

Variabilidad clínica inter e intrafamiliar de la fucosidosis en Cuba frente a la mutación causal Q422X

Inter- and Intrafamilial Clinical Variability of Fucosidosis in Cuba in the Face of Q422x Causative Mutation

Víctor Jesús Tamayo Chang^{1,2*} <https://orcid.org/0000-0002-9546-8348>

Paulina Araceli Lantigua Cruz³ <https://orcid.org/0000-0002-8549-2571>

Teresa Collazo Mesa³ <https://orcid.org/0000-0002-3984-9189>

Elayne Esther Santana Hernández^{1,2} <https://orcid.org/0000-0002-0295-1390>

¹Centro Provincial de Genética Médica. Holguín, Cuba.

²Hospital Pediátrico Universitario Provincial. Holguín, Cuba.

³Centro Nacional de Genética Médica. La Habana, Cuba.

*Autor para la correspondencia: vtamayo431@gmail.com

RESUMEN

Introducción: La fucosidosis es una enfermedad de almacenamiento lisosomal rara, causada por mutaciones en el gen de la α -L-fucosidasa; de ellas, se ha encontrado la Q422X en varias poblaciones. En Cuba solo se han reportado enfermos en la provincia de Holguín.

Objetivo: Correlacionar el comportamiento clínico con la mutación causal.

Métodos: Se realizó un estudio en la totalidad de las familias con enfermos diagnosticados en el Centro Provincial de Genética Médica de Holguín, entre 1985 y 2023. Las variables estudiadas fueron la presencia de angioqueratoma, la edad de fallecimiento, el tipo clínico y la mutación causal.

Resultados: Se diagnosticaron 19 enfermos homocigotos para la mutación Q422X, pertenecientes a 13 familias. El 79,8 % de los afectados presentó angioqueratoma. El 43,8 % falleció antes de los diez años de edad; el 50 % durante la segunda década de vida; y solo un paciente después de los 20 años. El 42,2 % tuvo una forma de evolución clínica intermedia. La edad de fallecimiento no mostró una relación estadísticamente significativa con la presencia de angioqueratoma, por lo cual no se pudieron delimitar de forma precisa los tipos clínicos de la enfermedad en base a estas variables.

Conclusiones: A pesar de estar causada únicamente por la mutación Q422X, la fucosidosis en Holguín se ha comportado como un espectro clínico continuo, con variabilidad inter e intrafamiliar; por tanto, factores tanto genéticos como no genéticos han intervenido en su heterogeneidad fenotípica.

Palabras clave: fucosidosis; angioqueratoma; mutación Q422X.

ABSTRACT

Introduction: Fucosidosis is a rare lysosomal storage disease caused by mutations in the α -L-fucosidase gene; of these, Q422X has been found in several populations. In Cuba, patients have only been reported in Holguín province.

Objective: To correlate clinical behavior with the causal mutation.

Methods: A study was carried out in all families with patients diagnosed at the Provincial Center for Medical Genetics in Holguín, from 1985 to 2023. The variables studied were the presence of angiokeratoma, age of death, clinical type and causal mutation.

Results: Nineteen patients were diagnosed as homozygous for Q422X mutation belonging to 13 families. 79.8% of those affected presented angiokeratoma. 43.8% died before the age of ten, 50% during the second decade of life, and only one patient after the age of 20. 42.2% had an intermediate clinical course. The age of death did not show statistically significant relationship with the presence of angiokeratoma, so the clinical types of the disease could not be precisely delimited based on these variables.

Conclusions: Despite being caused solely by the Q422X mutation, fucosidosis in Holguín has behaved as a continuous clinical spectrum, with inter- and intrafamilial variability; therefore, both genetic and non-genetic factors have intervened in its phenotypic heterogeneity.

Keywords: fucosidosis; angiokeratoma; Q422X mutation.

Recibido: 23/04/2024

Aceptado: 16/01/2025

Introducción

La fucosidosis es una enfermedad de almacenamiento lisosomal, causada por la pérdida de actividad de la enzima α -L-fucosidasa, lo que provoca la acumulación de glicoproteínas y glicolípidos fucosilados en varios tejidos y órganos.^(1,2) La variedad de hallazgos clínicos que incluye es muy amplia. Además del deterioro neurológico predominante, se pueden presentar alteraciones dermatológicas, faciales, respiratorias, oculares, cardíacas, disostosis múltiple y visceromegalias, así como afectación del crecimiento y desarrollo.^(3,4,5)

La muerte suele ocurrir antes de los diez años de edad en menos de la mitad de los enfermos, y después de los 20 años solo en un 40 % de ellos. Los pacientes con síntomas tempranos tienden a mostrar un deterioro neurológico más rápido, que conduce al fallecimiento en una edad temprana. Se ha documentado que alrededor del 60 % de los pacientes mueren como consecuencia de infecciones respiratorias y complicaciones neurológicas.^(3,4)

De acuerdo a la variabilidad en las manifestaciones clínicas, se han descrito dos tipos de la enfermedad: el tipo I o rápidamente progresivo, donde la neurodegeneración lleva al estado vegetativo y la muerte antes de los diez años de edad; y el tipo II, que tiene un curso moderado, con una progresión más lenta de los síntomas neurológicos y supervivencia hasta la adultez, y en el cual la mayoría de los pacientes desarrolla angioqueratoma corporis difuso.^(2,3,4)

La fucosidosis es una enfermedad autosómico-recesiva, producida por mutaciones en la estructura del gen de la α -L-fucosidasa-1 (FUCA1), localizado en el locus 1p36.11, el cual contiene ocho exones que cubren 23 kb y codifica una proteína sin procesar de 461 aminoácidos; de ellos, 22 corresponden al péptido de señal y 439, a la proteína madura.⁽⁴⁾ Hasta la fecha, se han reportado 39 variantes patogénicas que provocan una actividad enzimática baja o ausente.^(6,7,8,9,10,11)

La correlación fenotipo-genotipo no se ha podido realizar de forma precisa debido a la gran heterogeneidad alélica y la poca repetitividad de las mutaciones en pacientes no emparentados. Se ha planteado que esta enfermedad se manifiesta como un espectro clínico continuo, en vez de poseer dos tipos clínicos mayores, los cuales, de hecho, no se ha demostrado que sean causados por la heterogeneidad de locus; y se ha propuesto que factores tanto genéticos como no genéticos pueden ser la causa de la gran variabilidad fenotípica.^(3,4,7,8)

El tratamiento actual, en la gran mayoría de los casos, se limita al manejo de las complicaciones y al apoyo con fisioterapia. Sin embargo, los modelos animales generados han esclarecido la neuropatología de la enfermedad y han abierto el camino para posibles terapias. El trasplante de células madres hematopoyéticas se ha aplicado a un pequeño número de pacientes, con estabilización de los síntomas en algunos casos. A su vez, la terapia de reemplazo enzimático se prueba actualmente en estudios preclínicos, pero aún no existen ensayos clínicos de terapia génica.⁽⁴⁾

Aproximadamente, se han reportado 130 enfermos de fucosidosis en todo el mundo. Su prevalencia inferior a uno por cada 200 000 nacidos vivos hace que se considere una enfermedad ultrarrara.^(9,12) Sin embargo, se han reportado apariciones considerables de enfermos en regiones del sur de Italia, en poblaciones de origen indomexicano de Arizona y Colorado en los Estados Unidos de Norteamérica, en Túnez y en Cuba, donde los afectados se concentran en la provincia de Holguín.^(3,4,9,13,14,15,16)

El conocimiento de la segregación de la mutación Q422X en dos familias con enfermos de fucosidosis que residían en los Estados Unidos de Norteamérica, cuyos ancestros provenían de la provincia de Holguín, permitió hipotetizar que en los enfermos diagnosticados en Cuba se encontraba la misma mutación, y establecer un protocolo para el diagnóstico molecular.⁽³⁾

El objetivo de este estudio fue correlacionar el comportamiento clínico de la fucosidosis con la mutación causal encontrada en las familias cubanas.

Métodos

Se realizó un estudio descriptivo, tipo serie de casos, de la totalidad de familias con enfermos de fucosidosis diagnosticados entre 1985 y 2023, en el Centro Provincial

de Genética Médica de Holguín (CPGM-Ho), en el Hospital Pediátrico Universitario Provincial de Holguín, Cuba.

Los enfermos fueron identificados con números arábigos y ordenados de acuerdo con el momento en que se diagnosticaron. Las familias fueron identificadas con letras mayúsculas, cuyo ordenamiento dependió del momento de diagnóstico del primer afectado en ellas.

El diagnóstico bioquímico de la enfermedad se basó en la cuantificación de la actividad de la enzima α -L-fucosidasa en leucocitos mediante espectrofluorimetría, realizada en el Departamento de Genética Bioquímica del Centro Nacional de Genética Médica (CNGM) de Cuba. Se asumió como enfermo de fucosidosis cuando la actividad enzimática fue un 30 % menor que la actividad de los controles sanos.^(3,16)

Se extrajeron, aproximadamente, 10 ml de sangre periférica, mediante punción venosa, a los enfermos, sus padres y otros familiares, previo consentimiento informado en el laboratorio de Genética Bioquímica del CPGM-Ho.

Las muestras fueron depositadas en tubos cónicos de 50 ml, que contenían como anticoagulante 200 μ l de ácido etilendiamino tetra-acético (EDTA) a una concentración de 0,5 molar (M), y se trasladaron en termos refrigerados al Laboratorio de Biología Molecular del CNGM, donde se extrajo el ADN utilizando el protocolo estándar de precipitación salina.⁽¹⁷⁾

El diagnóstico de la mutación Q422X se basó en el método publicado por Kretz y otros en 1989.⁽¹⁸⁾ Las amplificaciones de los fragmentos de ADN contenidos en la región estructural del gen de la α -L-fucosidasa se realizaron mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR), por el método publicado por Saiki en 1988.

Para cada muestra de 1 μ l de ADN genómico en una dilución de uno en diez, la mezcla de reacción incluyó: 2,5 μ l del buffer PCR 10 x (Quiagen); 1,25 μ l de dNTPs a dos milimolares; 1 μ l de los cebadores FUCA1 F30 y FUCA2 F2r (diez picomoles); 0,25 μ l de Taq DNA Polimerasa (5 U/ μ l) Hot Start (Qiagen); y 18 μ l de agua estéril miliQ, para un volumen final de 25 μ l por muestra.

La amplificación se realizó a través de 30 ciclos de desnaturalización a 95° C durante un minuto, hibridación a 57° C durante un minuto, y extensión a 72° C durante un minuto; con una extensión final de diez minutos en un equipo de marca MJ Research.⁽¹⁹⁾

A una alícuota de 5 μ l de cada producto de amplificación se le añadió 2 μ l del Loading buffer Bromofenol azul (BFA), y se depositó en un gel de agarosa al 2 %,

inmerso en una solución de tris-borato-EDTA (TBE) al 0,5 X, empleada como buffer de corrida junto al marcador de 100 pb: ϕ x174/HaE III; y se digirió con 4 μ l de la enzima de restricción EcoRI²⁰ (Promega) (12 U/ μ l) durante 60 min a 37° C.

Las corridas electroforéticas para la separación del ADN en dependencia de su tamaño fueron realizadas en un equipo de marca lkb. Se aplicó una corriente de 100 V y 36 mA durante 40 min y, como resultado, se obtuvieron bandas de diferentes longitudes, correspondientes a dos alelos: el alelo 1 de 366 pb, y el alelo 2 de 264 y 102 pb.

Las variables estudiadas en cada enfermo y familia fueron la presencia de angioqueratoma, la edad de fallecimiento, el tipo clínico y la mutación causal.

Para facilitar el manejo de la información se creó una base de datos primarios en el microprocesador Excel. Para la descripción de las variables se utilizaron los estadígrafos frecuencia absoluta, por ciento, razón y proporción. Como estadígrafo de tendencia central se empleó la media aritmética, y como estadígrafo de dispersión, la desviación estándar.

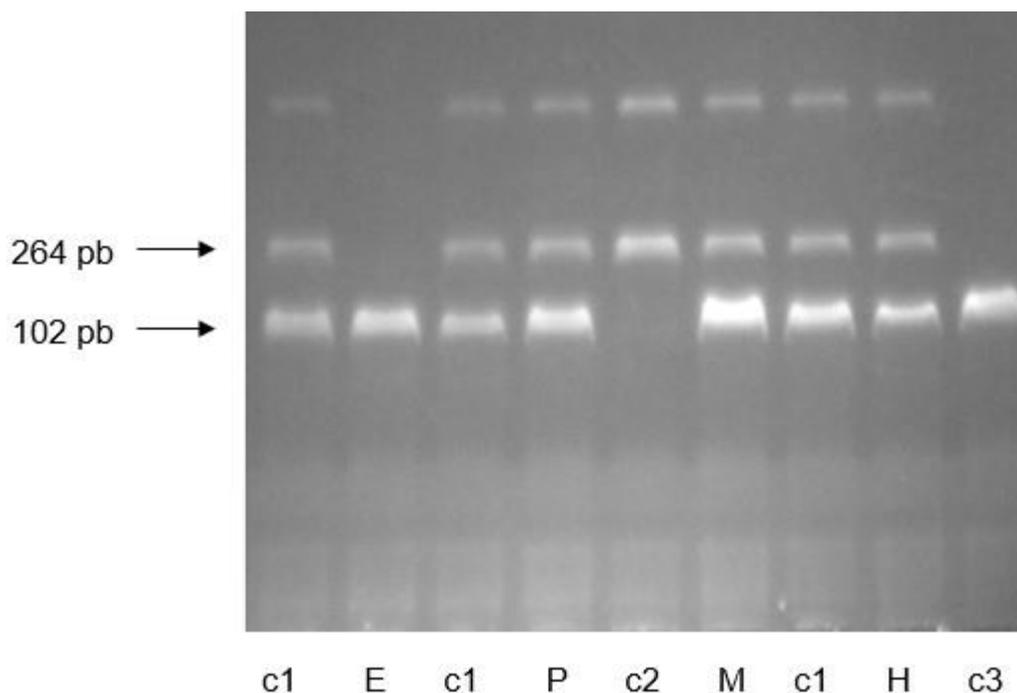
El procesamiento de los datos se realizó con el *software Statistical Package for Social Sciences* (SPSS, por sus siglas en inglés). Para el análisis de la relación entre variables se emplearon la medida simétrica V de Cramer y la medida direccional coeficiente eta cuadrado: η^2 . Para la evaluación de la concordancia entre las frecuencias esperada y observada, se empleó la prueba de Kappa. Se consideró significación estadística para valores de $p \leq 0,05$.

El estudio se realizó según las regulaciones establecidas en la Declaración de Helsinki⁽²⁰⁾ para las investigaciones médicas con seres humanos.

Resultados

En la provincia de Holguín se han diagnosticado 19 enfermos afectados de fucosidosis, pertenecientes a 13 familias no relacionadas; de ellas, 11 presentaban casos únicos (casos 1, 2, 5, 6, 8, 9, 11, 12, 15, 16 y 19; en las familias A, B, D, E, F, G, H, I, J, K y M, respectivamente). En las dos familias restantes se agruparon seis y dos enfermos respectivamente. El estudio de diez generaciones en la familia C permitió identificar los nexos existentes entre los ancestros de los casos 3, 4, 7, 10, 13 y 14. A su vez, los casos 17 y 18 se agruparon en la familia L.

La confirmación bioquímica de la enfermedad se realizó a los $4,9 \pm 2,7$ años, con un rango entre 1,5 y 10 años. La media de la actividad de α -L- fucosidasa en leucocitos fue del $1,9 \pm 2,2$ % de la actividad de controles sanos, con un rango enzimático entre 0 y 8,3 %. Los 19 enfermos fueron homocigotos para la mutación Q422X (fig. 1).



Legenda: E enfermo; P: padre; M: madre; H: hermano; c1: control heterocigoto; c2: control homocigoto dominante; c3: control homocigoto recesivo.

Fig. 1 - Fotografía de corrida electroforética en gel de agarosa al 2 % del gen FUCA1 para el diagnóstico de la mutación Q422X en una familia.

El 79,8 % de los afectados presentó angioqueratoma (fig. 2).



Fig. 2 - Fotografía de angioqueratoma.

Al concluir el estudio solo tres enfermos se encontraban vivos. El fallecimiento se produjo a los $11,0 \pm 5,4$ años, con un rango que varió desde los 3 hasta los 23 años. El 43,8 % de los casos falleció antes de los diez años, el 50 % durante la segunda década de vida, y solo un paciente después de los 20 años. La edad en el momento del fallecimiento no presentó una relación estadísticamente significativa con la presencia de angioqueratoma (coeficiente de correlación eta cuadrado: $\eta^2 = 0,234$).

Con respecto a la distribución de pacientes según los tipos clínicos de acuerdo con la edad de fallecimiento y la presencia de angioqueratoma, solo la enferma de la familia G y una afectada de la familia C pudieron incluirse con certeza en el tipo I descrito, al haber fallecido antes de los diez años, con ausencia de la manifestación cutánea. Los casos únicos de las familias F, H, I y J, y un enfermo perteneciente a la familia C pudieran encuadrarse en ese tipo clínico por su edad de fallecimiento, pero presentaron angioqueratoma (tabla).

Tabla - Distribución de pacientes con fucosidosis según los fenotipos clínicos

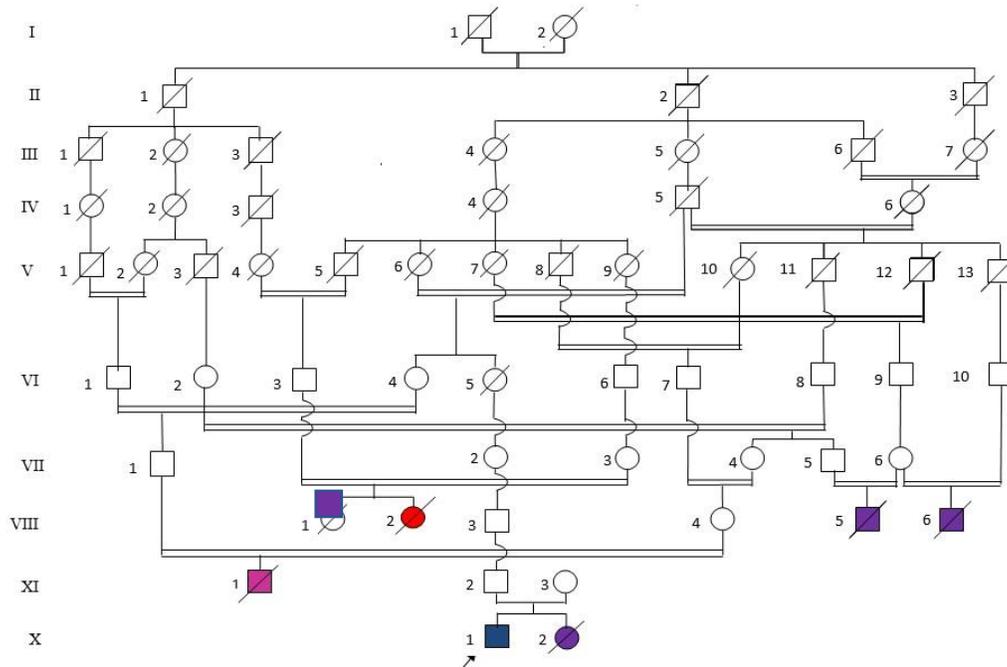
Tipo clínico por edad de fallecimiento	Presencia de angioqueratoma		Total	
	Sí	No	FA	%
Tipo I	5	2	7	36,8
Tipo intermedio	7	1	8	42,2
Tipo II	2	0	2	10,5
No clasificables	1	1	2	10,5
Total	15	4	19	100

A su vez, solo el enfermo de la familia B y un afectado dentro de la familia C manifestaron un fenotipo compatible con el tipo II o de progresión lenta, tanto por su supervivencia después de los 20 años como por la presencia de angioqueratoma.

Siete enfermos (los casos únicos de las familias A, E y K, el primer caso de la familia L, y tres miembros de la familia C) presentaron un fenotipo intermedio con fallecimiento entre los 10 y 20 años, y presencia de angioqueratoma. La única enferma de la familia D falleció en igual período de la vida, pero sin aparición de la lesión dermatológica.

A las dos restantes afectadas no fue posible atribuirle con certeza un tipo clínico, pues se encontraban vivas al finalizar el estudio. Una de ellas era el segundo caso de la familia L, y la otra, el único caso de la familia M, que se encontraba en estado vegetativo a sus ocho años y no había presentado angioqueratoma.

Dentro de la familia C se observó una variabilidad del fenotipo clínico de la enfermedad. La paciente 7 (enferma VIII-2) mostró un tipo I o severo, con inicio a los 11 meses y fallecimiento a los siete años, sin aparición de angioqueratoma; sin embargo, el caso 3 (enfermo IX-1) presentaba las lesiones cutáneas a pesar de que su fallecimiento ocurrió a los tres años, posterior a un retraso del desarrollo psicomotor de inicio a los seis meses de edad (fig. 3).

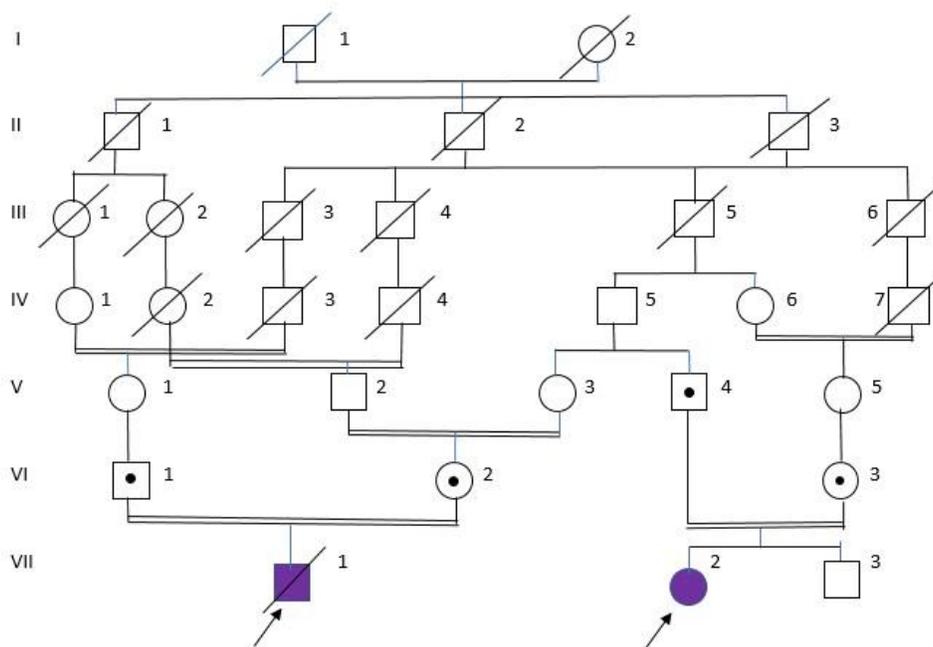


Legenda: tipo I (rojo), tipo I con angioqueratoma (violeta), tipo II (azul) y tipo intermedio (morado).

Fig. 3 - Árbol genealógico 1. Familia C.

El caso 13 (enfermo X-1) poseía un fenotipo clínico compatible con el tipo II o de progresión lenta; con 21 años cumplidos al finalizar el estudio, no había arribado al estado vegetativo y presentaba angioqueratoma corporis difuso. Los restantes afectados, casos 4, 10 y 14 (enfermos VIII-5, VIII-6 y X-2), manifestaron una forma de severidad intermedia de la enfermedad, con fallecimiento entre los 10 y 20 años, y aparición de angioqueratoma.

En la familia L, ambos enfermos, hasta el momento de finalizar el estudio, habían desarrollado un fenotipo clínico de severidad intermedia con presencia de angioqueratoma, pero con diferencias en su supervivencia. El paciente 17 (enfermo VII-1) falleció a los 12 años, y el caso 18 (enferma VII-2) sobrepasaba los 15 años en estado vegetativo (fig. 4).



Legenda: tipo I (rojo), tipo I con angioqueratoma (violeta), tipo II (azul) y tipo intermedio (morado).

Fig. 4 - Árbol genealógico 2. Familia L.

Discusión

Tradicionalmente, la evolución clínica de la fucosidosis se ha valorado en dependencia de la aparición de angioqueratomas y su relación con la edad de fallecimiento.^(2,3,4) Los angioqueratomas son malformaciones capilares benignas que pueden formar pápulas, nódulos o placas de color rojo oscuro/negro, con hiperplasia epidérmica suprayacente asociada con acantosis o hiperqueratosis. Aunque existen otras enfermedades de almacenamiento lisosomal en que pueden aparecer esas manifestaciones cutáneas, incluidas la gangliosidosis GM1, su presencia debe hacer sospechar fucosidosis.⁽⁵⁾

La forma menos severa de fucosidosis o tipo II, con una supervivencia mayor, se ha asociado con la aparición de angioqueratomas.^(3,4) Sin embargo, el 71,4 % de los enfermos que han fallecido antes de los diez años en este estudio presentó angioqueratomas, y un caso con desenlace en la segunda década de vida no los poseía. El efecto o magnitud de relación entre la presencia de la manifestación cutánea y la edad de fallecimiento fue débil, lo cual dificultó la clasificación fenotípica tradicional.

Willems y otros⁽³⁾ encontraron similar contradicción en la relación del angioqueratoma con la edad de fallecimiento, al analizar enfermos nacidos antes de 1991 en diferentes regiones del mundo; y señalaron que, más bien, encontrar la manifestación cutánea dependía de la edad del paciente en el momento del examen. Los pacientes de Túnez con angioqueratoma se correspondían más con la forma clínica intermedia que con el tipo II de la enfermedad según el momento de su fallecimiento. También se planteó que la existencia de la manifestación cutánea era tiempo-dependiente.⁽¹⁵⁾

La ocurrencia de la muerte durante la segunda década de vida en el 50 % de los enfermos de fucosidosis holguineros, y antes de los diez años o después de los 20 en menor número, es compatible con diferentes gradaciones de un espectro continuo de severidad clínica. A nivel global se ha encontrado una distribución bimodal de la edad de fallecimiento, con elevaciones antes de los diez años y después de los 20, respectivamente, y con una menor cantidad de defunciones entre los 10 y los 20 años.⁽³⁾ Esa distribución es contraria a la observada en Holguín.

Existen pocas publicaciones acerca de la correlación clínico-molecular de la fucosidosis en grupos grandes de pacientes; esto responde a la gran heterogeneidad alélica existente, lo cual provoca que la mayoría de los afectados sean homocigotos para distintas mutaciones.⁽⁴⁾ No obstante, se han encontrado diferentes fenotipos clínicos en pacientes con una misma mutación, por lo que se ha sugerido que factores ambientales o genes modificadores contribuyen en el comportamiento clínico.^(21,22)

En un análisis de siete pacientes con la mutación Q422X, de los cuales tres eran de origen italiano, dos franceses y dos cubanos nacidos en Estados Unidos de Norteamérica, se encontraron tanto la forma lenta como la rápidamente progresiva de la enfermedad; así como el fenotipo intermedio, con diferencias en la edad de fallecimiento.⁽³⁾

En el presente estudio, a pesar de existir una homogeneidad mutacional, se evidenció variabilidad clínica inter e intrafamiliar. Enfermos con un mismo origen étnico y procedentes de una misma región geográfica, o, incluso, pertenecientes a una misma familia, tuvieron un comportamiento clínico diferente a pesar de presentar la mutación Q422X en estado homocigoto.

La variabilidad clínica inter e intrafamiliar en presencia de una misma mutación se ha reportado en otras enfermedades de almacenamiento lisosomal como las mucopolisacaridosis, la manosidosis y la ceroidlipofuscinosis neuronal, entre otras.^(23,24,25)

A pesar de estar causada únicamente por la mutación Q422X, la fucosidosis en Holguín se ha comportado como un espectro clínico continuo, con variabilidad inter e intrafamiliar; por tanto, factores tanto genéticos como no genéticos han intervenido en su heterogeneidad fenotípica.

Referencias bibliográficas

1. Ferreira CR, Rahman S, Keller M, Zschocke J. An International Classification of Inherited Metabolic Disorders (ICIMD). *J Inherit Metab Dis.* 2021 [acceso 10/03/2023];44(1):164-77. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9021760/>
2. Mao SJ, Zhao J, Shen Z, Zou CC. An unusual presentation of fucosidosis in a Chinese boy: a case report and literature review (childhood fucosidosis). *BMC Pediatr.* 2022 [acceso 15/03/2023];22(1). Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9277805>
3. Willems PJ, Gatti R, Darby JK, Romeo G, Durand P, Dumon JE, *et al.* Fucosidosis revisited: a review of 77 patients. *Am J Med Genet.* 1991 [acceso 01/03/2023];38(1):111-31. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2012122>
4. Stepien KM, Ciara E, Jezela-Stanek A. Fucosidosis-Clinical Manifestation, Long-Term Outcomes, and Genetic Profile-Review and Case Series. *Genes (Basel).* 2020 [acceso 15/03/2023];11(11). Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7700486>
5. Kulcsarova K, Baloghova J, Necpal J, Skorvanek M. Skin conditions and movement disorders: hiding in plain sight. *Mov Disord Clin Pract.* 2022 [acceso 15/08/2023];9(5) Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9274368>
6. Zhang X, Zhao S, Liu H, Wang X, Wang X, Du N, *et al.* Identification of a novel homozygous loss-of-function mutation in FUCA1 gene causing severe Fucosidosis: A case report. *J Int Med Res.* 2021 [acceso 12/03/2023];49(4). Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8111281>
7. Domin A, Zabek T, Kwiatkowska A, Szmatoła T, Deregowska A, Lewinska A, *et al.* The Identification of a Novel Fucosidosis-Associated FUCA1 Mutation: A Case of a 5-Year-Old Polish Girl with Two Additional Rare Chromosomal Aberrations and

Affected DNA Methylation Patterns. *Genes* (Basel). 2021 [acceso 01/03/2023];12(1). Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7827884>

8. Do Rosario MC, Purushothama G, Narayanan DL, Siddiqui S, Girisha KM, Shukla A. Extended analysis of exome sequencing data reveals a novel homozygous deletion of exons 3 and 4 in *FUCA1* gene causing Fucosidosis in an Indian family. *Clin Dysmorphol*. 2023 [acceso 10/12/2023];28. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36876340>

9. Gowda VK, Srinivasan VM, Vegda H, Bhat M. Fucosidosis with Pathogenic Variant in *FUCA1* Gene. *Indian J Pediatr*. 2020 [acceso 10/03/2023];87(10):867-8. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32125660>

10. Bhattacharjee A, Desa E, Ahmad Lone K, Jaiswal A, Tyagi S, Dalal A. Genotype first approach & familial segregation analysis help in the elucidation of disease-causing variant for Fucosidosis. *Indian J Med Res*. 2023 [acceso 08/10/23];157:363-6. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10438398>

11. El-Amawy HS, Dawoud H. Lysosomal storage diseases in the era of COVID-19: a report of an Egyptian case of alpha-fucosidosis and a summary of the lysosomal storage diseases-COVID-19 relationship. *Egypt J Med Hum Genet*. 2022 [acceso 08/10/23];23(1). Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9483389>

12. Abozaid GM, Kerr K, McKnight A, Al-Omar HA. Criteria to define rare diseases and orphan drugs: a systematic review protocol. *BMJ Open*. 2022 [acceso 18/4/23];12(7). Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35906057>

13. Wang L, Yang M, Hong S, Tang T, Zhuang J, Huang H. Fucosidosis in a Chinese boy: a case report and literature review. *J Int Med Res*. 2020 [acceso 18/4/23];48(4). Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7132800>

14. Chkioua L, Amri Y, Chaima S, Fenni F, Boudabous H, Ben Turkia H, *et al*. Fucosidosis in Tunisian patients: mutational analysis and homology-based modeling of *FUCA1* enzyme. *BMC Med Genomics*. 2021 [acceso 08/10/23];14(1). Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8383439>

15. Turkia HB, Tebib N, Azzouz H, Abdelmoula MS, Bouguila J, Sanhaji H, *et al*. Phenotypic spectrum of fucosidosis in Tunisia. *J Inher Metab Dis*. 2008 [acceso 07/10/23];31(2):313-6. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2771954>

16. Tamayo-Chang VJ, Llauradó-Robles RA, Campos-Hernández D, Monaga-Castillo M, Santana-Hernández EE. Fucosidosis en la Provincia Holguín. Causas y frecuencia. *Rev Cubana Genet Comunit.* 2013 [acceso 07/10/23];7(2):33-7. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/revcubgencom/cgc-2013/cgc132f.pdf>
17. Miller SA, Dykes DD, Polesky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res.* 1988 [acceso 07/10/23];16(3):1215-8. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC334765>
18. Kretz KA, Darby J K, Willems PJ, O'Brien JS. Characterization of EcoRI mutation in Fucosidosis patients: A stop codon in the open reading frame. *J Mol Neurosci.* 1989 [acceso 07/10/21];1:177-80. Disponible en: https://link.springer.com/article/10.1007/BF02918904#authJohn_S_O_Brien
19. Saiki RK, Gelfand DH, Stoffel S, Scharf SJ, Higuchi R, Horn GT, *et al.* Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. *Science.* 1988 [acceso 07/10/21];239(4839):487-91. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2448875>
20. World Medical Association. Declaration of Helsinki: ethical principles for medical research involving human subjects. *JAMA.* 2013 [acceso 07/10/21];310(20):2191-4. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24141714>
21. Willems PJ, Garcia CA, De Smedt MC, Martin-Jimenez R, Darby JK, Duenas DA, *et al.* Intrafamilial variability in Fucosidosis. *Clin Genet.* 1988 [acceso 07/10/21];34(1):7-14. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3409541>
22. Puente-Ruiz N, Ellis I, Bregu M, Chen C, Church HJ, Tylee KL, *et al.* Long-term outcomes in two adult siblings with Fucosidosis-Diagnostic odyssey and clinical manifestations. *Mol Genet Metab Rep.* 2023 [acceso 07/10/21];37. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10694746>
23. Ficiocioglu C, Giugliani R, Harmatz P, Mendelsohn NJ, Jegu V, Parini R. Intrafamilial variability in the clinical manifestations of mucopolysaccharidosis type II: Data from the Hunter Outcome Survey (HOS). *Am J Med Genet A.* 2018 [acceso 07/10/21];176(2):301-10. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5814921>
24. Mkaouar R, Riahi Z, Charfeddine C, Chelly I, Boudabbous H, Dallali H. Alpha-mannosidosis in Tunisian consanguineous families: Potential involvement of variants in GHR and SLC19A3 genes in the variable expressivity of cognitive

impairment. PLoS One. 2021 [acceso 08/10/23];16(10). Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8494324>

25. Reith M, Zeltner L, Schäferhoff K, Witt D, Zuleger T, Haack TB. A Novel, Apparently Silent Variant in MFSD8 Causes Neuronal Ceroid Lipofuscinosis with Marked Intrafamilial Variability. Int J Mol Sci. 2022 [acceso 08/10/23];23(4). Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8877174>

Conflicto de intereses

Los autores declaran que no existe conflicto de intereses.

Contribución de los autores

Conceptualización: Víctor Jesús Tamayo Chang.

Curación de datos: Víctor Jesús Tamayo Chang, Paulina Araceli Lantigua Cruz, Teresa Collazo Mesa y Elayne Esther Santana Hernández.

Análisis formal: Víctor Jesús Tamayo Chang, Paulina Araceli Lantigua Cruz, Teresa Collazo Mesa y Elayne Esther Santana Hernández.

Investigación: Víctor Jesús Tamayo Chang.

Metodología: Víctor Jesús Tamayo Chang, Paulina Araceli Lantigua Cruz, Teresa Collazo Mesa y Elayne Esther Santana Hernández.

Redacción-borrador original: Víctor Jesús Tamayo Chang.

Redacción-revisión y edición: Víctor Jesús Tamayo Chang.