

ESTUDIOS BIOQUÍMICOS DE LOS ERRORES INNATOS DEL METABOLISMO EN COLOMBIA, DURANTE DOS DÉCADAS

Por

Luis Alejandro Barrera Avellaneda*

Resumen

Barrera Avellaneda, L. A.: Estudios bioquímicos de los errores innatos del metabolismo en Colombia, durante dos décadas. *Rev. Acad. Colomb. Cienc.* **33**(128): 377-394, 2009. ISSN 0370-3908.

Este trabajo describe la participación del autor en el diagnóstico, tratamiento y estudios moleculares a lo largo de 20 años de enfermedades metabólicas en Colombia. Se enumeran las técnicas que han sido utilizadas para la confirmación bioquímica de cerca de cincuenta de estas enfermedades por vez primera en la literatura colombiana. Se describen las terapias que se emplean, sus limitaciones y las dificultades encontradas en el país para su aplicación. Se discute en detalle la Terapia de Reemplazo Enzimático (TRE) por ser la alternativa más eficaz hasta el momento para algunas de las enfermedades lisosomales y porque llegó a Colombia muy poco después de haberla comenzado a usar en los EE.UU. Se comentan brevemente otros tipos de terapias que pronto estarán disponibles en Colombia para enfermedades monogénicas y el descubrimiento de nuevas mutaciones en los genes responsables de las enfermedades de Morquio y de Gaucher en pacientes colombianos.

Palabras clave: errores innatos, terapias, Colombia, casuística.

Abstract

This article describes the participation of the author during 20 years in the diagnosis and molecular studies of inborn errors of metabolism (IEM) in Colombia. It is described the several methodologies that were standardized for the diagnosis of IEM and the biochemical confirmation for the first time in Colombia, of close to 50 IEM. It is discussed the different types of therapies that have been used to treat them, and the difficulties for the nutritional treatment in Colombia. The enzyme replacement therapy is treated in detail because it is the most efficient way for the treatment of the lysosomal storage diseases, and because it has been introduced in Colombia shortly after it was approved in the EE.UU. Some brief comments are made about the limitations of therapies that are coming for monogenic diseases and the discovery of new mutations in the genes responsible for the Gaucher and Morquio diseases in Colombian patients.

Key words: inborn errors, therapies, Colombia.

* Ph.D. Instituto de errores Innatos del Metabolismo. Pontificia Universidad Javeriana. Carrera 7 No. 43-82. Edificio 54. Laboratorio 305A. Bogotá, D.C. Colombia. Correo electrónico: abarrera@javeriana.edu.co

Introducción

Los Errores Innatos del Metabolismo (EIM) fueron descubiertos por Archibald Garrod a finales del siglo XIX estudiando cuatro enfermedades monogénicas: la alcaptonuria, el albinismo, la pentosuria y la cistinuria. En la actualidad, el número de defectos conocidos está alrededor de 550. Comprometen cualquiera de los caminos metabólicos y las reacciones indispensables o relevantes en cada uno de ellos.

Los EIM son poco frecuentes; se originan por un defecto en un gen produciendo un daño en la estructura y función de una proteína. La severidad de la enfermedad depende de la importancia de la proteína defectuosa para el metabolismo. La manifestación de la enfermedad puede ser muy severa o mortal como las enfermedades neurodegenerativas y otros son defectos asintomáticos desde el punto de vista clínico como la Alcaptonuria.

La edad de presentación depende de la importancia de la proteína y de la severidad del defecto. En algunos casos el defecto comienza in útero o poco después del nacimiento. En otras la acumulación de los metabolitos tóxicos o deletéreos para el organismo es lo suficientemente lenta para que la entidad sólo se manifieste en la edad adulta o cuando se dan condiciones medioambientales que desencadenan su aparición, tal es el caso de las formas de presentación adulta de las enfermedades del metabolismo de los lípidos complejos, las de depósito de glucógeno y las mucopolisacaridosis. (Scriver *et al.*, 2001; Barrera *et al.*, 2004a; Barrera *et al.*, 2007a; Barrera *et al.*, 2007b).

En lo que tiene que ver con el compromiso de tejidos y órganos, algunos defectos sólo comprometen un órgano (hígado, músculo, etc.), en tanto que otros pueden comprometer varios tejidos o manifestarse de manera sistémica. Esto depende si la proteína afectada se expresa sólo en un tipo o en todas las células del cuerpo. Además en muchos casos los síntomas iniciales son los mismos que presentan otras enfermedades especialmente de tipo infeccioso.

Existen varias formas de clasificar los EIM: por caminos metabólicos involucrados, por organelos o por órganos afectados. A continuación se presenta una adaptación de la forma en que se clasifican en Scriver *et al.*, 2005, la obra de referencia en el campo (Tabla 1).

Aminoacidopatías

Las aminoacidopatías son un grupo de aproximadamente 39 enfermedades. Son causadas por el defecto en el metabolismo de alguno de los aminoácidos, lo cual provo-

Tabla 1. Clasificación de los EIM propuesta por Scriver *et al.*, 2005. Errores innatos del metabolismo clasificados según Scriver *et al.*, 2005. Esta clasificación no incluye ciertas subdivisiones, por ejemplo las enfermedades de Morquio A y B se cuentan como una sola. Los síndromes de Sanfilippo A, B, C y D como una. En total los EIM identificados sobrepasan los 550.

Tipo de desorden	Número de enfermedades
Cáncer	9
Cromosomales	4
Carbohidratos	33
Aminoácidos	39
Ácidos orgánicos	26
Carnitinas	11
Mitocondriales	30
Purinas y pirimidinas	13
Lípidos	21
Porfirinas	13
Metales	6
Peroxisomales	21
Lisomales	36
Hormonas	33
Vitaminas	15
Sangre	45
Sistemas de defensa e inmunidad	34
Transportadores de membrana	16
Tejido conectivo	23
Sistema cardiovascular	3
Riñón	5
Músculo	5
Pulmón	2
Piel	17
Neurogenéticas	13
Ojo	7
Intestinales	4
Errores innatos multisistémicos del desarrollo	12

ca manifestaciones como vómitos, diarreas, desequilibrio ácido básico, daños neurológicos y retardo mental. No todas son debidas a defectos en enzimas, algunas se producen por deficiencia en cofactores o en proteínas transportadoras de aminoácidos en el riñón o en el intestino, tal es el caso de la cistinuria defecto del metabolismo de la cistina que afecta fundamentalmente el riñón (Barrera *et al.*, 2004a; Barrera *et al.*, 2007b). Pueden presentarse en el recién nacido, en el niño, en el adolescente o en el adulto. Las formas más severas hacen su aparición en el neonato y las formas menos severas en el adulto.

Acidemias orgánicas

Comprende un grupo de aproximadamente cincuenta enfermedades producidas por defectos en las enzimas que participan en el metabolismo de los aminoácidos, los lípidos, los carbohidratos. Se pueden deber también a defectos en la síntesis o reutilización de cofactores neces-

rios para el funcionamiento de algunas de estas enzimas. Aún cuando presentan características particulares, hay algunos síntomas que pueden ser comunes como: el vómito, la acidosis metabólica, letargia, convulsiones y alteraciones hepáticas. Hay formas de presentación en el recién nacido o en el lactante y se han reportado formas atenuadas de algunas de estas enfermedades en adultos (**Barre-ra 1995; Barrera et al., 2006a; Barrera et al., 2007a; Scriver et al., 2001**).

El cuadro clínico de las acidemias orgánicas, usualmente no permite distinguirlas entre sí. La existencia de casos previos diagnosticados en la familia es útil pero no es usual. Ciertas características como los olores peculiares (pies sudados, jarabe o azúcar quemado, mantequilla rancia, etc.) ponen en alerta al clínico sobre la presencia de una acidemia orgánica. Las acidemias severas se presentan en el recién nacido con encefalopatía fulminante acompañada de alteración de conciencia y vómito. La cuantificación de los ácidos orgánicos que se acumulan anormalmente en los fluidos del organismo mediante la cromatografía de gas acoplada a espectrometría de masas es suficiente para establecer el diagnóstico e implementar el manejo nutricional y farmacológico. El diagnóstico definitivo de las acidemias orgánicas se hace por medio de la dosificación de la actividad enzimática en leucocitos, plaquetas, fibroblastos y biopsia de tejido (**Barrera et al., 2004a; Barrera et al., 2007b**).

Enfermedades de depósito lisosomal

Son cerca de cuarenta enfermedades caracterizadas por el acumulo de moléculas sin digerir en el lisosoma. Se originan en deficiencias de enzimas que participan en el metabolismo de los mucopolisacáridos, los gangliósidos, el glucógeno, los esfingolípidos, etc.

Mucopolisacaridosis

Son un grupo de 11 enfermedades debidas a la deficiencia de las enzimas lisosomales que participan en la degradación de los sulfatos de heparán, condroitin, queratán y dermatán (**Espinosa et al., 1989**).

Algunas manifestaciones comunes en las mucopolisacaridosis son: el compromiso óseo, defectos en las válvulas cardiacas, opacidad corneal, degeneración retinal o glaucoma, limitaciones en la movilidad articular, obstrucción de la vía aérea que conduce a apnea del sueño e inclusive a la traqueotomía en algunos pacientes. Algunas de las mucopolisacaridosis como las enfermedades de Morquio, Scheie y Maroteaux Lamy no presentan retardo

mental; mientras en otras como Hurler y Sanfilippo y el tipo severo de la enfermedad de Hunter, es un signo característico.

Enfermedades por defectos en el metabolismo de los esfingolípidos

Los esfingolípidos son lípidos de membrana complejos, están compuestos por un amino alcohol de 18 carbonos, una molécula de ácido graso de cadena larga unida al grupo amino C2 de la esfingosina y varios grupos polares unidos al carbono 1 por un enlace glicosídico. Comprenden entre otras las enfermedades de Farber, Gaucher, Krabbe, leucodistrofia metacromática, Niemann Pick, Fabry, Gangliosidosis GM1, Tay Sachs y Sandhoff. Las esfingolipidosis son un subgrupo de las enfermedades lisosomales caracterizadas por una acumulación de esos materiales en los órganos afectados lo cual conlleva a un deterioro progresivo de los mismos. No existe un método de tamizaje, pero su curso y aparición son característicos y conjuntamente con las imágenes diagnósticas, ayudan a orientar su estudio enzimático. Las enfermedades de Niemann Pick A y B, y Gaucher se caracterizan por presentar hepatomegalia, mientras la leucodistrofia metacromática y el Krabbe son ejemplos de desmielinización. Las enfermedades de Farber y Fabry tienen características especiales (**Barrera et al., 2004**).

Enfermedades de depósito de glucógeno

El glucógeno es la forma de almacenamiento de glucosa en el hígado y el músculo principalmente. En su degradación participan varias enzimas y cuando su actividad se encuentra disminuida se produce almacenamiento anormal de ese carbohidrato complejo que eventualmente conduce a tres tipos de desórdenes, uno localizado en hígado, otro puede ser generalizado y otro de tipo muscular de acuerdo con los tejidos en que se localice la enzima defectuosa. Las variantes hepáticas están asociadas con hepatomegalia, hipoglicemia y retardo en el crecimiento, en tanto que las de tipo muscular presentan intolerancia al ejercicio, calambres musculares y mioglobinuria originada en la destrucción de las células musculares. Una glicogénesis generalizada es la enfermedad de Pompe debida a la deficiencia de la enzima maltasa ácida. La enfermedad afecta todos los tejidos pero principalmente el corazón, el pulmón, hígado, sistema nervioso central y leucocitos. Estas enfermedades al igual que la mayoría del los EIM son de expresión en el recién nacido, en el niño o en el adulto, dependiendo de la severidad del defecto enzimático. (**Barrera 1990a; Scriver et al., 2001**).

Enfermedades peroxisomales

Son cerca de 21 desórdenes por defectos en la síntesis o deficiencias enzimáticas de los peroxisomas. Usualmente se asocian con encefalopatía crónica de comienzo en la infancia o en el niño preescolar. El diagnóstico clínico se orienta en función de la edad de presentación y algunos de los siguientes signos: dismorfia, disfunción neurológica y manifestaciones hepatodigestivas. Las más conocidas son el síndrome de Zellweger, la adrenonleucodistrofia neonatal, el Refsum infantil, la condrodisplasia rizomélica, la acatalasemia y la hiperoxaluria. La mayoría se pueden diagnosticar midiendo ácidos grasos de cadena muy larga entre los cuales está el ácido fitánico, el ácido pipercolico y la medición de los plasmalógenos. La aciduria glutárica tipo II y la hiperoxaluria se pueden diagnosticar determinando ácidos orgánicos por cromatografía de gas acoplada a espectrometría de masas (**Barrera et al.**, 2007b).

Relación genotipo/fenotipo y estudio de mutaciones

Desde comienzos de los años 70 se postuló una relación directa entre ciertos tipos de mutaciones y la severidad de la enfermedad y se propuso el proyecto para secuenciar el genoma humano con la esperanza de que conociendo la secuencia de cada uno de los genes, se podría predecir la severidad de cada una de las enfermedades originadas en sus mutaciones, hacer diagnóstico temprano y escoger o desarrollar el tratamiento más indicado. Las mutaciones que comprometen o dañan el sitio activo producirían fenotipos severos, en tanto que las que no causan cambios conformacionales importantes o no afectan el sitio activo, deberían presentar fenotipos atenuados. En términos generales las mutaciones que truncan la síntesis produciendo proteínas en las cuales no se sintetiza todo o parte del sitio activo o producen cambios estructurales graves, generan fenotipos graves en tanto que mutaciones de cambio de sentido con cambios estructurales moderados, pueden generar fenotipos severos o atenuados (**Barrera**, 2001; **Tomatsu et al.**, 2004a).

Desde el año de 1992 se comenzaron los estudios de los genes causantes de EIM y sus mutaciones en la población colombiana para las enfermedades de fenilcetonuria y Tay Sachs, bajo el supuesto que luego se pudo confirmar, que en la población colombiana, de origen étnico distinto a las que ya han sido ampliamente estudiadas en Europa, Asia y Norteamérica, era altamente posible descubrir nuevas mutaciones. Para ello estudiamos dos enfermedades de las cuales disponíamos de una casuística suficiente, la enfermedad de Morquio y la enfermedad de Gaucher Tipo I (**Kato et al.**, 1997; **Pomponio et al.**, 2005).

Terapias

El tratamiento nutricional se ha usado para los pacientes con desórdenes del metabolismo de los carbohidratos, la fenilcetonuria, la homocistinuria, la cistinuria, la tirosinemia, acidemias orgánicas, los desórdenes del ciclo de la urea, las glicogénesis y algunas enfermedades peroxisomales. Desde la década de los ochenta se trató el trasplante de células especialmente de médula ósea para el tratamiento entre otros EIM de las mucopolisacaridosis. El trasplante de hígado ha sido utilizado para el tratamiento de glicogenosis tipo I, tipo IV, tirosinemia, deficiencia de antitripsina, hipercolesterolemia familiar, fibrosis quística, hemocromatosis, desorden del ciclo de la urea, enfermedad de Refsum entre otras. Últimamente se está tratando con éxito el trasplante de células de cordón umbilical para algunas de las mucopolisacaridosis.

Dado que los EIM son causados por deficiencia en proteínas, generalmente enzimas, desde hace muchos años se pensó en reponerlas obteniéndolas de fluidos biológicos u otros tejidos. Los estudios tendientes al desarrollo de protocolos de TRE, se iniciaron a mediados de los años 60 y demostraron que esta podría ser una alternativa terapéutica factible, siempre y cuando, se superaran algunos obstáculos que eran, en síntesis, los siguientes: obtener cantidades suficientes de la enzima humana estable, no antigénica, con alta actividad específica y poder direccionarla a las células y compartimientos subcelulares del paciente (**Grabosky, et al.**, 1995). En los estudios clínicos preliminares se emplearon tres enzimas: la hexosaminidasa A, la α -galactosidasa A y la β -glucocerebrosidasa, cuyas deficiencias son responsables de las enfermedades de Tay-Sachs, Fabry y Gaucher, respectivamente. (**Brady et al.**, 1973; **Brady et al.**, 2000; **Barrera et al.**, 2006b; **Johnson et al.**, 1973; **Sáenz et al.**, 2003).

En el caso de la enfermedad de Gaucher, la enzima aislada de placenta humana fue aplicada, vía intravenosa, a dos pacientes quienes mostraron reducción de los glucocerebrósidos, sustratos de la enzima β -glucocerebrosidasa. Sin embargo, la enzima fue captada principalmente por el hígado y no por los macrófagos, células donde más se acumulan los glucocerebrósidos y constituyen las células diana para la TRE en esta enfermedad. Para aumentar su captación por los macrófagos la enzima fue modificada para eliminar los residuos de ácido siálico y galactosa y exponer los de manosa (**Brady et al.**, 1974; **Desnick**, 2004).

Luego se aisló el gen humano de la enzima glucocerebrosidasa se insertó en células de ovario de hámster cultivadas en biorreactor. Esta enzima por ser sintetizada en células de mamífero era bien tolerada por los pacientes y mostró rápidamente su potencial para tratar la variante tipo

I de esa enfermedad en la cual no hay compromiso cerebral. Dado que la enzima no atraviesa la barrera hemato-encefálica no se puede utilizar para tratar desórdenes con compromiso cerebral. En la actualidad se están tratando seis EIM con enzimas sintetizadas en células de ovario de hámster (CHO) y una con enzima sintetizada en fibroblastos humanos cultivados, que sobre expresan la enzima. Posteriormente se hablará sobre cada una de esas enfermedades y la forma de tratarla.

La Terapia Génica (TG) ha probado su eficacia en el tratamiento de dos inmunodeficiencias y se ha usado experimentalmente en más de 20 EIM. Sin embargo, la muerte reciente de 4 pacientes sometidos a este tipo de terapia (**Haccin et al.**, 2003) ponen de presente que es necesaria más investigación antes de que esta terapia se pueda utilizar con toda la efectividad y seguridad requerida para el tratamiento de EIM. Recientemente se está probando experimentalmente el trasplante de células madre y el uso de moléculas chaperonas que faciliten el correcto plegamiento de las proteínas defectuosas (**Alméciga et al.**, 2006; **Edelstein et al.**, 2004; **Cabrera et al.**, 2002). Existe la impresión que el tratamiento efectivo para los EIM se logrará usando simultáneamente una combinación de 2 o más de estas terapias.

Revisando la literatura científica colombiana, es muy poco lo que se encuentra antes del año 87 con respecto a los EIM. Esto quizá puede explicarse por cuanto la confirmación de los EIM requiere métodos bioquímicos que no estaban disponibles en el país, pues solo se contaba con algunos exámenes de tamizaje que permitían hacer una primera aproximación para su diagnóstico. Están disponibles en Internet los artículos de (**Alzate et al.**, 1968; **Hernández** 1985; **Munar et al.**, 1985; **Carrillo**, 1986).

En este artículo se describen algunos de los trabajos en que ha participado el autor a lo largo de más de cuatro lustros, en cuanto a diagnóstico, tratamiento, estudios de mutaciones en los genes responsables de algunas de estas enfermedades. Nuestros aportes en la investigación en Terapia de Reemplazo Enzimático (TRE), (**Landázuri et al.**, 2009; **Córdoba et al.**, 2009; **Poutou et al.**, 2005), Terapia Génica (TG) (**Gutiérrez et al.**, 2008; **Alméciga et al.**, 2009) y nuevos métodos de diagnóstico (**Tomatsu et al.**, 2004b; **Tomatsu et al.**, 2004c) aparecen en algunas publicaciones recientes, por lo cual se citan pero sólo se comentan brevemente.

Métodos

Para el diagnóstico de estas enfermedades en los años de 1985-87 se estandarizaron las técnicas de tamizaje de

aminoácidos: cloruro férrico, nitrosonaftol, dinitrofenilhidracina, nitroprusiato de plata y las cromatografías en capa delgada y papel para aminoácidos en suero y orina, y la medición de glicina, triptófano, fenilalanina y tirosina. Los ácidos orgánicos se hicieron por cromatografía de gases acoplada a la espectrometría de masas para el diagnóstico de las acidemias orgánicas (**Barrera**, 1988; **Barrera**, 1993a; **Alvear et al.**, 1988).

Entre los años 1995 y 1996, se estandarizaron las técnicas de azul de toluidina, cloruro de cetil piridinium, albúmina ácida, electroforesis y cromatografía de mucopolisacáridos (**Echeverri et al.**, 1995; **Espinosa et al.**, 1989). En el año de 1990 se estandarizó la enzima para la enfermedad de Maroteaux Lamy, en 1993 Hurler (**Echeverri et al.**, 1995) y Morquio entre 1992 y 1993. Y la secuenciación de genes en MPS IVA en 1997 (**Kato et al.**, 1997), Morquio B en el 2000, Sly en 1998, Sanfilippo B en 2001.

En el año de 1990 se introdujo la técnica de la Arilsulfatasa A para el diagnóstico de la leucodistrofia metacromática, luego la enzima para el diagnóstico de la enfermedad de Krabbe, la β -galactosilceramida, β -galactosidasa, la Hexosaminidasa A para Tay Sachs y la Hexosaminidasa B para Sandhoff (**Barrera et al.**, 1993c; **Barrera et al.**, 1993d). Hace seis años se estandarizó la determinación de glucocerebrosidasa para la enfermedad de Gaucher y la secuenciación del DNA. (**Pomponio et al.**, 2005).

En 1994, se estandarizó la técnica de ácidos grasos de cadena muy larga para la adrenoleucodistrofia, pero debido al bajo número de pacientes y al hecho de que para entonces solo se disponía de un cromatógrafo de gas, con espectrómetro de masas lo cual implicaba suspender el servicio de los ácidos grasos de cadena corta que son verdaderas urgencia médicas, se decidió remitirlas al laboratorio del doctor Hugo Mosser (**Echeverri et al.**, 2005).

Para el análisis de glicógeno se estandarizaron la determinación cuantitativa de glicógeno, la determinación de estructura, los ensayos para glucosa 6 fosfatasa, glucosidasa ácida, fosforilasa, enzima desramificante y enzima ramificante (**Barrera et al.**, 1990b; **Barrera et al.**, 1993b).

Resultados y discusión

En el término de veinte años participamos en la confirmación bioquímica de los siguientes EIM. (Tabla 2).

A pesar de que los métodos de tamizaje y la cromatografía para aminoácidos fueron unas de las primeras técnicas que se trajeron al país (**Barrera**, 1988; **Barrera**, 1993; **Alvear et al.**, 1998; **Barrera et al.**, 1991), es muy

Tabla 2. Errores innatos del metabolismo detectados en Colombia 1987-2008. Los desórdenes han sido clasificados de acuerdo a la división propuesta por Scriver *et al.* 2005. *: No se incluyen en el cálculo del total de casos diagnosticados. X: Corresponde a estudios especiales realizados con propósitos de investigación en los cuales se hizo búsqueda muy activa de pacientes. Los estudios de los años 87 al 95 se realizaron en el Centro de Investigaciones en Bioquímica de la Universidad de los Andes. Del 97 al 2008 en el IEIM de la Pontificia Universidad Javeriana. En los años 95-96 tuvimos un retiro temporal de estas actividades.

Enfermedades identificadas	1987-1992	1992-1995	1995-2002	2002-2004	2005-2006	2007-2008	TOTAL
Aminoacidopatías sin clasificación final*	0	268*	53*	86*	138*	222*	767*
Acidemia 3-OH-3ME-glutárica	0	1	0	1	0	0	2
Acidemia glutárica I	0	0	1	0	2	2	5
Acidemia glutárica II	0	1	0	0	0	0	1
Acidemia butírica	1	0	0	0	0	0	1
Acidemia isovalérica	1	0	1	9	12	0	23
Acidemia metilmalónica	1	0	0	4	4	4	13
Acidemia piroglutámica	0	1	0	0	0	0	1
Acidemia propiónica	2	1	2	5	1	1	12
Acidemia cadena media	0	1	0	0	0	0	1
Defecto del ciclo de Krebs	0	0	0	6	0	0	6
3-Metilcrotonilglicinuria	0	0	0	2	0	0	2
Deficiencia de oxoacil CoA deshidrogenasa	0	0	0	1	0	0	1
Deficiencia de succinil-CoA transferasa	0	0	0	2	0	0	2
Deficiencia de acil CoA deshidrogenasa	0	0	0	1	3	0	4
Deficiencia de beta cetotilasa	0	1	1	1	0	0	3
Deficiencia de acetoacil CoA tiolasa	0	0	0	1	0	0	1
Acidosis láctica	0	0	3	12	0	0	15
Aciduria 4-OH butírica	0	0	1	0	0	0	1
Enfermedad de orina con olor a jarabe de arce (MSUD)	0	0	0	2	0	3	5
Tirosinemia	1	0	5	4	3	2	15
Tirosinemia transitoria	0	0	0	0	1	0	1
Acidemias orgánicas sin confirmar	0	0	0	6	25	48	79*
Fenilcetonuria	4	2	2	0	0	0	8
Cistinuria	3	0	0	0	0	0	3
Hiperfenilalaninemia	0	1	0	3	0	1	5
Hiperglicinemia no cetósica	1	2	0	0	0	4	7
Defectos del ciclo de la urea (DCU)	0	0	0	3	2	4	9
Homocistinuria	1	3	1	0	0	0	5
Adrenoleucodistrofia ligada X (ALD -X)	0	5	5	7	0	2	19
Refsum	0	0	0	1	0	0	1
Krabbe	2	0	0	0	0	0	2
Cannavan	2	0	0	0	0	0	2
Leucodistrofia metacromática	6	1	7	0	0	0	14
Deficiencia de glucosa 6 fosfato deshidrogenasa (G6PDsa)	0	18*	0	0	0	0	18
Intolerancia a la lactosa	0	0	0	0	17*	0	17
Fructosuria	2	0	2	2	0	0	6
Galactosemia	4	0	0	4	0	0	8
Pompe	2	0	1	2	0	0	5
McArdle	2	0	0	0	0	0	2
Glucogenosis (GSD) sin clasificar	0	0	0	0	1	2	3
Glucogenosis tipo I	3	2	2	0	0	1	8
Deficiencia de biotinidasa	0	0	7	0	0	0	7
Dislipidemias	2	0	0	0	0	0	2
Mucopolipidosis	1	1	0	0	0	0	2
MPS sin identificar	0	0	4	11	4	94	113*
Morquio A	2	23*	10	0	1	1	37*
Hurler	1	4	0	2	0	0	7
Hunter	0	0	1	2	0	1	4
Maroteax lamy	3	0	0	0	0	0	3
Gaucher	0	0	36*	26*	0	0	62
Fabry	0	0	0	2	0	0	2
Lesh-Nyhan	2	1	0	0	0	0	3
Tay Sachs	1	2	0	0	0	0	3
TOTAL	50	71	92	122	76	170	386

* Corresponde a estudios especiales realizados con propósitos de investigación en los cuales se hizo búsqueda muy activa de pacientes.

Tabla 3. Aminoacidopatías confirmadas años 1987 a 2008.

	1987-1992	1992-1995	1995-2002	2002-2004	2005-2006	2007-2008	TOTAL
Fenilcetonuria	4	2	2	0	0	0	8
Cistinuria	3	0	0	0	0	0	3
Hiperfenilalalinemia	0	1	0	3	0	1	5
Hiperglicinemia no cetósica	1	2	0	0	0	4	7
Defectos del ciclo de la urea (DCU)	0	0	0	3	2	4	9
Homocistinuria	1	3	1	0	0	0	5
TOTAL	9	8	3	6	2	9	37

Los estudios de los años 87 al 95 se realizaron en el Centro de Investigaciones en Bioquímica de la Universidad de los Andes. Del 97 al 2008 en el IEIM de la Pontificia Universidad Javeriana.

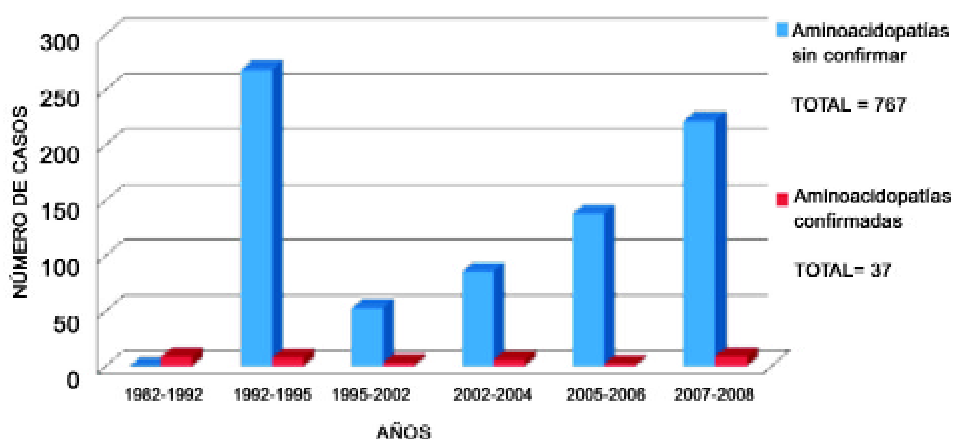


Figura 1. Comparación de casos de aminoacidopatías confirmadas y aminoacidopatías sin confirmar entre los años 1987 a 2008. El total de aminoacidopatías diagnosticadas corresponde a 37 casos en contraste con un total de 767 casos para las aminoacidopatías sin confirmar.

preocupante el evidente rezago que tenemos en el diagnóstico de estas enfermedades.

Debemos llamar la atención sobre el enorme sub-diagnóstico en enfermedades tales como fenilcetonuria y cistinuria en las cuales deberíamos haber detectado un número considerable de pacientes. En contraste la homocistinuria parece ser la aminoacidopatía que se ha diagnosticado en mayor número según los estudios de **Córdoba et al.**, 2000 y **Bermúdez et al.**, 2003.

Acidemias orgánicas

El diagnóstico de las acidemias orgánicas (AO) se hace por métodos colorimétricos, determinación de aminoácidos

y análisis de ácidos orgánicos por cromatografía de gas y espectrometría de masas. Estas técnicas se comenzaron a aplicar en Colombia a comienzos de los años 90 (**Barrera**, 1995).

En contraste con las aminoacidopatías, es evidente el enorme progreso que se ha hecho en el diagnóstico de las AO en el transcurso de los años, cabe destacar, como se observa en la tabla 2, el número de casos detectados: 23 de acidemia isovalérica, 13 de acidemia metilmalónica, 12 de acidemia propiónica, 6 de defectos del ciclo de krebbs, 5 de acidemia glutárica tipo I, 15 de tirosinemia y 5 de enfermedad de orina con olor a jarabe de arce (MSUD) (Tabla 4). Esta última es la acidemia más frecuente en la población

Tabla 4. Acidemias diagnosticadas entre 1987 y 2008.

Enfermedad	1987-1992	1992-1995	1995-2002	2002-2004	2005-2006	2007-2008	TOTAL
Acidemia glutárica tipo I	0	0	1	0	2	2	5
Acidemia isovalérica	1	0	1	9	12	0	23
Acidemia metilmalónica	1	0	0	4	4	4	13
Acidemia propiónica	2	1	2	5	1	1	12
Acidosis láctica	0	0	3	12	0	0	15
Enfermedad de orina con olor a jarabe de Arce (MSUD)	0	0	0	2	0	3	5
Tirosinemia	1	0	5	4	3	2	15
Acidemia cadena media	0	1	0	0	0	0	1
Defecto del ciclo de Krebs	0	0	0	6	0	0	6
3-Metilcrotonilglicinuria	0	0	0	2	0	0	2
Deficiencia de oxoacil CoA deshidrogenasa	0	0	0	1	0	0	1
Deficiencia de succinil-CoA transferasa	0	0	0	2	0	0	2
Deficiencia de acil CoA deshidrogenasa	0	0	0	1	3	3	7
Deficiencia de beta cetotilasa	0	1	1	1	0	0	3
Deficiencia de acetoacil CoA tiolasa	0	0	0	1	0	0	1
Acidemia 3-OH-3ME-glutárica	0	1	0	1	0	0	2
Acidemia glutárica II	0	1	0	0	0	0	1
Acidemia butírica	1	0	0	0	0	0	1
Acidemia piroglutámica	0	1	0	0	0	0	1
Aciduria 4-OH butírica	0	0	1	0	0	0	1
Tirosinemia transitoria	0	0	0	0	1	0	1
TOTAL	6	6	12	50	26	15	115

Los estudios de los años 87 al 95 se realizaron en el Centro de Investigaciones en Bioquímica de la Universidad de los Andes. Del 97 al 2008 en el IEIM de la Pontificia Universidad Javeriana. De las 115 acidemias diagnosticadas, las más frecuentes fueron: isovalérica, propiónica, metilmalónica, láctica y tirosinemia.

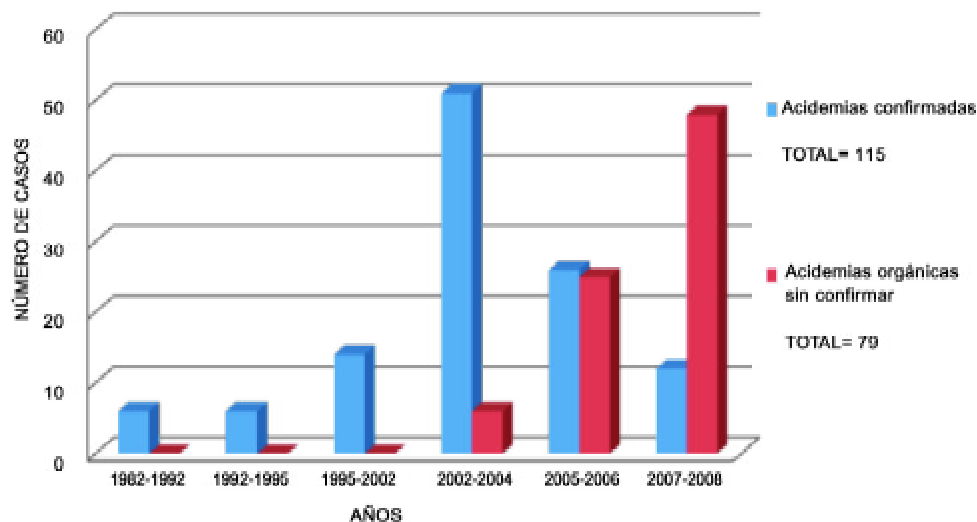


Figura 2. Acidemias orgánicas confirmadas frente a los casos sin confirmar desde 1987 a 2008. El total de acidemias confirmadas durante este lapso de tiempo corresponde a 115 casos, los cuales sobrepasan al total de casos sin confirmar que corresponde a 79.

hispana que vive en Estados Unidos y es sorprendente que los primeros casos sólo se encontraron en el año de 2004 (Tabla 4) (Barrera *et al.*, 2006a; Barrera *et al.*, 2007a; Gómez *et al.*, 2008).

De un total de 194 ácidos orgánicos, se ha podido confirmar el diagnóstico en 115 casos, pero han quedado 79 sin confirmación. En muchos de los casos el paciente está tomando anticonvulsivantes que dificultan el precisar el tipo de acidemia que se está presentando, así sea evidente que se trata de una de ellas, dado que un mismo ácido orgánico se puede encontrar en más de una acidemia y que los metabolitos patognomónicos en ocasiones se presentan en forma de picos muy pequeños y son opacados por los picos de los medicamentos cuando estos son muy grandes. En ocasiones el médico comienza el tratamiento y dada la mejoría del paciente no persiste en la confirmación diagnóstica. En otras oportunidades las aseguradoras ponen dificultades para la autorización de estos exámenes. Finalmente hasta hace 2 años las dietas eran importadas, proceso que demoraba hasta 6 meses. Sin embargo, desde hace 2 años algunas están disponibles en el mercado nacional y la oportunidad en el tratamiento ha mejorado considerablemente.

Entre las acidemias orgánicas halladas en la población colombiana de la 3 hidroximetil glutárica, la 3 metilcrotónilglicinuria, la etilmalónica y la deficiencia de succinil CoA deshidrogenasa, solo se han reportado pocos casos en el mundo.

Enfermedades lisosomales (MPS)

El síndrome de Sanfilippo, la más común de las mucopolisacaridosis (MPS) a nivel mundial, parece no ser tan frecuente en Colombia (1:24000 aproximadamente), en cambio el síndrome de Morquio uno de los menos frecuentes (1:300000), parece ser el más prevalente de las mucopolisacaridosis en Colombia.

Estudiando los pacientes con enfermedad de Morquio ha sido posible descubrir cinco nuevas mutaciones en el gen de la enzima galactosamina 6-sulfato sulfatasa responsable de esta enfermedad (Kato *et al.*, 1997; Tomatsu *et al.*, 2004a). Actualmente en el país se están tratando con Terapia de Reemplazo Enzimático (TRE) 11 pacientes con enfermedad de Hurler y 2 con enfermedad de Hunter. Está por llegar el tratamiento para Maroteaux Lamy y están comenzando los estudios clínicos para la enfermedad de Morquio la cual debe estar disponible en 4 a 5 años en Colombia.

En el estudio de las MPS aparecen 113 casos sin confirmar en nuestro laboratorio (Figura 3); sin embargo, la mayoría de estos pacientes por razones que no son del caso discutir, están siendo enviados al exterior para los análisis enzimáticos. De hecho la mayoría de diagnósticos (11 pacientes diagnosticados con Hurler, 17 con Maroteaux Lamy y 14 con Hunter) se han realizado en el exterior. Aún cuando los métodos de diagnóstico están disponibles en el país.

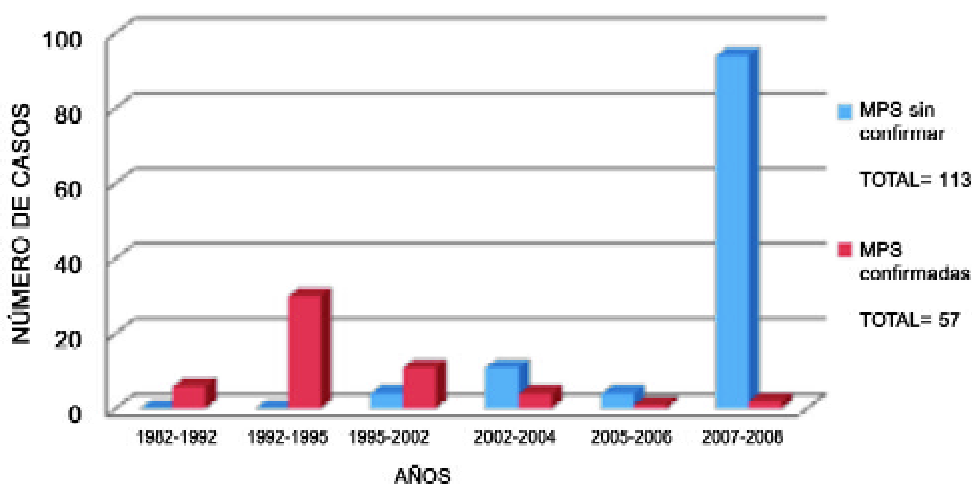


Figura 3. Comparación de los casos de Mucopolisacaridosis (MPS) confirmados frente a los casos sin confirmar. MPS confirmadas = 57 MPS sin confirmar = 113 casos. La mayoría de muestras para diagnosticar a pacientes con MPS son enviadas al exterior aun cuando los métodos de diagnóstico están disponibles en el país.

Otras enfermedades lisosomales

En un estudio para el diagnóstico de la enfermedad de Gaucher entre los años 1995 a 2004 se identificaron 62 pacientes, posteriormente nos desvinculamos del estudio de esa enfermedad. Otro tanto ha pasado con el diagnóstico de la enfermedad de Fabry (Tabla 5). Para estas dos entidades está disponible la Terapia de Reemplazo Enzimático en el país, actualmente hay 73 pacientes con enfermedad de Gaucher y 13 con enfermedad de Fabry en tratamiento.

En lo referente a los EIM de los carbohidratos evidentemente hay un subdiagnóstico a la luz de nuestra experiencia (Ortiz *et al.*, 1990). El hecho de que la mayoría de los diagnósticos que se hacen sean de enfermedad de Von Gierke, se puede explicar por cuanto hay unos pocos médicos que se han especializado en el diagnóstico de esta enfermedad. Uno de los grandes vacíos que percibimos es la muy poca remi-

sión para descartar desórdenes neuromusculares atribuibles a enfermedades metabólicas (Barrera *et al.*, 1990a; Barrera *et al.*, 1993b, Barrera *et al.*, 2007b).

Enfermedades neurodegenerativas

En lo referente a las enfermedades neurodegenerativas a pesar de tratarse de desórdenes poco frecuentes, el número de casos diagnosticados se puede considerar proporcionalmente elevado (Figura 5). La explicación para estos hallazgos radica en que el grupo de Neurología Pediátrica del Hospital Militar, uno de los de más larga tradición en la preparación de neuropediatras en Colombia, se ha especializado en este tipo de enfermedades y todos los ex alumnos de esa escuela, que ya son numerosos, tienen buen entrenamiento en el diagnóstico de estas enfermedades (Barrera *et al.*, 1993c; Barrera *et al.*, 1993d; Bermúdez *et al.*, 2001; Espinosa *et al.*, 1994).

Tabla 5. Otras enfermedades lisosomales diagnosticadas en el periodo 1987-2008.

Enfermedad	1987-1992	1992-1995	1995-2002	2002-2004	2005-2006	2007-2008	TOTAL
Gaucher	0	0	36	26	0	0	62
Fabry	0	0	0	2	0	0	2
TOTAL	0	0	36	28	0	0	64

Los estudios en el año 95 se realizaron en el Centro de Investigaciones en Bioquímica de la Universidad de los Andes. Del 97 al 2008 en el IEIM de la Pontificia Universidad Javeriana.

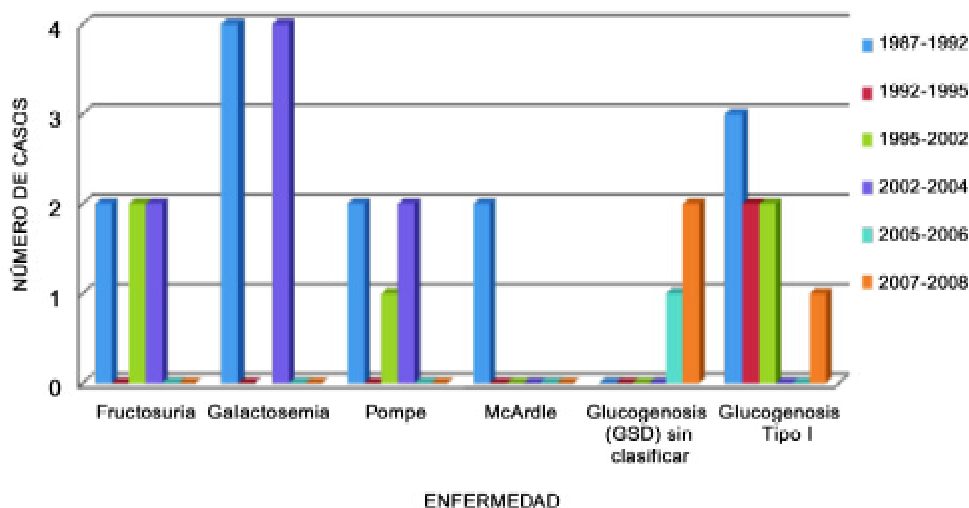


Figura 4. Desórdenes de los carbohidratos diagnosticados entre 1987 y 2008. Los valores presentados son el resultado de los estudios que se realizaron en el Centro de Investigaciones en Bioquímica de la Universidad de los Andes entre los años 87 al 95 y en el IEIM de la Pontificia Universidad Javeriana entre el 97 y 2008.

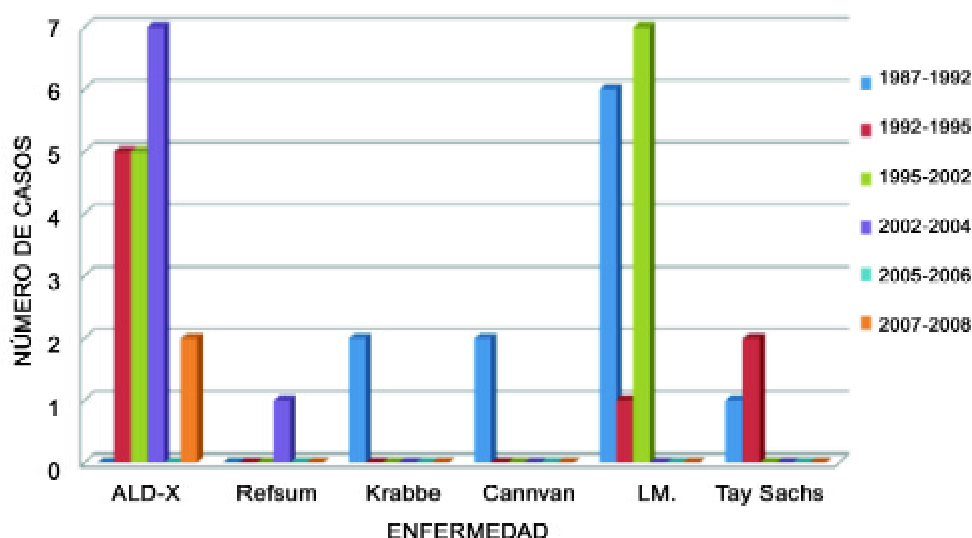


Figura 5. Enfermedades neurodegenerativas diagnosticadas entre los años 1987 y 2008. Los valores presentados son el resultado de los estudios que se realizaron en el Centro de Investigaciones en Bioquímica de la Universidad de los Andes entre los años 87 al 95 y en el IEIM de la Pontificia Universidad Javeriana entre el 97 y 2008.

Tabla 6. Otros EIM diagnosticados entre los años 1987 a 2008.

Enfermedad	1987-1992	1992-1995	1995-2002	2002-2004	2005-2006	2007-2008	TOTAL
Intolerancia a la lactosa	0	0	0	0	17	0	17
Dislipidemias	2	0	0	0	0	0	2
Mucopolidosis	1	1	0	0	0	0	2
Deficiencia de biotinidasa	0	0	7	0	0	0	7
Lesh-Nyhan	2	1	0	0	0	0	3
Deficiencia de glucosa 6 fosfato deshidrogenasa (G6PDsa)	0	18	0	0	0	0	18
TOTAL	5	20	7	0	0	0	49

Los estudios de los años 87 al 95 se realizaron en el Centro de Investigaciones en Bioquímica de la Universidad de los Andes. Del 97 al 2008 en el IEIM de la Pontificia Universidad Javeriana.

Otros errores innatos del metabolismo

En lo referente a la Intolerancia a la Lactosa confirmamos por técnicas de DNA, estudios previos que indican que por lo menos un 70% de la población colombiana sufre de este desorden. Las personas estudiadas hicieron parte de un trabajo piloto orientado a probar la factibilidad de usar técnicas de biología molecular para su diagnóstico. (Datos no publicados) Este y otros estudios como los de Lesh Nyhan, deficiencia de biotinidasa, han sido parte de trabajos de investigación que no se han continuado por razones que se discutirán posteriormente (Rodríguez F. *et al.*, 1992; Rodríguez F. *et al.*, 1999; Rodríguez F. *et al.*, 2001).

Terapia de reemplazo enzimático como tratamiento en pacientes colombianos diagnosticados con EIM

La TRE a la cual ya nos hemos referido en la introducción se está utilizando para seis enfermedades. Cabe resaltar que estas terapias llegaron a Colombia uno o dos años después de que se autorizara su comercialización en los EE.UU. Por su novedad, sus implicaciones para la salud de los pacientes y por su impacto en el sistema de salud, nos detenemos a discutir las un poco en detalle.

Existen tres variantes de la enfermedad de Gaucher: la tipo I que compromete principalmente hígado, bazo y hueso

pero no tiene compromiso neurológico y la tipo II y tipo III, que tienen compromiso neurológico severo y moderado respectivamente. En el tipo I, la TRE ha funcionado muy bien para corregir el daño hepático, revierte la hepatomegalia, los parámetros hematológicos como la anemia y la trombocitopenia; sin embargo, no ha sido lo suficientemente efectiva para reparar los daños óseos. Se han reportado mejoras significativas en hueso en una cohorte grande en Brasil usando dosis altas de enzima, pero algunos otros trabajos muestran reservas con respecto al efecto positivo de la terapia en hueso. Dado que, como ya se ha discutido, la enzima no atraviesa la barrera hematoencefálica la terapia no está indicada para pacientes tipo II. Experimentalmente se ha usado para pacientes con tipo III pero el Consenso Europeo para el tratamiento de la Enfermedad de Gaucher no recomienda su uso para esos pacientes.

En Colombia se han identificado 85 pacientes con la enfermedad de Gaucher de los cuales hay 73 en tratamiento. Este procedimiento recibió autorización para mercadeo en USA en el año de 1994. En Colombia se han identificado 12 pacientes vivos con Enfermedad de Hurler de los cuales 9 están en terapia actualmente. En esta enfermedad la TRE no ha mostrado beneficios significativos en hueso y corazón lo cual se había anticipado pues en los experimentos con perros no hubo cambios histológicos en hueso, cartílago y válvulas cardiacas a pesar de las altas dosis de enzima usadas por periodos prolongados. Hay treinta y cinco pacientes identificados con la enfermedad de Fabry de los cuales 11 están en tratamiento; la enzima recombinante se ha usado desde el año 2003, mostrando desaparición de los depósitos de GL3 en endotelio capilar del riñón, piel y corazón. En Colombia se han identificado 26 pacientes con enfermedad de Hunter de los cuales tres están en tratamiento. Se han identificado 16 pacientes con la enfermedad de Maroteaux Lamy de los cuales 8 está en tratamiento. Muchos de estos pacientes fueron confirmados por otros laboratorios de Colombia o del exterior pero el autor solo participó en alguna fase de su estudio.

Mucho se ha avanzado en el tratamiento de los errores innatos del metabolismo con TRE desde los primeros reportes de estas enfermedades en Colombia. En los pacientes tratados en todas partes del mundo un porcentaje que va desde el 25% hasta el 80%, dependiendo de la enfermedad que se esté tratando, ha mostrado producción de anticuerpos, durante las primeras etapas de la terapia, sin embargo, estos no son neutralizantes de la actividad enzimática y tienden a desaparecer después del segundo año de tratamiento. En conclusión en nuestro país hay 112 pacientes con enfermedades lisosomales que están siendo tratados de un total de 188 identificados. El problema

principal es el elevado costo de la terapia. Colombia es uno de los países de Latinoamérica con mayor número de pacientes tratados con TRE.

La terapia también tiene limitaciones en cuanto al direccionamiento de la enzima especialmente a hueso y en cuanto a costos de producción. En el momento estamos trabajando para ayudar a mejorar esos dos aspectos para el tratamiento de la enfermedad de Morquio, expresando enzimas humanas recombinantes en bacterias y levaduras. Algunas de nuestras publicaciones más recientes al respecto son: **Landázuri et al.**, 2003; **Landázuri et al.**, 2009; **Córdoba et al.**, 2009; **Mendoza et al.**, 2008; **Poutou et al.**, 2005. En ellas mostramos que es posible expresar enzima humana recombinante biológicamente activa en *Escherichia coli* y en *Pichia pastoris*. Hemos encontrado también que a medida que aumenta la densidad de los cultivos se pierde la actividad enzimática.

Terapia génica

Desde hace cerca de ocho años hemos venido trabajando en la construcción de vectores derivados de virus adenoasociados para terapia génica. Usando esos vectores hemos logrado reparar el defecto in vitro para las enfermedades de Morquio y de Hunter e in vivo usando animales Morquio transgénicos (**Gutiérrez et al.**, 2008; **Alméciga et al.**, 2009). Hemos avanzado en la expresión de niveles más altos de la enzima galactosamina 6 sulfato sulfatasa *in vitro* e *in vivo* usando vectores derivados de virus adenoasociados, un activador de las sulfatasas, el SUMF1, y promotores eucarióticos que nos permiten mejores niveles de expresión que con el promotor de citomegalovirus, usado tradicionalmente en esos estudios. Actualmente estamos enfocados en el direccionamiento de los vectores y de la enzima Galactosamina 6 Sulfato Sulfatasa purificada a hueso, el cual es el órgano más afectado en la enfermedad de Morquio y en estudios de expresión de genes en células madre mesenquimales diferenciadas a condrocitos, con miras a combinar el uso de células madre y la terapia génica. (**Alméciga et al.**, 2009).

Estudio de mutaciones en genes responsables de algunos EIM

El primer trabajo en Colombia consistió en el estudio de las mutaciones del gen de la fenilalanina hidroxilasa, enzima responsable de fenilcetonuria. Se utilizaron sondas alelo específicas para las mutaciones R111X, IVS10 e IVS12. Estas mutaciones de acuerdo a lo que se conocía en ese entonces era una de las más frecuentes en las poblaciones Oriental, Mediterránea y del Norte de Europa, res-

pectivamente. Como dato llamativo de ese estudio aparece que no se identificó ninguna de estas mutaciones, a pesar de que la mutación IVS10, una de las más prevalentes en España, había sido reportada recientemente en Argentina, Chile y México con frecuencias similares a las encontradas en la población Española (**Valbuena** 1995).

Un segundo estudio, estuvo dirigido a identificar las posibles mutaciones en el gen de la hexosaminidasa A, cuyo defecto es responsable de la enfermedad de Tay-Sachs. Las tres mutaciones más frecuentes en la población judía son la IVS12 que se encuentra entre 15 y 20% de la inserción TATC en el exón 11 responsable del 75 al 80% de los casos de la enfermedad y la mutación G289A presente en 1 a 5% de los pacientes. Nuestros trabajos reportados en congresos pero no publicados, mostraron que un paciente colombiano y sus padres de ancestro judío Asquenazi presentaban la mutación en el exón 11, que es una de las tres que presentan más del 95% de esta población, en tanto que otros dos pacientes y sus padres de ancestro amerindio no presentaban ninguna de esas tres mutaciones. Estos estudios se suspendieron por falta de financiación debido al reducido número de pacientes identificados en el país.

La tercera enfermedad en la cual realizamos estudios de DNA fue la enfermedad de Morquio A descrita en 1929 por el médico Uruguayo Luis Morquio. Es causada por un defecto en la enzima Glucosamina 6 sulfato sulfatasa GALNS EC 3.1.6.4, la cual produce acumulación anormal de sulfato de keratán y condroitin. La incidencia se ha calculado en 1:50.000 y 1: 200.000. El defecto se transmite en forma autosómica recesiva. Las principales características de la enfermedad son baja estatura, pecho en quilla, displasia esquelética severa, opacidad corneal, hipoplasia de odontoides, enfermedad de válvula aórtica e inteligencia normal. En los lisosomas la mayor parte de la enzima está presente como un dímero de 120 kDa con monómeros de 60 kDa. El cDNA ya ha sido clonado. Al igual que otras sulfatasas es activada por un factor activador (SUMF1). Se han reportado 153 mutaciones de las cuales 114 son sin sentido, 11 por defectos en splicing, 18 deleciones pequeñas, 3 inserciones pequeñas, 2 inserciones grandes, 3 deleciones grandes y dos rearrreglos complejos.

Algunas evidencias arqueológicas sugieren que la enfermedad de Morquio está presente en Colombia desde tiempos precolombinos. Hace aproximadamente 15 años iniciamos los estudios en la enfermedad de Morquio conjuntamente con el doctor Shunji Tomatsu, quien ha sido uno de los líderes mundiales en el estudio de dicha enfermedad. En un trabajo inicial publicado en 1997 (**Kato et al.**,

1997), se reportaron tres nuevas mutaciones en pacientes colombianos: la mutación G301C, presente en el 68.4% de los alelos identificados, la S162F en 10.5% de los alelos identificados y la F69B en un solo alelo. La mutación G301C, encontrada en la región colombiana del viejo Caldas, parece estar asociada a un efecto fundador. Posteriormente la G301C ha sido identificada en pacientes de Gran Bretaña, Francia, Marruecos, Brasil y Portugal; la S162F (10.5%) y la F69V no han sido reportadas aún en otras poblaciones. Recientemente dos mutaciones fueron reportadas en pacientes Cundiboyacenses, la A75G y la R386C. Esta última ha sido encontrada también en pacientes de Chile, Argentina, Méjico y Brasil, UK, Japón, Italia, Portugal, Turquía y Alemania.

Posteriormente se continuaron estudios con colegas de otros países para el desarrollo de mejores metodologías para el diagnóstico de las mucopolisacaridosis (**Tomatsu et al.**, 2004b; **Tomatsu et al.**, 2004c).

En los años 2003-2004, se hizo la genotipificación de los pacientes colombianos Gaucher tipo 1 A (Tabla 7). El trabajo tuvo como objetivo estudiar las variantes en el gen de la enzima en pacientes colombianos, con el fin de establecer la relación genotipo fenotipo; identificar las mutaciones para poder establecer baterías diagnósticas en nuestra población; brindar a los pacientes la posibilidad de diagnóstico temprano, incluyendo el diagnóstico prenatal y poder de-tectar portadores de la enfermedad (**Pomponio et al.**, 2005).

El gen de la glucocerebrosidasa, localizado en la región 1q21, está compuesto por 11 exones y abarca un fragmento de 7.6 Kb. Hasta ahora se han identificado cerca de trescientas mutaciones de las cuales la N370S se ha asociado con el tipo 1 y la L444P con el tipo 2 o neuronopático (Human Mutation Data Base <http://www.hgmd.cf.ac.uk/ac/index.php>).

Inicialmente se estudiaron 25 pacientes clasificados como Gaucher tipo 1 (sin compromiso neurológico) y más de cien controles normales. Las muestras obtenidas previo consentimiento informado fueron analizadas para la presencia de 6 mutaciones frecuentes (84GG, IVS2+1, N370S, D409H, L444P y V394L), utilizando técnicas de ELISA y SANI (Pron-to Gaucher™) metodología diseñada para la detección de las mutaciones más comunes en la población judía.

Esta estrategia no fue satisfactoria pues no se pudo detectar las mutaciones en varios de los pacientes, lo cual concordaba con nuestra hipótesis original de que dada la composición peculiar de la población Colombiana debe-

Tabla 7. Información de los pacientes Gaucher tipo I colombianos genotipificados.

Pac. No.	Edad	Etnia	Genotipo	Tipo	Características clínicas	Lugar de origen
1	25	Hisp	N370S/G195W	1	E, EOS,	Antioquia
2	17	Hisp	N370S/RecNci1	1	E,H, EOM	Cundinamarca
3	50	Eur/Mest.	N370S / D380H	1	EOS, NA, CO	Cundinamarca
4	28	Hisp	N370S / 595-596del CT	1	EOS, CO, E	Quindío
5	36	Hisp	N370S / D380H	1	EOS, CO, F	Cundinamarca
6	43	Mest.	N370S/N370S	1	E, H, A, T	Cundinamarca
7	22	Hisp	N370S/L444P-E326K	1	H, COS, NA, CO	Cundinamarca
8	14	Hisp	N370S/L444P-E326K	1	E, H, A, T	Cundinamarca
9	11	Mest.	N370S / 595-596del CT	1	E, A, T	Cundinamarca
10	9	Mest-Amer	N370S / 595-596del CT	1	E, H, A, T	Tolima
11	7	Hisp	N370S/K198E	1	A, T	Cundinamarca
12	12	Hisp	N370S/K198E	1	E, H, A, T	Cundinamarca
13	7	Hisp	L444P/L444P	3b	E, H, A, T, EOM	Atlántico
14	20	Hisp	N370S / 595-596del CT	1	E, H, A, T	Cundinamarca
15	3	Hisp	N370S/L444P-E326K	1	E, H, T	Valle del Cauca
16	30	Hisp	N370S / D380H	1	EOS, E, A, T, NA, CO	Casanare
17	32	Mest	N370S/N370S	1	NA	Cundinamarca
18	23	Hisp	N370S/L444P	1	A, T, CO, NA, EOS	Cundinamarca
19	26	Hisp	N370S/L444P	1	A, T, CO, NA, EOS	Cundinamarca
20	37	Hisp	N370S/Y313H	1	A, T, CO	Tolima
21		Hisp	N370S/898delG	1	ND	ND
22	30	Hisp	N370S/K198E	1	A, T, EOM	Tolima
23		Hisp	N370S/L444P	1	ND	ND
24		Hisp	N370S/L444P	1	ND	ND

Este estudio fue realizado en el IEIM de la Pontificia Universidad Javeriana. CO=Crisis óseas, NA=A vascular necrosis, F=Fracturas ND=No Disponible, E=Esplenomegalia, H= Hepatomegalia, A= Anemia, EOS=Enfermedad Ósea Severa, EOM= Enfermedad Ósea Moderada, T= Trombocitopenia.

rían haber nuevas mutaciones no detectables por métodos basados en sondas alelo específicas hechas para otras poblaciones (**Pomponio et al.**, 2005; **Wilches et al.**, 2006).

En un paciente inicialmente clasificado clínicamente como Gaucher tipo 1, un examen más cuidadoso mostró que puede clasificarse como tipo 3b (compromiso neurológico moderado). El análisis del ADN mediante DHPLC y secuenciación, mostró que es homocigoto para L444P, lo cual ha sido reportado previamente en otros pacientes y está de acuerdo con los hallazgos de que la mutación L444P está asociada con los tipos 2 y 3 de la enfermedad de Gaucher (**Espinosa et al.**, 2005).

Los pacientes restantes, con el tipo 1 de la enfermedad, presentan los genotipos conformados por las siguientes mutaciones: N370S (52%), L444P (9%), 595-596 del CT (9%), D380H (7%), G195W (2%), Y313H (4.5%), K198E (7%), L444P-E326K (4.5%), 898delG (2%) y RecNci1 (2%).

Los hallazgos muestran que la mutación N370S siempre está asociada con Gaucher tipo 1 pero no fue posible derivar otras correlaciones entre el genotipo y el fenotipo.

Sin embargo, el conocimiento de estas nuevas mutaciones permite diseñar baterías de pruebas para el estudio de la población Colombiana, el estudio de portadores y el diagnóstico temprano de la enfermedad en Colombia.

Entre los hallazgos sobresalientes en este estudio podemos mencionar que la mutación K198E presente en tres pacientes, había sido reportada recientemente por **Orvisky et al.**, 2002 en un paciente diagnosticado en los Estados Unidos, pero de origen colombiano.

Se encontraron tres nuevas mutaciones la 595-96delCT, la D380H y la 898delG. Estos hallazgos no fueron inesperados en vista de que ya se habían encontrado tres nuevas mutaciones en la MPSIVA (**Kato et al.**, 1997). Encontramos también la presencia de una doble mutación en un mismo

alelo (L444P-E326K) en dos familias diferentes clasificadas como Gaucher Tipo 1. Esta mutación fue reportada previamente en un paciente clasificado como Gaucher tipo 2. La presencia de la mutación N370S en el otro alelo, explicaría el por qué estos pacientes tienen Gaucher tipo 1 (Pomponio *et al.*, 2005).

Es bastante notorio, que sólo se encontró en un paciente la mutación RecNciI, la cual de acuerdo a los estudios de Cormand *et al.*, 1998, apareció con una alta frecuencia en la población Argentina. Sin embargo, Giraldo *et al.*, 2000 habían encontrado una alta prevalencia del alelo L444P (18.5%) y una baja prevalencia del RecNciI en la población Española. Esto se puede explicar por una mayor contribución del ancestro hispánico a la población colombiana comparada con la Argentina la cual tiene contribuciones étnicas de por lo menos 5 países europeos. Teniendo en cuenta nuestra similitud desde el punto de vista genético con las poblaciones Ecuatoriana y Venezolana, es posible que estas nuevas mutaciones encontradas por nosotros estén también presentes en esos países.

Al ser la mutación N370S la principal causa de la enfermedad de Gaucher en Colombia y al estar presente en otras poblaciones, algunas de ellas relacionadas históricamente con la colombiana, se hizo un estudio de carácter histórico y demográfico. Para determinar el grado de asociación existente entre esta mutación y los alelos de cinco marcadores moleculares tipo microsatélite, adyacentes al locus *GBA*, se emplearon muestras de 9 pacientes portadores de la mutación N370S, sus padres y 29 controles, para amplificar los loci *DIS305*, *DIS2624*, *DIS2777*, *ITG6.6.2* y *5GC3.2* cuyos alelos fueron determinados mediante secuenciación automática.

Los análisis realizados permitieron establecer el número de generaciones portadoras de la mutación N370S anteriores a la presente. Esta información se dedujo mediante el desequilibrio de ligamiento y algunos de los alelos de los marcadores moleculares incluidos en el haplotipo concenso (Wilches *et al.*, 2006; Díaz A. *et al.*, 1999; Díaz G. *et al.*, 2000). Si se emplea el alelo de 301pb del marcador *DIS2624* para determinar el tiempo t o G de la asociación alelo-mutación en Colombia, considerándose la tasa de recombinación *GBA-DIS2624* ($\dot{c} = 0.025$) según (Díaz A. *et al.*, 1999) se puede concluir que la asociación N370S-301 tuvo lugar hace 18 generaciones, esto es 470 años atrás (1 generación = 25 años). Estudios posteriores usando dos microsatélites adicionales nos arrojan una datación de 470 a 800 años. Este es un dato preliminar que debe ser confirmado en trabajos más extensos pues este estudio no se hizo empleando todos los posibles cromosomas N370S colombianos ni tampoco se obtuvo con los parámetros y

correcciones de crecimiento poblacional a considerar cuando se aborda la teoría de la coalescencia. (Díaz A. *et al.*, 1999; Díaz G. *et al.*, 2000).

Conclusiones

A lo largo de estos 22 años, se ha logrado introducir al país, estandarizar y establecer valores de referencia de más de 50 metodologías que nos han permitido confirmar bioquímicamente cerca de 50 errores innatos del metabolismo nuevos para la literatura médica colombiana.

En el periodo inicial de nuestro trabajo (1987-1992) poco más del 10% de los pacientes fue remitido con “sospecha de enfermedad metabólica”. El número de pacientes con diagnóstico presuntivo ha ido en aumento hasta llegar a cerca del 80%. Esto refleja el avance en la sospecha clínica por parte de los médicos fruto de la divulgación que se ha hecho sobre estas enfermedades en los congresos médicos y en las publicaciones especializadas. Las tablas que acá se presentan muestran claramente el incremento progresivo tanto en la sospecha como en la confirmación de estos diagnósticos.

También se ha logrado introducir el tratamiento nutricional para las aminoacidopatías, acidemias orgánicas, glicogenosis y enfermedades de los carbohidratos. Sin embargo, es necesario facilitar la entrada al país y liberar de gravámenes e impuestos a las fórmulas nutricionales para el tratamiento de las aminoacidopatías y las acidemias orgánicas e incluir esos tratamientos en el Plan Obligatorio de Salud (POS). Es conveniente dejar abierta la posibilidad para que en el futuro se produzcan esas fórmulas nutricionales en el país.

El avance alcanzado en el diagnóstico de las enfermedades lisosomales promovió la llegada de la Terapia de Reemplazo Enzimático (TRE) a Colombia mucho más rápido que a la mayoría de los países del continente. Colombia es uno de los países de Latinoamérica con mayor número de pacientes recibiendo TRE.

Se deduce que desde hace algún tiempo los médicos conocen más acerca de estas enfermedades y están orientando más adecuadamente las solicitudes de exámenes de laboratorio. Aún así, el conocimiento sobre los EIM en el país es muy escaso y se hace necesario tener especialistas en anestesiología, radiología, cardiología, que conozcan muy bien estas enfermedades, para que den un tratamiento especializado a estos pacientes. Sería conveniente establecer centros de referencia muy bien dotados, con sistemas de garantía de calidad muy bien establecidos y donde se dé un tratamiento integral a la familia y al paciente.

El trabajo en la genotipificación de los pacientes con enfermedad de Morquio A, ha llevado a descubrir cuatro nuevas mutaciones en el gen de la Galactosamina 6 Sulfato Sulfatasa y su datación indica que la mutación más frecuente en Colombia, la G301C, se originó hace más de diez mil años (**Kato et al.**, 1997). Los estudios en la enfermedad de Gaucher tipo I nos han permitido descubrir 3 nuevas mutaciones en el gen de la glucocerebrosidasa y la datación de la mutación más frecuente en la población Colombiana, la N340S, señala que probablemente se originó hace aproximadamente 500 a 800 años. Nuestros estudios en las enfermedades de Morquio, Gaucher, y Tay Sachs nos han permitido confirmar nuestra hipótesis inicial de que en la población colombiana deberíamos encontrar mutaciones no halladas en Norteamérica y Europa, por cuanto la composición genética de Colombia es muy diferente a las poblaciones mencionadas.

Nuestros trabajos en construcción de vectores están dando resultados alentadores lo mismo que los de direccionamiento de estos a tejido óseo, objetivo hasta ahora muy difícil de alcanzar, y que debe ser el principal blanco de la terapia en la enfermedad de Morquio. Estos trabajos han tenido muy poco patrocinio en Colombia por la creencia equivocada, a nuestro juicio, de que no es importante su estudio en nuestro medio pues son terapias todavía no maduras para su uso, sin tener en cuenta el potencial enorme de conocimientos que su estudio genera y la necesidad imperiosa de que el país cuente con personas muy bien entrenadas para su adecuado uso en el futuro, evitando así que nos lleguen a través de las casas comerciales, intempestivamente, sin preparación previa y para uso inmediato en los pacientes, como ya ha sucedido con otras terapias en Colombia.

Es notorio que todos estos estudios se han hecho en Universidades privadas, sin apoyo del Ministerio de Salud, el cual ha estado muy al margen del diagnóstico y tratamiento de estos desórdenes en Colombia. Es tiempo que se tome conciencia que a medida que disminuye la morbimortalidad infantil por enfermedades infectocontagiosas, las enfermedades genéticas pasan a ocupar los primeros lugares en la morbimortalidad infantil. En un sistema de salud como el de Colombia, en el cual se han hecho progresos notables en salud pública, que aspira a un cubrimiento universal, esto no será posible hasta tanto no se incluyan en los planes de salud pública, el diagnóstico, tratamiento, prevención e investigación de estas enfermedades.

Agradecimientos

El autor agradece a la Pontificia Universidad Javeriana, a la Universidad de los Andes y a Colciencias por su apo-

yo durante todos estos años y muy especialmente a los colegas y estudiantes que han trabajado durante todo este tiempo conmigo. Agradecimientos muy especiales a Ángela Johana Espejo M. por su asistencia en la elaboración de este manuscrito y a Olga Yaneth Echeverri, Inés Stella Morales, Johana Guevara y Nina Pulido encargadas del diagnóstico de estas enfermedades en el IEIM en los últimos años.

Bibliografía

- Alméciga-Díaz, C.J., Sáenz, H., Barrera, L.A.** 2006. Estado actual, consideraciones éticas y perspectivas de la terapia génica en errores innatos del metabolismo. *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias.* **30**(117):525-540.
- Alméciga-Díaz, C.J., Rueda, M.A., Espejo, A.J., Echeverri, O.Y., Montaña, A., Tomatsu, S., Barrera, L.A.** 2009. Effect of elongation factor 11á promoter and SUMF1 over in-vitro expression of N-acetylgalactosamine-6-sulfate sulfatase. *Molecular Biology Reports.* **36**(7) 1863-1870.
- Alvear, C., Barrera, L.A., Uribe, A.** 1998. Los errores innatos del metabolismo en Colombia durante los años 1992-1995. *Acta Médica Colombiana.* **23**:23-29.
- Alzate, H., Romero, E., Echeverri, M.T.** Intolerancia a la lactosa en grupo de estudiantes de medicina. *Antioquía médica.* **18**(4):237-246.
- Ángel, L.A., Acero, M.Y., Acosta, O.H.** 2000. Prevalencia y superposición de trastornos funcionales del tubo digestivo en población general y pacientes con dispepsia. *Revista Colombiana de Gastroenterología* **15**:1-14.
- , **Calvo, E., Muñoz, Y.** 2005. Prevalencia de hipolactasia tipo adulto e intolerancia a lactosa en adultos jóvenes. *Revista Colombiana de Gastroenterología* **20**:35-47.
- Barrera, L.A.** 1988. Enfermedades metabólicas de origen genético. *Acta Neurol. Col.* **4**:2-3.
- . 1990a. Enfermedades genéticas de origen metabólico. *Pediatría.* **25**: 64-68.
- , **Donado, M.I., Martínez, A., Espinosa, E., Ortiz, T., Corredor, C., Bermúdez, M.** 1990b. Enfermedad de Von Gierke: reporte de dos casos. *Pediatría.* **25**:2, 10-18.
- , **Caycedo, L.E., Echeverri, O.Y., Escuredo, E.** 1991. Fenilcetonuria no típica. Primeros reportes en Colombia. *Pediatría.* **26**:81-87.
- . 1993a. Errores innatos del metabolismo. Seis años de investigación en Colombia. *Acta Médica Colombiana.* **18**:31-40.
- , **Algarín, C., Rodríguez, F., Bermúdez, M., Sandoval, H., Donado, M.I.** 1993b. Diagnóstico clínico-bioquímico de la enfermedad de Pompe. *Acta Médica Colombiana.* **18**:172-176.
- , **Espinosa, E., Valencia, D., Córdoba, A., Tonguino, T., Bermúdez, M.** 1993c. Diagnóstico diferencial de las enfermedades de la sustancia blanca a propósito de dos casos de leucodistrofia metacromática. *Acta Neurol. Col.* **9**:175-180.

- _____. **Rengifo, O., Medina, J., Bermúdez, M.** 1993d. Diagnóstico clínico y bioquímico de la enfermedad de Tay-Sachs: informe de un caso. *Acta Neurol. Col.* **9**:45-50.
- _____. 1995. Acidurias orgánicas. *Revista de Pediatría.* **30**:156-162.
- _____. 2001. Del genotipo al fenotipo. ¿Cómo se almacena la información genética en las células? y ¿Cómo se expresa en los organismos vivos? *Innovación y Ciencia.* **9**:32-40.
- _____. **Sáenz, H., Cuellar, Y., Ospina, S., Garzón, K., Cabrera, M., Márquez, W., Torres, A.L.** 2004a. Manual de enfermedades metabólicas. La Piragua Editores. Bogotá, Colombia.
- _____. **Sarmiento, P., Serrano, C., Gutiérrez, M., Echeverri, O.Y., Cabrera, M., Torres, A.L., Peña O., Pedraza, O.L., Forero, M., Martín C., Guzmán, E., Ribon, L., Vélez, S.** 2004b. Programa de autoaprendizaje para enfermedades metabólicas. 2004b. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá.
- _____. **Echeverri, O.Y., Alméjiga, C.J., Malaver, L.F.** 2006a. Fundamentos de las acidemias orgánicas y desórdenes del ciclo de la urea: diagnóstico y tratamiento. Parte I. *Temas Pediátricos.* **23**(4):1-37.
- _____. **Landázuri, P., Sáenz, H.** 2006b. Terapia de reemplazo enzimático: una alternativa terapéutica para los errores innatos del metabolismo. *Revista Universidad del Quindío.* **11**:71-84.
- _____. **Echeverri, O.Y., Alméjiga, C.J., Malaver, L.F.** 2007a. Fundamentos de las acidemias orgánicas y desórdenes del ciclo de la urea: diagnóstico y tratamiento. Parte II. *Temas Pediátricos.* **24**(1):1-25.
- _____. **Espinosa, E., Echeverri, O.Y.** 2007b. Errores innatos del metabolismo en: fundamentos de pediatría. Tercera edición. Fondo Editorial Corporación para Investigaciones Biológicas CIB. Medellín Colombia. **4**:356-396.
- Bermúdez, M., Arteaga, C., Cifuentes, Y., Espinosa, E., Uribe, A., Barrera, L.A., Tonguino, T., Prieto, J., Martínez, A., Mesa, J.** 2001. Hiperглициемия No Cetósica (HGNC) forma típica y atípica. Presentación de casos diagnosticados en Colombia. *Pediatría.* **36**:123-129.
- _____. **Bernal, J., Espinosa, E., Cornejo, W., Briceño, I., Prieto, J., Arrieta, L., Merinero, B., Pérez, C., Ugarte, M.** 2003. Homocistinuria casos diagnosticados en Colombia. *Acta Neurol. Colomb.* **19**: 63-68.
- Brady, R.O., Pentchev, P.G., Gal, A.E., Leía, W.R. et al.** 1973. Replacement therapy for inherited enzyme deficiency: use of purified ceramidetrihexosaminidase in fabry disease. *N. England J. Med.* **289**:9-14.
- _____. **Tallman, J.F., Johnson, W.G.** 1974. Replacement therapy for inherited enzyme deficiency: use of purified glucocerebrosidase in gaucher disease. *N. England J. Med.* **291**:989-993.
- _____. **Schiffmann, R.** 2000. Clinical features and recent advances in therapy for fabry disease. *JAMA.* **284**:2771-2775.
- Cabrera, M.A., Novelli, E., Barranger, J.A.** 2002. Gene therapy for the lysosomal storage disorders. *Curr Opin Mol Ther.* **4**:1464-8431.
- Carrillo, J.C.** 1986. Detección de hipotiroidismo congénito en Colombia. *Acta Pediátrica Colombiana.* **IV**:(1), 31-37.
- Córdoba, A., Ceballos, J.B., Meneses, B.E.** 2000. Causas moleculares de la hiperhomocisteinemia A. *Acta Médica Colombiana.* **25**:122-133.
- Córdoba, H.A., Poutou, R., Echeverri, O.Y., Algecira, N., Landázuri, P., Sáenz, H., Barrera L.A.** 2009. Laboratory scale production of the human recombinant iduronate 2 sulfate sulfatase-like from *Pichia pastoris*. *African Journal of Biotechnology.* **8** (9): 1786-1792.
- Cormand, B., Montfort, M., Chabás, A., Vilageliu, L., Grinberg, D.** 1998. Mutation analysis of gaucher disease patients from Argentina: high prevalence of the RecNciI mutation. *Am J Med Genet.* **70**:437-443.
- Desnick, R.J.** 2004. Enzyme replacement and enhancement therapies for lysosomal diseases. *J Inherited Metab Dis.* **27**:385-410.
- Díaz, A., Montfort, M., Cormand, B., Zeng, B., Pastores, G., Chabas, A., Vilageliu, L. et al.** 1999. Gaucher disease: the N370S mutation in ashkenazi jewish and spanish patients has a common origin arose several thousand years ago. *Am J Hum Gen.* **64**:1233-38.
- Díaz, G., Gelb, B., Risch, N., Nygaard, T., Frisch, A., Cohen, I., Miranda, C., Amaral, O., Maire, I., Poenaru, L., Caillaud, C., Weizberg, M., Mistry, P., Desnick, R.** 2000. Gaucher disease: the origins of the ashkenazi jewish n370 and 84gg acid-glucosidase mutations. *Am J. Hum. Gen.* **66**:1821-1832.
- Echeverri, O.Y., Barrera, L.A., Bermúdez, M., Vega, H.H., Espinosa E.** 1995. Mucopolisacaridosis tipo IH (Síndrome de Hurler) primeros casos en Colombia. *Colombia médica.* **26**: 89-92.
- _____. **Espinosa, E., Moser, H., Peña, O.M., Barrera, L.A.** 2005. Adrenoleucodistrofia ligada al X en ocho casos colombianos. *Acta Neurológica Colombiana.* **21**(4):299-305. Bogotá.
- Edelstein, M.L., Adebí, M.R., Wixon, J., Edelstein, R.M.** 2004. Gene therapy clinical trials worldwide 1989-2004 - an over view. *J Gene Med.* **6**:597-602.
- Espinosa, E., Barrera, L.A., Morelli, J., González, L., Burgos, E., Caicedo, L.S., Hernández, E., Medina, C.** 1989. Características clínicas y bioquímicas de las mucopolisacaridosis. presentación de ocho casos. *Acta Neurol. Col.* **5**:48-53.
- _____. **Bermúdez, M., Dunoyer, C., Takeuchi, Y., Patiño, R., Trujillo, R.** 1994. Enfermedad de Krabbe o leucodistrofia de células globoideas. Informe de dos casos. *Actualizaciones Pediátricas.* **4**:86-91.
- Espinosa-García, E., Pérez-Poveda, J.C., Echeverri-Peña O.Y., Barrera-Avellaneda, L.A.** 2005. Enfermedad de Gaucher, variante neuropática aguda (tipo 2) con mutación K198E. *Revista de Neurología.* **41**(7):443-444.
- Giraldo, P., Poci, M., Pérez-Calvo, J.O., Rubio-Félix, D., Giralto, M.** 2000. Report of the spanish gaucher's disease registry: clinical and genetic characteristics. *Hematológica.* **85**:795-799.
- Gómez, J.F., Espinosa E., Barrera, L.A., Echeverri, O.Y.** 2008. Enfermedades de orina en jarabe de arce: mejoría clínica asociada a detección precoz y manejo oportuno. Reporte de caso y revisión de literatura. *Revista MED. Revista Facultad de Medicina Universidad Militar Nueva Granada.* **16**(1):99-105.
- Grabosky, G.A., Barton, N.W., Pastores, G., Dambrosia, J.M., Banerjee, T.K., et al.** 1995. Enzyme therapy in type i gaucher

- disease: comparative efficacy of mannose terminated glucocerebrosidase from natural and recombinant sources. *Ann Intern Med* **22**:33-39.
- Gutiérrez, M., García, F., Tomatsu, S., Cerón, F., Alméciga, C.J., Domínguez, M., Barrera, L.A.** 2008. Construcción de un vector de expresión derivado de virus adenoasociados para corregir *In vitro* el defecto genético de la enfermedad de Morquio A. *Revista Biomédica* **28**(3): 448-459.
- Hacein-Bey-Abina, S., Von Kallen, C., Schmidt, M.** 2003. A serious adverse event alter successful gene therapy for x-linked severe combined immunodeficiency. *N Engl J Med.* **348**:255-256.
- Hernández, A.** Galactosemia en Colombia. *Revista colombiana de Pediatría y Puericultura.* Tomo XXXIV. 13-2-13.
- Human Mutation Data Base.** <http://www.hgmd.cf.ac.uk/ac/index.php>
- Johnson W.G., Desnick, R.J., Long, D.M., Sharp, H.L., Brady, R.O.** 1973. Intravenous injection of purified hexosaminidase a into a patient with tay - sachs disease. *Birth Defects.* **9**:120-122.
- Kato, Z., Fukuda, S., Tomatsu, S., Vega, H., Yasunaga, T., Yamahishi, A., Yamada, N., Barrera, L.A., Sukegawa, K., Orii, T., Kondo, N.** 1997. A novel common missense mutation g301c in the n-acetylgalactosamine-6-sulfate sulfatase gene in mucopolysaccharidosis IVA. *Hum Genet.* **101**:97-101.
- Landázuri, P., Gunturiz, M.I., Gómez, L.A., Poutou, R., Torres, A.J., Echeverri, O.Y., Sáenz, H., Delgado, J., Barrera, L.A.** 2003. Expresión transiente de la iduronato 2 sulfato sulfatasa humana recombinante funcionalmente activa en *Escherichia coli*. *Revista de la Asociación Colombiana de Ciencias Biológico-cas, Armenia Colombia.* Volumen **15**(1) 33-42.
- , **Poutou, R., Acero, J., Córdoba, H., Echeverri, O.Y., Sáenz, H., Delgado, J., Barrera, L.A.** 2009. Cloning and shake flask expression of hr-IDS- like in *Pichia pastoris*. *African journal of biotechnology.* **8**(12): 2871-2877.
- Mendoza, D.F., Algecira, N.A., Córdoba, H.A., Barrera, L.A.** 2008. A simple structured model for recombinant IDS_{hr} protein production in *Pichia pastoris*. *biotechnology letter.* **30**:1727- 1734.
- Munar, W., Iglesias, A.** 1985. Alcaptonuria. *Salud uninorte.* Barranquilla Colombia. **2**(1):35-42.
- Ortiz, S., Torres, C., Barrera, L.A., Escuredo, E.** 1990. Galactosemia a propósito de un caso. *Acta Neurológica Colombiana.* **6**:153-157.
- Orvinsky, E., Park, J.K., Parker, A., Walter, J.M., Martin, B., Stubble Field, B.K., Uyama, Y., et al.** 2002. The identification of eight novel glucocerebrosidase (GBA) mutations in patients with Gaucher disease. *Hum mutant mutation in brief on line.* No. 495.
- Pomponio, R.J., Cabrera, M.A., Echeverri, O.Y., Miller, G., Barrera, L.A.** 2005. Gaucher disease in Colombia: Mutation identification and comparison to other hispanic populations. *Molecular Genetic and Metabolism.* **86**(4):466-72.
- Poutou, R., Córdoba, H., Quevedo, B., Landázuri, P., Echeverri, O.Y., Sáenz, H., Vanegas, A., Acero, J., González, A., Algecira, N., Caicedo, I., Barrera, L.A.** 2005. Expresión de iduronato 2 -sulfato sulfatasa humana recombinante (IDS_{hr}) en *Pichia pastoris*. *Universitas Scientiarum.* **10**(1):75- 96.
- Rodríguez, F., Barrera, L.A., Gómez A., Echeverri, O., Escuredo, E.** 1992. Síndrome de Lesch-Nyhan en dos hermanos. Aspectos clínico y bioquímicos. *Acta Médica Colombiana.* **17**:447-453.
- , **Gómez, A., Barrera, L.A.** 1999. Determinación de la condición heterocigota del síndrome de Lesh-Nyhan utilizando un método radioquímica. *Salud.* **32**:44-47.
- , **Barrera, L.A.** 2001. Actividad de la enzima HGPRT En eritrocitos de una familia afectada por el síndrome de Lesch-Nyhan. *Revista Salud.* **33**:32-35.
- Sáenz, H., Barrera, L.A.** 2003. La terapia de reemplazo enzimático en el tratamiento de enfermedades genéticas. *Universitas Scientiarum.* **8**:31-42.
- Scriver, R.C., Beaudet, A.L., Sly, W.S., Valle, D.** 2001. The metabolic & molecular bases of inherited disease. Octava edición. McGraw-Hill medical publishing division, New York.
- Scriver, C.R., Beaudet, A.L., Sly, W.S., Valle, D.** 2005. The metabolic and molecular bases of inherited disease. Ninth edition. Mc Graw Hill. New York.
- Tomatsu, S., Dieter, T., Schwartz, IV., Sarmiento, P., Giugliani, R., Barrera, L.A., et al.** 2004a. Identification of a common mutation in mucopolysaccharidosis iva: correlation among genotype, phenotype, and keratan sulfate. *Journal Human Genetics.* **49**:490-494.
- , **Gutiérrez, M.A., Ishimaru, T., Peña, O.M., Montaña, A., Maeda, H., Vélez-Castrillon, S., Nishioka, T., Fachel, A., Cooper, M., Thornley, M., Wraith, E., Barrera, L.A., et al.** 2004b. Heparan sulfate levels in mucopolysaccharidoses and mucopolipidoses. *Journal Inherited Metabolic Disease.* **28**: 743-757.
- , **Okamura, K., Taketani, T., Orii, K.O., Nishioka, T., Gutiérrez, M.A., Velez-Castrillon, S., Fachel, A.A., Grubb, J.H., Cooper, A., Thornley, M., Wraith, E., Barrera, L.A., Giugliani, R., et al.** 2004c. Development and testing of new screening method for keratan sulfate in mucopolysaccharidosis IVA. *Pediatr. Res.* **55**:1-6.
- Valbuena, E.** 1995. Estudio molecular preliminar de la fenilcetonuria en Colombia. Tesis de maestría en ciencias biológicas. Universidad de los Andes.
- Wilches, R., Vega, H., Echeverri, O., Barrera, L.A.** 2006. Los haplotipos colombianos de la mutación N370S causante de la enfermedad de Gaucher pueden provenir de un haplotipo ancestral común. *Biomédica.* **26**:433-441.

Recibido: junio 20 de 2009.

Aceptado para su publicación: septiembre 20 de 2009.