



Universidad del País Vasco Euskal Herriko Unibertsitatea

FARMAZIA
FAKULTATEA
FACULTAD
DE FARMACIA

SÍNDROME DE SANFILIPPO: LINEAS DE INVESTIGACIÓN PARA SU TRATAMIENTO

Pilar Muño Berdejo

Directora: **Amaia Maite Erdozain Fernández**

Facultad de Farmacia

2022-2023

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	1
2. OBJETIVOS	2
3. METODOLOGÍA	3
4. DESARROLLO	3
4.1. FISIOPATOLOGÍA	3
4.1.1. Mucopolisacaridosis tipo III o Síndrome de Sanfilippo	3
4.1.1.1. <i>Estructura del heparán sulfato</i>	4
4.1.1.2. <i>Síntesis del heparán sulfato</i>	4
4.1.1.3. <i>Degradación del heparán sulfato</i>	5
4.1.1.4. <i>Acumulación del heparán sulfato y la enfermedad</i>	6
4.1.2. Presentación clínica	8
4.1.2.1. <i>Síntomas neurológicos</i>	8
4.1.2.2. <i>Síntomas extra neurológicos</i>	9
4.2. DIAGNÓSTICO	10
4.2.1. Sospecha clínica, estudio de manifestaciones y pruebas complementarias	10
4.2.2. Determinación de GAG en orina	10
4.2.3. Estudio enzimático	11
4.2.4. Análisis genético molecular	12
4.3. TRATAMIENTO	12
4.3.1. Tratamiento sintomático	12
4.3.2. Tratamiento etiológico	13
4.3.2.1. <i>Trasplante de células madre hematopoyéticas</i>	13
4.3.2.2. <i>Terapia de reemplazo enzimático</i>	15
4.3.2.3. <i>Terapia génica</i>	17
4.3.2.4. <i>Terapia de reducción de sustrato</i>	19
4.3.2.5. <i>Terapia farmacológica</i>	21
5. DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES	21
6. BIBLIOGRAFÍA	23

RESUMEN

El síndrome de Sanfilippo, o mucopolisacaridosis tipo III es una enfermedad degenerativa rara de origen metabólico, y de carácter hereditario autosómico recesivo. Está causada por la deficiencia de enzimas específicas que catalizan la degradación gradual en los lisosomas del heparán sulfato, un tipo de glucosaminoglicano (GAG). Esto conduce al depósito progresivo de GAG en diferentes tejidos, explicando el carácter multisistémico de la patología. La principal característica fenotípica, observada en todos los individuos afectados, es la degeneración severa del sistema nervioso central, cuyos trastornos neurológicos, cognitivos y conductuales comienzan durante la infancia y son crónicos y progresivos. La gravedad clínica varía dentro y entre los cuatro subtipos de MPS III existentes (A, B, C o D), cada uno producido por la disfunción concreta de uno de los genes que codifican las enzimas lisosomales. La esperanza de vida no es superior a los primeros años de vida adulta; es por ello que el manejo clínico es fundamental para garantizar un diagnóstico rápido y el inicio de la atención clínica adecuada. Los laboratorios de diagnóstico han desarrollado diversos métodos de diagnóstico tanto genético como bioquímico. Sin embargo, no existe una terapia efectiva disponible para la MPS III, y el tratamiento actual se limita a mitigar los síntomas clínicos para proporcionar una adecuada calidad de vida. Se están realizando diversos ensayos prometedores tanto en modelos animales como celulares, para explorar nuevas líneas terapéuticas como la terapia de sustitución enzimática, la terapia génica y la terapia de reducción de sustrato.

GLOSARIO

AAV: Virus adenoasociado

AAV9-Sgsh: Sulfaminidasa AAV9

BHE: Barrera hematoencefálica

CS: Condroitín sulfato

DS: Dermatán sulfato

GAG: Glucosaminoglicanos

GNS: N-acetilglucosamina-6-sulfatasa

HGSNAT: Acetil-CoA α -glucosamida acetiltransferasa

HS: Heparán sulfato

HSCT/TCMH: Trasplante de células madre hematopoyéticas

HSPGs: Proteoglicanos de HS

IC: Vía intracraneal

ICV: Infusión intracerebroventricular

IDDD: Administración de fármacos intratecal implantado

IT: Vía intratecal

LCR: Líquido cefalorraquídeo

LC-MS/MS: Cromatografía líquida/espectrometría de masas en tándem

LENTI: Vector lentiviral

MPS: Mucopolisacaridosis

NAGLU: α -N-acetil-D-glucosaminidasa

NRE: Extremos no reductores

rhHNS: Heparan-N-sulfatasa humana recombinante

SNC: Sistema nervioso central

SGHS: Heparán N-sulfatasa

TA: Tralesinidasa alfa

TRE/ERT: Terapia de reemplazo enzimático

UCBT: Sangre del cordón umbilical

1. INTRODUCCIÓN

Las enfermedades raras o minoritarias se caracterizan por ser progresivas, crónicas y normalmente fatales para las personas que las padecen. La gran mayoría de las afecciones son discapacitantes, afectando a la autonomía del individuo y a su vez a la calidad de vida. De entre las más de 7.000 enfermedades raras existentes, el 75% son padecidas por niños y en el 80% de los casos presentan un origen genético (1,2).

El Síndrome de Sanfilippo o MPS III es, además de una enfermedad rara, la forma más frecuente de mucopolisacaridosis (MPS). Se describió por primera vez en 1963 por el pediatra estadounidense Sylvester Sanfilippo y su incidencia es de 0,2 – 4 casos por cada 100.000 nacimientos al año. El Síndrome de Sanfilippo es una enfermedad progresiva y limitante que afecta predominantemente al sistema nervioso central (SNC). Se han descrito cuatro subtipos de MPS III (A, B, C y D) clasificadas en función de cuatro deficiencias enzimáticas en la ruta de degradación del heparán sulfato (HS). Dichos subtipos presentan alteraciones enzimáticas distintas, aunque con características clínicas similares (1,3,2).

Las MPS son un conjunto de trastornos metabólicos, globales y hereditarios incluidos dentro del marco de enfermedades lisosomales o de depósito. Son producidas por un defecto en alguna de las enzimas intralisosomales necesarias para el procesamiento de las moléculas denominadas glucosaminoglicanos (GAG) (ver *Figura 1*). La alteración en cualquiera de los pasos de síntesis, transformación o transporte de estas enzimas dará lugar a un déficit enzimático (1,4). Los tipos de MPS difieren según el continente, pudiendo indicar que la enfermedad se relaciona según la región y el origen étnico (4).

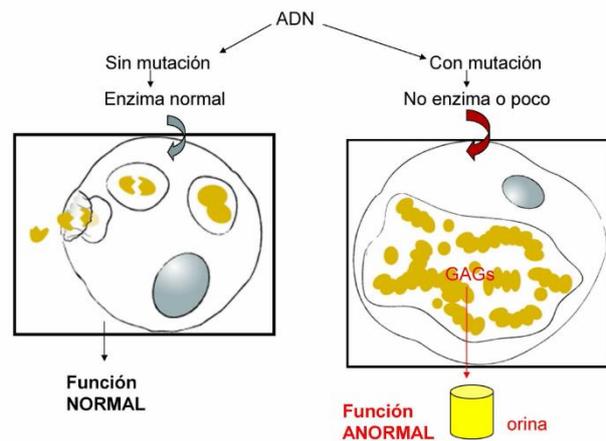


Figura 1. Funcionamiento de los glucosaminoglicanos (GAG) lisosomales en células sanas frente a células mutadas. La mutación produce la acumulación de GAG dando lugar a una mayor excreción en orina.

Las MPS son afecciones en las que grandes cantidades de moléculas tipo GAG, que generalmente son descompuestas o degradadas en fragmentos más pequeños, son acumuladas en cantidades perjudiciales en las células y tejidos del organismo. El defecto originado en el proceso de degradación da lugar al depósito intralisosomal progresivo de los sustratos insuficientemente catabolizados en las células (3,4,23). Ya que estas moléculas son polisacáridos que intervienen en procesos como la adhesión y señalización celular, su defecto dará lugar a lesiones irreversibles y progresivas (1,6,7).

Los GAG no degradados y acumulados en los lisosomas son considerados como causa principal y directa de la MPS; induciendo la activación progresiva de diferentes vías celulares que promueven mecanismos como la autofagia, apoptosis, muerte celular y la estimulación de fenómenos inflamatorios que participan de manera significativa en el daño tisular. Los GAG son excretados en la orina permitiendo, a partir de un análisis urinario, la identificación de los pacientes afectados por esta enfermedad (1,4).

Las MPS son trastornos hereditarios autosómicos recesivos, por lo que sólo afectarían a aquellos individuos con ambos alelos mutados. Solamente la MPS II o síndrome de Hunter es un trastorno ligado al cromosoma X (2,3). Los pacientes generalmente mueren al final de la segunda década de vida por lo que el diagnóstico precoz es fundamental. Además, la detección en la etapa asintomática de la enfermedad puede ser eficaz para preservar las funciones orgánicas. Sin embargo, el retraso en el diagnóstico es común debido a la aparición tardía de síntomas alarmantes o el enmascaramiento debido a otras enfermedades (1,7). Actualmente no existe un tratamiento definitivo disponible para la MPS III y las terapias aceptadas están dirigidas a tratar afecciones sistémicas y mejorar la calidad de vida. El seguimiento de los pacientes debe ser periódico y multidisciplinario y la frecuencia de los controles dependerá de la gravedad del cuadro clínico. Existen nuevas líneas de tratamiento en investigación, que podrían proporcionar un futuro, ahora incierto, a las personas afectadas, así como a sus familias.

2. OBJETIVOS

El objetivo general del presente Trabajo Fin de Grado es la realización de una revisión bibliográfica en la que se incluye la información más reciente acerca del Síndrome de Sanfilippo. Se buscarán, analizarán y estudiarán distintas publicaciones con el objetivo de adquirir nuevos conocimientos en todas las dimensiones a las que afecta la enfermedad. Concretamente se abordan estos dos objetivos específicos:

- Conocer y recopilar la información necesaria sobre la fisiopatología y el diagnóstico para describir adecuadamente el tratamiento actual.
- Presentar el tratamiento actual y estudiar las nuevas líneas de tratamiento que se encuentran en investigación.

3. METODOLOGÍA

Para la elaboración de la sección de tratamiento de este Trabajo Fin de Grado se ha realizado una revisión bibliográfica, entre los meses de enero a mayo de 2023, empleando artículos científicos publicados en diferentes páginas web oficiales como PubMed, Elsevier, SciELO, así como ensayos clínicos recogidos en clinicaltrials.gov. Para concretar las búsquedas bibliográficas, se utilizaron palabras naturales como “Tratamiento de síndrome de Sanfilippo”, “Mucopolisacaridosis tipo IIIA”, “Ensayo clínico”, “Terapia génica”, “Terapia de reducción de sustrato” “Células hematopoyéticas” y sinónimas y el operador booleano “AND”. Se cribaron los resultados según el año y se descartaron todos aquellos estudios realizados antes del 2008.

De todos los artículos encontrados se seleccionaron aquellos en castellano o en inglés más actuales y relevantes dentro del objeto de estudio y se prescindió de aquellos que no eran de especial interés. El siguiente paso fue utilizar los criterios de inclusión y exclusión para así acotar los artículos más relevantes para esta revisión. Los criterios de inclusión fueron: que el ensayo clínico fuera aleatorizado, que el título y resumen tratarán del objetivo de tratamiento del trabajo, que las personas participantes tuvieran diagnosticada la enfermedad de Sanfilippo, en fases leves y moderadas, y que el artículo aun no siendo concluyente aportara información de interés para futuros ensayos. Como criterios de exclusión se descartaron aquellos artículos que evaluaban el tratamiento en otros tipos de MPS y estudios experimentales no aleatorizados. En el caso de que se identificaran publicaciones que pudieran suponer un solapamiento sobre los resultados de un estudio, se seleccionó la publicación cuyos resultados disponibles eran más completos. Tras una lectura comprensiva de los artículos encontrados se realizó una selección de los documentos y fuentes más apropiados para el objetivo del Trabajo Fin de Grado.

4. DESARROLLO

4.1. FISIOPATOLOGÍA

4.1.1. Mucopolisacaridosis tipo III o Síndrome de Sanfilippo

El Síndrome de Sanfilippo es una enfermedad que afecta a hombres y mujeres por igual y fue descrita en 1963 por el Dr. Sylvester Sanfilippo del cual recibe su nombre. Este trastorno esta causado por la pérdida de la actividad en una enzima necesaria para descomponer el HS. Este polisacárido desempeña un papel fundamental en la enfermedad ya que su alteración provocará cambios en el desarrollo neuronal (6,14). La existencia de once enzimas presentes en la ruta de degradación de los GAG dará lugar a los diferentes tipos de MPS existentes. Identificándose siete tipos clínicos distintos y numerosos subtipos (1,6).

Los mucopolisacáridos, denominados GAG, forman parte de los proteoglicanos y presentan diferentes funciones tanto estructurales como de intervención en procesos inflamatorios, también contribuyen en los procesos de diferenciación, división, migración o supervivencia de la célula (1,7,9). El HS conforma uno de los en cinco grupos en los que se dividen los GAG, siendo los otros cuatro: condroitín sulfato (CS), dermatán sulfato (DS), queratán sulfato y ácido hialurónico. Estas moléculas están constituidas por cadenas largas no ramificadas de polisacáridos cuya unidad fundamental repetida es un disacárido. Esta unidad básica está formada por una hexosaminidasa unida a un ácido urónico, exceptuando el queratán sulfato (9).

4.1.1.1. Estructura del heparán sulfato

El HS es un polisacárido cargado negativamente (aniónico), compuesto de disacáridos repetidos que incluyen la fracción más común, el ácido glucurónico (D-GlcA) unido a una hexosaminidasa (N-acetil-D-glucosamina). La unión entre estas dos unidades se produce mediante el enlace covalente O-glucosídico β (1 \rightarrow 4) (ver Figura 2) (9,10).

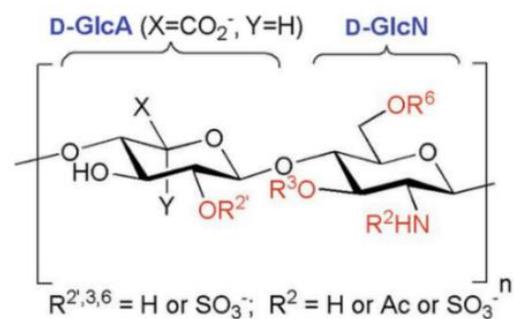


Figura 2. Representación de la estructura del Heparán sulfato; la unidad básica repetida a lo largo de los GAG es la unión entre una unidad de N-acetil-D-glucosamina (D-GlcN) y un ácido glucurónico (D-GlcA) (42).

Las cadenas de HS se unen a un núcleo proteico conformando los proteoglicanos de HS (HSPGs) (11).

4.1.1.2. Síntesis del heparán sulfato

Para que los GAG sean funcionales es necesaria su síntesis en la que se llevan a cabo diferentes acetilaciones, epimerizaciones y sulfataciones (33). La síntesis de HS tiene lugar en el aparato de Golgi, sin embargo, la primera enzima implicada en la formación de la región de enlace actúa en el Retículo Endoplasmático. Esta región de enlace es común al HS, CS, DS y a la heparina (11).

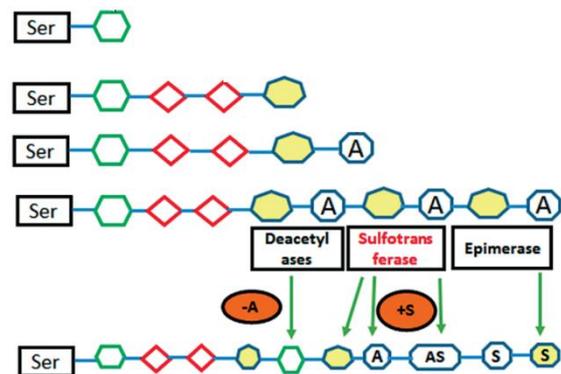


Figura 3. Representación esquemática de la síntesis del HS. Serina (Ser); Acetilación (A); Acetilación Sulfatación (AS); Sulfatación (S); Galactosa (rombo); Xilosa (hexágono); Ácido glucurónico (heptágono) (37).

Durante su síntesis, descrita en la *Figura 3*, el HS sufre una serie de modificaciones que le atribuyen una función específica en la célula. Estas transformaciones incluyen las N-acetilaciones y las N-sulfataciones de la glucosamina, epimerizaciones del ácido glucurónico y sulfataciones de la glucosamina y del ácido urónico en distintas posiciones (9,10,11,). Tras la síntesis de la región de enlace, se produce la elongación de las cadenas de HS mediante la adición de una GlcNAc y se añaden alternativamente residuos de GlcA (41).

4.1.1.3. Degradación del heparán sulfato

El proceso de degradación, representado en la *Figura 4*, se puede dividir en dos fases. La primera denominada “Fagocitosis e introducción al lisosoma”, en la que se produce la internalización de los componentes que se encuentran en las superficies celulares y la matriz extracelular al lisosoma (11). Y una segunda fase designada como “degradación en el lisosoma”, en la cual es necesaria la colaboración de tres exoglicosidasas, tres sulfatasas y una acetiltransferasa para que el proceso de degradación enzimática se realice correctamente. El HS es degradado dentro del sistema lisosomal por una secuencia de hidrolasas lisosomales (12).

La endoglicosidasa extracelular, también denominada heparanasa, es la enzima encargada de iniciar el proceso de degradación del HS. Actúa directamente sobre los HSPG para liberar las cadenas de GAGs. Esta enzima escinde las cadenas de HS en sitios específicos, dando lugar a nuevos extremos no reductores (NRE) sobre los que trabajan las exoenzimas catabólicas (6,9). Durante el proceso de degradación lisosomal, en el que se obtienen fragmentos más pequeños, se identifican 8 enzimas de manera secuencial. Sin embargo, solo cuatro de ellas intervienen exclusivamente en la degradación del HS. Los distintos subtipos de MPS III son producto del déficit en una de las enzimas (1,6,9):

1. Heparán N-sulfatasa (SGHS).

Hidroliza sulfato unido al grupo amino de la glucosamina. Su déficit producirá MPS IIIA.

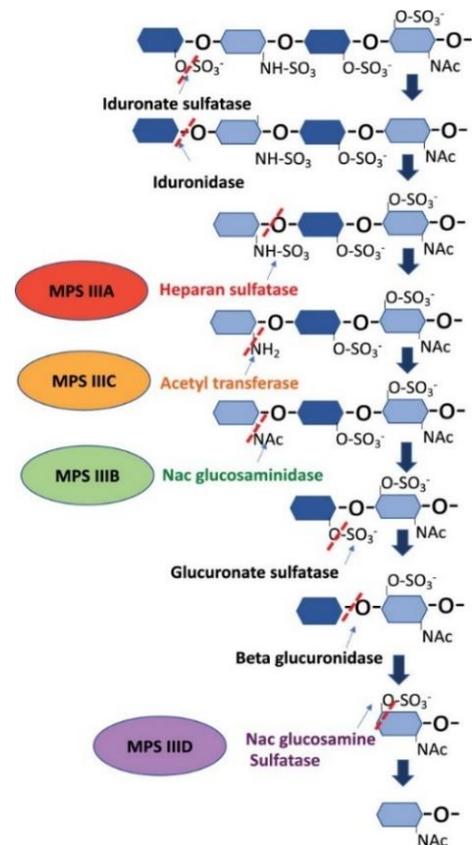


Figura 4. Representación de la degradación del HS. Se destacan las enzimas deficientes implicadas en los subtipos de MPS tipo III (21).

2. α -N-acetil-D-glucosaminidasa (NAGLU).

Hidroliza el enlace a 1 y 4 entre N acetilglucosamina y el ácido urónico. Su déficit producirá MPS IIIB.

3. Acetil-CoA α -glucosamida acetiltransferasa (HGSNAT).

Cataliza la acetilación de grupos amino. Su déficit producirá MPS IIIC.

4. N-acetilglucosamina-6-sulfatasa (GNS)

Elimina el grupo de los residuos de N- acetil glucosamina. Su déficit producirá MPS IIID.

En el proceso de degradación la eliminación de las cadenas se realiza de manera direccional mediante eliminación o procesamiento del azúcar terminal en el NRE del GAG. Cualquier mutación en alguna de las enzimas interrumpe la descomposición del HS. Como consecuencia se producirá el almacenamiento lisosómico de GAG no degradados, lo cual se debe a la naturaleza secuencial de la degradación (5,6,10).

La acción correcta de la heparanasa junto con una enzima lisosomal deficiente provocará un aumento de los fragmentos, es decir, una acumulación de “extremos” y por lo tanto un aumento de la masa total de GAG.

4.1.1.4. Acumulación del heparán sulfato y la enfermedad

Como se ha mencionado previamente, las HSPG son componentes con funciones estructurales en las células gliales y neuronales, además de regular varias vías de señalización. Si se producen daños en dichos elementos se verán perjudicados los patrones cerebrales y la neurogénesis. Todo ello, junto con el hecho de que el SNC tiene una capacidad limitada de regeneración, una alta sensibilidad al daño y una supervivencia celular prolongada, podría explicar el deterioro neuronal característico de los pacientes con Sanfilippo, tanto a nivel del SNC como en el SNP (7,10).

En un principio se aceptaba que el almacenamiento lisosómico de HS daba lugar a una disfunción a nivel celular y a nivel tisular. No obstante, también se conoce la existencia del almacenamiento secundario de otros productos. El exceso de moléculas no degradadas junto con la reducción de actividad de las hidrolasas provoca una acumulación secundaria de otros GAG que contribuyen a la patología. Esta acumulación, derivada del almacenamiento primario, se produce en otras localizaciones subcelulares afectando al SNC (12,13).

El almacenamiento secundario de gangliósidos es otro mecanismo de la enfermedad que está íntimamente relacionado con la apoptosis neuronal y la neurodegeneración. En modelos animales con MPS III se ha estudiado que la respuesta inflamatoria producida por el HS junto con los gangliósidos puede exacerbar el daño cerebral (1,13). Esto podría ser una

de las razones de que la eficacia clínica de las terapias potenciales probadas sea relativamente baja, ya que reducir los niveles de GAG no elimina todos los síntomas (7,14).

Como se ha comentado anteriormente el Síndrome de Sanfilippo presenta cuatro subtipos (1,6). En la *Tabla 1* se clasifican los tipos de MPS junto con sus características.

- MPS IIIA O SANFILIPPO TIPO A → La MPS IIIA es la forma más grave, agresiva, con menor supervivencia y la más estudiada debido a su alta frecuencia, presentando un inicio precoz y una rápida progresión. La mutación causante de la enfermedad se localiza en el cromosoma 17q25.3 del gen SGSH y representa aproximadamente el 27% de las MPS III (3,13). Los pacientes sobreviven hasta los 15-18 años de media de edad (11,12,13).
- MPS IIIB O SANFILIPPO TIPO B → En el cromosoma 17q21.2 se encuentra la mutación correspondiente al gen NAGLU causante del 36% de las MPS IIIB (6,31). La función principal de la enzima es la hidrolisis de los disacáridos que conforman el HS (11,13).
- MPS IIIC O SANFILIPPO TIPO C → La tercera forma representa el 30% de las MPS III y presenta un curso más leve y una mayor supervivencia. Está codificada por el gen HGSNAT localizado en el cromosoma 8p11.21 (3,11,13).
- MPS IIID O SANFILIPPO TIPO D → Está causada por mutaciones del gen GNS localizado en el cromosoma 12q14.3 y representa el 5% de las MPS III (3,11). En comparación con lo otros subtipos predominan las deleciones, inserciones y reordenamientos (11,13).

Tabla 1. Clasificación de las MPS según el grupo de enzimas deficitarias durante el proceso de degradación y el GAG acumulado. (9)

Tipo	Epónimo	Enzima deficitaria	Glucosaminoglicano acumulado
MPS I	Hurler Hurler/Scheie Sheie	α -L-iduronidasa	DS,HS
MPS II	Hunter	Iduronato-2-sulfatasa	DS,HS
<i>MPS III A</i>	<i>Sanfilippo A</i>	<i>Heparán N-sulfatasa</i>	<i>HS</i>
<i>MPS III B</i>	<i>Sanfilippo B</i>	<i>N-acetil-α-glucosaminidasa</i>	<i>HS</i>
<i>MPS III C</i>	<i>Sanfilippo C</i>	<i>Acetil CoA: α-glucosaminidasa N-acetiltransferasa</i>	<i>HS</i>
<i>MPS III D</i>	<i>Sanfilippo D</i>	<i>N-acetilglucosamina 6-sulfatasa</i>	<i>HS</i>
MPSI IV A	Morquio A	Galactosamina 6-sulfatasa	KS,CS
MPS IVB	Morquio B	Galactosidasa β	KS
MPS VI	Maroteaux-Lamy	Galactosamina 4-sulfatasa	DS
MPS VII	Sly	Glucoronidasa β	DS,HS,CS
MPS IX	-	Hiduronidasa	Hiduronano

4.1.2. PRESENTACIÓN CLÍNICA

4.1.2.1. Síntomas neurológicos

La degeneración cerebral, la afectación del esqueleto y vísceras y rasgos faciales distintivos son características propias de las MPS. Concretamente el Síndrome de Sanfilippo se caracteriza por una disfunción grave en el SNC y una afectación somática ligera (14). La gravedad clínica, así como el comienzo de la enfermedad varía dentro y entre los cuatro subtipos de MPS III a pesar de existir un declive neurológico universal recogido en la *Tabla 2*. Sin embargo, se distinguen tres fases determinantes (1,16):

1.- Fase inicial de retraso psicomotor (comienzo aproximado entre 1 a 3 años)

Los niños parecen desarrollarse sin problemas durante el primer año de vida, y es entre los 2 y 6 años cuando se observan síntomas de la enfermedad, la cual cursa con retraso psicomotor, problemas conductuales o ambos. Hay un retraso en el lenguaje, con mala articulación y contenido, incluso la incapacidad de aprender a hablar. No existen diferencias entre los cuatro tipos de MPS III con respecto al desarrollo del lenguaje. Otros indicios son hirsutismo, diarrea, infecciones recurrentes, trastornos del sueño y hepatomegalia (1,14,16).

2.- Fase de deterioro cognitivo progresivo y alteraciones de la conducta (comienzo aproximado entre 3 a 6 años)

El Síndrome de Sanfilippo destaca por un trastorno conductual progresivo basado en un comportamiento hiperactivo, caótico, ansioso y a veces agresivo, por lo que se recomienda una supervisión continua. También es frecuente el aislamiento de estos individuos, así como la dificultad para interactuar con otras personas (19). Los trastornos del sueño están presentes en el 80-90% de los pacientes e incluyen: dificultad para conciliar el sueño, despertar temprano, despertares nocturnos (19).

3.- Fase final de neurodegeneración (comienzo aproximado a los 10 años)

En los pacientes afectados de MPS III el retroceso en el neurodesarrollo es un proceso lento. La pérdida del lenguaje, observada en el 80% de los casos, precede al retroceso de las funciones motoras, siendo la función cognitiva la región más afectada. Los problemas neurológicos comienzan con una marcha torpe y una coordinación pobre, además aparecen movimientos atetoides involuntarios y puede haber babeo constante y problemas con la masticación y la deglución. Finalmente, el paciente se encuentra en estado vegetativo (1,7,16).

Con la edad van aumentando muchos de los aspectos neurológicos explicados anteriormente, como la irritabilidad, agresión y negligencia; sin embargo, hiperactividad disminuye. La falta del miedo y el agravamiento emocional se explica por una reducción del volumen de la amígdala y del hipocampo, respectivamente. La epilepsia es un trastorno que

aparece a los 8 años en el 40% de los pacientes; se expresa mediante convulsiones tónico-clónicas generalizadas que pueden ser controladas con medicación (1,14,16).

4.1.2.2. Síntomas extra neurológicos

La afectación somática puede ser ligera o estar ausente en pacientes con MPS III, no obstante, también es una característica de estos individuos (1,7,19).

- Aspecto craneofacial y físico: Durante las primeras fases del Síndrome de Sanfilippo la apariencia de los pacientes es normal, sin embargo, con la edad la facies tosca es un rasgo predominante. Algunos signos distintivos son; el puente de la nariz ligeramente aplanado, labios gruesos, hirsutismo y cejas pobladas (16).
- Hepatomegalia: Como se ha comentado anteriormente puede haber hepatomegalia ligera, sobre todo en la niñez. La esplenomegalia es infrecuente (16).
- Afectación respiratoria: Las infecciones del aparato respiratorio, sino-pulmonares y las otitis son frecuentes en el Síndrome de Sanfilippo. Una respiración anormal puede ser secundaria de una neurodegeneración (16).
- Audición y visión: Se puede desarrollar hipoacusia progresiva grave debido a otitis frecuentes. La retinitis pigmentosa es la anomalía ocular más frecuente. Debido a los problemas conductuales y cognitivos que presentan puede resultar una evaluación bastante difícil y poco fiable (16).

En el periodo infantil de pacientes con MPS IIIA se puede detectar un comportamiento hiperactivo, irritabilidad, agresividad y alteraciones del sueño, así como sociales y un menor contacto visual. En este subtipo de MPS III la motricidad fina se deteriora más rápidamente que la motricidad gruesa, esto se explica por la presencia de una apraxia motora. Los pacientes no pueden realizar actividades que impliquen imitación o presencia de instrucciones (1,5,7).

Tabla 2. Signos y síntomas neurológicos asociados a las tres fases de la MPS III (7).

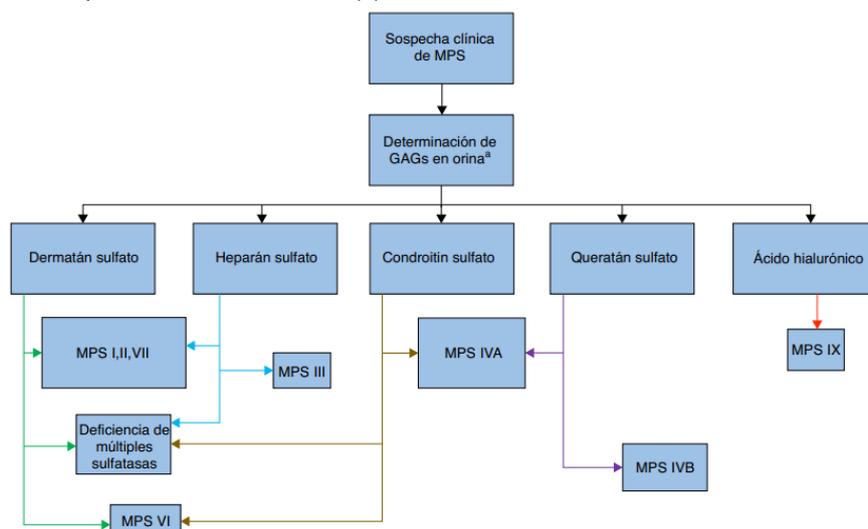
SIGNOS / SÍNTOMAS	FASE 1	Retraso en el desarrollo Retraso del lenguaje
	FASE 2	Dificultades cognitivas progresivas Regresión del habla Regresión de habilidades motrices Dificultades conductuales Hiperactividad/Impulsividad Disminución de la capacidad atencional Agresividad Oralidad Descontrol emocional Negligencia del peligro Conducta <i>autistic-like</i>
	FASE 3	Discapacidad intelectual profunda Pérdida de habla y comunicación Pérdida de habilidades motoras Cese de las dificultades conductuales Progresivo aislamiento Progresiva pérdida de respuestas al entorno

4.2. DIAGNÓSTICO

Los pacientes con MPS suelen tener una esperanza de vida corta y de baja calidad y requieren un tratamiento oportuno. Sin embargo, el diagnóstico de dicha enfermedad, descrito en la *Figura 5*, generalmente se retrasa hasta que se manifiestan características clínicas irreversibles. Por lo tanto, es necesario exámenes de detección en recién nacidos y nuevos marcadores bioquímicos sensibles para un diagnóstico oportuno y preciso (1,3).

El historial médico de los pacientes y de sus familias presenta, como estudio preliminar, especial interés, ya que las MPS son enfermedades hereditarias. La atención cercana a los mismos síntomas clínicos en otros miembros de la familia podría ayudar con el diagnóstico. Los signos clínicos son evidencia importante para determinar la MPS y distinguir sus fenotipos (2,3). En pacientes con formas atenuadas, las manifestaciones pueden ser mucho más sutiles y, por ello, más difíciles de objetivar (1,7,8).

Figura 5. Algoritmo indicando el estudio de tamizaje inicial ante la sospecha clínica de MPS III (2).



4.2.1. Sospecha clínica, estudio de manifestaciones y pruebas complementarias

Debemos sospechar la posibilidad de una MPS, y en concreto del tipo III, en todos aquellos pacientes con alteraciones del comportamiento, agresividad, alteración en el sueño, regresión intelectual o autismo en los primeros años de vida (1,17). La realización de pruebas complementarias, así como el estudio de posibles manifestaciones, se lleva a cabo mediante un examen físico general y analítico con hemograma, un examen neurofisiológico, neurológico, oftalmológico, cardiológico y pulmonar, entre otros (1).

4.2.2. Determinación de GAG en orina

El análisis de GAG es realizado comúnmente en muestras de orina, aunque también se pueden cuantificar en suero/plasma, sangre seca, LCR, tejido y líquido amniótico (42). Para analizarla se pueden utilizar los siguientes métodos:

- 1.- Métodos semicuantitativos: test de Berry, consistente en 24 figuras geométricas con las que se analizan las conductas viso-motora incluyendo la percepción visual y coordinación viso-motora (1,7,41).
- 2.- Métodos cuantitativos: test de azul de dimetiletil, una prueba sencilla, no invasiva, barata y útil en la sospecha de MPS. Su mecanismo de acción se basa en la formación de complejos. Además de ser accesible y rápido, presenta una sensibilidad y especificidad superior al 90% (7,18,19,20). Al ser una prueba inespecífica todas las muestras positivas en el test cuantitativo se confirman mediante métodos cualitativos.
- 3.- Métodos cualitativos: la electroforesis uni o bidireccional o la cromatografía en capa fina, son técnicas que mejoran la sensibilidad y la especificidad (1,7,5). Sin embargo, estos ensayos no permiten el diagnóstico de un subtipo particular de MPS (19).

Por lo tanto, este método es el primer paso para un diagnóstico bioquímico, al no ser invasivo y sí conveniente (19). Sin embargo, hay precauciones que deben tenerse en cuenta como la concentración de los GAG en orina, la cual disminuye con la edad, pero, paradójicamente, ocurre lo contrario con el heparán sulfato, el cual aumenta con la edad (1,7,19). En base a las limitaciones de los métodos de detección de primera línea, actualmente se está estableciendo un procedimiento avanzado de cromatografía líquida/espectrometría de masas en tándem (LC-MS/MS) para la determinación de subgrupos de MPS (17,21). Esta técnica permite la medición cuantitativa de los niveles de disacáridos urinarios derivados de GAG (17,21). Un diagnóstico preciso generalmente se logra mediante tres pruebas secuenciales: la cuantificación de GAG urinario, el análisis cualitativo de electroforesis bidimensional y el ensayo de actividad enzimática de leucocitos (2,7,21).

4.2.3. Estudio enzimático

El estudio enzimático es la prueba de confirmación (*gold standard*) en las MPS, debido a su alta sensibilidad y especificidad en comparación con los métodos basados en muestras de orina. En estos estudios se determina la actividad enzimática en leucocitos o en cultivo de fibroblastos (1,2,7,21).

La utilización de fibroblastos presenta múltiples ventajas, como la minimización de los efectos de variación en la temperatura, el cultivo de una mayor cantidad de células por la abundancia de muestra y la capacidad de repetir los ensayos sin necesidad de una nueva recolección. La principal desventaja consiste en la obtención invasiva de biopsias en la piel, además, del tiempo de respuesta de los resultados. Los leucocitos son una alternativa ya que no se necesita realizar un cultivo celular, permitiendo un tiempo de respuesta más rápido (21).

Para el diagnóstico específico de MPS IIIA, B, C o D se debe demostrar una disminución o ausencia de una de las cuatro enzimas implicadas tanto en leucocitos como en

fibroblastos del paciente. La reducción debe ser inferior al 10% en comparación con la actividad en individuos sanos (1,2,7). En la actualidad, los ensayos utilizados están basados en fluorescencia (7,21).

4.2.4. Análisis genético molecular

La heterogeneidad alélica entre los genes asociados con MPS es la responsable del amplio espectro de mutaciones en estos trastornos. El análisis molecular sirve para la confirmación de un diagnóstico cuando en ensayo enzimático no es posible, ya que el este no puede basarse en una única prueba. También es utilizado cuando los resultados de los análisis no son determinantes o en casos de actividad enzimática baja (3,7,23).

La técnica consiste en la amplificación y secuenciación de exones (regiones codificantes) y regiones intrónicas de los cuatro genes responsables de dicho síndrome. Los resultados son comparados con secuencias de referencia y bases de datos de mutaciones y polimorfismos estudiados (2,3,7,18). Actualmente, si se conoce la mutación específica de la familia, es posible proporcionar información sobre el estado de los portadores mediante el análisis de mutaciones en el ADN (2,3,7,23).

4.3. TRATAMIENTO

Una vez confirmado el diagnóstico de MPS III se debe proporcionar un tratamiento específico y oportuno (43). Para ello, se deriva el caso a un especialista en enfermedades metabólicas, y se supervisará del tratamiento seleccionado. Suelen ser necesarios especialistas en el área además de fisioterapia, terapia ocupacional y logopedia (19).

El objetivo es ralentizar la progresión del síndrome de Sanfilippo y mantener a los pacientes en un estado que permita la mejora significativa de la calidad y esperanza de vida. El tratamiento paliativo y la cirugía son opciones para mitigar los síntomas y reducir el sufrimiento de los enfermos; pero también existe un tratamiento específico de la enfermedad en continua investigación. Es posible que

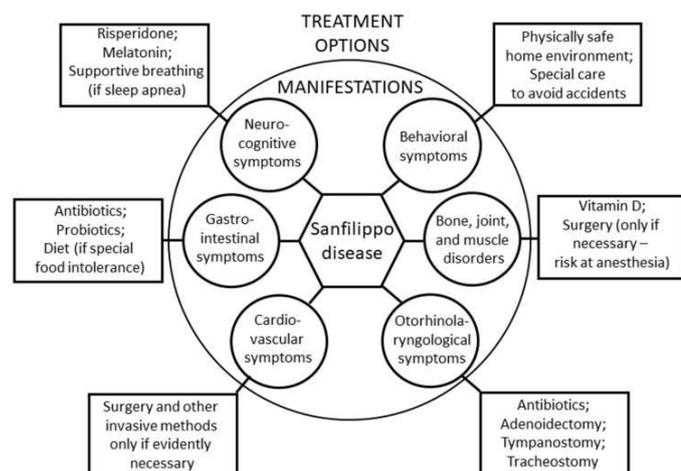


Figura 7. Posibles tratamientos sintomáticos de pacientes que padecen la enfermedad de Sanfilippo (6).

el tratamiento de la MPS requiera de la combinación de varios métodos (1,2,23).

4.3.1. Tratamiento sintomático

Los pacientes con MPS III manifiestan principalmente complicaciones clínicas como trastornos neurológicos, cognitivos y conductuales (ver Figura 7). Sin embargo, el tratamiento

sintomático suele ser difícil y los métodos farmacológicos son ineficaces ya que los pacientes responden de forma atípica (22).

- Manifestaciones en el SNC: en las últimas fases se utilizan medicamentos antiepilépticos para disminuir las crisis epilépticas. Sin embargo, la sintomatología asociada con la alteración en el comportamiento no responde a los medicamentos. Es por ello que para evitar lesiones se debe mantener un entorno doméstico físicamente seguro. También se ha utilizado, con cierta eficacia, la risperidona como tratamiento para la hiperactividad. La melatonina es la primera opción para aliviar los trastornos del sueño, siendo la segunda opción las benzodiazepinas (22).
- Infecciones de ORL y vías altas: realizar un seguimiento sobre las infecciones auditivas debido a la frecuencia de las intervenciones de drenaje. A pesar de que la pérdida auditiva suele ser frecuente, el uso de audífonos no se tolera correctamente. Las infecciones en las vías respiratorias altas y bajas son la primera causa de mortalidad, estas infecciones son tratadas con antibióticos (22).
- Gastrointestinal: los pacientes que cursan con diarrea se les recomiendan dietas basadas en triglicéridos, mientras que si la enfermedad se presenta con estreñimiento se evalúa el uso de laxantes (22).

4.3.2. Tratamiento etiológico

Existen diferentes tratamientos para el Síndrome de Sanfilippo, a continuación, se mencionarán y expondrán los más novedosos. Estos tratamientos están en investigación y algunos se encuentran en fases de experimentación por lo que su eficacia en pacientes humanos no es determinante. A pesar de que algunos resultados sean inconcluyentes, el estudio realizado aporta nuevos datos sobre la seguridad, la eficacia y el efecto del método utilizado. En algunos de estos estudios ya se han observado valiosos avances con respecto a la interrupción de la enfermedad (4,23).

4.3.2.1. Trasplante de células madre hematopoyéticas

Se han observado resultados prometedores en la experimentación a partir de células del cordón umbilical, así como de sangre periférica o la sangre del cordón umbilical, que pueden penetrar en los tejidos de los órganos y producir la cantidad suficiente de la enzima deficitaria para aliviar los síntomas. El tratamiento es permanente y presenta limitaciones como la escasez de donantes o el rechazo del trasplante (1,3,4,19,23).

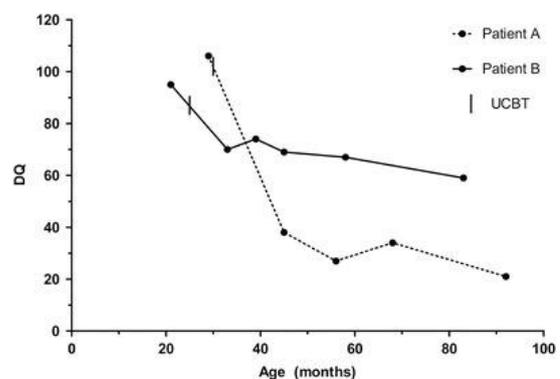


Figura 8. Cociente de desarrollo en los pacientes A y B en relación con el UCBT (24).

En una intervención experimental se realizó un trasplante de células madre hematopoyéticas derivadas de la sangre del cordón umbilical (UCBT) a dos niños diagnosticados con MPS III. El procedimiento se toleró adecuadamente en ambos pacientes y no surgieron complicaciones graves ni efectos secundarios. Se determinó que el procedimiento no influyó significativamente en el curso de la enfermedad neurológica, ya que en el paciente A la enfermedad continuó evolucionando clínicamente, sin embargo, el paciente B mostró un curso mucho más atenuado y su desarrollo cognitivo progresó, como se observa en la *Figura 8*. Se produjo una corrección bioquímica completa debido a la normalización de la excreción urinaria de GAG gracias al UCBT. Sin embargo, la concentración de HS en el LCR todavía era muy elevada, lo que puede dar lugar a falta de eficacia clínica. La cual está respaldada por el hecho de que ambos pacientes desarrollaron problemas de comportamiento típicos asociados con MPS III en los años posteriores a la UCBT. Este caso demuestra que es esencial tener en cuenta la gravedad del fenotipo al evaluar la intervención en pacientes con MPS III (24).

En otro ensayo la combinación de células del cordón umbilical junto con vectores lentivirales (LV) logro corregir el comportamiento (ver *Figura 9*) de ratones afectados por MPS IIIA. A los ratones afectados con la enfermedad se les administró células de donantes sanos (WT) transducidos con LV-SGSH. Con ello se mejoró significativamente la actividad cerebral debido a la disminución de la neuroinflamación, se normalizaron los niveles de HS y aumento la supervivencia (25). A pesar de que LV-WT-HSCT logro corregir completamente la mayoría de los comportamientos, el número de copias alcanza fue bajo. Este es un factor necesario para conseguir una mayor eficacia clínica, además de una mejor expresión de SGSH (25).

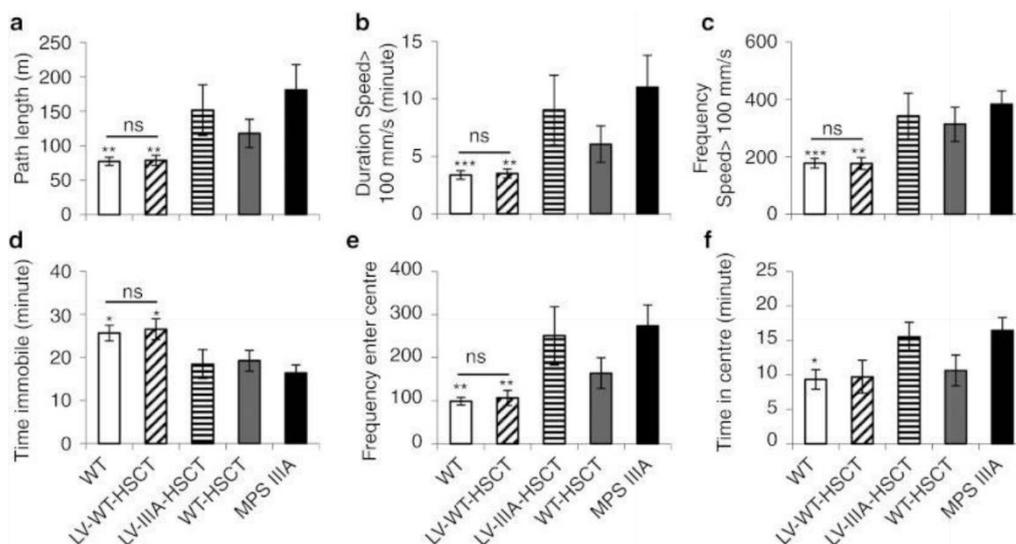


Figura 9. Lentiviral-wild-type-HSCT (LT-WT-HSCT). Se realizaron pruebas de comportamiento para los diferentes grupos estudiados donde se midieron seis parámetros. Ratones no tratados (WT), células de donantes WT transducidas con LV-SGSH en receptores de MPS IIIA (LV-WT-HSCT), células de donantes MPS IIIA transducidas con LV-SGSH en receptores de MPS IIIA (LV-III A-HSCT), WT a MPS IIIA (WT-HSCT) y MPS IIIA no tratada (MPS IIIA) (25).

4.3.2.2. Terapia de reemplazo enzimático

La terapia de reemplazo enzimático radica en la introducción de una enzima funcional en el organismo para disminuir o normalizar los niveles de GAG. Es decir, se proporciona una enzima funcional recombinante a las células deficientes (21,2,35). Un factor importante es la vía de administración utilizada debido al bajo nivel de penetración de las moléculas en la BHE y su administración ineficaz en tejidos avasculares, es por ello que la vía endovenosa no es una posibilidad (1,4,7,10,13,23). En la MPS III los ensayos suelen ser insatisfactorios debido a que es una enfermedad con un factor neurológico (2,10,13,23), mientras que para otros tipos de MPS que no presentan afectación neurológica los estudios son exitosos (2,23).

En un ensayo clínico controlado en fase 2b se desarrolló una formulación intratecal (IT) para acceder directamente al tejido del SNC mediante la aplicación de un dispositivo de administración de fármacos intratecal implantado (IDDD) debido a la baja permeabilidad de los fármacos a la BHE. Por esta vía se administró rhHNS (heparan-N-sulfatasa humana recombinante). El estudio tuvo una duración de 48 semanas e incluyó a 21 pacientes de entre 12-48 meses de edad. Los pacientes se distribuyeron aleatoriamente en tres grupos. El Grupo 1 recibió rhHNS IT 45 mg una vez cada 2 semanas (Q2W), el Grupo 2 recibió rhHNS IT 45 mg una vez cada 4 semanas (Q4W) a través de un IDDD y el Grupo 3 o control, no recibió tratamiento. Se realizaron evaluaciones neurocognitivas (ver *Figura 10*) y mediciones del volumen de materia gris cortical del cerebro. También se procedió a valorar la seguridad y eficacia del método. El fármaco investigado, rhHNS IT, es bioquímicamente activo, mostrando eficacia somática en la mayoría de pacientes y un beneficio cognitivo en un pequeño número de ellos. Sin embargo, no se alcanzó el objetivo de al menos tres pacientes respondedores en el grupo de dosificación (27).

El tratamiento aplicado disminuyó sustancialmente los niveles de GAG en LCR en todos los pacientes tratados, aunque las diferencias entre los grupos control y de tratamiento

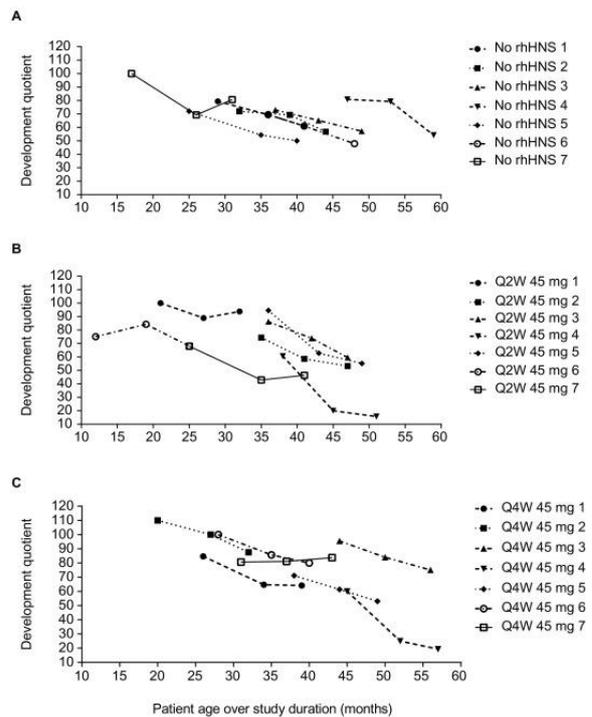


Figura 10. Puntuaciones del cociente de desarrollo cognitivo frente a la edad del paciente en meses durante el periodo de estudio. En cada grupo se estudiaron siete pacientes. A: grupo control (pacientes no tratados); B: grupo Q2W (tratamiento rhHNS IT 45 mg una vez cada 2 semanas); C: Q4W (tratamiento rhHNS IT 45 mg una vez cada 4 semanas) (27).

no fueron estadísticamente significativas. Dos pacientes en el grupo Q2W y un paciente en el grupo Q4W presentaron un beneficio terapéutico con reducción del deterioro cognitivo e importantes correcciones metabólicas. Los tres pacientes iniciaron el tratamiento antes de los 36 meses de edad. Algunas de las limitaciones fueron el periodo de tratamiento de 48 semanas pudo no ser suficiente para que un efecto neurodegenerativo fuera medible en un número significativo de pacientes. Además del pequeño tamaño de los grupos de tratamiento. Se debe tener en cuenta que los pacientes inscritos en el ensayo presentan disfunción cognitiva y enfermedad cerebral preexistente, lo que pudo limitar el efecto de las intervenciones terapéuticas en el deterioro cognitivo (27,28,29,30).

Los pacientes que cumplieron con los criterios de respuesta continuaron en el estudio de extensión sobre la seguridad a largo plazo y el deterioro cognitivo en pacientes con MPS IIIA cuya duración fue de 120 semanas. En él se incluyeron 12 pacientes de un estudio en fase 1/2 y 17 pacientes del estudio en fase 2b anterior. Los pacientes no tratados del estudio en fase 2b (control) se aleatorizaron en una proporción 1:1 para recibir rhHNS IT 45 mg con un régimen de dosificación Q2W o Q4W. Durante el periodo de tratamiento la mayoría de los eventos adversos informados fueron leves (83,6%). A pesar de que trece pacientes (76,5%) tratados con rhHNS IT Q2W experimentaron eventos graves, ningún efecto adverso produjo la interrupción del tratamiento y no se informaron de muertes durante el estudio. Las evaluaciones cognitivas continuaron disminuyendo en la mayoría de los pacientes. Sin embargo, tres pacientes (un del grupo Q2W y dos del grupo Q4W) presentaron aumentos en las puntuaciones para la comunicación receptiva, la comunicación y las habilidades motoras finas y gruesas (27,28,29,30).

En otro estudio se desarrolló una molécula denominada traletinidasa alfa (TA), considerada una posible TRE para el tratamiento de MPS IIIB. La TA es una proteína de fusión compuesta por NAGLU humana recombinante y un factor de crecimiento 2 similar a la insulina humana. Para su acceso a la BHE se administra directamente en el LCR mediante una infusión intracerebroventricular (ICV) en el ventrículo lateral del cerebro. Se utilizaron perros a partir de los 4-5 meses de edad, los cuales fueron administrados ICV con 12 o 48 mg de AT cada dos semanas. Se utilizaron perros sanos como control y animales con MPS IIIB a los cuales se les administró un vehículo, el cual consistía en solución salina. La administración ICV de AT en el modelo murino de MPS IIIB permitió una distribución cerebral generalizada, neuropatología reducida, carga lisosomal disminuida. La administración directa de AT en el SNC resultó en una disminución estadísticamente significativa y dependiente de dosis de los niveles de HS y NRE en el LCR como en el tejido del SNC, todo ello en comparación con los perros con MPS IIIB tratados con vehículo. Se destaca que los niveles de los perros tratados con una dosis de 48 mg de AT fueron casi normales (31).

Se espera que la disminución de los niveles de HS y NRE en el LCR de lugar a una mejora a nivel cognitivo, específicamente en el aprendizaje y la memoria. Para ello la evaluación se realizó mediante un laberinto en T de aprendizaje y memoria durante cinco sesiones. Los resultados se midieron según la cantidad de errores cometidos por los perros después de la primera elección correcta durante las tareas de aprendizaje. Como se esperaba, los perros no afectados cometieron un número inferior de errores durante las cinco sesiones, indicando que aprenden con el tiempo (ver Figura 11) (31).

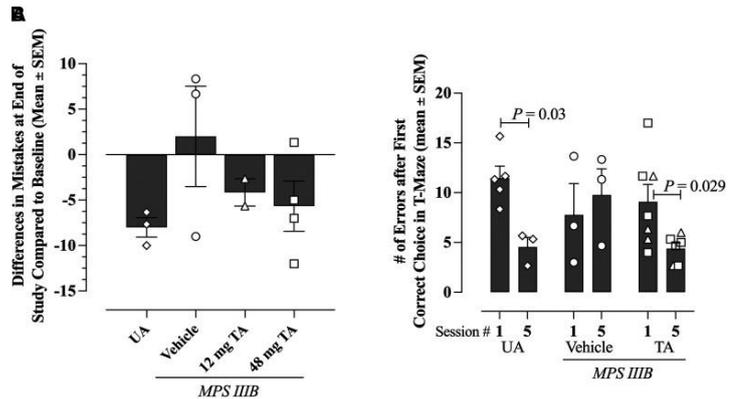


Figura 11. Efectos de la tralessinidasa alfa (AT) en el rendimiento de una tarea de aprendizaje en perros MPS III B del estudio. Izquierda: diferencia en el número de errores cometidos por cada perro en la sesión 5 (23,5 meses de edad media) frente a la sesión 1 (14,2 meses de media) en la prueba de aprendizaje. Derecha: número de errores cometidos por cada perro tras la primera elección correcta en la primera sesión y en la quinta sesión durante las tareas de aprendizaje. Se muestran los datos de los perros no afectados (rombos), perros tratados con vehículo (círculos), tratados con 12 mg de AT (triángulos) y tratados con 48 mg de AT (cuadrados) (31).

Por el contrario, los perros con MPS III B que recibieron el vehículo cometieron un número creciente de errores durante esas mismas sesiones, lo que indica una degradación de las capacidades de aprendizaje y memoria, observadas en la Figura 9. Los perros con MPS III B tratados con 48 mg de AT mostraron un rendimiento mejorado en comparación con los tratados con 12 mg. La capacidad de aprendizaje en el grupo de dosis de 48 mg fue parecida a la del grupo no afectado por la enfermedad y mejor que la de los perros MPS III B tratados con vehículo (31).

4.3.2.3. Terapia génica

La terapia génica es la opción más prometedora para las enfermedades de depósito lisosomal ya que a pesar de ser un tratamiento permanente no requiere de un donante compatible como la TRE. Este método consiste en introducir la copia correcta de un gen terapéutico (secuencia de codificación de la proteína) en las células afectadas de un paciente para recuperar su actividad enzimática (4,10,13,23,32). En trastornos neurológicos el tratamiento con virus adenoasociados es el más adecuado ya que solo se requiere entre un 5 y un 15% de la actividad enzimática para mantener un estado saludable en los pacientes afectados. Se pueden utilizar diversos vectores virales para el tratamiento de pacientes con MPS, como retrovirus, adenovirus, lentivirus (LVV) y virus adenoasociados (AAV) y también vectores no virales (13,23,32).

Los AAV pertenecen a la familia *Parvoviridae* del género *Dependovirus* son partículas isocahédricas (ver *Figura 12*). Son virus dependientes y necesitan de la coinfección de virus accesorios para completar su ciclo replicativo. Los virus “ayudantes” pertenecerían a la familia *Adenoviridae* o *Herpesviridae*. Los AAV presentan una baja inmunogenicidad y no causan infecciones en humanos convirtiéndose en una herramienta de referencia en la terapia génica. Estos virus no integran el material genético en las células del huésped haciendo que disminuya el efecto del tratamiento con el tiempo. En las células que no se dividen, la expresión genética es duradera (3,10,13,23,32).

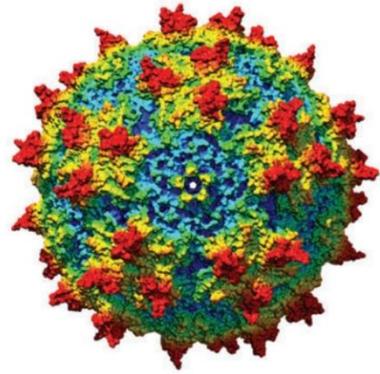


Figura 12. Estructura de la cápside isocahédrica de un virus adenoasociado (AAV) (32).

La administración sistémica del vector AAV9, aislado en tejido humano, ha demostrado la capacidad de atravesar la BHE. Sin embargo, el principal problema es que las dosis empleadas para conseguir un efecto terapéutico a nivel del SNC son muy elevadas. Y la exposición a elevadas dosis de AAV deriva en a la presentación de una repuesta inmune frente a la propia terapia. Por ello, se planteó la hipótesis sobre la administración directa de sulfaminidasa AAV9 (AAV9-Sgsh) en LCR para el tratamiento de MPS IIIA. Se combinó dicha vía de administración con la transducción generalizada de vectores AAV9 para la corrección histopatológica y funcional tanto a nivel central como somático (32).

Diez meses después de una única administración del vector AAV9-Sgsh la cantidad de GAG en el cerebro permaneció a niveles normales en los ratones afectados con MPS IIIA. La administración de AAV9-Sgsh en ratones con MPS IIIA corrigió completamente los déficits de comportamiento, mientras que no se observó ningún efecto terapéutico a dosis menores, lo que sugiere que la mejora en la función del SNC requiere una corrección considerable de la patología lisosomal. Con una sola administración se consiguió una transducción generalizada del SNC y migración del vector al torrente sanguíneo traduciéndose en una mejora somática, de la función cerebral y la supervivencia de los animales tratados con respecto a los compañeros sanos (32).

Otro ensayo consideró la terapia génica neonatal combinada, la cual se dirige tanto al SNC como a la los niveles periféricos. Este estudio presenta un posible tratamiento en pacientes neonatales mediante dos tipos de administraciones, por vía intravenosa de un vector lentiviral (MPS IIIB IV-LENTI) y mediante inyección intracraneal de un vector AAV (MPS IIIB IC-AAV) a la combinación de ambas se le denominó MPS IIIB BOTH (33).

A nivel histológico el tratamiento MPS IIIB BOTH permitió una reducción en el almacenamiento lisosomal en las células de ratones con MPS IIIB. Además, la actividad de la enzima NAGLU fue detectable en todos los órganos analizados para el tratamiento combinado. Todos los ratones tratados mostraron una esperanza de vida mayor a los ratones no tratados, esto se observa en la *Figura 13*. La terapia MPS IIIB BOTH presentó resultados significativos respecto a la acumulación patológica de GAG en el cerebro. Con respecto a la función motora, representada en la *Figura 14*, se retrasó significativamente la progresión de la disfunción motora en comparación con los animales MPS IIIB no tratados (33).

A pesar de que se alcanzaron, con la combinación de tratamientos sistémicos e intracraneales, niveles superiores a los normales en el cerebro, los niveles de actividad de NAGLU fueron insuficientes en los demás órganos analizados. Incluso con las mejoras funcionales a largo plazo y los beneficios del enfoque combinado, la progresión de la enfermedad durante las últimas semanas de vida para cada uno de los grupos permaneció similar (33).

4.3.2.4. Terapia de reducción de sustrato

Otro enfoque terapéutico alternativo es la terapia de reducción de sustrato, su objetivo es restaurar el equilibrio entre la síntesis y la degradación mediante dianas moleculares que disminuyan la producción de sustrato acumulado, es decir, la cantidad de material almacenado. Las moléculas utilizadas en esta terapia pueden atravesar la BHE. (16,6,35,31,37) Es una técnica aplicada a la MPS III que resulta en la reducción de los niveles de ARNm y en la disminución significativa de la síntesis de GAG. (2,3,19,22,23,) La molécula más estudiada es la genisteína (ver *Figura 15*) (5, 7-

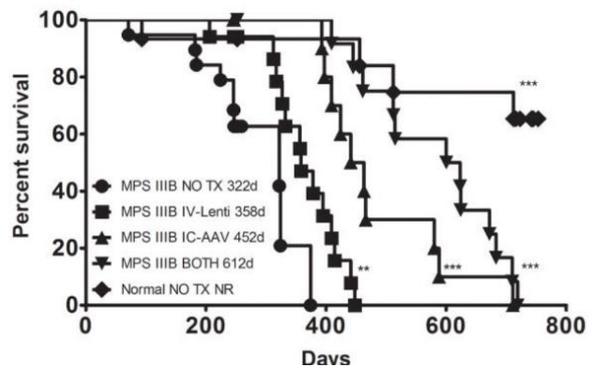


Figura 13. Análisis de supervivencia. Todos los grupos tratados tuvieron una supervivencia significativamente mayor en comparación con los ratones MPS IIIB no tratados, siendo el grupo BOTH el más parecido a los resultados de los ratones sanos (33).

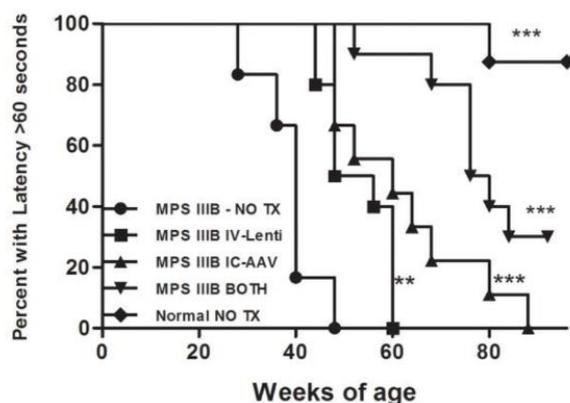


Figura 14. Análisis del rendimiento. Se utilizó una latencia de 60 segundos como umbral para representar la disfunción motora en la representación del análisis. Todos los grupos son significativamente más largos que los ratones con MPS IIIB no tratados (33).

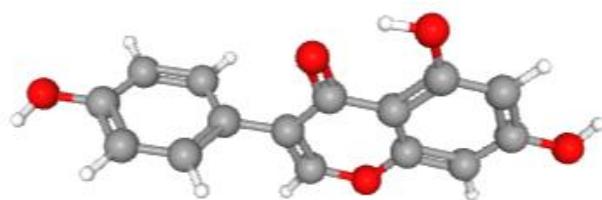


Figura 15. Estructura molecular 3D de la genisteína (38).

dihidroxi-3-(4-hidroxifenil)-4 H-1-benzopirano-4-ona), una versión sintética de la isoflavona de soja, la cual inhibe la fosforilación del receptor del factor de crecimiento epidérmico, que es importante para la expresión de los genes codificantes de las GAG. La genisteína es un compuesto no tóxico y seguro que actuaría como un posible agente terapéutico de reducción de sustrato (19,23,13,35). También es un factor atenuante del estrés oxidativo pudiendo mejorar los síntomas producidos por la neuro inflamación.

Ocho pacientes con enfermedad de Sanfilippo diagnosticada realizaron un estudio experimental donde se administraba por vía oral el extracto SE-2000, el cual contiene un 26,90% de genistina y cuya duración fue de 36 meses. Se realizaron dos tipos de evaluación (la prueba BAE modificada y el cuestionario para padres) al inicio y después de 12 y 36 meses de tratamiento. No se informaron efectos adversos de la terapia durante este estudio corroborando la conclusión de que GET IT (terapia de isoflavonas dirigida a la expresión génica) es un tratamiento seguro (34,35).

Las funciones cognitivas y los cambios de comportamiento se analizaron mediante la prueba BAE donde se consideraron diferentes parámetros como estado de alerta/actividad. Durante el primer año se observó una mejoría en 7 pacientes y la estabilización de 1 de ellos. Después del tercer año se observó una mejoría en 2 pacientes y una estabilización en 3 pacientes. Sin embargo, en el estado de otros 3 pacientes se deterioró. Se ha demostrado una mejoría estadísticamente significativa en los parámetros bioquímicos y morfológicos, así como una mejora en el estado clínico de los pacientes. Es plausible que durante el primer período de GET IT, se corrijan los efectos reversibles de las enfermedades y, posteriormente, solo sea posible prevenir la progresión o retrasar los cambios irreversibles (34,35).

Actualmente se ha informado que una dosis tan alta como 160 mg/kg/día es segura para ratones con MPS IIIB (36), por lo que es probable que dosis significativamente más altas que las utilizadas en estos estudios puedan ser seguras para los humanos y más efectivas.

En una publicación, se investigaron los efectos de diferentes flavonoides como la apigenina (una flavona), daidzeína (una isoflavona), kaempferol (un flavonol) y naringenina (una flavonona) sobre la síntesis de GAG además de sus características de citotoxicidad y anti proliferación. En la *Figura 16* se observa la estructura de dichas

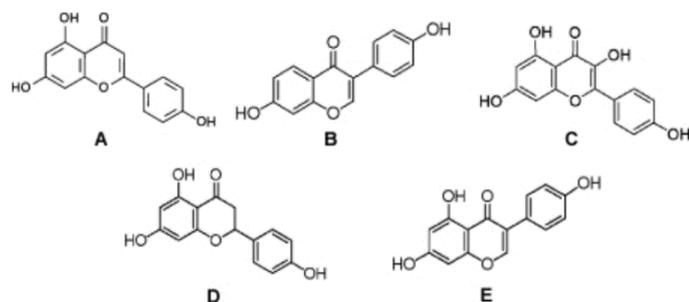


Figura 16. Fórmulas estructurales de flavonoides naturales: apigenina (A), daidzeína (B), kaempferol (C), naringenina (D) y genisteína (E) (37).

moléculas. Todos los flavonoides, analizados en fibroblastos cutáneos con MPS IIIA y B, presentaron una baja citotoxicidad. Se observó una inhibición de la síntesis de GAG en presencia de todos los compuestos a analizar, siendo el efecto del kaempferol el más pronunciado. Se determinó el almacenamiento lisosomal en presencia y ausencia de los flavonoides, la daidzeína y el kaempferol fueron los compuestos significativamente efectivos en la eliminación del almacenamiento de las células MPS. Únicamente para las moléculas kaempferol, daidzeína y se observaron diferencias estadísticamente significativas en relación con las células no tratadas (1,37).

Como consecuencia, el uso de flavonoides naturales podría ser una de las prometedoras opciones para SRT en MPS III. La combinación de varios flavonoides en bajas concentraciones podría ser más efectivo que su uso aislado (34,35,36,37).

4.3.2.5. Terapia farmacológica

Las mutaciones conducen, en muchos casos, a la producción de proteínas mal plegadas, las cuales se degradan rápidamente. Dentro de este contexto, la activación de proteínas celulares como las chaperonas inhibe el plegamiento erróneo de proteínas mutantes preservando sus sitios activos, aumentando su estabilidad y previniendo la degradación. Las chaperonas usadas a bajas concentraciones pueden estabilizar las enzimas mutantes y restaurar el plegamiento correcto (2,3,4,12,23). Las chaperonas son administradas por vía oral y pueden atravesar la BHE (7,12,23).

5. DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

El Síndrome de Sanfilippo es la forma más frecuente de MPS. Esta causada por la deficiencia de una enzima que da lugar a la acumulación patológica de formas parcialmente degradadas de HS. Este depósito anómalo produce disfunción a nivel celular afectando al SNC y provocando neurodegeneración, además de afecciones en los tejidos periféricos. La presentación clínica difiere según el subtipo, la edad y la mutación genética. Existen cuatro subtipos diferentes de MPS III. La gravedad y la rápida progresión de la enfermedad supone una esperanza de vida corta y de baja calidad para los pacientes. A pesar de ello el diagnóstico se retrasa hasta la manifestación de síntomas neurológicos. Actualmente la determinación de GAG en orina es el método de diagnóstico más sencillo para confirmar una MPS junto con el estudio enzimático para determinar el subtipo. Es necesario realizar un diagnóstico diferencial adecuado y pruebas preliminares para acotar y definir la enfermedad.

Un punto importante es que se atribuyen los síntomas al almacenamiento inadecuado de moléculas en los lisosomas, pero se desconoce el mecanismo por el cual se producen las mutaciones. Para comprender estos cambios serían necesarios análisis genéticos

moleculares, ahora mismo inútiles debido al amplio espectro producido por la heterogeneidad alélica. Actualmente, no existe ningún tratamiento efectivo aprobado para las alteraciones relacionadas con la MPS III y los métodos existentes son paliativos sintomáticos. La mayoría de los ensayos realizados a partir de las nuevas terapias (*Tabla 3*), además de ser seguros, permiten reducir los niveles de GAG en el organismo, sin embargo, esto no refleja una mejoría clínica de los pacientes. Los ensayos realizados en animales son mayoritariamente exitosos, sin embargo, una vez aplicados en pacientes humanos los resultados varían.

La utilización de vectores AAV9 en terapia génica o la terapia de reducción de sustrato son líneas de tratamiento prometedoras para el futuro. En ellas se ha demostrado una mejoría significativa tanto bioquímica como morfológica en pacientes con dicho síndrome. La terapia de reducción de sustrato también ha proporcionado avances con respecto a algunas funciones cognitivas y del comportamiento, sin embargo, se requieren más estudios para confirmar su eficacia.

Los diferentes métodos estudiados permiten mejorar distintas áreas de la enfermedad, es por ello que se está planteando y comenzando a investigar con resultados favorables terapias combinadas, siendo el tratamiento predominante la terapia génica de LVV junto con otro método. Algunas de las limitaciones más comunes en los ensayos analizados son la baja cantidad de muestra a estudiar, los diferentes estadios y la edad de los pacientes, el sexo, que también ha resultado ser un factor diferenciador y la corta esperanza de vida. Además, no todos los sujetos son adecuados para todos los métodos.

En conclusión, el Síndrome de Sanfilippo es una enfermedad en constante investigación en la que el diagnóstico temprano y un adecuado tratamiento son esenciales. El principal objetivo es encontrar una terapia eficaz, no solo bioquímicamente, y que a su vez sea lo menos invasiva para el paciente. Este tipo de enfermedades no pueden ser abordadas desde una única disciplina, sino que requieren de la colaboración y comunicación estrecha de diversas áreas médicas.

Tabla 3. Resumen comparativo de las líneas de investigación para el Síndrome de Sanfilippo. Descripción del tipo de terapia, vía de administración, resultados y limitaciones del procedimiento.

Tipo de terapia	Vía de administración	Resultados del estudio	Limitaciones
<i>Terapia de reemplazo enzimático</i>	Intratecal, ventricular y intracisternal	Penetración cerebral de la enzima; reducción de HS en cerebro	Método invasivo; administraciones recurrentes; dependen del tiempo de inicio

Terapia génica	Vectores virales o plásmidos; administración sistémica o intracraneal	Expresión enzimática general; reducción de GAG y neuro inflamación; mayor esperanza de vida	Administraciones recurrentes; procedimiento invasivo; mejoras en estudios clínicos
Terapia de reducción de sustrato	Genisteína	Reducción de niveles de HS y GAGu; mejora en el comportamiento	Dosis altas en investigación; posibles efectos adversos a largo plazo
Trasplante de células madre hematopoyéticas	Medula ósea o células hematopoyéticas	Corrección bioquímica; no mejora a nivel neurológico	Procedimiento invasivo; elevada histocompatibilidad/ rechazo de trasplante
Terapia farmacológica	Vía oral	Estabilización de enzimas mutantes y plegamiento correcto	Necesaria más investigación y estudios

6. BIBLIOGRAFÍA

1. Pablo Sanjurjo, M. del Toro Riera, J. Dalmau Serra, I. Vitoria Miñana, E. Guillén-Navarro, J. Pérez, L. Ceberio, M.L. Couce Pico, L. González Gutiérrez-Solana, L. López Marín, L. Aldámiz-Echevarría Azuara¹, F. Andrade Lodeiro¹, M. Larena Fernández³, A.M. Montaña-Suárez. Guía para el manejo de las MPS. Ergon 2015. Disponible en: https://www.fesemi.org/sites/default/files/documentos/publicaciones/guia_manejo_mps.pdf
2. Suarez-Guerrero JL, Gómez Higuera PJI, Arias Flórez JS, Contreras-García GA. Mucopolisacaridosis: características clínicas, diagnóstico y de manejo. Revista Chilena de Pediatría. 2016;87(4):295-304.
3. Spahiu L, Behluli E, Peterlin B, Nefic H, Hadziselimovic R, Liehr T, et al. Mucopolysaccharidosis III: Molecular basis and treatment. Pediatr Endocrinol Diabetes Me. 2021;27(3):199-208.
4. Zhou J, Lin J, Leung WT, Wang L. A basic understanding of mucopolysaccharidosis: Incidence, clinical features, diagnosis, and management. Intractable Rare Dis Res. 2020;9(1):1-9.
5. Jing Zhou, Jing Lin, Wing Ting Leung, and Ling Wang. Mucopolysaccharidoses [Internet]. National Institute of Neurological Disorders and Stroke. [citado 29 de mayo de 2023]. Disponible en: <https://www.ninds.nih.gov/health-information/disorders/mucopolysaccharidoses>
6. Cyske Z, Anikiej-Wiczenbach P, Wisniewska K, Gaffke L, Pierzynowska K, Mański A, et al. Sanfilippo Syndrome: Optimizing Care with a Multidisciplinary Approach. J Multidiscip Healthc. 2022;15:2097-110.
7. Luis Aldámiz-Echevarría, Marta Larena, Fernando Andrade. Guía clínica síndrome de Sanfilippo. 2016.
8. Mabe S. P. LAS MUCOPOLISACARIDOSIS. Revista chilena de nutrición. 2004;31(1):8-16.
9. Merino AA, Ortega IV. Herramienta informática: Plan de cuidados en el Síndrome de Sanfilippo.
10. Joanna Jakobkiewicz-Banecka, Magdalena Gabig-Ciminska, Anna Kloska, Marcelina Malinowska, Ewa Piotrowska, Zyta Banecka-Majkutewicz, Bogdan Banecki, Alicja Wegrzyn, Grzegorz Wegrzyn. Glycosaminoglycans and mucopolysaccharidosis type III. [Frontiers in Bioscience, Landmark, 21, 1393-1409, June 1, 2016]

11. Benetó N, Vilageliu L, Grinberg D, Canals I. Sanfilippo Syndrome: Molecular Basis, Disease Models and Therapeutic Approaches. *Int J Mol Sci.* 2020;21(21):7819.
12. Seker Yilmaz B, Davison J, Jones SA, Baruteau J. Novel therapies for mucopolysaccharidosis type III. *J Inher Metab Dis.* 2021;44(1):129-47.
13. Fedele AO. Sanfilippo syndrome: causes, consequences, and treatments. *Appl Clin Genet.* 2015;8:269-81.
14. Cyske Z, Anikiej-Wiczenbach P, Wisniewska K, Gaffke L, Pierzynowska K, Mański A, et al. Sanfilippo Syndrome: Optimizing Care with a Multidisciplinary Approach. *J Multidiscip Healthc.* 2022;15:2097-110.
15. Lidvana Spahiu, Emir Behluli, Borut Peterlin, Hilada Nefic, Rifat Hadziselimovic, Thomas Liehr, Gazmend Temaj. Mucopolysaccharidosis III: Molecular basis and treatment. *Metab* 2021; 27 (3): 201-208
16. Wagner VF, Northrup H. Mucopolysaccharidosis Type III. En: Adam MP, Mirzaa GM, Pagon RA, Wallace SE, Bean LJ, Gripp KW, et al., editores. *GeneReviews®* [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK546574/>
17. Lin HY, Lo YT, Wang TJ, Huang SF, Tu RY, Chen TL, et al. Normalization of glycosaminoglycan-derived disaccharides detected by tandem mass spectrometry assay for the diagnosis of mucopolysaccharidosis. *Sci Rep.* 2019;9:10755.
18. Caracterización clínica, estudios genéticos, y manejo de la Mucopolisacaridosis tipo IV A [Internet]. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0121-03192013000200006
19. Mucopolysaccharidosis type III (Sanfilippo syndrome) and misdiagnosis of idiopathic developmental delay, attention deficit/hyperactivity disorder or autism spectrum disorder - Wijburg - 2013 - *Acta Paediatrica* - Wiley Online Library [Internet]. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/apa.12169>
20. Langereis EJ, Wagemans T, Kulik W, Lefeber DJ, van Lenthe H, Oussoren E, et al. A Multiplex Assay for the Diagnosis of Mucopolysaccharidoses and Mucopolipidoses. *PLoS One.* 2015;10(9):e0138622.
21. Chuang CK, Lin HY, Wang TJ, Tsai CC, Liu HL, Lin SP. A modified liquid chromatography/tandem mass spectrometry method for predominant disaccharide units of urinary glycosaminoglycans in patients with mucopolysaccharidoses. *Orphanet J Rare Dis.* 2014;9:135.
22. Cyske Z, Anikiej-Wiczenbach P, Wisniewska K, Gaffke L, Pierzynowska K, Mański A, et al. Sanfilippo Syndrome: Optimizing Care with a Multidisciplinary Approach. *J Multidiscip Healthc.* 2022;15:2097-110.
23. Benetó N, Vilageliu L, Grinberg D, Canals I. Sanfilippo Syndrome: Molecular Basis, Disease Models and Therapeutic Approaches. *Int J Mol Sci.* 2020;21(21):7819.
24. Welling L, Marchal JP, van Hasselt P, van der Ploeg AT, Wijburg FA, Boelens JJ. Early Umbilical Cord Blood-Derived Stem Cell Transplantation Does Not Prevent Neurological Deterioration in Mucopolysaccharidosis Type III. *JIMD Rep.* 2014;18:63-8.
25. Langford-Smith A, Wilkinson FL, Langford-Smith KJ, Holley RJ, Sergijenko A, Howe SJ, et al. Hematopoietic Stem Cell and Gene Therapy Corrects Primary Neuropathology and Behavior in Mucopolysaccharidosis IIIA Mice. *Mol Ther.* 2012;20(8):1610-21.
26. Wijburg FA, Whitley CB, Muenzer J, Gasperini S, del Toro M, Muschol N, et al. Intrathecal heparan-N-sulfatase in patients with Sanfilippo syndrome type A: A phase IIb randomized trial. *Molecular Genetics and Metabolism.* 2019;126(2):121-30.
27. Wijburg FA, Whitley CB, Muenzer J, Gasperini S, del Toro M, Muschol N, et al. Intrathecal heparan-N-sulfatase in patients with Sanfilippo syndrome type A: A phase IIb randomized trial. *Molecular Genetics and Metabolism.* 2019;126(2):121-30.

28. Wijburg FA, Whitley CB, Muenzer J, Gasperini S, del Toro M, Muschol N, et al. A multicenter open-label extension study of intrathecal heparan-N-sulfatase in patients with Sanfilippo syndrome type A. *Molecular Genetics and Metabolism*. 2021;134(1):175-81.
29. A Treatment Study of Mucopolysaccharidosis Type IIIB (MPS IIIB) | Study Record | Beta ClinicalTrials.gov [Internet]. Disponible en: <https://beta.clinicaltrials.gov/study/NCT02754076>
30. Shire. A Phase I/II Safety, Tolerability, Ascending Dose and Dose Frequency Study of Recombinant Human Heparan N-Sulfatase (rhHNS) Intrathecal Administration Via an Intrathecal Drug Delivery Device in Patients With Sanfilippo Syndrome Type A (MPS IIIA) [Internet]. *clinicaltrials.gov*; 2021 may. Report No.: results/NCT01155778. Disponible en: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/results/NCT01155778>
31. Ellinwood NM, Valentine BN, Hess AS, Jens JK, Snella EM, Jamil M, et al. Tralesinidase Alfa Enzyme Replacement Therapy Prevents Disease Manifestations in a Canine Model of Mucopolysaccharidosis Type IIIB. *J Pharmacol Exp Ther*. 2022;382(3):277-86.
32. Haurigot V, Marcó S, Ribera A, Garcia M, Ruzo A, Villacampa P, et al. Whole body correction of mucopolysaccharidosis IIIA by intracerebrospinal fluid gene therapy. *J Clin Invest*. 2013;123(8):3254-71.
33. Heldermon CD, Qin EY, Ohlemiller KK, Herzog ED, Brown JR, Vogler C, et al. Disease correction by combined neonatal intracranial AAV and systemic lentiviral gene therapy in Sanfilippo Syndrome type B mice. *Gene Ther*. 2013;20(9):913-21.
34. Piotrowska E, Jakóbkiewicz-Banecka J, Tylki-Szymanska A, Liberek A, Maryniak A, Malinowska M, et al. Genistin-rich soy isoflavone extract in substrate reduction therapy for Sanfilippo syndrome: An open-label, pilot study in 10 pediatric patients. *Curr Ther Res Clin Exp*. 2008;69(2):166-79.
35. Piotrowska E, Jakobkiewicz-Banecka J, Maryniak A, Tylki-Szymanska A, Puk E, Liberek A, et al. Two-year follow-up of Sanfilippo Disease patients treated with a genistein-rich isoflavone extract: Assessment of effects on cognitive functions and general status of patients. *Med Sci Monit*. 2011;17(4):CR196-202.
36. Malinowska M, Wilkinson FL, Langford-Smith KJ, Langford-Smith A, Brown JR, Crawford BE, et al. Genistein Improves Neuropathology and Corrects Behaviour in a Mouse Model of Neurodegenerative Metabolic Disease. *PLoS One*. 2010;5(12):e14192.
37. Kloska A, Jakóbkiewicz-Banecka J, Narajczyk M, Banecka-Majkutewicz Z, Węgrzyn G. Effects of flavonoids on glycosaminoglycan synthesis: implications for substrate reduction therapy in Sanfilippo disease and other mucopolysaccharidoses. *Metab Brain Dis*. 2011;26(1):1-8.
41. Wagner VF, Northrup H. Mucopolysaccharidosis Type III. En: Adam MP, Mirzaa GM, Pagon RA, Wallace SE, Bean LJ, Gripp KW, et al., editores. *GeneReviews®* [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993 Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK546574/>
42. Kubaski F, de Oliveira Poswar F, Michelin-Tirelli K, Burin MG, Rojas-Málaga D, Brusius-Facchin AC, et al. Diagnosis of Mucopolysaccharidoses. *Diagnostics (Basel)*. 2020;10(3):172.