a los ARNm objetivo para bloquear la traducción de la proteína anormal o inducir su degradación. Los ASOs podrían ser útiles para inhibir las proteínas necesarias para la producción de sustratos almacenados (SRT a base de ácido nucleico). Aunque las terapias ASO para EDL solo se realizan en pruebas preclínicas tempranas utilizando modelos celulares y animales, esta terapia ha sido aprobada para uso clínico para otras indicaciones, lo que podría justificar una mayor investigación para una utilidad más amplia en EDL (31).

ENFERMEDAD	TIPO DE TERAPIA	NOMBRE FÁRMACO	COMENTARIOS
Enf. Gaucher	Reemplazo enzimático	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Imiglucerasa</li> <li>• <math>\alpha</math>-Velaglucerasa</li> <li>• <math>\alpha</math>-Taliglucerasa</li> </ul>	ERT es solo efectivo para Gaucher tipo I (forma no neuropática) y no es efectiva para los tipos II y III (formas neuropáticas)
	Reducción de sustrato	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Miglustat</li> <li>• Eliglustat</li> </ul>	Efectivos solo en Gaucher tipo I
Enf. Fabry	Reemplazo enzimático	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <math>\beta</math>-Agalsidasa</li> <li>• <math>\alpha</math>-Agalsidasa</li> </ul>	$\alpha$ -Agalsidase alfa y $\beta$ tienen la misma composición de amino ácidos pero distinta glicosilación
	Terapia con chaperonas	Migalastat	Inhibidor del sitio activo y/o chaperona
Enf. Pompe	Reemplazo enzimático	$\alpha$ -Alglucosidasa	Se encarga de las anomalías cardíacas pero no del músculo esquelético
MPS I (síndromes Hurler–Scheie y Scheie)	Reemplazo enzimático	Laronidasa	Efectivo para formas atenuadas de MPS I (síndromes Hurler–Scheie y Scheie) pero no para formas severas de MPS I (síndrome Hurler)
MPS II (síndrome Hunter)	Reemplazo enzimático	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Idursulfasa</li> <li>• <math>\beta</math>-Idursulfase</li> </ul>	No es efectivo para el SNC o la enfermedad esquelética
MPS VI (síndrome Maroteaux–Lamy)	Reemplazo enzimático	Galsulfasa	Eficacia variable dependiendo de la severidad de la enfermedad y la edad de comienzo del reemplazo enzimático
MPS IV (síndrome Morquio A)	Reemplazo enzimático	Elosulfasa	No eficaz en la patología del hueso, que quizás necesite cirugía
MPS VII (Sly syndrome)	Reemplazo enzimático	$\alpha$ -Vestronidasa	Aprobado para uso pediátrico y adultos
Deficiencia de la lipasa ácida lisosomal	Reemplazo enzimático	$\alpha$ -Sebelipasa	Reducción de múltiples anomalías lipídicas relacionadas con la enfermedad.
Lipofuscinosis ceroide neuronal infantil tardía tipo 2 (CLN2)	Reemplazo enzimático	$\alpha$ -Cerliponasa	Primer tratamiento disponible para cualquier forma de la enfermedad de Batten; requiere administración intracerebroventricular
Enf. Niemann–Pick tipo C	Reducción de sustrato	Miglustat	Primer modificador de molécula pequeña de patología del SNC en un LSD

**Tabla 2.** Terapias aprobadas para las EDL. (Extraído de *Platt, d' Azzo et al; 2018*).

## **Cuidados de apoyo**

Muchas EDL que no tienen una terapia aprobada pueden manejarse sintomáticamente, particularmente en pacientes que fueron diagnosticados en una etapa temprana. El seguimiento regular con un médico rehabilitador y un neurólogo es importante para los pacientes con enfermedad neurodegenerativa progresiva. Junto con los terapeutas físicos, ocupacionales y del habla, los rehabilitadores pueden proporcionar a los pacientes dispositivos de ayuda para la deambulación, como andadores o bastones y sillas de ruedas bien equipadas para niños y adultos con enfermedad progresiva. Proporcionar a los pacientes asientos adecuados con soporte para el tronco evitará la escoliosis y la enfermedad pulmonar restrictiva y requiere ajustes periódicos a medida que el niño crece. Un terapeuta ocupacional puede proporcionar o recomendar equipos de adaptación que faciliten la independencia en la alimentación, vestirse y otras actividades de la vida diaria. Los fisioterapeutas pueden diseñar un régimen de estiramiento activo y pasivo para pacientes para que mantengan el rango de movimiento y eviten las contracturas articulares. Además, también pueden ayudar a los pacientes con disartria a mantener el habla inteligible durante el mayor tiempo posible y pueden evaluar la deglución funcional (31).

## **Perspectiva**

Se han realizado enormes progresos en la investigación de EDL y el desarrollo de la terapia en las últimas dos décadas, y muchos ensayos clínicos exitosos han dado como resultado terapias aprobadas por la FDA y / o EMA. Sin embargo, la mayoría de las EDL permanecen sin una terapia efectiva, particularmente aquellas con afectación del SNC. Como tal, se están realizando importantes esfuerzos de investigación para desarrollar nuevas terapias que se dirijan de forma efectiva al cerebro. También se ha avanzado en el desarrollo de nuevos modelos celulares y animales que reflejen mejor la fisiología y los procesos patológicos de los pacientes con EDL, lo que resulta útil para comprender cómo la fisiopatología de las EDL converge con otras enfermedades humanas y mejorar nuestra capacidad de desarrollar nuevas terapias para las enfermedades neurodegenerativas más comunes de las ELD raras (31).

### **3.5 ENFERMEDADES POR DEPÓSITO LISOSOMAL MÁS REPRESENTATIVAS**

Ahora vamos a hablar un poco más en detalle de las EDL más comunes en nuestro medio:

#### **ENFERMEDAD DE FABRY**

La enfermedad de Fabry es un trastorno ligado al cromosoma X, resulta de mutaciones en el gen A de la galactosidasa  $\alpha$ , el cual permite la deposición progresiva lisosomal de glucosfingolípidos (globotriaosilceramida) que se acumulan en el endotelio de la piel y las células en los sistemas renal, cardíaco y nervioso (36).

La presentación clásica para los hombres afectados ocurre durante la infancia tardía o la adolescencia e incluye crisis periódicas de dolor intenso en las extremidades (acroparestesias), angioqueratomas, hipohidrosis, opacidad corneal, problemas

gastrointestinales, tinnitus y pérdida auditiva. Sin tratamiento, hay un deterioro gradual de la función renal, lo que conduce a una enfermedad renal en etapa terminal entre la tercera y quinta décadas de la vida. Finalmente, los individuos desarrollan enfermedades cardiovasculares y cerebrovasculares, que conducen a la muerte (37).

Hasta 70% de las mujeres heterocigóticas puede tener manifestaciones clínicas. Sin embargo, en mujeres, la manifestación que pone en peligro la vida con más frecuencia es la cardiopatía, seguida de apoplejía y luego nefropatía (37).



**Figura 4.** Enf. Fabry (A) Opacidades corneales (B) Angioqueratomas del ombligo (C) Vasos tortuosos en conjuntiva bulbar (extraído de C.R. Ferreira, W.A. Gahl; 2017).

El diagnóstico específico se realiza mediante documentación de baja actividad de  $\alpha$ -GalA en leucocitos o plasma. Si el ensayo enzimático o las pruebas genéticas no están disponibles, la biopsia de piel o riñón puede ayudar a establecer el diagnóstico. Los depósitos de glucolípidos caracterizarán la biopsia. El examen con microscopio electrónico de la biopsia renal muestra capas concéntricas de inclusiones llamadas cuerpos mieloides o cebra. El diagnóstico diferencial comprende las siguientes patologías: infarto, síndromes de seno cavernoso, síndromes lacunares y esclerosis múltiple (37).

En cuanto al tratamiento, el difenilhidantoinato y la carbamazepina disminuyen los episodios de acroparestesias y sus manifestaciones crónicas. En los pacientes con insuficiencia renal, la hemodiálisis crónica o el trasplante renal pueden ser medidas terapéuticas que les salvan la vida. El tratamiento enzimático depura los lípidos almacenados en diversos tejidos, en particular en las células de los endotelios vasculares renal, cardíaco y cutáneo. La insuficiencia renal es irreversible (36). Es probable que el tratamiento enzimático oportuno prevenga las complicaciones que ponen en peligro la vida o, al menos, vuelva más lento su avance. Otros tratamientos que se están explorando incluyen terapia con chaperonas, reducción de sustrato y terapias genéticas (37).

### **ENFERMEDAD DE GAUCHER**

Trastorno recesivo autosómico causado por un defecto en la actividad de la glucosidasa  $\beta$  ácida y depósito de glucocerebrosida (glicosilceramida) (36).

Se han descrito cerca de 400 mutaciones en el *locus GBA1* de tales pacientes. Las variantes de la enfermedad se clasifican en base a la ausencia o presencia y gravedad de la afectación neuronopática (36).

Hay tres tipos de Gaucher:

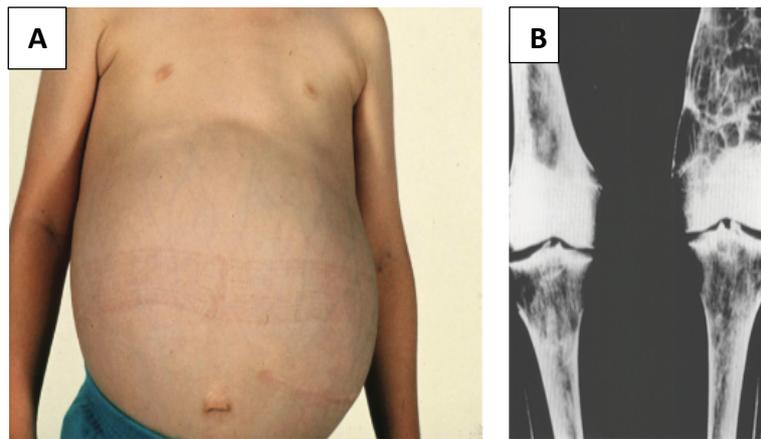
- La **Tipo 1** es la forma más común, representando del 80% al 90% de los casos. Este tipo es no neuropático y generalmente se presenta en la edad adulta con infiltración de la médula ósea, el hígado y el bazo. Los pacientes desarrollan síntomas inespecíficos como fatiga, hematomas y hepatoesplenomegalia. Con el tiempo, la infiltración del hueso aumenta el riesgo de fractura, infarto, necrosis (deformidad de Erlenmeyer, necrosis aséptica de la cabeza femoral) y dolor. La infiltración del bazo causa trombocitopenia, anemia y compromiso inmunitario. Aunque los niños han sido identificados con Gaucher Tipo 1, es más lentamente progresivo que los otros tipos.
- El inicio de los **tipos 2 y 3** de Gaucher se caracteriza por enfermedad neurológica en la infancia. El tipo 2 clásico (neuropático) es la forma grave, que provoca la deposición de glucosilceramidasas, que inhibe la formación de mielina, lo que provoca lesiones cerebrales y la muerte de los niños entre los 2 y 5 años. Los bebés presentan estridor, llanto ronco, dificultad respiratoria y dificultades para alimentarse. Hay opistótonos y trismo, seguidos de rigidez descerebrada. El tipo 3 se presenta antes de los 2 años y progresa más lentamente. Puede presentarse en los primeros años de la infancia como enfermedad visceral masiva que avanza con rapidez y afectación del SNC de avance lento o no progresivo, aparecer durante la adolescencia como demencia, o hacerlo al principio de la edad adulta con convulsiones mioclónicas incontrolables y rápidamente progresivas, así como enfermedad visceral leve. Las personas afectadas pueden sobrevivir hasta la tercera o cuarta décadas de la vida (38).

Todos los pacientes con enfermedad de Gaucher experimentan infiltración no uniforme de la médula ósea por macrófagos cargados de lípidos que se denominan *células de Gaucher*. Este fenómeno puede tener como consecuencia taponamiento medular e infarto, isquemia, necrosis y destrucción de hueso cortical (36).

El diagnóstico de esta enfermedad depende de encontrar un nivel bajo de enzima GBA1 en los leucocitos de sangre periférica y de establecer la presencia de alelos mutantes en el gen GBA1. A pesar de que solo se necesita una muestra de sangre para su diagnóstico, algunos pacientes se someten a una biopsia invasiva innecesaria de médula ósea o hígado antes de hacer un diagnóstico correcto. La conciencia médica de los signos y síntomas de la enfermedad de Gaucher puede ayudar a evitar tales percances. Además, antes de hacer un diagnóstico preciso, a muchos pacientes con un hígado o bazo agrandado se les dice que podrían tener cáncer (39).

El tratamiento sintomático de las citopenias sanguíneas y las operaciones de sustitución de las articulaciones siguen teniendo una función muy importante en la atención de estos pacientes (36). Sin embargo, hoy en día el tratamiento enzimático intravenoso regular es la alternativa de elección en individuos con afectación importante; es muy eficaz y seguro para disminuir la hepatoesplenomegalia y mejorar los valores hematológicos, pero debido a que la ERT no cruza la barrera hematoencefálica, los niños con Gaucher de inicio infantil (principalmente tipo 2) sufren daño neurológico

progresivo y mueren en la primera infancia a pesar del tratamiento. Para aquellos con Gaucher neuropático, los esfuerzos de investigación se centran en identificar una forma de administrar el reemplazo de enzimas a través de la barrera hematoencefálica. Además, se está considerando el uso de terapia de sustrato reductasa, chaperona farmacéutica y terapia génica. En el caso de terapias de reducción de sustrato el objetivo es que puedan inhibir el primer paso comprometido en la biosíntesis de glucosfingolípidos; hay dos medicamentos de terapia de reducción de sustrato aprobados por la FDA para tratar pacientes con enfermedad de Gaucher: Cerdelga (Eliglustat) y Zavesca (Miglustat) (39).



**Figura 5.** Enf. Gaucher tipo I (A) Distensión del abdomen debido a esplenomegalia masiva (B) Radiografía de las extremidades inferiores que muestra la deformidad del Erlenmeyer de los extremos distales del fémur (extraído de C.R. Ferreira y W.A. Gahl; 2017).

## **ENFERMEDAD DE NIEMANN-PICK**

Las enfermedades de Niemann-Pick son trastornos recesivos autosómicos causados por defectos de la esfingomielinasa ácida. El tipo A de la enfermedad se distingue del tipo B por la edad temprana de inicio y afectación progresiva del SNC. El tipo A casi siempre comienza en los primeros seis meses de edad con deterioro progresivo y rápido del SNC, espasticidad, retraso del crecimiento y hepatoesplenomegalia masiva. Por el contrario, en la forma B, la hepatoesplenomegalia inicia más tarde y evoluciona de manera variable, pero al final se desarrolla cirrosis y los hepatocitos son sustituidos por células espumosas. Los individuos afectados padecen neumopatía progresiva con disnea, hipoxemia y un modelo infiltrativo reticular en las radiografías de tórax. Se observan células espumosas en alvéolos, vasos linfáticos y arterias de los pulmones. La enfermedad hepática o pulmonar progresiva causa la muerte durante la adolescencia o al inicio de la vida adulta (36).

El diagnóstico se establece cuando se identifica una disminución importante de la actividad de la esfingomielinasa (1 a 10% de lo normal) en las células nucleadas (36).

Actualmente, no existe un tratamiento universalmente aceptado para NP-A y NP-B, y la atención es principalmente de apoyo. Las personas con NP-A pueden recibir fisioterapia, terapia ocupacional, tratamientos nutricionales, sedantes para la irritabilidad y

trastornos del sueño. Las personas con NP-B pueden requerir transfusiones de sangre, oxígeno y tratamiento para la hiperlipidemia y los déficits nutricionales. En raras ocasiones, a los que no tienen lesión neurológica se les puede ofrecer trasplante de médula ósea, y a aquellos con insuficiencia hepática se les puede ofrecer un trasplante de hígado. Se están estudiando futuros tratamientos como la ERT y la administración intratecal de células similares a oligodendrocitos (38).

Las enfermedades C de Niemann-Pick son trastornos progresivos del SNC causados por mutaciones en NPC1 o NPC2. Las mutaciones en estos genes deterioran la esterificación del colesterol dando como resultado la mala localización del colesterol libre en el SNC de pacientes con ENP tipo C (38).

Se presentan con afectación hepática o esplénica, pero su principal manifestación es la enfermedad progresiva del SNC en una o dos décadas. El tratamiento con inhibidores de sustrato (p.ej. Miglustat) parece promisorio (36).

### **ENFERMEDAD DE TAY-SACHS**

Cerca de uno de cada 30 judíos de origen asquenazí es portador de la enfermedad de Tay-Sachs, causada por deficiencia total de hexosaminidasa A (Hex A) por defectos en las cadenas  $\alpha$ . La forma infantil es una enfermedad neurodegenerativa letal con macrocefalia, pérdida de las capacidades motoras, intensificación de la reacción de sobresalto y mancha retiniana de color rojo cereza. La forma de inicio juvenil se manifiesta con ataxia y demencia, y el paciente fallece entre los 10 y los 15 años. La variante del trastorno que se inicia en la vida adulta se caracteriza por antecedentes de torpeza durante la infancia, debilidad motora progresiva en la adolescencia y durante la edad adulta se añaden síntomas espinocerebelosos, de la neurona motora inferior y disartria. La capacidad intelectual se va mermando con lentitud y es frecuente la psicosis. La enfermedad de Sandhoff, que se debe a una deficiencia en Hex A y Hex B por defectos en las cadenas  $\beta$ , tiene un fenotipo similar a la enfermedad de Tay-Sachs, pero también incluye hepatoesplenomegalia y displasias óseas (36).

### **MUCOPOLISACARIDOSIS TIPO I**

La mucopolisacaridosis tipo I (MPS I) es un trastorno autosómico recesivo causado por la deficiencia de  $\alpha$ -L-iduronidasa. De manera tradicional, el trastorno se ha clasificado, según sus manifestaciones, en tres categorías: 1) enfermedad de Hurler (MPH I H) para la deficiencia grave con neurodegeneración; 2) enfermedad de Scheie (MPS I S) para enfermedad de inicio tardío sin afectación neurológica y con daño relativamente menos grave en otros sistemas orgánicos, y 3) enfermedad de Hurler-Scheie (MPS I H/S) para pacientes intermedios entre estos extremos. La MPS I H/S se caracteriza por afectación somática grave y, por lo general, carece de deterioro neurológico franco (36).

La MPS I a menudo se presenta en la lactancia o infancia temprana con rinitis crónica, opacidad corneal y hepatoesplenomegalia. A medida que la enfermedad progresa

puede afectar a casi cualquier órgano. En las formas de mayor gravedad, las enfermedades cardíaca y respiratoria ponen en riesgo la vida durante la infancia. El trastorno esquelético puede ser bastante grave y deriva en movilidad muy limitada (36).

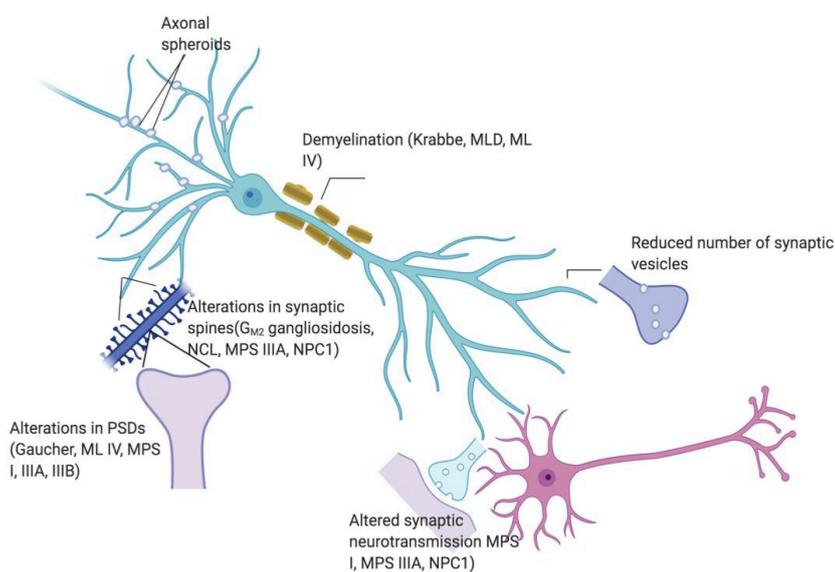
El tratamiento para MPS I se basa en el manejo de los síntomas, orientación anticipada y vigilancia continua. En ausencia de síntomas neurológicos, ERT está disponible. Cuando se realiza antes de la edad de 2 años, el HSCT ha demostrado ser exitoso para aquellos con MPS I grave para disminuir el deterioro cognitivo y las manifestaciones neurológicas. Debido a que la ERT no cruza la barrera hematoencefálica, no previene el deterioro neurológico. La ERT intratecal se está considerando como una opción de tratamiento futuro (38).



**Figura 6.** Rasgos físicos del paciente con síndrome de Hurler (extraído de *Barriga, Murillo et al; 2011*).

#### 4. IMPLICACIONES NEUROLÓGICAS

Alrededor de dos tercios de los pacientes con EDL exhiben al menos alguna alteración neurológica, pero los síntomas son heterogéneos y surgen a diferentes edades. En los niños, estas manifestaciones pueden incluir convulsiones, pérdida de audición, discapacidad intelectual, regresión neuromotora, retraso del desarrollo y signos extrapiramidales. En las EDL neurológicas de inicio tardío, los adultos pueden experimentar depresión, demencia, psicosis y otros déficits neurológicos. Las manifestaciones neurológicas suelen estar presentes en MPS I, II, III y VII, esfingolipidosis (gangliosidosis GM1 y GM2, enfermedad de Gaucher, enfermedad de Niemann-Pick, leucodistrofia metacromática, enfermedad de Krabbe y enfermedad de Farber), mucopolisacáridosis, oligosacaridosis (alfa y beta- manosidosis, fucosidosis, enfermedad de Schindler, aspartilglucosaminuria, sialidosis y galactosialidosis), deficiencia de sulfatasa múltiple y NCL (40).



**Figura 7.** Anormalidades sinápticas según el tipo de EDL (esferoides axonales, desmielinización, vesículas sinápticas reducidas, neurotransmisión sináptica alterada y alteraciones en densidades postsinápticas) (extraído de *Pará, Bose et al; 2020*).

La neurodegeneración y la neuroinflamación que se manifiesta con microgliosis y astrocitosis se describen como las características más comunes de la patología cerebral en la neurológica con una propensión a un inicio temprano. En un cerebro sano, las células microgliales son factores cruciales que modulan el desarrollo neuronal y sináptico, la plasticidad sináptica del adulto y la regulación de la neurogénesis; sin embargo, en condiciones patológicas, su activación conduce a la producción de citocinas inflamatorias que pueden provocar la activación de respuestas neuroinflamatorias que provocan la muerte celular agravada. Similar a la microgliosis, se observa una mayor abundancia y activación de astrocitos en la mayoría de las EDL neurológicas. Teniendo en cuenta las funciones importantes de los astrocitos en la regulación de la fuerza sináptica y la plasticidad, la astrocitosis podría

ser un importante factor contribuyente en los cambios patológicos del SNC asociados con estas enfermedades.

En las neuronas afectadas por una EDL, los cuerpos de almacenamiento se limitan principalmente al soma neuronal, lo que podría afectar el transporte de los lisosomas, evitando que se fusionen con los endosomas tempranos en la terminal del axón. El almacenamiento también puede interrumpir el transporte retrógrado normal de vesículas que transportan las proteínas sinápticas a lo largo del axón. Además, dado que los lisosomas son los compartimentos terminales compartidos por las principales vías de degradación autofágica y endocítica, la homeostasis lisosómica defectuosa en la ELD causa un deterioro grave de la autofagia. Así, se ha observado que en las enfermedades neurodegenerativas de aparición tardía la principal función lisosómica que se ve alterada es la autofagia (40).

La autofagia abarca el secuestro de material por estructuras de doble membrana (el "*fagophore*") y múltiples eventos de fusión de vesículas que culminan en la degradación lisosómica de la carga autofágica. Los defectos en el ensamblaje, fusión o degradación de estas estructuras se observan de manera consistente no solo en los trastornos de almacenamiento lisosómico sino también en las enfermedades neurodegenerativas de aparición tardía más generalizadas. Entre los mecanismos propuestos que conducen al fallo lisosomal-autofágico en enfermedades neurodegenerativas, la desregulación de TFEB ha ganado un reconocimiento creciente debido a la disección precisa de múltiples eventos moleculares que pueden interferir con la función normal de TFEB. Los ejemplos mejor definidos se refieren a la identificación de posibles mecanismos patogénicos en la enfermedad de Parkinson, la enfermedad de Alzheimer y la atrofia muscular espinobulbar (41).

**La enfermedad de Parkinson** se caracteriza por la pérdida selectiva de neuronas dopaminérgicas en la sustancia negra, precedida por una acumulación aberrante de  $\alpha$ -sinucleína en los cuerpos de Lewy. Además de varias causas ambientales, varios genes del sistema lisosómico se han caracterizado como factores de riesgo para la enfermedad de Parkinson, incluido GBA, SMPD1 y otros. Estos hallazgos han introducido el concepto de que los trastornos de almacenamiento lisosómico y la enfermedad de Parkinson pueden compartir un mecanismo genético común, una idea corroborada por las observaciones de que el lisosoma está implicado en la eliminación de agregados de  $\alpha$ -sinucleína y que un exceso de  $\alpha$ -sinucleína interrumpe la función lisosomal neuronal. Además, el agotamiento lisosómico se ha descrito como un fenotipo celular prominente en la enfermedad de Parkinson. Se ha proporcionado un vínculo directo entre la acumulación de  $\alpha$ -sinucleína y el deterioro de la función lisosómica con el hallazgo de que la  $\alpha$ -sinucleína se comporta como una molécula secuestradora de TFEB; por lo tanto, la  $\alpha$ -sinucleína impide la translocación nuclear de TFEB, inhibiendo así la biogénesis lisosómica. El análisis de los tejidos post-mortem de pacientes con enfermedad de Parkinson reveló el agotamiento de TFEB nuclear y su acumulación con  $\alpha$ -sinucleína en cuerpos de Lewy en neuronas dopaminérgicas de la sustancia negra. La acumulación de hierro podría ser un componente adicional de este circuito patógeno. El hierro de hecho se acumula en varios trastornos neurodegenerativos y particularmente

en sinucleinopatías donde contribuye a la agregación y transmisión de  $\alpha$ -sinucleína al interferir con la función TFEB a través de la activación del eje Akt / mTORC1 (41).

**La enfermedad de Alzheimer** se caracteriza por una atrofia progresiva del hipocampo (y del cerebro en general). A nivel celular, la acumulación de tau  $\beta$ -amiloide e hiperfosforilada es paralela a la interrupción progresiva de la vía autofagil-lisosómica. Curiosamente, los estudios han demostrado que el hipocampo de los pacientes con enfermedad de Alzheimer expresa niveles más altos de microARN-128 (miR-128), un microARN que se dirige al ARNm de TFEB y, por lo tanto, reduce la expresión de TFEB y genes lisosomales. En las células sanguíneas de pacientes con enfermedad de Alzheimer, el aumento de la expresión de miR-128 se correlacionó con la disminución de las actividades de las enzimas lisosómicas y la disminución de la capacidad de las células para degradar el  $\beta$ -amiloide, que se restableció mediante la supresión de la expresión de miR-128. Se observó un vínculo diferente entre la patología de Alzheimer y la función de TFEB con el hallazgo de que la activación de TFEB se ve afectada negativamente por la deficiencia de presenilina, una causa de la enfermedad de Alzheimer familiar (41).

Otra conexión independiente entre la patología de Alzheimer y la función TFEB fue la observación de que la unión de TFEB a los promotores de genes lisosomales puede ser superada por la apolipoproteína E4 (apoE4). ApoE4 es la proteína codificada por el alelo APOE  $\epsilon$ 4, el mayor factor de riesgo genético para el desarrollo de la enfermedad de Alzheimer. In vitro, apoE4 podría unirse a las sondas de ADN que llevan el motivo CLEAR con una afinidad mucho mayor que apoE3, el producto proteico del alelo APOE  $\epsilon$ 3 que no es un factor de riesgo para la enfermedad de Alzheimer; el aumento de la unión de apoE4 a las sondas CLEAR fue paralelo a la disminución de la unión de TFEB a las mismas sondas, y la expresión de apoE4 disminuyó la expresión de los genes objetivo de TFEB. Por lo tanto, varias vías independientes parecen converger en la biogénesis lisosómica mediada por TFEB alterada como un potencial leitmotiv común en la patogénesis de la enfermedad de Alzheimer. Se necesita más trabajo in vivo para aclarar si estas vías se cruzan y dónde se ubican singularmente en la secuencia de eventos celulares que culminan con la muerte celular neuronal (41).

**La atrofia muscular espinobulbar (SBMA)** es una enfermedad causada por la expansión de un tracto de poliglutamina (polyQ) en la proteína del receptor de andrógenos (AR). Trabajos recientes han demostrado que la AR normal interactúa con TFEB y promueve la expresión de TFEB, mientras que polyQ AR interfiere con la activación de TFEB y altera la autofagia neuronal, contribuyendo así a la patología de la enfermedad (41).

Juntos, estos ejemplos destacan la función deteriorada de TFEB como un contribuyente potencial de la degeneración neuronal y plantean la pregunta de si las intervenciones destinadas a aumentar la función de TFEB contrarrestarían la progresión de la enfermedad (41).

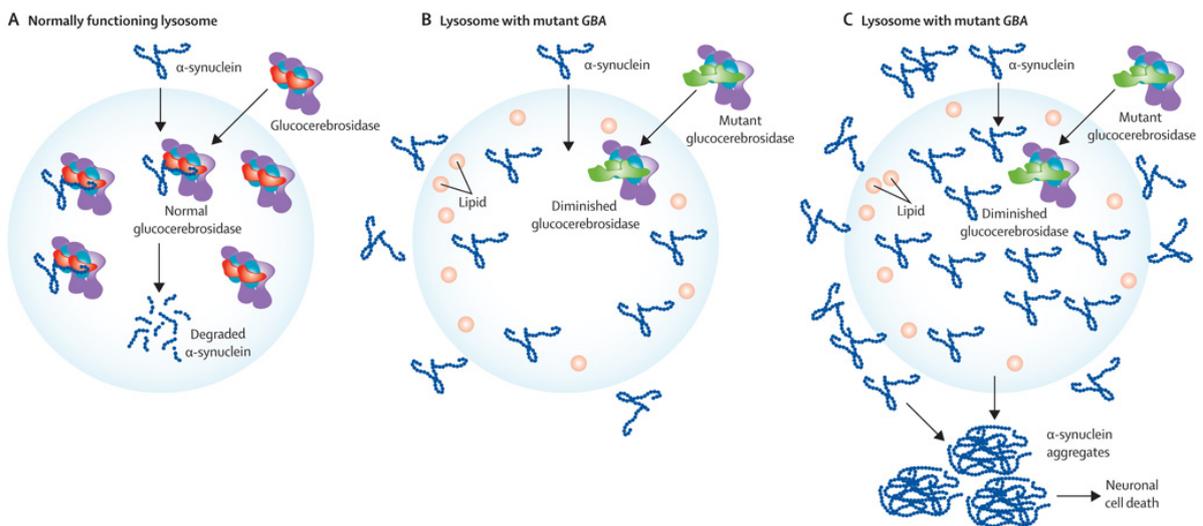
#### 4.1 SISTEMA DEL LISOSOMA Y EL PAPEL DE LAS MUTACIONES GBA1

Como ya hemos comentado, una actividad autofágica anormal conduce a la acumulación de proteínas aberrantes y componentes tóxicos lo que contribuye a la neurodegeneración observada en varias enfermedades, incluida la EP.

En el pasado reciente, un creciente cuerpo de evidencia sugiere un papel importante a la disminución de la actividad glucocerebrosidasa (GCasa) en el fallo autofágico y la posterior acumulación de  $\alpha$ -sinucleína en la EP. La GCasa es una enzima lisosómica codificada por el gen GBA1, expresada ubicuamente en el cerebro con algunas variaciones regionales, cuyas mutaciones de compuestos homocigóticos o heterocigotos causan la enfermedad de Gaucher (EG), con la acumulación de sustrato de glucolípidos. Es de destacar que las mutaciones heterocigotas de GBA1 representan el factor de riesgo más relevante para la EP, ya que se pueden encontrar en aproximadamente el 5-10% de los pacientes con EP idiopática. La mayoría de las mutaciones GBA1 están asociadas con niveles reducidos de GCasa, con mutaciones más leves responsables de niveles enzimáticos ligeramente disminuidos, lo que confiere un riesgo mucho menor de EP que las mutaciones que causan disfunción enzimática grave.

Los mecanismos moleculares subyacentes al aumento del riesgo de EP en los portadores de mutaciones GBA1 no se han aclarado completamente. Se ha propuesto una interacción dual para GCasa y  $\alpha$ -sinucleína. Por un lado, la pérdida de función de la GCasa conduciría a una degradación aberrante de la proteína lisosómica y neurotoxicidad, mientras que, por otro lado, la  $\alpha$ -sinucleína puede inhibir la actividad de la GCasa normal. En consecuencia, en muestras post mortem de pacientes con EP sin mutaciones GBA1, se ha informado una actividad reducida de GCasa. El escenario es aún más complejo, considerando que la pérdida significativa de la actividad de GCasa puede causar neurodegeneración incluso en ausencia de  $\alpha$ -sinucleína. Para dilucidar mejor los mecanismos precisos que vinculan GBA1 con parkinsonismo, se han desarrollado una serie de modelos de enfermedades basados en modelos animales y células. Los ratones *knock-out* GBA1 y las líneas de ratones transgénicos que llevan mutaciones puntuales GBA1 recapitulan bien el fenotipo EG con acumulación de  $\alpha$ -sinucleína y proteínas ubiquitinadas, la presencia de "células Gaucher" típicas e inflamación, pero también demuestran ser apropiadas para el estudio de los efectos de la reducción de la GCasa en la patogenia de la EP. En los ratones *knockout*, por ejemplo, el defecto lisosómico demostrado en neuronas y astrocitos que carecen de GBA1 se correlacionó con mitocondrias disfuncionales y fragmentadas, señalando una posible relación entre la disminución de la actividad de la GCasa y la mitofagia deteriorada, debido a la inhibición de la degradación de las mitocondrias por la vía de la autofagia-lisosoma. Sin embargo, es importante tener en cuenta que las mutaciones de GBA1 no actúan solo a través de una vía de lisis defectuosa: por el contrario, la pérdida de función de la GCasa puede estar asociada con muchos otros mecanismos celulares patógenos, incluidos el estrés del retículo endoplasmático, la disregulación del metabolismo del calcio y neuroinflamación, que, en conjunto, podría contribuir a la agregación de  $\alpha$ -sinucleína mal plegada. En este contexto, cualquier terapia de modificación de la enfermedad diseñada para aumentar los niveles de GCasa actuaría a diferentes niveles patógenos, con el objetivo final de ralentizar la agregación progresiva de  $\alpha$ -sinucleína.

En vista de la estrecha vinculación entre la función GCasa y el depósito de  $\alpha$ -sinucleína, podría cuestionarse si esta deficiencia de enzimas lisosomales también puede afectar la función sináptica. Un estudio experimental relativamente reciente ofrece ideas interesantes sobre este tema: en un modelo murino de EP, donde una exposición subcrónica a conduritól-epóxido- $\beta$  indujo la inhibición de la GCasa, se identificó un deterioro sináptico temprano, en forma de una reducción de liberación estriada de dopamina evocada y marcadores de plasticidad sináptica alterados, incluidos el tamaño de densidad postsináptica y los niveles de expresión de miARN, junto con la activación glial dentro de la vía nigrostriatal y la acumulación anormal de  $\alpha$ -sinucleína. Además, los pacientes portadores de mutaciones GBA1 muestran una disfunción dopaminérgica presináptica estriatal temprana incluso antes del inicio de los síntomas motores. Los estudios adicionales de individuos que portan un alelo GBA1 mutante, junto con el desarrollo y la caracterización de diferentes modelos GBA1, ayudarán a aclarar los mecanismos subyacentes a la conexión Parkinson-EG y proporcionar nuevas ideas sobre la influencia de la disminución de la actividad de GCasa en la transmisión sináptica, lo que podría conducir al desarrollo de nuevas intervenciones terapéuticas (42).



**Figura 8.** Esquema que muestra diferentes situaciones según la mutación o no de la GCasa (A) En el lisosoma que funciona normalmente, la glucocerebrosidasa de tipo salvaje podría interactuar con la sinucleína  $\alpha$ , facilitando el componente lisosómico de la degradación de la misma (B) En la mayoría de los casos, cuando la glucocerebrosidasa está mutada, la  $\alpha$ -sinucleína permanece en forma monomérica y otros procesos están activos en su degradación (C) En algunos pacientes, la glucocerebrosidasa está mutada y la célula no puede degradar la  $\alpha$ -sinucleína. La función lisosómica se ve comprometida y las formas oligoméricas aumentadas de  $\alpha$ -sinucleína conducen a la muerte celular neuronal y al desarrollo del parkinsonismo (extraído de Sidransky E, Lopez G; 2012).

## BIBLIOGRAFÍA

1. Ballabio, Bonifacio; 2019. Lysosomes as dynamic regulators of cell and organismal homeostasis.
2. Kierszenbaum, Tres; 2016. Histología y biología celular.
3. Hosokawa, N. et al; 2009. Nutrient-dependent mTORC1 association with the ULK1-Atg13-FIP200 complex required for autophagy.
4. Li, P., Gu, M. & Xu, H.; 2019. Lysosomal ion channels as decoders of cellular signals. *Trends Biochem. Sci.* **44**, 110–124.
5. Wang, W. et al; 2017. A voltage-dependent K<sup>+</sup> channel in the lysosome is required for refilling lysosomal Ca<sup>2+</sup> stores. *J. Cell Biol.* **216**, 1715–1730.
6. Mindell, J. A; 2012. Lysosomal acidification mechanisms. *Annu. Rev. Physiol.* **74**, 69–86.
7. Cheng, X., Shen, D., Samie, M. & Xu, H; 2010. Mucolipins: intracellular TRPML1-3 channels. *FEBS Lett.* **584**, 2013–2021.
8. Medina, D. L. et al; 2015. Lysosomal calcium signalling regulates autophagy through calcineurin and TFEB. *Nat. Cell Biol.* **17**, 288–299.
9. Wang, W. et al; 2015. Up-regulation of lysosomal TRPML1 channels is essential for lysosomal adaptation to nutrient starvation. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* **112**, E1373–E1381.
10. Zhang, X. et al; 2016. MCOLN1 is a ROS sensor in lysosomes that regulates autophagy. *Nat. Commun.* **7**, 12109.
11. Reddy, A., et al; 2001. Plasma membrane repair is mediated by Ca<sup>2+</sup> regulated exocytosis of lysosomes. *Cell* **106**, 157–169.
12. Miller, A. et al; 2015. Mucopolidosis type IV protein TRPML1- dependent lysosome formation. *Traffic* **16**, 284–297.
13. Medina, D. L. et al; 2011. Transcriptional activation of lysosomal exocytosis promotes cellular clearance. *Dev. Cell* **21**, 421–430.
14. Wang, F., Gómez-Sintes. et al; 2018. Lysosomal membrane permeabilization and cell death. *Traffic* **19**, 918–931.
15. Papadopoulos, Meyer; 2017. Detection and clearance of damaged lysosomes by the endo-lysosomal damage response and lysophagy. *Curr. Biol.* **27**, R1330–R1341.

16. Thelen, Zoncu; 2017. Emerging roles for the lysosome in lipid metabolism. *Trends Cell Biol.* **27**, 833–850.
17. Ebner, M., et al; 2019. Phosphoinositides in the control of lysosome function and homeostasis. *Biochem. Soc. Trans.* **47**, 1173–1185.
18. Ramachandran, P. V. et al; 2019. Lysosomal signalling promotes longevity by adjusting mitochondrial activity. *Dev. Cell* **48**, 685–696.e5.
19. Sardiello, M. et al; 2009. A gene network regulating lysosomal biogenesis and function. *Science* **325**, 473–477.
20. Settembre, C. et al; 2011. TFEB links autophagy to lysosomal biogenesis. *Science* **332**, 1429–1433.
21. Pastore, N. et al; 2017. TFE3 regulates whole-body energy metabolism in cooperation with TFEB. *EMBO Mol. Med.* **9**, 605–621.
22. Rega, L. R. et al; 2016. Activation of the transcription factor EB rescues lysosomal abnormalities in cystinotic kidney cells. *Kidney Int.* **89**, 862–873.
23. Curnock, R., et al; 2019. TFEB controls retromer expression in response to nutrient availability. *J. Cell Biol.* [https://doi.org/ 10.1083/jcb.201903006](https://doi.org/10.1083/jcb.201903006)
24. Visvikis, O. et al.; 2014. Innate host defence requires TFEB-mediated transcription of cytoprotective and antimicrobial genes. *Immunity* **40**, 896–909.
25. Sakamaki, J. I. et al; 2017. Bromodomain protein BRD4 is a transcriptional repressor of autophagy and lysosomal function. *Mol. Cell* **66**, 517–532.e9.
26. Liu, B. et al; 2018. STAT3 associates with vacuolar H<sup>+</sup>-ATPase and regulates cytosolic and lysosomal pH. *Cell Res.* **28**, 996–1012.
27. Saffi, Botelho; 2019. Lysosome fission: planning for an exit. *Trends. Cell Biol.* **29**, 635–646.
28. Dong, R. et al; 2016. Endosome-ER contacts control actin nucleation and retromer function through VAP-dependent regulation of PI4P. *Cell* **166**, 408–423.
29. Wilhelm, L. P. et al; 2017. STARD3 mediates endoplasmic reticulum-to-endosome cholesterol transport at membrane contact sites. *EMBO J.* **36**, 1412–1433.
30. Korolchuk, V. I. et al; 2011. Lysosomal positioning coordinates cellular nutrient responses. *Nat. Cell Biol.* **13**, 453–460.
31. Platt, F.M., d’Azzo, A., Davidson, B.L. et al; 2018. Lysosomal storage diseases. *Nat Rev Dis Primers* **4**, 27. <https://doi.org/10.1038/s41572-018-0025-4>
32. Bonam, S.R., Wang, F. & Muller, S.; 2019. Lysosomes as a therapeutic target. *Nat Rev Drug Discov* **18**, 923–948. <https://doi.org/10.1038/s41573-019-0036-1>

33. Marques, Saftig; 2019. Lysosomal storage disorders – challenges, concepts and avenues for therapy: Beyond rare diseases. *Journal of Cell Science*. 132. jcs221739. 10.1242/jcs.221739.
34. Parenti, Giancarlo & Andria, Generoso & Ballabio, Andrea; 2015. Lysosomal Storage Diseases: From Pathophysiology to Therapy. *Annual review of medicine*. 66. 471-86. 10.1146/annurev-med-122313-085916.
35. Beck, Michael; 2017. Treatment strategies for lysosomal storage disorders. *Developmental Medicine & Child Neurology*. 60. 10.1111/dmcn.13600.
36. Hopkin, Grabowski; 2016. Enfermedades por almacenamiento lisósomico. Kasper Dennis., *Harrison. Principios de medicina interna - 19ª Edición*. McGRAW-HILL INTERAMERICANA EDITORES.
37. Bokhari SRA, Zulfiqar H, Hariz A; 2020. Fabry Disease. Available from: [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK435996/?fbclid=IwAR0y-semoHgC1qEuIX9E\\_\\_awge9kHxgas7VQOQvVENTnBNYWIKFvRfROnQg](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK435996/?fbclid=IwAR0y-semoHgC1qEuIX9E__awge9kHxgas7VQOQvVENTnBNYWIKFvRfROnQg)
38. Ferreira CR, Gahl WA. Lysosomal storage diseases. *Transl Sci Rare Dis*. 2017;2(1-2):1–71. Published 2017 May 25. doi:10.3233/TRD-160005.
39. Stone WL, Basit H, Master SR; 2019. Gaucher Disease. Available from: [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK448080/?fbclid=IwAR1J9cz96lpX1vZi9EX7Y8nkYF9RSWk4N3cqJNMGSy9J32EbypCvJCK\\_KvA](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK448080/?fbclid=IwAR1J9cz96lpX1vZi9EX7Y8nkYF9RSWk4N3cqJNMGSy9J32EbypCvJCK_KvA)
40. Pará, C.; Bose, P.; Pshezhetsky, A.V.; 2020. Neuropathophysiology of Lysosomal Storage Diseases: Synaptic Dysfunction as a Starting Point for Disease Progression. *J. Clin. Med*.
41. Bajaj, Lakshya et al ; 2019. “Lysosome biogenesis in health and disease.” *Journal of Neurochemistry* 148: 573–589.
42. Imbriani, P., Schirinzi, T., Meringolo, M., Mercuri, N. B., & Pisani, A.; 2018. Centrality of Early Synaptopathy in Parkinson's Disease. *Frontiers in neurology*, 9, 103. <https://doi.org/10.3389/fneur.2018.00103>