

TECNOLOGICO DE MONTERREY



Escuela de Medicina y Ciencias de la Salud

Programas Multicéntricos de Especialidades Médicas

“Enfermedades por depósito lisosomal: incidencia y correlación enzimática con hallazgo molecular en una población de recién nacidos mexicanos”

Tesis que para obtener el grado de:

Especialidad en Pediatría

presenta:

Dr. Juan Carlos Moedano Salinas

Director de tesis:

Dra. Consuelo Cantú Reyna

Codirector de tesis:

Ing. Héctor Cruz Camino

Monterrey, Nuevo León, México

Octubre 2019



Escuela de Medicina y
Ciencias de la Salud
TecSalud

Escuela de Medicina y Ciencias de la Salud



Secretaría
de Salud

Nuevo León
GOBIERNO DEL ESTADO

Programa Multicéntrico de

Especialidades Médicas

Los Integrantes del Comité aprueban la tesis de Juan Carlos Moedano Salinas, que presenta para cubrir el requisito parcial de obtención del grado de:

ESPECIALISTA EN PEDIATRÍA

Comité de Tesis

Dra. Consuelo Cantú Reyna
Director de Comité

Dr. Dr. Óscar González Llano
Sinodal

Dra. Blanca Deyanira Gómez Cárdenas
Sinodal

Dr. Gabriel Martín Vargas Duarte
Director del programa de Pediatría



Escuela de Medicina y Ciencias de la Salud



Programa Multicéntrico de
Especialidades Médicas

- Autor principal: Dr. Juan Carlos Moedano Salinas, matrícula A01032999.

Residente de cuarto año del Departamento de Pediatría, Programas Multicéntricos de Residencias Médicas de la Escuela de Medicina y Ciencias de la Salud del Tecnológico de Monterrey y la Secretaría de Salud de Nuevo León.

- Director de tesis: Dra. Consuelo Cantú Reyna Cantú.

Médico especialista en Genética. Profesor de cátedra de Pediatría de la Escuela de Medicina y Ciencias de la Salud del Tecnológico de Monterrey y la Secretaría de Salud de Nuevo León. Directora de Genética en Genomi-k.

- Codirector de tesis/ Asesor Metodológico: Dr. Jesús Santos Guzmán.

Médico Pediatra. Profesor investigador de la Escuela de Medicina y Ciencias de la Salud del Tecnológico de Monterrey y la Secretaría de Salud de Nuevo León.

- Codirector de tesis: Ing. Héctor Cruz Camino.

Ingeniero en Biotecnología. Profesor de Cátedra de la Escuela de Ingeniería y Ciencias del Tecnológico de Monterrey. Coordinador de Nuevas Soluciones e Investigaciones en Genomi-k.

Dedicatoria

A mi madre y padre, quienes me han apoyado incondicionalmente desde el principio y me enseñaron la importancia de la perseverancia.

También a Alejandra, mi prometida, quien me ha acompañado en este trayecto y me ha dado el apoyo para continuar.

Agradecimientos

A mis asesores, Dra. Consuelo Cantú Reyna, Dr. Jesús Santos Guzmán y al Ing. Héctor Cruz Camino, quienes me brindaron su apoyo y fueron mi guía durante todo el trayecto de la elaboración de este estudio.

También a la empresa Genomi-k, la cual me abrió sus puertas y me permitió acceso a su base de datos, sin la cual no hubiera sido posible la realización del estudio.

Resumen

Introducción: Las enfermedades de depósito lisosomal (LSD) son causadas por mutaciones genéticas que generan una deficiencia enzimática lisosomal (1). La detección de algunas LSD puede realizarse mediante el tamiz metabólico neonatal ampliado, sin embargo no todas las instituciones las incluyen en su panel (2,3,4). Debido a esto, a nivel nacional no existe epidemiología de la población mexicana (5). Por otro lado, en la última década se ha reportado por diversos programas piloto de tamizaje neonatal una incidencia de LSD diferente a la reportada (9,18,43,44).

Objetivos: Estimar la incidencia de seis LSD (enfermedad de Fabry (FD), enfermedad de Gaucher (GD), enfermedad de Krabbe (KD), enfermedad de Niemann-Pick A/B (NP), enfermedad de Pompe (PD), y Mucopolisacaridosis tipo I (MPS-I), describir los hallazgos moleculares de éstas, así como identificar si existe correlación entre la actividad enzimática y las variantes patogénicas detectadas en una población de RN mexicanos mediante un programa de tamizaje neonatal ampliado (TMNA).

Material y métodos: Se realizó un estudio observacional, retrospectivo, descriptivo y transversal de 70,403 reportes de TMNA llevados a cabo entre el 1 de Julio de 2012 al 1 de Julio de 2019 los cuales fueron obtenidos por el programa nacional de TMNA de Genomi-k. Para el análisis estadístico se utilizó estadística descriptiva para calcular la incidencia; se describen los hallazgos moleculares; y para establecer la correlación entre actividad enzimática y hallazgos moleculares se utilizó la prueba no paramétrica de U de Mann-Whiney para los pacientes con enfermedad de Pompe.

Resultados: De los 70,403 reportes de TMNA, 70,329 fueron reportados como dentro de límites normales y 74 se reportaron como presuntos positivos. A estos 74 casos se les realizó pruebas confirmatorias y se identificaron 24 pacientes con LSD y

47 falsos positivos. Los casos positivos para las seis LSD se distribuyeron de la siguiente manera: FD: 13 casos, GD: 0 casos, KD: 1 caso, PD: 6 casos, NPD: 1 caso y MPS-I: 3 casos. Lo cual generó las siguientes incidencias: FD: 18.4 en 100,000 recién nacidos vivos (RN), GD: 0 en 100,000 RN, KD: 1.4 en 100,000 RN, PD: 8.5 en 100,000 RN, NPD: 1.4 en 100,000 RN y MPS-1: 4.2 en 100,000 RN. Con una incidencia general de 34 en 100,000 RN. Los 24 casos positivos presentaron mutaciones previamente reportadas a nivel internacional y nacional. Sin embargo, se encontraron 14 mutaciones previamente no reportadas en nuestra población. Además, se demostró que la actividad enzimática se correlaciona con el estatus de LSD (positivo vs falso positivo) en los casos de enfermedad de Pompe

Conclusiones: Se demostró que en una población de RN mexicanos existe una incidencia general de seis LSD mayor a la reportada internacionalmente. De manera individual se encontró que existe una incidencia mayor para la enfermedad de Fabry, Pompe y la MPS-I; mientras que para Niemann-Pick y la enfermedad de Krabbe se encontró una incidencia similar a la reportada internacionalmente; en este estudio no se encontraron casos de enfermedad de Gaucher por lo que la incidencia de esta enfermedad es menor. Los hallazgos moleculares de este estudio reportan de manera general que en esta población se encuentran las mismas mutaciones descritas previamente en pacientes mexicanos así como en la población internacional con la excepción de 14 nuevas mutaciones en población mexicana. Además, se reportó que los pacientes con enfermedad de Pompe y falsos positivos de Pompe tienen una actividad enzimática diferente, siendo menor para los positivos verdaderos como es descrito en la literatura actual.

Glosario

Las siguientes abreviaturas o términos son utilizados dentro del protocolo:

<u>Abreviatura</u>	<u>Explicación</u>
LSD	Enfermedades por depósito lisosomal
RN	Recién nacidos vivos
TMNA	Tamiz Metabólico Neonatal Ampliado
GAA	Alfa-glucosidasa ácida
GLA	Alfa-galactosidasa ácida
IDUA	Alfa-L-iduronidasa
GBA	Beta-glucosidasa ácida
GALC	Galactocerebrosidasa
ASM	Esfingomielinasa ácida
EIM	Errores innatos del metabolismo
FD	Enfermedad de Fabry
GD	Enfermedad de Gaucher
KD	Enfermedad de Krabbe
MPS-I	Mucopolisacaridosis tipo I
NPD	Enfermedad de Niemann-Pick
PD	Enfermedad de Pompe
DBS	Prueba de papel de filtro
WBC	Actividad leucocitaria en suero
MS/MS	Espectrometría de masas en tándem
NGS	Secuenciación de próxima generación.

TABLA DE CONTENIDOS

Dedicatoria	4
Agradecimientos	5
Resumen	6
Glosario	8
Índice	9
Índice de tablas y figuras	10
Capítulo 1: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	11
Antecedentes	11
Planteamiento del problema	12
Objetivos General y Específico de investigación.....	13
Objetivo general.....	13
Objetivos específicos	13
Hipótesis	13
Justificación	13
Alcance del estudio	14
Limitaciones del estudio	14
Capítulo 2: MARCO TEÓRICO	15
Capítulo 3: METOLOGÍA.....	26
Diseño del estudio	26
Materiales y métodos	26
Población.....	26
Universo	26
Muestra	26
Tamaño de la muestra	27
Criterios de inclusión y exclusión	27
Obtención de reportes	27
Variables	28
Análisis estadístico	29
Capítulo 4: RESULTADOS	31
Incidencias.....	31
Hallazgos moleculares.....	32
Correlación enzimática con hallazgo molecular	39
Capítulo 5: ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....	40
Capítulo 6: CONCLUSIÓN	48
Referencias.....	49

Índice de tablas y figuras

TABLAS	
Tabla 1	18
Tabla 2	25
Tabla 3	28
Tabla 4	31
Tabla 5	32
Tabla 6	33
Tabla 7	36
Tabla 8	41
Tabla 9	42
Tabla 10	43
FIGURAS	
Figura 1	32
Figura 2	41
ANEXOS	
Anexo 1	58

CAPÍTULO 1- PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Antecedentes

Las enfermedades por depósito lisosomal (LSD) son un grupo de más de 50 diferentes condiciones que de manera individual son raras y cuya incidencia puede variar dependiendo de la región desde 1 en 100,000 hasta 23 en 100,000; pero de manera grupal se describe una incidencia internacional de 1 en 7,000 a 9,000 nacidos vivos a nivel mundial (1,3). México aún no cuenta con cifras oficiales, sin embargo, en un estudio se reportan incidencias similares a las descritas por la literatura internacional (18).

De manera general, las LSD son trastornos progresivos causadas por variantes patogénicas en los genes que codifican las proteínas de la unidad lisosomal lo cual resulta en una deficiencia enzimática específica (3,4). Esto genera una acumulación de sustratos dentro del lisosoma que causa un daño celular cuyo cuadro clínico es caracterizado por disfunción de múltiples tejidos (1,10).

El diagnóstico temprano se logra mediante la realización de TMNA y la base del tratamiento actual es la terapia de reemplazo enzimático o el trasplante de médula ósea, los cuales muestran mejores resultados entre más pronto se inicien (4,19).

A nivel internacional existen diferencias entre las enfermedades que se encuentran incluidas de manera oficial dentro de los programas nacionales y/o regionales de tamizaje neonatal (4,12).

En México el primer tamiz metabólico fue realizado en 1973 y detectaba únicamente cinco errores innatos del metabolismo (EIM) dentro de los que no se incluían LSD. Posteriormente a lo largo de las siguientes décadas se hicieron cambios en la cobertura de enfermedades (2,6,7,41), hasta que por decreto oficial en 2014 se estableció la obligatoriedad de la realización de un tamizaje metabólico ampliado para

la detección de más de 50 enfermedades considerando: desórdenes del metabolismo de los esfingolípidos y otros desórdenes de almacenamiento lipídico, así como desórdenes del metabolismo de glucosaminoglucanos (i.e. LSD) sin especificar todas las pruebas que deben realizarse (5,8,42). Cabe mencionar que, pese a esta regulación aún existe una gran variabilidad interinstitucional con relación al tamizaje del panel de enfermedades. (2,7,8)

Ante esta situación, a partir de 2017 en México, se estableció por decreto oficial la creación del Registro Nacional de Enfermedades Raras por parte del Consejo de Salubridad General. El cual tiene como objetivo establecer una incidencia nacional de enfermedades raras, definidas como aquellas con una incidencia y prevalencia menor o igual a 5 casos por 10,000 habitantes, las cuales incluye diferentes EIM entre ellas múltiples LSD como: la enfermedad de Pompe (PD), enfermedad de Fabry (FD), mucopolisacaridosis tipo I (MPS-I), enfermedad de Gaucher (GD), enfermedad de Krabbe (KD) y enfermedad de Niemann Pick A/B (NPD). Sin embargo, dicho registro aún no cuenta con datos publicados a la fecha de realización de este estudio (13).

Planteamiento del problema

Actualmente se reportan incidencias bajas tanto de manera grupal como individual de las LSD, sin embargo, estudios recientes en programas piloto de tamizaje neonatal en diferentes países han demostrado incidencias diferentes a las reportadas inicialmente (3,9,18,43,44).

Lo anterior tiene repercusiones en la calidad de vida de los pacientes ya que el diagnóstico oportuno en pacientes con LSD permite iniciar un tratamiento temprano lo cual se asocia a la reversión de algunos de los síntomas (3,39). Y es por esto que al

sistema de Salud le concierne conocer sobre la incidencia y características de las LSD de su población.

Objetivos General y Específicos de la Investigación

Objetivo General

Estimar la incidencia de seis LSD (FD, GD, KD, MPS-I, NPD y PD) en una población de RN mexicanos mediante un programa nacional de TMNA.

Objetivos Específicos:

Describir las variantes genéticas más frecuentes de seis LSD en una población de RN mexicanos de un programa nacional de TMNA.

Establecer la correlación entre la actividad enzimática y las variantes patogénicas de seis LSD en una población de RN mexicanos de un programa nacional de TMNA.

Hipótesis

Debido a que es un estudio de carácter epidemiológico, observacional y descriptivo, no es requerido postular hipótesis para la obtención de resultados.

Justificación

En la literatura se reporta que las LSD son un grupo de enfermedades raras cuya incidencia a nivel internacional es variable y que a nivel nacional no existen datos epidemiológicos oficiales (3,4,18). Lo anterior se debe a que existen diferencias entre los programas de tamizaje neonatal a nivel internacional (4,12), mientras que en México las LSD aún no se tamizan de manera rutinaria pese a la normatividad vigente (5,42). En la última década numerosas publicaciones a nivel internacional hacen notar que los programas piloto de TMNA han demostrado una incidencia diferente de LSD a la establecida (12,43,44).

A la fecha de realización de este estudio solo se ha encontrado un reporte sobre la incidencia de LSD por TMNA en una población de RN en México (18).

Basados en una revisión profunda de la literatura del estado del arte, se constata que existe un área de oportunidad para el tamizaje de LSD mediante el TMNA con el fin de brindar un diagnóstico oportuno para mejorar la calidad de vida de los pacientes afectados. Por ello, la importancia de conocer la incidencia y correlación molecular dentro de nuestra población con el fin de tener una base epidemiológica sólida.

El uso de base de datos, en este caso del programa nacional de TMNA de Genomi-k, permitirá estudiar este aspecto ya que ésta contiene reportes de los resultados de las pruebas de papel de filtro y los resultados de pruebas confirmatorias realizadas. Con esto se podrá proporcionar una estimación de la incidencia actual de LSD en México, así como establecer la correlación entre la actividad enzimática y el genotipo en los pacientes detectados; lo que permitirá fortalecer la relevancia del diagnóstico y abordaje temprano de este grupo de enfermedades.

Alcance del estudio

Con este estudio se podrá estimar un aproximado de la incidencia de las seis LSD mencionadas y podrá establecer las características moleculares que se presentan en una población de RN mexicanos, ya que este es el único estudio de su tipo en la región.

Limitaciones del estudio

La población estudiada no representa estadísticamente a la población nacional (i.e. muestra no probabilística).

CAPÍTULO 2- MARCO TEÓRICO

El lisosoma es un organelo citoplasmático que contiene hidrolasas, las cuales se encargan de la degradación de macromoléculas extracelulares. Las LSD son un grupo de más de 50 diferentes EIM, generados por alteraciones en los procesos de degradación intralisosomal, que de manera individual son raras, pero con una incidencia grupal de 1 en 7,000 a 9,000 RN a nivel mundial (1). La mayoría de las LSD tienen un patrón de herencia autosómica recesiva a excepción de las que son ligadas a X, como lo son la FD (1,9).

De manera general, las LSD son causadas por mutaciones en los genes que codifican a los participantes de la unidad lisosomal, como lo son las hidrolasas, resultando cada una de las LSD de la deficiencia específica de una enzima lo cual genera una acumulación intralisosomal de sustratos no funcionales que causan la disfunción de múltiples tejidos (10,39).

Sin embargo, se ha reportado una gran incidencia de casos de pseudodeficiencia, en el cual los individuos permanecen clínicamente sanos a pesar de tener una actividad enzimática deficiente, lo cual se asocia a ciertos alelos; mientras que otros son portadores heterocigotos de alelos de diferente significado clínico (45).

Las LSD se pueden clasificar dependiendo de la macromolécula no degradada, que para el caso de este estudio se divide en tres principales categorías: Carbohidratos (Pompe), Glucolípidos (Mucopolisacaridosis tipo I), y Esfingolípidos (Fabry, Gaucher, Krabbe y Niemann-Pick A/B) (39).

Los pacientes afectados no suelen tener manifestaciones al nacimiento debido a que éstas se van acentuando conforme las moléculas se acumulan en el lisosoma generando un daño celular. El cuadro clínico general de las LSD se caracteriza por una asociación de manifestaciones que pueden afectar todos los sistemas, con un predominio por los tejidos neurológico, óseo, muscular y visceral. Pudiendo manifestarse en cualquier momento de la vida ya que depende de la actividad enzimática residual (9,10,39,43,46).

Es por esto que el diagnóstico temprano cobra relevancia, ya que iniciar de manera oportuna el tratamiento modifica el curso de la enfermedad antes de que se produzcan secuelas irreversibles (3,44).

El diagnóstico de las LSD se realiza mediante la medición de la actividad enzimática por medio de la espectrometría de masas en tándem (MS/MS) y posteriormente mediante el análisis molecular por secuenciación de próxima generación (NGS) (11,46).

La actividad enzimática, es decir la cantidad de sustrato transformado por una enzima en un tiempo determinado, se puede valorar en diferentes muestras como lo son: la actividad leucocitaria en suero (WBC) y las muestras de sangre en papel filtro (DBS) entre otras; principalmente mediante dos metodologías: la fluorometría y la espectrometría de masas en tándem (MS/MS) (4,17,49).

Se reporta en la literatura que los resultados obtenidos por DBS y WBC así como otras muestras, tienen una concordancia de resultados para las LSD del 100% para FD, GD, y NP así como un 88-100% para MPS-I y PD (50,51).

La fluorometría mide la actividad enzimática mediante la cuantificación de la fluorescencia emitida por la degradación de un sustrato sintético de 4-metilumbeliferil por una enzima lisosomal específica, liberando 4-metilumbeliferona fluorescente donde dicha fluorescencia es directamente proporcional a la actividad enzimática (4,46).

La espectrometría de masas en tándem (MS/MS) mide la actividad enzimática al cuantificar los sustratos degradados, que han sido ionizadas, con base a su relación masa/carga en una muestra (46,48).

El análisis molecular por NGS es una secuenciación de ADN para identificar las mutaciones genéticas mediante plataformas que realizan secuenciaciones de millones de copias de ADN de manera paralela (46,47).

Actualmente algunos EIM, entre ellos algunas LSD, están incluidos en los programas de tamizaje neonatal, utilizando las metodologías mencionadas previamente (46).

A nivel internacional existen diferencias entre las enfermedades que se encuentran incluidas de manera oficial dentro de los programas de tamizaje neonatal. Por ejemplo, en EE.UU se cuenta con legislación a nivel nacional para el TMNA dentro del “*Recommended Uniform Screening Panel Core Conditions*” que incluye múltiples errores innatos del metabolismo, pero únicamente se encuentran la PD y MPS-I como parte de las LSD. Sin embargo, también existen recomendaciones a nivel estatal en dicho país las cuales incluyen, dependiendo de la región, la enfermedad de FD, GD y NP. A su vez en países europeos, como el Reino Unido se decidió no

incluir la MPS1 como parte de su TMNA y en el resto de los países de la Unión Europea aún se encuentran en estudio la decisión de incluir las LSD en sus programas de tamizaje. Mientras que en América Latina algunos países como Chile, Costa Rica, Cuba y Uruguay cuentan con programas de tamizaje establecidos, otros como México, Argentina y Brasil tienen programas en desarrollo, y por otro lado países como El Salvador, Honduras y Haití no cuentan con programas (4,12,41).

Sin embargo, en las últimas décadas se han realizado estudios piloto de tamizaje neonatal que han reportado una incidencia diferente a la establecida previamente, lo anterior se muestra en la tabla 1.

Tabla 1. Incidencias de LSD en diferentes estudios.

LSD	Incidencia Global establecida (9,14,15,16,17,20,21,35)	Incidencia Global 1999-2012 (3,43)	Incidencia Global 2006-2016(18)	Incidencia Arabia Saudita 1983-2016(43)	Incidencia República Checa 1975-2008 (44)	Incidencia México 2012-2016 (18)
Fabry	2.5 en 100,000 RN vivos	0.2-0.8 en 100,000 RN vivos	0-32 en 100,000 RN vivos	1.4 en 100,000 RN vivos	0.5 en 100,000 RN vivos	24.9 en 100,000 RN vivos
Gaucher	2.5en100,000 RN vivos.	0.2-1.7 en 100,000 RN vivos	0-29 en 100,000 RN vivos	0.4 en 100,000 RN vivos	1.13 en 100,000 RN vivos	0 en 100,000 RN vivos
Krabbe	1en 100,000 RN vivos	0-0.13 en 100,000 RN vivos	4.5-9.9 en 100,000 RN vivos	0 en 100,000 RN vivos	0.4 en 100,000 RN vivos	0 en 100,000 RN vivos
Mucopolisacaridosis tipo I	1en 100,000 RN vivos	0.2-1.19 en 100,000 RN vivos	0-11.4 en 100,000 RN vivos	3.3 en 100,000 RN vivos	0.72 en 100,000 RN vivos	9.9 en 100,000 RN vivos
Niemann Pick A y B	1en100,000 RN vivos	0.2-0.6 en 100,000 RN vivos	0-13.9 en 100,000 RN vivos	3.3 en 100,000 RN vivos	0.3 en 100,000 RN vivos	9.9 en 100,000 RN vivos
Pompe	2.5en100,000 RN vivos.	0.1-2.6 en 100,00 RN vivos	0-84 en 100,000 RN vivos	-	-	54.9 en 100,000 RN vivos

De manera general el tratamiento de las LSD se basa en la terapia de reemplazo enzimática mediante enzimas humanas recombinantes y el trasplante de médula ósea (1,19).

La enfermedad de Fabry, es una LSD ligada al cromosoma X, que presenta una incidencia de 1 en 40,000 a 117,000 RN a nivel internacional, causada por la deficiencia de alfa-galactosidasa ácida (GLA), la cual es codificada en el cromosoma Xq22.1 por el gen *GLA* para el cual existen más de 750 mutaciones (27,52).

En México solo existen tres estudios que reportan hallazgos moleculares en población mexicana, se describe que las mutaciones encontradas en dicha población son: P40S, IVS4+, G328V, R36H, R404del, p.L243F, p.A156V, c.728G>C, c.260delA, c.870G>A, C.179C>7, c.1088G>Ay c.260delA, las cuales se reportaban previamente a nivel internacional y la última fue una mutación nueva encontrada en mexicanos (27,53,54).

La deficiencia de GLA genera acumulación de glucoesfingolípidos neutros, principalmente globotriasilceramídico y galactosilceramídico en múltiples tejidos. Y se ha reportado que la gran mayoría tiene una actividad enzimática muy disminuida entre el 1-2% de lo normal, además que una actividad enzimática residual de 5-10% previene una acumulación clínicamente significativa (15,27,52).

Esta patología puede manifestarse desde la infancia y las mujeres pueden llegar a presentar sintomatología incluso al ser heterocigotas. El cuadro clásico se manifiesta por presentación de crisis de dolor en la infancia y la progresión clínica se caracteriza por afectación cardíaca, renal, o cerebrovascular por hipoperfusión generada por fibrosis del endotelio vascular (15,27,43).

La base del tratamiento para FD actualmente es la terapia de remplazo enzimático con GLA humana recombinante y el manejo sintomático de las afecciones multisistémicas (53).

La enfermedad de Gaucher es una LSD autosómica recesiva, que presenta una incidencia internacional reportada de 1 en 40,000 a 60,000 RN, causada por la deficiencia enzimática de Beta-glucosidasa ácida (GBA), la cual es codificada en el cromosoma 1q21 por el gen *GBA*, del cual existen más de 300 mutaciones (16,33,34).

La deficiencia de GBA causa la acumulación de glucocerebrósido y glucosilceramidas intralisosomal principalmente en tejido hepático, esplénico, óseo y medula ósea (16,32,58).

En México se han reportado las siguientes mutaciones: c.579delC, c.1226A> (también conocida como N370S) (57,58,59), mientras que a nivel internacional se reportan que los alelos N370S y L444P (c.1448T>C) son los más frecuentes y asociados al tipo I de la enfermedad. Además, se reporta que los individuos afectados tienen una actividad enzimática del 0 al 15% de su actividad normal (33,58,59,60).

Existen tres subtipos de esta enfermedad: el tipo I (no neuropática) y los tipos II y III (neuropáticos); De manera general presentan citopenia, hepatoesplenomegalia y crisis de dolor óseo, sin embargo, el tipo I representa el 95% de los casos y se caracteriza por un inicio en la infancia caracterizado por no tener involucreo del sistema nervioso central, pero con afección visceral y hematológica predominante (33,34).

El tratamiento de la GD actualmente se basa en la terapia de reemplazo enzimático con enzimas recombinantes la cual ha demostrado mejorar la calidad de vida de los pacientes. Además, existe la terapia de reducción de sustrato (32,33,34).

La enfermedad de Krabbe es una LSD autosómica recesiva, que presenta una incidencia internacional de 1 en 100,000 RN, causada por la deficiencia de galactocerebrosidasa (GALC), la cual es codificada por el gen *GALC* en el cromosoma 14q.31, del cual existen más de 75 mutaciones (35,36,37)

La deficiencia de GALC resulta en la acumulación de mielina y galactosilceramidas en macrófagos ubicados en vasos sanguíneos de la materia blanca (35,37).

En México no se han reportado estudios que hablen de mutaciones en la población mexicana hasta el momento (18,61); sin embargo, se reportan las mutaciones c.502T/del, c1538C>T y c.1652A>C en pacientes de ascendencia Europea (62).

Esta enfermedad tiene dos presentaciones: la de inicio temprano y la tardía. La primera de ellas se presenta en los primeros meses y tiene un carácter más rápido y progresivo que la de inicio tardío; siendo que ambas se caracterizan por: irritabilidad, espasmos, fiebre, ceguera o sordera (36,37).

La base del tratamiento de KD es el trasplante temprano hematopoyético alógeno de células madre, además de la terapia de reemplazo enzimático con enzima recombinante (35,36,37,62).

La enfermedad de Pompe es una LSD autosómica recesiva, con una incidencia de 1 en 40,000 RN a nivel internacional, causada por la deficiencia de alfa-glucosidasa ácida (GAA). La GAA es codificada por el gen *GAA* en el cromosoma 17q25.2-25.3 y se han descrito más de 500 mutaciones de las cuales cerca del 75% se consideran patogénicas (14,21,63)

En México no existe una incidencia establecida, aunque hay literatura que la reporta como similar a la incidencia general de 1 en 40,000 (25,26). Así mismo, en México solo existen tres estudios que reportan hallazgos moleculares en población mexicana, se describe que las mutaciones encontradas son: c.126G>A/c.2065G>A, c.-32-13T>G, C.1220A>G, C.1375G>A, y c.1987delC, (27,56,57), mientras que a nivel internacional se reporta c.-32-13T>G como la mutación más común a nivel internacional (14) y se reporta una mutación asociada a pseudodeficiencia c.(126A;2065A) el cual fue observado en un reporte en población mexicana con 10 casos (18,63).

La deficiencia de GAA ocasiona una acumulación lisosomal de glucógeno que afecta principalmente al tejido músculo esquelético y cardíaco, lo que resulta en diferentes fenotipos clínicos (14,18,25). El tipo de presentación se ha correlacionado con el porcentaje de actividad enzimática residual siendo para la clásica menor al 1% y para la tardía hasta el 30% (14,25).

La edad media de presentación de la variante clásica es a los dos meses de edad manifestándose como: falla de medro, hipotonía y cardiopatía. Mientras que las presentaciones tardías en edad infantil o adolescencia se caracterizan por disfunción músculo-esquelética que condiciona a problemas respiratorios (25,63).

La base del tratamiento es la terapia de reemplazo enzimático con GAA recombinante humana, la cual debe iniciarse lo más temprano posible para prevenir secuelas y mejorar la calidad de vida del paciente (14,21,25).

La mucopolisacaridosis tipo I (MPS-I) es una LSD autosómica recesivo, que presenta una incidencia de 1 en 100,000 RN, que es causada por la deficiencia de la alfa-Liduronidasa (IDUA) la cual es codificada por el cromosoma 4p16.3 por el gen *IDUA* para el cual existen más de 224 variantes patogénicas (29,31).

La deficiencia de IDUA disminuye la degradación del heparán y dermatán sulfato, los cuales son glucosaminoglucanos y por lo tanto causa su almacenamiento intralisosomal (30). Se ha descrito que los pacientes de MPS-I tienen una actividad enzimática indetectable por lo que la actividad enzimática residual no se ha utilizado para predecir un fenotipo clínico (31).

Esta enfermedad se manifiesta como un espectro con diferentes grados de severidad caracterizados por afectación multisistémica, dismorfismos y deterioro neurológico (28,30,31)

En México no se encuentra descrito el aspecto molecular sin embargo se reportó en un estudio el hallazgo de dos casos heterocigotos para la mutación c.965T>A asociada a mutaciones previamente reportadas en otras poblaciones: c.1861C>T y c.701G>C (18); Por otro lado, las mutaciones más comunes reportadas a nivel internacional son: p.W402X y p.Q70X en la población caucásica (29).

El tratamiento actual de MPS-I tiene dos pilares: el trasplante de células madre hematopoyéticas y la terapia de reemplazo enzimática con Laronidasa dependiendo de la edad del paciente (28,31).

La enfermedad de Niemann-Pick A y B (NP) es una LSD autosómica recesiva, con una incidencia internacional de 1 en 100,000 RN, causada por la deficiencia de la esfingomielinasa ácida (ASM) lo que causa el acumulo de esfingomielina. La ASM es codificada por el cromosoma 11p15.4 por el gen *SMPDI* y del cual se han reportado más de 120 mutaciones (38,40,64).

El tipo A se caracteriza por comenzar en la etapa neonatal con neurodegeneración temprana, hipotonía y hepatoesplenomegalia que condiciona a falla hepática o pulmonar, mientras que la tipo B se presenta en la infancia o adultez con manifestaciones similares sin embargo con una menor afección neuronal (38,64).

En México se describieron cinco mutaciones en un estudio de cuatro pacientes con NP reportando: c.1263+8C>T, c.1547A>G, c.1343A>G, c.1829.1831delGCC y c.1805G>A (64), sin embargo, en un programa de TMNA no se encontraron casos positivos (18).

El tratamiento actual de NP se basa en el trasplante de células hematopoyéticas y la terapia de reemplazo enzimático mediante enzimas recombinantes (38).

A continuación, se presentan los datos descritos previamente de manera general en la Tabla 2.

Tabla 2. Características de diferentes LSD

LSD	Herencia	Gen afectado	Mutaciones en población mexicana	Enzima afectada	Metabolito acumulado	Periodo de manifestaciones	Hallazgos característicos
Enfermedad por depósito de glucógeno tipo II (Enfermedad de Pompe) (1,3,9,10,14,21,27,56,57)	Autosómica Recesiva	<i>GAA</i> (17.125.2-q25.3)	c.1726G>A/c.2065G>A, c.-32-13T>G, C.1220A>G, C.1375G>A, y c.1987delC	Alfa-Glucosidasa ácida.	Glucógeno lisosomal	1-2 meses de vida. Hay presentaciones tardías.	Falla de medro, Hipotonía, Cardiopatía hipertrófica
Deficiencia de alfa-galactosidasa A (Enfermedad de Fabry) (1,3,9,10,15,27,53,54)	Recesiva Ligada a X	<i>GLA</i> (Xq22.1)	P40S, IVS4+, G328V, R36H, R404del, p.L243F, p.A156V, c.728G>C, c.260delA, c.870G>A, C.179C>T, c.1088G>Ay c.260delA	Alfa-Galactosidasa A	Glucosfingolípidos neutros (globotriasilceramídico y galactosilceramídico)	Infancia	Crisis de dolor 6 años, Hipoperfusión de tejidos secundario a fibrosis.
Mucopolisacaridosis tipo I (Enfermedad de Hurler) (1,3,9,10,17)	Autosómica Recesiva	<i>IDUA</i> (4p16.3)	-	Alfa-L-iduronidasa	Glucosaminoglucanos (Heparán y Dermatan Sulfato)	Cualquier edad	Dismorfismos, Organomegalia, opacidad corneal.
Enfermedad de Gaucher (1,3,9,10,16,57,58,59)	Autosómica Recesiva	<i>GBA</i> (1q22)	c.579delC, c.1226A>(N370S)	B-Glucosidasa ácida	Glucosilceramidas	Infancia: 95% tipo 1 (no neuropática)	Organomegalia, Osteopatías y Citopenias
Leucodistrofia de células (Enfermedad de Krabbe) (1,3,9,10,20)	Autosómica Recesiva	<i>GALC</i> (14q31)	-	Galactocerebrosidasa	Galactocerebrósido y Galactosilesfingosina	Infantil (2-6 meses) y Tardía (1-8 años)	Acumulación de metabolitos en vasos sanguíneos de materia blanca: Irritabilidad, Espasmos, ceguera o sordera
Niemann Pick A y B (1,3,9,10,64)	Autosómica Recesiva	<i>SMPD1</i> (11p15.4)	c.1263+8C>T, c.1547A>G, c.1343A>G, c.1829.1831delGCC y c.1805G>A	Esfingomielinasa	Esfingomielinina	Infantil	A: deterioro neurológico y hepatoesplenomegalia. B: Hepatoesplenomegalia y compromiso pulmonar.

CAPÍTULO 3 -METODOLOGÍA

Diseño del estudio:

- Clasificación del estudio: Retrospectivo.
- Tipo de Investigación: Observacional.
- Características del Estudio: Transversal.
- Tipo de Análisis: Descriptivo.
- En Relación al Tiempo: Retrospectivo.

Se realizó un estudio retrospectivo, sin intervención, de la base de datos disociados recopilados de un programa mexicano de TMNA de Genomi-k, con 70,403 reportes llevados a cabo entre el 1 de Julio de 2012 y 1 de Julio de 2019 para estimar la incidencia de seis LSD.

Materiales y Métodos

Población:

70,403 reportes de RN de la República Mexicana tamizados por Genomi-k S.A. de C.V.

Universo y tamaño de la muestra.

Universo:

Base de datos de reportes de 70,403 RN del programa nacional de TMNA de Genomi-k en el período transcurrido del 1 de Julio de 2012 y 1 de Julio de 2019.

Muestra:

La totalidad de los casos en la base de datos que incluyó a todos los RN tamizados para LSD entre el 1 de Julio de 2012 y 1 de Julio de 2019 por Genomi-k.

Tamaño de la muestra:

Posterior a la aplicación de criterios de inclusión y exclusión se obtuvieron un total de 70,403 reportes.

Criterios de inclusión.

- Reportes de TMNA realizados para seis LSD a RN mexicanos.
- Reportes realizados del 1 de Julio de 2012 al 1 de Julio del 2019.
- Reportes de primer TMNA realizados a RN menores de 28 días de vida extrauterina.

Criterios de exclusión

- Reportes de TMNA o pruebas confirmatorias (enzimática o molecular) sin hallazgos debido a artefactos.

Obtención de reportes:

Genomi-k proporcionó una base de datos disociados de los resultados de su programa nacional de TMNA, con reportes de 70,403 RN realizado en el período transcurrido entre el 1 de Julio de 2012 y 1 de Julio de 2019.

Esta base de datos disociados incluye: número de caso, resultados de TMNA, resultados de pruebas enzimáticas adicionales, resultados de estudios moleculares y diagnóstico final. Al tratarse de una base de datos sometidos al proceso de disociación no se requirió de consentimiento informado para su uso como se establece en la legislación nacional (22,23,24).

Dicha base de base de datos disociados se obtuvo a su vez del programa de TMNA el cual consistió de la siguiente metodología:

A los RN menores de 28 días pertenecientes al programa de TMNA se les tomó una muestra para tamizar LSD. Dicha muestra fue colocada en papel filtro y

posteriormente se analizó la actividad enzimática mediante MS/MS, en caso de reportarse actividad enzimática disminuida se realizó una segunda muestra de DBS o WBC analizada mediante MS/MS o fluorometría. En caso de presentar actividad enzimática deficiente se realizó una tercera muestra para realizar una secuenciación de nueva generación del gen asociado a la sospecha patológica en el TMNA.

Variables:

A continuación, se presentan las variables que se incorporaron a la base de datos de la investigación realizada. Las variables fueron obtenidas de la base de datos disociada proporcionada por Genomi-k. A partir de esos datos, se analizaron seis variables para el presente estudio: tipo de LSD, resultado de prueba confirmatoria, nivel de actividad enzimática, variante patogénica de LSD. El tipo de variable, su escala de medición y valor son reportados en la Tabla 3.

Tabla 3. Variables del estudio.

VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	TIPO DE VARIABLE	VALOR DE VARIABLE	ESCALA DE MEDICIÓN
LSD	Deficiencia enzimática lisosomal	Enfermedad tamizada con hallazgos anormales que se interprete como LSD.	Independiente	1. Pompe 2. Fabry 3. MPS-I 4. Gaucher 5. Krabbe 6. Nieman-Pick	Nominal
Resultado de TMNA	Hallazgos de las técnicas de laboratorio cuantitativos aplicadas a una muestra de RN en busca de errores congénitos del metabolismo	El resultado obtenido dentro del programa de tamizaje de Genomi-k	Dependiente	1. Dentro de los límites normales. 2. Fuera de los límites normales.	Nominal
Nivel de actividad enzimática	Cantidad de la enzima que transforma 1mol de sustrato por segundo.	Resultado que se obtenga del análisis del suero del RN.	Dependiente	0 a > 0	Numérica
Variante patogénica asociada a	Variante génica que causa pérdida	Variante de una secuencia de referencia.	Dependiente	Cambios en gen específico.	Nominal

una LSD	de la codificación de proteínas y/o función enzimática				
Estatus de LSD	Clasificación de acuerdo al resultado obtenido.	Clasificación del paciente con respecto al resultado	Dependiente	1. Positivos 2. Heterocigotos 3. Pseudodeficiente	Nominal

Análisis estadístico de los datos

Para la estimación de la incidencia de LSD detectado por TMNA, se llevó a cabo un análisis de estadística descriptiva de las variables: LSD, resultado TMNA, variante patogénica y Estatus de LSD.

Se reporta la incidencia de cada una de las seis LSD objetivo de este estudio, así como se describen los hallazgos moleculares asociados a ellas, además se estableció el valor predictivo positivo para las LSD de manera general.

Para evaluar la correlación entre la actividad enzimática y el hallazgo molecular, se tomó en cuenta únicamente los casos de Pompe positivos (n=6) y falsos positivos (n=21) debido al tamaño de la muestra.

Debido a que la actividad enzimática en los casos de PD se evaluó por diferentes tecnologías (i.e. DBS y WBC), se obtuvieron diferentes valores de actividad enzimática y actividad específica, para este estudio se propuso establecer el “valor relativo entre la actividad enzimática/ específica y límite inferior del rango normal”, esto significa que la línea de corte se considera como el 100% y se estableció la actividad enzimática/específica de la muestra analizada como un porcentaje relativo a la línea de corte, de esta manera se estandariza los distintos valores.

Tras lograr estandarizar los valores de actividad enzimática/específica se clasificó en dos grupos independientes a los casos de PD positivos y los falsos positivos.

En el grupo 1 se encuentran los reportes de RN positivos para PD (n=6), mientras que el grupo 2 se conforma por los reportes de RN falsos positivos para PD (n=21).

La variable dependiente es el valor relativo de actividad enzimática/específica y límite inferior del rango normal, mientras que la variable independiente es el resultado (positivo vs falso positivo).

Debido al tamaño muestral y a la independencia entre grupos, se aplicó la prueba no paramétrica de U de Mann-Whitney. Para esta prueba estadística se comparan las medianas, se utilizan rangos de orden y, en general, es una prueba menos potente que las pruebas paramétricas.

Se establecieron las siguientes hipótesis:

H_0 = La actividad enzimática entre los dos grupos establecidos es la misma.

H_a = La actividad enzimática entre los dos grupos establecidos es diferente.

Se estableció un nivel de confianza de 95%, sin embargo, al ser un grupo muestral pequeño se calculó también la r de Rosenthal para establecer la magnitud del efecto.

Tabla 6. Resumen de actividad enzimática/específica y genotipo de 24 casos confirmados para LSD

LSD	Identificador	Actividad Enzimática /Específica	Unidades	Valor Relativo entre actividad enzimática/específica y Límite inferior del Rango Normal	Gen	Hallazgo Molecular	Cigosidad	Cambio Proteico	Interpretación de variante
Niemann-Pick Total = 1	1	0.78	µmol/L/h	31%	<i>SPMD1</i>	c.677C>G	Homo	p.Pro226Arg	VUS
Pompe Total = 6	2	<0.1	pmol/hr/punch	2%	-	-	-	-	-
	3	<0.1	pmol/hr/punch	2%	<i>GAA</i>	c.1726G>A c.2065G>A	Homo Homo	p.Gly576Ser p.Glu689Lys	Haplotipo de pseudodeficiencia
	4	0.1	pmol/hr/punch	2%	<i>GAA</i>	c.-32-13T>G c.1726G>A c.2065G>A	Hetero Hetero Hetero	(Intronic) p.Gly576Ser p.Glu689Lys	Variante patogénica Haplotipo de pseudodeficiencia
	5	3.9	nmol/mg protein/h	19%	-	-	-	-	-
	6	2.7	nmol/mg protein/h	13%	-	-	-	-	-
	7	4.9	nmol/mg protein/h	23%	<i>GAA</i>	c.1220A>G c.1375G>A	Hetero Hetero	p.Tyr407Cys p.Asp459Asn	VUS VUS
Krabbe Total = 1	8	0.51	µmol/L/h	93%	-	-	-	-	-

Fabry Total = 13	9	0.88	μmol/L/h	80%	<i>GLA</i>	c.569C>T	Hemi	p.Ala190Val	VUS
	10	0.95	μmol/L/h	86%	<i>GLA</i>	c.1088G>A	Hemi	p.Arg363His	Variante patogénica
	11	0.26	μmol/L/h	24%	<i>GLA</i>	c.1088G>A	Hemi	p.Arg363His	Variante patogénica
	12	0.65	μmol/L/h	59%	<i>GLA</i>	c.179C>T	Hemi	p.Pro60Leu	VUS
	13	0.63	μmol/L/h	57%	<i>GLA</i>	c.179C>T	Hemi	p.Pro60Leu	VUS
	14	0.46	μmol/L/h	42%	<i>GLA</i>	c.1088G>A	Hemi	p.Arg363His	Variante patogénica
	15	0.7	μmol/L/h	64%	<i>GLA</i>	c.179C>T	Hemi	p.Pro60Leu	VUS
	16	0.58	μmol/L/h	53%	<i>GLA</i>	c.1072_1074delGAG	Hemi	p.Glu358del	Variante patogénica
	17	0.71	μmol/L/h	65%	<i>GLA</i>	c.870G>A	Hemi	p.Met290Ile	Variante patogénica
	18	0.28	μmol/L/h	25%	<i>GLA</i>	c.658C>T	Hemi	p.Arg220Ter	Variante patogénica
	19	0.7	nmol/mg proteína/hr	3%	<i>GLA</i>	c.1088G>A	Hemi	p.Arg363His	Variante patogénica
	20	1.2	nmol/mg proteína/hr	6%	<i>GLA</i>	c.547G>T	Hemi	p.Gly183Cys	variante probablemente patogénica
21	3.9	nmol/mg proteína/hr	19%	-	-	-	-	-	
Mucopolisacaridosis tipo I Total = 3	22	0.62	μmol/L/h	34%	<i>IDUA</i>	c.1112T>A c.1651G>C	Hetero Hetero	p.Val371Asp p.Val551Leu	variante probablemente patogénica variante probablemente

	22	0.62	μmol/L/h	34%	<i>IDUA</i>	c.1112T>A c.1651G>C	Hetero Hetero	p.Val371As p p.Val551Leu	patogénica
	23	0.72	μmol/L/h	40%	<i>IDUA</i>	c.1861C>T / c.99T>G c.965T>A c.1081G>A c.1360G>A	Hetero / Hetero Hetero Hetero Hetero	p.Arg621Ter / p.His33Gln p.Val322Glu p.Ala361Thr p.Val454Ile	VUS / Benigno Posiblemente benigno Benigno Benigno
	24	0.06	μmol/L/h	3%	<i>IDUA</i>	c.1598C>G	Homo	p.Pro533Arg	Variante patogénica

Abreviaciones: LSD: enfermedad por depósito lisosomal; VUS Variable de significado incierto.

Tabla 7. Resumen de actividad enzimática/específica y genotipo de falsos positivos para LSD

LSD	Identificador	Actividad Enzimática /Específica	Unidades	Valor Relativo entre actividad enzimática/específica y Límite inferior del Rango Normal	Gen	Hallazgo Molecular	Cigosidad	Cambio Proteico	Interpretación de variante	Conclusión
Niemann Pick Total = 4	25	1.18	μmol/L/h	47%	<i>SPMDI</i>	c.1327C>T c.1763C>T	Hetero Hetero	p.Arg443Ter p.Thr588Met	Patogénica Posiblemente benigna	Pseudodeficiencia
	26	2.03	μmol/L/h	81%	<i>SPMDI</i>	c.1327C>T	Hetero	p.Arg443Ter	Patogénica	Heterocigoto
	27	2.27	μmol/L/h	91%	<i>SPMDI</i>	c.1463C>T	Hetero	p.Thr488Ile	VUS	Heterocigoto
	28	6	pmol/min/mg proteína	20%	<i>SPMDI</i>	c.1166G>A	Hetero	p.Arg389His	VUS	Heterocigoto
Pompe Total = 21	29	1.37	μmol/L/h	65%	<i>GAA</i>	c.1726G>A c.2065G>A	Homo Homo	p.Gly576Ser p.Glu689Lys	Haplotipo de pseudodeficiencia	Pseudodeficiencia
	30	1.39	μmol/L/h	66%	<i>GAA</i>	c.1375G>A c.1726G>A c.2065G>A	Hetero Hetero Hetero	p.Asp459Asn p.Gly576Ser p.Glu689Lys	Posiblemente patogénica Haplotipo de pseudodeficiencia	Pseudodeficiencia
	31	1.38	μmol/L/h	66%	<i>GAA</i>	c.1981T>C c.1726G>A c.2065G>A	Hetero Hetero Hetero	p.Trp661Arg p.Gly576Ser p.Glu689Lys	VUS Haplotipo de pseudodeficiencia	Pseudodeficiencia
	32	1.17	μmol/L/h	56%	<i>GAA</i>	c.-32-13T>G c.1726G>A c.2065G>A	Hetero Hetero Hetero	(Intronic) p.Gly576Ser p.Glu689Lys	Patogénica Haplotipo de pseudodeficiencia	Pseudodeficiencia

	33	2.05	μmol/L/h	98%	<i>GAA</i>	c.2238G c.2065G>A	Hetero Hetero	p.Trp746Cys p.Glu689Lys	Patogénica Haplotipo de pseudodeficiencia	Pseudodeficiencia
	34	1.4	μmol/L/h	67%	<i>GAA</i>	c.1726G>A c.2065G>A	Homo Homo	p.Gly576Ser p.Glu689Lys	Haplotipo de pseudodeficiencia	Pseudodeficiencia
	35	1.9	μmol/L/h	90%	<i>GAA</i>	c.2237G>C c.1726G>A c.2065G>A	Hetero Hetero Hetero	p.Trp746Ser p.Gly576Ser p.Glu689Lys	Patogénica Haplotipo de pseudodeficiencia	Pseudodeficiencia
	36	1.95	pmol/hr/punc h	39%	<i>GAA</i>	c.1726G>A c.2065G>A	Homo Homo	p.Gly576Ser p.Glu689Lys	Haplotipo de pseudodeficiencia	Pseudodeficiencia
	37	1.4	μmol/L/h	67%	<i>GAA</i>	c.1726G>A c.2065G>A	Homo Homo	p.Gly576Ser p.Glu689Lys	Haplotipo de pseudodeficiencia	Pseudodeficiencia
	38	1.12	μmol/L/h	53%	<i>GAA</i>	c.1726G>A c.2065G>A	Homo Homo	p.Gly576Ser p.Glu689Lys	Haplotipo de pseudodeficiencia	Pseudodeficiencia
	39	1.74	μmol/L/h	83%	<i>GAA</i>	c.1726G>A c.2065G>A	Homo Homo	p.Gly576Ser p.Glu689Lys	Haplotipo de pseudodeficiencia	Pseudodeficiencia
	40	1.13	μmol/L/h	54%	<i>GAA</i>	c.1987delC c.1726G>A c.2065G>A	Hetero Hetero Hetero	p.Gln663fs p.Gly576Ser p.Glu689Lys	Patogénica Haplotipo de pseudodeficiencia	Pseudodeficiencia
	41	13.4	nmol/mg proteína/h	64%	<i>GAA</i>	Sospecha de delección c.1726G>A c.2065G>A	Hetero Homo Homo	- p.Gly576Ser p.Glu689Lys	Patogénica Haplotipo de pseudodeficiencia	Pseudodeficiencia

	42	11.5	nmol/mg proteína/h	55%	<i>GAA</i>	c.1726G>A c.2065G>A	Homo Homo	p.Gly576Ser p.Glu689Lys	Haplotipo de pseudodeficiencia	Pseudodeficiencia
	43	1.45	μmol/L/h	69%	<i>GAA</i>	c.573C>A	Hetero	p.Tyr191Ter	Patogénica	Heterocigoto
	44	1.28	μmol/L/h	61%	<i>GAA</i>	c.-32-13T>G	Hetero	(Intronic)	Patogénica	Heterocigoto
	45	2.02	μmol/L/h	96%	<i>GAA</i>	c.2608C>T	Hetero	p.Arg870Ter	Patogénica	Heterocigoto
	46	0.91	μmol/L/h	43%	<i>GAA</i>	c.-32-13T>G	Hetero	(Intronic)	Patogénica	Heterocigoto
	47	1.64	μmol/L/h	78%	<i>GAA</i>	c.2560C>T	Hetero	p.Arg854Ter	Patogénica	Heterocigoto
	48	0.92	μmol/L/h	#REF!	<i>GAA</i>	c.-32-13T>G	Hetero	(Intronic)	Patogénica	Heterocigoto
	49	1.73	μmol/L/h	82%	<i>GAA</i>	c.2560C>T	Hetero	p.Arg854Ter	Patogénica	Heterocigoto
Krabbe	50	0.41	μmol/L/h	75%	<i>GALC</i>	c.908+1G>A	Hetero	Splice region	Patogénica	Heterocigoto
Total = 2	51	0.3	μmol/L/h	55%	<i>GALC</i>	c.1161+6532 _polyA+9kb del (IVS10del30 KB)	Hetero	Intronic	Patogénica	Heterocigoto
Mucopolisacaridosis tipo I	52	1.03	μmol/L/h	57%	<i>IDUA</i>	c.1205G>A c.246C>G	Hetero Hetero	p.Trp402Ter p.His82Gln	Patogénica Posiblemente benigna	Pseudodeficiencia
Total = 1										

CAPÍTULO 4 – RESULTADOS

De los 70,403 reportes de TMNA, 70,329 fueron reportados como TMNA dentro de límites normales y 74 se reportaron como presuntos positivos. A estos 74 casos se les realizó pruebas confirmatorias y se identificaron 24 pacientes con LSD y 47 falsos positivos. A su vez los falsos positivos se dividieron en: 17 reportes con actividad enzimática dentro de límite normal, 18 reportes de pseudodeficiencia y 12 reportes de portadores heterocigotos. Para el presente estudio se obtuvo una sensibilidad de 100%, especificidad de 99.93%, valor predictivo positivo de 32.4%, valor predictivo negativo de 100% y una exactitud del 99.93%.

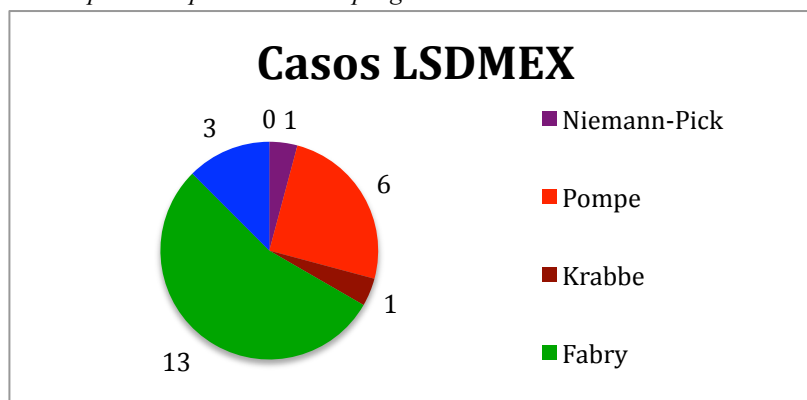
En la tabla 4 se enlista la distribución de casos.

Tabla 4. Número de casos para cada una de las LSD tamizadas.

LSD	Presuntos Positivos (TMNA)	Falsos positivos			Positivos
		Actividad Enzimática DLN	Pseudodeficiencia	Heterocigoto	
Niemann-Pick	7	1	1	3	1
Enfermedad de Pompe	32	1	16	7	6
Enfermedad de Krabbe	17	14	0	2	1
Enfermedad de Fabry	13	0	0	0	13
Mucopolisacaridosis tipo I	5	1	1	0	3
Enfermedad de Gaucher	0	0	0	0	0
TOTAL	74	17	18	12	24

De los casos positivos para LSD se reportan: 13 pacientes con enfermedad de Fabry, 1 paciente con enfermedad de Krabbe, 3 pacientes con MPS-I, 1 paciente con enfermedad de Niemann-Pick y 6 pacientes con enfermedad de Pompe, no se reportaron casos de enfermedad de Gacuher en este estudio. Lo anterior se ilustra en la Figura 1.

Figura 1. Casos positivos por LSD en un programa de tamiz metabólico neonatal ampliado.



Además, se reportaron los casos de pseudodeficiencia con la siguiente distribución: 2 casos de pseudodeficiencia de enfermedad de Krabbe, 3 casos de pseudodeficiencia de enfermedad de Niemann-Pick y 7 casos de pseudodeficiencia de enfermedad de Pompe.

La incidencia general de las seis LSD objetivo de acuerdo con los datos de este estudio se reporta en 34.1 por cada 100,000 RN vivos. A su vez la incidencia de cada una de las seis LSD de este estudio se reporta en la tabla 5.

Tabla 5. Incidencia calculada en un programa de tamiz metabólico neonatal ampliado.

LSD	Incidencia LSDMEX
Enfermedad de Fabry	18.4 en 100,000 RN
Enfermedad de Pompe	8.5 en 100,000 RN
Mucopolisacaridosis tipo I	4.2 en 100,000 RN
Niemann-Pick	1.4 en 100,000 RN
Enfermedad de Krabbe	1.4 en 100,000 RN
Enfermedad de Gaucher	0 en 100,000 RN
TOTAL LSD	34.1 en 100,000 RN
Abreviaciones: LSD: enfermedad por depósito lisosomal	

Los hallazgos moleculares de los casos positivos de las seis LSD se describen en la tabla 6 y los falsos positivos en la tabla 7.

Respecto a la correlación entre la actividad enzimática y el genotipo del RN en los casos de Pompe, se concluye un efecto significativo entre los grupos establecidos (la media de rangos del grupo 1 y 2 son 3.5 y 17 respectivamente; $U = 0$, $Z = -3.64$, $p = 0.00026$, $r = 0.707$). Dicho en otras palabras, la actividad enzimática entre los casos de Enfermedad de Pompe positivos y falsos positivos son diferentes, siendo esta menor en los pacientes positivos para PD que en los falsos positivos.

CAPÍTULO 5 - ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Las LSD son un grupo amplio de enfermedades raras que de manera grupal se describe una incidencia internacional de 1 en 7,000 a 9,000 RN, y que de manera individual la incidencia varía dependiendo la región desde 1 en 100,000 hasta 23 en 100,000 RN (1,3). México aún no cuenta con cifras oficiales, sin embargo, se reporta en un estudio incidencias similares a las reportadas por la literatura internacional (18).

De manera general, las LSD son trastornos progresivos causadas por variantes patogénicas en los genes que codifican las enzimas de la unidad lisosomal generando una deficiencia enzimática (3,4) por lo que se acumulan sustratos intralisosomales que causan daños en múltiples tejidos (1,10). Debido a esto, el diagnóstico oportuno que se realiza mediante TMNA, permite iniciar un tratamiento temprano para mejorar la calidad de vida del paciente (3,39). En la última década diversas publicaciones a nivel internacional hacen notar que los programas piloto de TMNA han demostrado una incidencia diferente de LSD a la establecida (12,43,44).

En el presente estudio se reporta la incidencia de seis LSD: enfermedad de Fabry, enfermedad de Gaucher, enfermedad de Krabbe, enfermedad de Niemann-Pick, Mucopolisacaridosis tipo I y enfermedad de Pompe; en un programa de TMNA en una población de RN mexicanos, así como los hallazgos moleculares; y además se analiza la correlación entre la actividad enzimática y el hallazgo molecular en los casos de Enfermedad de Pompe.

La incidencia internacional de las LSD de manera general es de 10.5 en 100,000 RN(1), mientras que la incidencia en este estudio es mayor reportándose en 34.1 en 100,000 RN. Los resultados de este estudio concuerdan con lo demostrado por

la literatura reciente en que existe una diferencia a la incidencia internacional reportada (3,18,43,44).

En la tabla 8 se presentan los resultados de incidencia por LSD de este estudio comparados con la incidencia internacional.

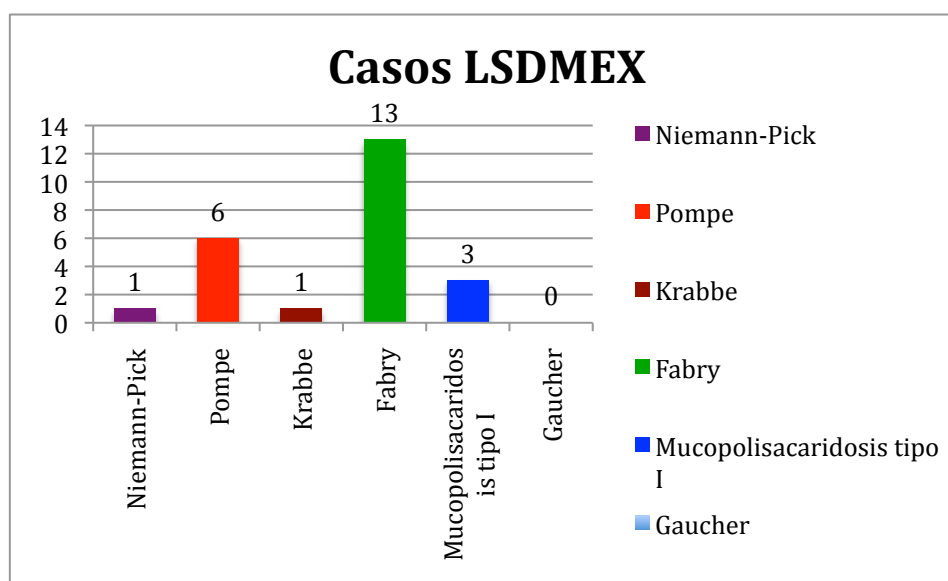
Tabla 8. Incidencias de LSD reportadas a nivel internacional en comparación con la incidencia calculada en un programa de tamiz metabólico neonatal ampliado.

LSD	Incidencia LSDMEX	Incidencia Internacional
Enfermedad de Gaucher	0 en 100,000 RN	2.5 en 100,000 RN (1,34)
Enfermedad de Krabbe	1.4 en 100,000 RN	1 en 100,000 RN (1,35)
Niemann-Pick	1.4 en 100,000 RN	1 en 100,000 RN (1,38)
Mucopolisacaridosis tipo I	4.2 en 100,000RN	1 en 100,000 RN (1,28)
Enfermedad de Pompe	8.5 en 100,000 RN	2.5 en 100,000 RN (1,25)
Enfermedad de Fabry	18.4 en 100,000 RN	2.5 en 100,000 RN (1,27)
TOTAL LSD	34.1 en 100,000 RN	10.5 en 100,000 RN (1,18)

Abreviaciones: LSD: enfermedad por depósito lisosomal.

Los 24 casos positivos reportados en este estudio se distribuyeron de la manera descrita en la figura 2.

Figura 2. Distribución por tipo de LSD de 24 casos positivos



Al realizar el estudio molecular se identificaron las siguientes mutaciones en los casos positivos y falsos positivos, como se muestran en la tabla 9 y 10 respectivamente.

Tabla 9. Hallazgos moleculares de 24 casos confirmados para LSD							
LSD	Identificador	Gen	Hallazgo Molecular	Cigosidad	Cambio Proteico	Interpretación de variante	
Niemann-Pick							
	Total = 1	1	<i>SPMD1</i>	c.677C>G	Homo	p.Pro226Arg	VUS
Pompe							
	Total = 6	2	-	-	-	-	-
		3	<i>GAA</i>	c.1726G>A c.2065G>A	Homo Homo	p.Gly576Ser p.Glu689Lys	Haplotipo de pseudodeficiencia
		4	<i>GAA</i>	c.-32-13T>G c.1726G>A c.2065G>A	Hetero Hetero Hetero	(Intronic) p.Gly576Ser p.Glu689Lys	Variante patogénica Haplotipo de pseudodeficiencia
		5	-	-	-	-	-
		6	-	-	-	-	-
		7	<i>GAA</i>	c.1220A>G c.1375G>A	Hetero Hetero	p.Tyr407Cys p.Asp459Asn	VUS VUS
Krabbe							
	Total = 1	8	-	-	-	-	
Fabry							
	Total = 13	9	<i>GLA</i>	c.569C>T	Hemi	p.Ala190Val	VUS
		10	<i>GLA</i>	c.1088G>A	Hemi	p.Arg363His	Variante patogénica
		11	<i>GLA</i>	c.1088G>A	Hemi	p.Arg363His	Variante patogénica
		12	<i>GLA</i>	c.179C>T	Hemi	p.Pro60Leu	VUS
		13	<i>GLA</i>	c.179C>T	Hemi	p.Pro60Leu	VUS
		14	<i>GLA</i>	c.1088G>A	Hemi	p.Arg363His	Variante patogénica
		15	<i>GLA</i>	c.179C>T	Hemi	p.Pro60Leu	VUS
		16	<i>GLA</i>	c.1072_1074del GAG	Hemi	p.Glu358del	Variante patogénica
		17	<i>GLA</i>	c.870G>A	Hemi	p.Met290Ile	Variante patogénica
		18	<i>GLA</i>	c.658C>T	Hemi	p.Arg220Ter	Variante patogénica
		19	<i>GLA</i>	c.1088G>A	Hemi	p.Arg363His	Variante patogénica

	20	<i>GLA</i>	c.547G>T	Hemi	p.Gly183Cys	variante probablemente patogénica
	21	-	-	-	-	-
Mucopolisac aridosis tipo I Total = 3	22	<i>IDUA</i>	c.1112T>A c.1651G>C	Hetero Hetero	p.Val371Asp p.Val551Leu	variante probablemente patogénica variante probablemente patogénica
	23	<i>IDUA</i>	c.1861C>T / c.99T>G c.965T>A c.1081G>A c.1360G>A	Hetero / Hetero Hetero Hetero Hetero	p.Arg621Ter / p.His33Gln p.Val322Glu p.Ala361Thr p.Val454Ile	VUS / Benigno Posiblemente benigno Benigno Benigno
	24	<i>IDUA</i>	c.1598C>G	Homo	p.Pro533Arg	Variante patogénica
	Abreviaciones: LSD: enfermedad por depósito lisosomal					

Tabla 10. Hallazgos moleculares de 28 falsos positivos para LSD							
LSD	Identificador	Gen	Hallazgo Molecular	Cigosidad	Cambio Proteico	Interpretación de variante	Conclusión
Niemann Pick Total = 4	25	<i>SPMD1</i>	c.1327C>T c.1763C>T	Hetero Hetero	p.Arg443 Ter p.Thr588 Met	Patogénica Posiblemente benigna	Pseudodeficiencia
	26	<i>SPMD1</i>	c.1327C>T	Hetero	p.Arg443 Ter	Patogénica	Heterocigoto
	27	<i>SPMD1</i>	c.1463C>T	Hetero	p.Thr488 Ile	VUS	Heterocigoto
	28	<i>SPMD1</i>	c.1166G>A	Hetero	p.Arg389 His	VUS	Heterocigoto
Pompe Total = 21	29	<i>GAA</i>	c.1726G>A c.2065G>A	Homo Homo	p.Gly576 Ser p.Glu689 Lys	Haplotipo de pseudodeficiencia	Pseudodeficiencia
	30	<i>GAA</i>	c.1375G>A c.1726G>A c.2065G>A	Hetero Hetero Hetero	p.Asp459 Asn p.Gly576 Ser p.Glu689 Lys	Posiblemente patogénica Haplotipo de pseudodeficiencia	Pseudodeficiencia
	31	<i>GAA</i>	c.1981T>C c.1726G>A c.2065G>A	Hetero Hetero Hetero	p.Trp661 Arg p.Gly576 Ser p.Glu689 Lys	VUS Haplotipo de pseudodeficiencia	Pseudodeficiencia
	32	<i>GAA</i>	c.-32-13T>G c.1726G>A c.2065G>A	Hetero Hetero Hetero	(Intronic) p.Gly576 Ser p.Glu689 Lys	Patogénica Haplotipo de pseudodeficiencia	Pseudodeficiencia
	33	<i>GAA</i>	c.2238G c.2065G>A	Hetero Hetero	p.Trp746 Cys p.Glu689 Lys	Patogénica Haplotipo de pseudodeficiencia	Pseudodeficiencia
	34	<i>GAA</i>	c.1726G>A c.2065G>A	Homo Homo	p.Gly576 Ser p.Glu689 Lys	Haplotipo de pseudodeficiencia	Pseudodeficiencia

35	<i>GAA</i>	c.2237G>C c.1726G>A c.2065G>A	Hetero Hetero Hetero	p.Trp746 Ser p.Gly576 Ser p.Glu689 Lys	Patogénica Haplotipo de pseudodeficiencia	Pseudodeficiencia
36	<i>GAA</i>	c.1726G>A c.2065G>A	Homo Homo	p.Gly576 Ser p.Glu689 Lys	Haplotipo de pseudodeficiencia	Pseudodeficiencia
37	<i>GAA</i>	c.1726G>A c.2065G>A	Homo Homo	p.Gly576 Ser p.Glu689 Lys	Haplotipo de pseudodeficiencia	Pseudodeficiencia
38	<i>GAA</i>	c.1726G>A c.2065G>A	Homo Homo	p.Gly576 Ser p.Glu689 Lys	Haplotipo de pseudodeficiencia	Pseudodeficiencia
39	<i>GAA</i>	c.1726G>A c.2065G>A	Homo Homo	p.Gly576 Ser p.Glu689 Lys	Haplotipo de pseudodeficiencia	Pseudodeficiencia
40	<i>GAA</i>	c.1987delC c.1726G>A c.2065G>A	Hetero Hetero Hetero	p.Gln663 fs p.Gly576 Ser p.Glu689 Lys	Patogénica Haplotipo de pseudodeficiencia	Pseudodeficiencia
41	<i>GAA</i>	Sospecha de delección c.1726G>A c.2065G>A	Hetero Homo Homo	- p.Gly576 Ser p.Glu689 Lys	Patogénica Haplotipo de pseudodeficiencia	Pseudodeficiencia
42	<i>GAA</i>	c.1726G>A c.2065G>A	Homo Homo	p.Gly576 Ser p.Glu689 Lys	Haplotipo de pseudodeficiencia	Pseudodeficiencia
43	<i>GAA</i>	c.573C>A	Hetero	p.Tyr191 Ter	Patogénica	Heterocigoto
44	<i>GAA</i>	c.-32-13T>G	Hetero	(Intronic)	Patogénica	Heterocigoto
45	<i>GAA</i>	c.2608C>T	Hetero	p.Arg870 Ter	Patogénica	Heterocigoto
46	<i>GAA</i>	c.-32-13T>G	Hetero	(Intronic)	Patogénica	Heterocigoto
47	<i>GAA</i>	c.2560C>T	Hetero	p.Arg854 Ter	Patogénica	Heterocigoto

	48	<i>GAA</i>	c.-32-13T>G	Hetero	(Intronic)	Patogénica	Heterocigoto
	49	<i>GAA</i>	c.2560C>T	Hetero	p.Arg854 Ter	Patogénica	Heterocigoto
Krabbe Total = 2							
	50	<i>GALC</i>	c.908+1G>A	Hetero	Splice region	Patogénica	Heterocigoto
	51	<i>GALC</i>	c.1161+6532_ polyA+9kdel (IVS10del30K B)	Hetero	Intronic	Patogénica	Heterocigoto
Mucopolis caridosis tipo I Total = 1							
	52	<i>IDUA</i>	c.1205G>A c.246C>G	Hetero Hetero	p.Trp402 Ter p.His82G ln	Patogénica Posiblemen te benigna	Pseudodeficiencia
<i>Abreviaciones: LSD: enfermedad por depósito lisosomal</i>							

De acuerdo con nuestro conocimiento, solo hay un reporte de incidencia, caracterización y frecuencia de variantes patogénicas de LSD en México (18). Ese estudio presenta hallazgos de incidencias y hallazgos moleculares similares a los reportados en el presente estudio.

Dentro de los hallazgos moleculares de este estudio, las principales mutaciones asociadas a las seis LSD fueron las siguientes: NPD: c.677C>G la cual no se ha reportado previamente en población mexicana; PD: c.1726G>A, c.2065G>A, c.-32-13T>G, c.1220A>G, c.1375G>A, los cuales se han reportado previamente en poblaciones mexicanas así como internacionalmente, cabe destacar que los alelos c.1726G>A y c.2065G>A se asocian a pseudodeficiencia y que en este estudio también se encontraron en los 14 casos de pseudodeficiencia; FD: c.569C>T y c.547G>T y c.1072_1074del, c.870G>A y c.658C>T que son variantes previamente no reportadas en población mexicana, c.1088G>A y c.179C>T las cuales son variantes previamente reportadas en poblaciones mexicanas e internacionales; y MPS-

I: c.112T>A y c.1651G>C, 1861C>T, c.99T>G, c.965T>A, c.1081G>A, c.1360G>A y c.1598C>G las cuales están previamente reportadas de manera internacional pero por primera vez en población mexicana.

5.1 Limitación del estudio:

Se presenta como limitación la cantidad reducida de la muestra y que el universo poblacional no abarca RN de cada estado del país o que se trate una muestra representativa de las diferentes etnias en México, por lo que lo reportado no corresponde a la incidencia nacional ya que es una gran serie de casos no probabilística. Además, los datos de la historia clínica o de los padres no están al alcance del estudio.

CAPÍTULO 6 - CONCLUSIÓN

De acuerdo a los resultados obtenidos de este estudio, en una población de RN mexicanos se encontró una incidencia general de seis LSD mayor a la reportada internacionalmente; además de manera individual se encontró que existe una incidencia mayor para la enfermedad de Fabry, la enfermedad de Pompe y la MPS-I; mientras que para Niemann-Pick y la enfermedad de Krabbe se encontró una incidencia similar a la reportada internacionalmente; y no se encontraron casos de enfermedad de Gaucher .

Los hallazgos moleculares de este estudio reportan de manera general que en esta población se encuentran las mismas mutaciones descritas previamente en pacientes mexicanos así como en la población internacional, además de reportar 14 mutaciones previamente no reportadas en población mexicana. Cabe destacar que en el caso de la enfermedad de Pompe la principal mutación encontrada en la mayoría de los casos es el alelo de pseudodeficiencia c.1726G>A y c.2065G>A, mientras que en el caso de la enfermedad de Fabry las principales mutaciones encontradas fueron: c.1088G>A y c.179C>T. Además, se reporta que los pacientes con enfermedad de Pompe y pseudodeficiencia de Pompe tienen una actividad enzimática diferente, siendo menor para los positivos verdaderos como es descrito en la literatura actual.

Con base en estos resultados, se debe realizar TMNA a todos los RN del país para detectar LSD, sobre todo para la enfermedad de Pompe y enfermedad de Fabry, para poder dar tratamiento oportunamente y prevenir secuelas irreversibles. Además, se recomienda que al obtener un resultado presuntamente positivo se confirme el diagnóstico por medio de medición de actividad enzimática y secuenciación de LSD.

"LSDMEX: Enfermedades por depósito lisosomal: incidencia y correlación de actividad enzimática con hallazgo molecular en una población de recién nacidos mexicanos", Octubre de 2019 Monterrey, Dr. Juan Carlos Moedano Salinas

REFERENCIAS

1. Wang, R. Y., Bodamer, O. A., Watson, M. S., & Wilcox, W. R. (2011). Lysosomal storage diseases: diagnostic confirmation and management of presymptomatic individuals. *Genetics in Medicine*, *13*(5), 457.
2. Vela-Amieva, M., Belmont-Martínez, L., Ibarra-González, I., & Fernández-Lainez, C. (2009). Variabilidad interinstitucional del tamiz neonatal en México. *Boletín médico del Hospital Infantil de México*, *66*(5), 431-439.
3. Kingma, S. D., Bodamer, O. A., & Wijburg, F. A. (2015). Epidemiology and diagnosis of lysosomal storage disorders; challenges of screening. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism*, *29*(2), 145-157.
4. Schielen, P. C., Kemper, E. A., & Gelb, M. H. (2017). Newborn screening for lysosomal storage diseases: a concise review of the literature on screening methods, therapeutic possibilities and regional programs. *International journal of neonatal screening*, *3*(2), 6.
5. Trigo-Madrid, M., Díaz-Gallardo, J., Mar-Aldana, R., Ruiz-Ochoa, D., Moreno-Graciano, C., Martínez-Cruz, P., ... & la Torre-García, D. (2014). Resultados del Programa de Tamiz Neonatal Ampliado y epidemiología perinatal en los servicios de sanidad de la Secretaría de Marina Armada de México. *Acta pediátrica de México*, *35*(6), 448-458.
6. Barba Evia, J. R. (2004). Tamiz neonatal: una estrategia en la medicina preventiva. *Revista Latinoamericana de Patología Clínica y Medicina de Laboratorio*, *51*(3), 130-144.

7. Herrera-Maldonado, N., Vergara-Vázquez, M., Hinojosa-Trejo, M. A., & García-Flores, E. P. (2019). Retos del Programa de Tamiz Metabólico de la Secretaría de Salud, México. *Acta Pediátrica de México*, 39(S1), 1-4.
8. Mancilla Ramírez, J., Jiménez Gutiérrez, C., & Granados Cepeda, M. L. (2013). El tamiz neonatal ampliado en México: ¿corresponde a la realidad del país? *Perinatología y reproducción humana*, 27(1), 05-07.
9. Anderson, S. (2018). Newborn Screening for Lysosomal Storage Disorders. *Journal of Pediatric Health Care*, 32(3), 285-294.
10. Alroy, J., & Lyons, J. A. (2014). Lysosomal storage diseases. *Journal of Inborn Errors of Metabolism and Screening*, 2.
11. Gelb, M. (2018). Newborn screening for lysosomal storage diseases: Methodologies, screen positive rates, normalization of datasets, second-tier tests, and post-analysis tools. *International journal of neonatal screening*, 4(3), 23.
12. Millington, D. S., & Bali, D. S. (2018). Current State of the Art of Newborn Screening for Lysosomal Storage Disorders. *International Journal of Neonatal Screening*, 4(3), 24.
13. Acuerdo por el que se crea la Comisión para el Análisis, Evaluación, Registro y Seguimiento de las Enfermedades Raras. Diario Oficial de la Federación, México. 2017.
14. van der Ploeg, A. T., & Reuser, A. J. (2008). Pompe's disease. *The lancet*, 372(9646), 1342-1353.
15. Zarate, Y. A., & Hopkin, R. J. (2008). Fabry's disease. *The Lancet*, 372(9647), 1427-1435.

16. Grabowski, G. A. (2008). Phenotype, diagnosis, and treatment of Gaucher's disease. *The Lancet*, 372(9645), 1263-1271.
17. Scott, C. R., Elliott, S., Buroker, N., Thomas, L. I., Keutzer, J., Glass, M., ... & Turecek, F. (2013). Identification of infants at risk for developing Fabry, Pompe, or mucopolysaccharidosis-I from newborn blood spots by tandem mass spectrometry. *The Journal of pediatrics*, 163(2), 498-503.
18. Navarrete-Martínez, J. I., Limón-Rojas, A. E., de Jesús Gaytán-García, M., Reyna-Figueroa, J., Wakida-Kusunoki, G., del Rocío Delgado-Calvillo, M., ... & Cervantes-Barragán, D. E. (2017). Newborn screening for six lysosomal storage disorders in a cohort of Mexican patients: three-year findings from a screening program in a closed Mexican health system. *Molecular genetics and metabolism*, 121(1), 16-21.
19. Hollak, C. E., & Wijburg, F. A. (2014). Treatment of lysosomal storage disorders: successes and challenges. *Journal of inherited metabolic disease*, 37(4), 587-598.
20. Duffner, P. K., Caggana, M., Orsini, J. J., Wenger, D. A., Patterson, M. C., Crosley, C. J., ... & Andriola, M. R. (2009). Newborn screening for Krabbe disease: the New York State model. *Pediatric neurology*, 40(4), 245-252.
21. Chien, Y. H., Lee, N. C., Thurberg, B. L., Chiang, S. C., Zhang, X. K., Keutzer, J., ... & Chen, Y. T. (2009). Pompe disease in infants: improving the prognosis by newborn screening and early treatment. *Pediatrics*, 124(6), e1116-e1125.
22. Decreto por el que se expide la Ley Federal de Protección de Datos Personales en Posesión de los Particulares. Diario Oficial de la Federación, México. 2010.

23. Ley General de Protección de Datos Personales en Posesión de Sujetos Obligados. Diario Oficial de la Federación, México. 2017.
24. Genomi-K. Aviso de privacidad. Accedido de: <https://www.genomik.com/confidencialidad.html>
25. Diagnóstico y Tratamiento de la Glucogenosis tipo II (Enfermedad de Pompe). México: Secretaría de Salud, 2010.
26. Ridaura-Sanz, C., de León-Bojorge, B., Belmont-Martínez, L., & Vela-Amieva, M. (2009). Enfermedad de Pompe forma infantil (glucogenosis tipo II). Informe de dos casos en niños mexicanos descubiertos por autopsia. *Acta Pediátrica de México*, 30(3), 142-147.
27. Diagnóstico, tratamiento y seguimiento multidisciplinario en enfermedad de Fabry en el segundo y tercer nivel de atención. Ciudad de México, Instituto Mexicano del Seguro Social, 2017.
28. Guía de Práctica Clínica, Detección Oportuna, Diagnóstico y Tratamiento de la Mucopolisacaridosis Tipo I en Edad Pediátrica, México: Secretaria de Salud; 2010.
29. Khan, S. A., Peracha, H., Ballhausen, D., Wiesbauer, A., Rohrbach, M., Gautschi, M., ... & Orii, T. (2017). Epidemiology of mucopolysaccharidoses. *Molecular genetics and metabolism*, 121(3), 227-240.
30. Colmenares-Bonilla, D., Colin-González, C., González-Segoviano, A., García, E. E., Vela-Huerta, M. M., & López-Gómez, F. G. (2018). Diagnosis of Mucopolysaccharidosis Based on History and Clinical Features: Evidence from the Bajío Region of Mexico. *Cureus*, 10(11).

31. Muenzer, J., Wraith, J. E., & Clarke, L. A. (2009). Mucopolysaccharidosis I: management and treatment guidelines. *Pediatrics*, *123*(1), 19-29.
32. Nalysnyk, L., Rotella, P., Simeone, J. C., Hamed, A., & Weinreb, N. (2017). Gaucher disease epidemiology and natural history: a comprehensive review of the literature. *Hematology*, *22*(2), 65-73.
33. Stirnemann, J., Belmatoug, N., Camou, F., Serratrice, C., Froissart, R., Caillaud, C., ... & Rose, C. (2017). A review of Gaucher disease pathophysiology, clinical presentation and treatments. *International journal of molecular sciences*, *18*(2), 441.
34. Diagnóstico y Tratamiento de la Enfermedad de Gaucher Neuronopática. México: Secretaría de Salud, 2012.
35. Duffner, P. K., Barczykowski, A., Jalal, K., Yan, L., Kay, D. M., & Carter, R. L. (2011). Early infantile Krabbe disease: results of the world-wide Krabbe registry. *Pediatric neurology*, *45*(3), 141-148.
36. Graziano, A. C. E., & Cardile, V. (2015). History, genetic, and recent advances on Krabbe disease. *Gene*, *555*(1), 2-13.
37. Orsini, J. J., Saavedra-Matiz, C. A., Gelb, M. H., & Caggana, M. (2016). Newborn screening for Krabbe's disease. *Journal of neuroscience research*, *94*(11), 1063-1075.
38. Schuchman, E. H., & Wasserstein, M. P. (2015). Types A and B Niemann-Pick disease. *Best practice & research Clinical endocrinology & metabolism*, *29*(2), 237-247.

39. Ferreira, C. R., & Gahl, W. A. (2017). Lysosomal storage diseases. *Translational science of rare diseases*, 2(1-2), 1-71.
40. Matern, D., Gavrilov, D., Oglesbee, D., Raymond, K., Rinaldo, P., & Tortorelli, S. (2015, April). Newborn screening for lysosomal storage disorders. In *Seminars in perinatology* (Vol. 39, No. 3, pp. 206-216). WB Saunders.
41. Cantú-Reyna, C., Zepeda, L. M., Montemayor, R., Benavides, S., González, H. J., Vázquez-Cantú, M., & Cruz-Camino, H. (2016). Incidence of Inborn Errors of Metabolism by Expanded Newborn Screening in a Mexican Hospital. *Journal of Inborn Errors of Metabolism and Screening*, 4.
42. Norma Oficial Mexicana NOM-034-SSA2-2013. Para la prevención y control de los defectos al nacimiento. México: Diario Oficial de la Federación, Órgano del Gobierno Constitucional de los Estados Unidos Mexicanos, Tomó DCCXXIX, 24; 2014.
43. Al-Sannaa NA, Al-Abdulwahed HY, Al-Ghamdi MS. (2017). Lysosomal Storage Disorders (LSDs): The Prevalence in the Eastern Province of Saudi Arabia. *Int J Neurol Dis*. 1(2): 038-043.
44. Poupětová, H., Ledvinová, J., Berná, L., Dvořáková, L., Kožich, V., & Elleder, M. (2010). The birth prevalence of lysosomal storage disorders in the Czech Republic: comparison with data in different populations. *Journal of inherited metabolic disease*, 33(4), 387-396.
45. Olkhovych, N. V., & Gorovenko, N. G. (2016). Determination of frequencies of alleles, associated with the pseudodeficiency of lysosomal hydrolases, in population of Ukraine. *The Ukrainian Biochemical Journal*, (88, № 5), 96-106.

46. Mokhtariye, A., Hagh-Nazari, L., Varasteh, A. R., & Keyfi, F. (2019). Diagnostic methods for Lysosomal storage disease. *Reports of biochemistry & molecular biology*, 7(2), 119.
47. Poswar, F. D. O., Vairo, F., Burin, M., Michelin-Tirelli, K., Brusius-Facchin, A. C., Kubaski, F., & Giugliani, R. (2019). Lysosomal diseases: Overview on current diagnosis and treatment. *Genetics and molecular biology*, (AHEAD).
48. Fernández Lainez, C. (2019). Espectrometría de masas en tándem: una nueva herramienta para el estudio de la metabolómica en pediatría.
49. Reuser, A. J., Verheijen, F. W., Bali, D., van Diggelen, O. P., Germain, D. P., Hwu, W. L., ... & Wuyts, B. (2011). The use of dried blood spot samples in the diagnosis of lysosomal storage disorders—current status and perspectives. *Molecular genetics and metabolism*, 104(1-2), 144-148.
50. Uribe, A., & Giugliani, R. (2013). Selective screening for lysosomal storage diseases with dried blood spots collected on filter paper in 4,700 high-risk Colombian subjects. In *JIMD Reports-Volume 11* (pp. 107-116). Springer, Berlin, Heidelberg.
51. Verma, J., Thomas, D. C., Kasper, D. C., Sharma, S., Puri, R. D., Bijarnia-Mahay, S., ... & Verma, I. C. (2016). Inherited metabolic disorders: efficacy of enzyme assays on dried blood spots for the diagnosis of lysosomal storage disorders. In *JIMD Reports, Volume 31* (pp. 15-27). Springer, Berlin, Heidelberg.
52. Hsu, T. R., & Niu, D. M. (2018). Fabry disease: review and experience during newborn screening. *Trends in cardiovascular medicine*, 28(4), 274-281.

53. Laney, D. A., Peck, D. S., Atherton, A. M., Manwaring, L. P., Christensen, K. M., Shankar, S. P., & Hopkin, R. J. (2015). Fabry disease in infancy and early childhood: a systematic literature review. *Genetics in Medicine, 17*(5), 323.
54. Gutiérrez-Amavizca, B. E., Gal, A., Ortíz-Orozco, R., Orth, U., De Oca, E. P. M., Gutiérrez-Amavizca, J. P., & Figuera, L. E. (2017). Mutational analysis of the GLA gene in Mexican families with Fabry disease. *Journal of genetics, 96*(1), 161-164.
55. Ramos-Kuri, M., Olvera, D., Morales, J. J., Rodríguez-Espino, B. A., Lara-Mejía, A., De Los Ríos, D., ... & Correa-Rotter, R. (2014). Clinical, histological and molecular characteristics of Mexican patients with Fabry disease and significant renal involvement. *Archives of medical research, 45*(3), 257-262.
56. Esmer, C., Becerra-Becerra, R., Peña-Zepeda, C. & Bravo-Oro, A. (2013). A novel homozygous mutation at the GAA gene in Mexicans with early-onset Pompe disease. *Acta Myologica, 32*(2), 95.
57. Grijalva-Pérez, A., Esmer, C., Romero-Hidalgo, S., Rojo-Dominguez, A., Rosas-Madrigal, S., Velazquez-Cruz, R., ... & Carnevale, A. (2018). Prevalence and ancestral origin of the c. 1987delC GAA gene mutation causing Pompe disease in Central Mexico. *Meta Gene, 15*, 60-64.
58. Franco-Ornelas, S., & Grupo de Expertos en Enfermedad de Gaucher. (2010). Consenso mexicano de enfermedad de Gaucher. *Revista Médica del Instituto Mexicano del Seguro Social, 48*(2), 167-186.

59. Carbajal-Rodríguez, L., Voirol-García, A., Mora-Magaña, I., Rodríguez-Herrera, R., & Zarco-Roman, J. (2011). Epidemiología de la enfermedad de Gaucher en México. *Acta Pediátrica de México*, 32(5), 277-280.
60. Herrera-Olivares, W., & Castelan-Cruz, O. (2016). Enfermedad de Gaucher. Informe de una nueva mutación. *Revista de Hematología*, 17(1), 67-71.
61. Zárate-Aspiros, R., Sosa-Sánchez, A. D., Rosas-Sumano, A. B., Jiménez-Balderas, E., Belmont-Martínez, L., Paz-Pacheco, A., & Chiñas-López, S. (2017). Enfermedad de Krabbe. Reporte de caso. *Revista Mexicana de Pediatría*, 83(6), 198-202.
62. Puckett, R. L., Orsini, J. J., Pastores, G. M., Wang, R. Y., Chang, R., Saavedra-Matiz, C. A., ... & Abdenur, J. E. (2012). Krabbe disease: clinical, biochemical and molecular information on six new patients and successful retrospective diagnosis using stored newborn screening cards. *Molecular genetics and metabolism*, 105(1), 126-131.
63. Dasouki, M., Jawdat, O., Almadhoun, O., Pasnoor, M., McVey, A. L., Abuzinadah, A., ... & Dimachkie, M. M. (2014). Pompe disease: literature review and case series. *Neurologic clinics*, 32(3), 751-776.
64. Cerón-Rodríguez, M., Vázquez-Martínez, E. R., García-Delgado, C., Ortega-Vázquez, A., Valencia-Mayoral, P., Ramírez-Devars, L., ... & Cerbón, M. (2019). Niemann-Pick disease A or B in four pediatric patients and SMPD1 mutation carrier frequency in the Mexican population. *Annals of hepatology*.

Anexo 1
CURRICULUM VITAE
Juan Carlos Moedano Salinas

DATOS PERSONALES	
Lugar y fecha de nacimiento	Pachuca, Hidalgo / 10 de Junio de 1990
Nacionalidad	Mexicano
Sexo	Masculino
Estado civil	Soltero
Registro Federal de Contribuyentes	MOSJ900610D5A
CURP	MOSJ900610HHGDLN09
Cedula Profesional	9392263
Dirección particular	Paseo Zúrich 346, Paseo Cumbres, Monterrey, N.L. México
Teléfono y Celular	83064510 y 8182529002
Correo electrónico	jcmoedano@gmail.com

FORMACIÓN ACADEMICA	
POSGRADO	Especialidad en Pediatría.
Institución	Programa Multicéntrico de Residencias Médicas del Tecnológico de Monterrey y la Secretaría de Salud del Estado de Nuevo León .
Período	2016-2020

LICENCIATURA	
Licenciatura	Médico Cirujano
Escuela	Escuela Nacional de Medicina, Instituto Tecnológico y de Estudios Superiores de Monterrey, Campus Monterrey .
Carrera	Médico Cirujano
Período	2008 – 2014
Lugar	27 de 68
EGEL-Medicina General (CENEVAL)	Testimonio de Desempeño Satisfactorio (TDS) (Julio 2014)
Promedio	87.5

DIPLOMADO	Diplomado PREM para el examen nacional de residencias médicas
Escuela	Escuela Nacional de Medicina, Instituto Tecnológico y de Estudios Superiores de Monterrey, Campus Monterrey.
País	México

“LSDMEX: Enfermedades por depósito lisosomal: incidencia y correlación de actividad enzimática con hallazgo molecular en una población de recién nacidos mexicanos”, Octubre de 2019 Monterrey,
Dr. Juan Carlos Moedano Salinas

IDIOMAS	
Español	Lengua Materna
Inglés	TOEFL 653 puntos y Certificado de la OBI en Inglés Avanzado.
Francés	Nivel A2 (Pendiente Certificación)
Alemán	Austrian German Diploma (OSD): Grundstufe Deutsch, GD. (Criterio Europeo: Nivel A2)

EXPERIENCIA PROFESIONAL	
<p>Primer año del Internado Medicina - <i>Nacional</i> Monterrey, Nuevo León 2012-2013</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Ginecología y Obstetricia (Enero-Marzo 2013) <ul style="list-style-type: none"> ○ Hospital Metropolitano “Bernardo Sepúlveda” ○ Hospital San José Tec de Monterrey ○ Centro Médico Zambrano Hellion ○ Hospital Materno Infantil de Alta Especialidad • Pediatría (Abril-Junio 2012) <ul style="list-style-type: none"> ○ Hospital San José Tec de Monterrey ○ Centro Médico Zambrano Hellion ○ Hospital Materno Infantil de Alta Especialidad ○ Centro de Atención Ambulatoria Fundación Santos y de la Garza Evia. • Medicina Interna (Julio-Septiembre 2012) <ul style="list-style-type: none"> ○ Hospital San José Tec de Monterrey ○ Hospital Metropolitano “Bernardo Sepúlveda” ○ Centro Médico Zambrano Hellion • Cirugía General (Septiembre – Diciembre 2012) <ul style="list-style-type: none"> ○ Hospital San José Tec de Monterrey ○ Hospital Metropolitano “Bernardo Sepúlveda” ○ Centro Médico Zambrano Hellion ○ Instituto de Seguridad y Servicios Sociales de los Trabajadores del Estado-Hospital Sección 50 SNTE
<p>Segundo Año del Internado de Medicina <i>Nacional</i> Monterrey, Nuevo León Guadalajara, Jalisco 2013-2014</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Traumatología <ul style="list-style-type: none"> ○ Hospital San José Tec de Monterrey • Radiología <ul style="list-style-type: none"> ○ Hospital San José Tec de Monterrey • Emergencias <ul style="list-style-type: none"> ○ Hospital San José Tec de Monterrey ○ Hospital Metropolitano “Bernardo Sepúlveda” • Neurología y Neurocirugía <ul style="list-style-type: none"> ○ Antiguo Hospital Civil de Guadalajara “Fray Antonio Alcalde”. (Guadalajara, Jalisco). • Dermatología

“LSDMEX: Enfermedades por depósito lisosomal: incidencia y correlación de actividad enzimática con hallazgo molecular en una población de recién nacidos mexicanos”, Octubre de 2019 Monterrey, Dr. Juan Carlos Moedano Salinas

	<ul style="list-style-type: none"> ○ Instituto Dermatológico de Jalisco “Dr. José Barba Rubio”. (Guadalajara, Jalisco). • Psiquiatría <ul style="list-style-type: none"> ○ Instituto Jalisciense de Salud Mental “SALME” (Guadalajara, Jalisco)
Rotaciones Electivas del Segundo año del Internado de Medicina Monterrey, Nuevo León 2014	<ul style="list-style-type: none"> • Pediatría Hospitalaria <ul style="list-style-type: none"> ○ Hospital San José Tec de Monterrey • Medicina Crítica <ul style="list-style-type: none"> ○ Unidad de Cuidados Intensivos en Centro Médico Zambrano-Hellion • Gastroenterología <ul style="list-style-type: none"> ○ Hospital San José Tec de Monterrey ○ Centro Médico Hospital San José Tec de Monterrey ○ Centro Médico Zambrano Hellion
Internado de Medicina Internacional 2013	<ul style="list-style-type: none"> • Cardiología (Tudela, España) <ul style="list-style-type: none"> ○ Hospital Reina Sofía
Servicio Social de Medicina 1 de Agosto 2014 – 31 de Julio 2015	<ul style="list-style-type: none"> • C.S.U. Alianza B, Monterrey, Nuevo León, Jurisdicción 1.
Rotación de Campo de Pediatría 1 de Julio 2019 -31 de Octubre 2019	<ul style="list-style-type: none"> • Hospital General de Sabinas “Virginia Ayala”.

CAPACITACIONES, CONGRESOS, CURSOS Y SIMPOSIUMS NACIONALES

- **Cursos:**
 - Curso a distancia de Lactancia y Amamantamiento.
 - Secretaría de Salud/ Instituto Nacional de Salud Pública (Agosto 2019)
 - Curso “Good Clinical Practice (Investigator version 2.0)”
 - Roche Genentech (Julio 2019)
 - Curso de Soporte Vital Avanzado Pediátrico (PALS) del Programa de Entrenamiento de la American Heart Association.
 - Hospital Zambrano Hellion del Tecnológico de Monterrey/Centro de educación e innovación médica. (Febrero 2016)

“LSDMEX: Enfermedades por depósito lisosomal: incidencia y correlación de actividad enzimática con hallazgo molecular en una población de recién nacidos mexicanos”, Octubre de 2019 Monterrey, Dr. Juan Carlos Moedano Salinas

- Curso en línea "Design and Interpretation of Clinical Trials"
 - Universidad Johns Hopkins en Coursera. (Julio 2017).
- Curso en línea "Protección de los participantes humanos de la investigación".
 - Oficina para Investigaciones Extrainstitucionales de los Institutos Nacionales de Salud (NIH) (Julio 2017)
- Curso Virtual de Medicina Basada en Evidencias.
 - Universidad Autónoma Metropolitana, Hospital Regional de Alta Especialidad de Ixtapaluca (Valor Curricular 15 Horas).
- Curso Virtual Cardiología 2014 para médicos.
 - Instituto Nacional de Cardiología "Ignacio Chávez" (Septiembre 2014). (Valor Curricular 36 Horas).
- Actualización para la detección, diagnóstico y tratamiento del cáncer de Mama.
 - Instituto Tecnológico y de Estudios Superiores de Monterrey, Hope Worldwide Monterrey, AC (Febrero 2012) (Valor Curricular 40 horas).
- Curso Electrocardiografía avanzada.
 - Instituto Tecnológico y de Estudios Superiores: Escuela de Medicina y Ciencias de la Salud (Febrero 2011).
- Curso Electrocardiografía avanzada.
 - Instituto Tecnológico y de Estudios Superiores: Escuela de Medicina y Ciencias de la Salud (Febrero 2010).
- **Capacitaciones:**
 - Capacitación de proceso de atención integral a personas afectadas con tuberculosis.
 - Secretaría de Salud de Nuevo León (Marzo 2015)
 - Capacitación de emergencias obstétricas en el primer nivel de atención.
 - Secretaría de Salud de Nuevo León (Diciembre 2014)
 - Capacitación de aplicación de la prueba de Evaluación de Desarrollo Infantil "EDI"
 - Secretaría de Salud de Nuevo León (Octubre 2014)
- **Congresos y Simposios nacionales**
 - XXVII Curso Regional del Colegio de Medicina Interna del Noreste.
 - Colegio de Medicina Interna del Noreste/ Universidad Autónoma de Nuevo León Hospital Universitario Dr. José Eleuterio González. (Octubre 2014) (Valor Curricular 2 créditos).
 - Simposio para Actualización para Médicos Generales.
 - Sociedad Médica del Hospital General de México. (Septiembre, 2014) (Valor 6 créditos).
 - Staff en el Congreso "Salud Global"
 - Instituto Tecnológico y de Estudios Superiores: Escuela de Medicina y Ciencias de la Salud (Octubre 2009).

EDUCACIÓN MÉDICA CONTINUA Y CONGRESOS INTERNACIONALES

- **Congresos Internacionales:**
 - XXXII Curso Internacional de Gastroenterología
 - Sociedad de Gastroenterología del Estado de Nuevo León, A.C./ Instituto Tecnológico y de Estudios Superiores de Monterrey (Agosto 2014)
- **Educación Médica Continua**
 - Pediatría:
 - Continued Medical Education “Pneumonia and Other Mucosal Pneumococcal Infections in Children”.
 - Faculty of Pharmaceutical Medicine of the Royal Colleges of Physicians of the United Kingdom. (Diciembre 2014) (1.25 CPD)
 - Continued Medical Education Web-Based Lecture Series “Pediatric Dermatology: Common Rashes.”
 - Nemours Children’s Health System/Accreditation Council for Continuing Medical Education (ACCME) (Diciembre 2014). (0.50 AMA PRA Category 1 Credit)
 - Continued Medical Education Web-Based Lecture Series “Update on Diagnosis and Management of Urinary Tract Infections”.
 - Nemours Children’s Health System/Accreditation Council for Continuing Medical Education (ACCME) (Diciembre 2014). (0.50 AMA PRA Category 1 Credit)
 - Continued Medical Education Web-Based Lecture Series “Minor Closed Head Injury in Children”.
 - Nemours Children’s Health System/Accreditation Council for Continuing Medical Education (ACCME) (Diciembre 2014). (0.75 AMA PRA Category 1 Credit)
 - Continued Medical Education Web-Based Lecture Series “Acute Otitis Media: The New Guidelines.”
 - Nemours Children’s Health System/Accreditation Council for Continuing Medical Education (ACCME) (Diciembre 2014). (0.75 AMA PRA Category 1 Credit)
 - Continued Medical Education “Guidelines on Management of Bronchiolitis”.
 - Accreditation Council for Continuing Medical Education (ACCME)

and American Academy of Family Physicians. (AAFP). (Diciembre 2014) (0.25 AMA PRA Category 1 Credit).

DISTINCIONES

- Diploma de “Desarrollo Estudiantil” por parte de Tecnológico de Monterrey.

Otras Certificaciones

- Certificado de Consejería Estudiantil: apoyo psicológico a alumnos de preparatoria.
 - PrepaTec Campus Cumbres (Marzo 2008)
- Certificado de la Organización de Bachillerato Internacional en Inglés Avanzado
 - PrepaTec Campus Cumbres (Junio 2008)

Habilidades

- Uso Avanzado de Microsoft Office y IWork (Word, PowerPoint, Excel)
- Manejo de bases de datos médicas.
- Uso de sistema de expediente electrónico hospitalario y de urgencias.
- Manejo eficiente de Internet en diversos sistemas operativos

Actividades Extraacadémicas

- Voluntariado Internacional Yale Service Tours 2010: Atención pediátrica a pacientes de escasos recursos.
 - Instituto Tecnológico y de Estudios Superiores: Escuela de Medicina y Ciencias de la Salud (Febrero 2010)