

Análisis de biomarcadores para el seguimiento de pacientes con enfermedad de Gaucher

Thiago Donizete Da Silva-José^{1,2}; Clara Ibet Juárez-Vázquez³; José Elías García-Ortiz^{1,4*}.

¹División de Genética, Centro de Investigación Biomédica de Occidente, CMNO-IMSS. Guadalajara, Jalisco, México. ²Doctorado en Genética Humana, Centro Universitario de Ciencias de la Salud, Universidad de Guadalajara. Guadalajara, Jalisco, México. ³Facultad de Medicina, Decanato de Ciencias de la Salud, Universidad Autónoma de Guadalajara (UAG). Zapopan, Jalisco, México. ⁴Dirección de Educación e Investigación en Salud, UMAE, Hospital de Gineco-Obstetricia, Centro Médico Nacional de Occidente, Instituto Mexicano del Seguro Social, Guadalajara, Jalisco, México.

ABSTRACT

Analysis of biomarkers for the follow-up of patients with Gaucher disease.

Biomarkers are an important tool in the diagnosis, monitoring and evaluation of response to treatment in patients with Gaucher disease (GD). The objective of this work is a descriptive bibliographic review to evaluate and analyze the available biomarkers, for which types are described, usefulness, validity, advantages and disadvantages of each of them. The databases used were Pubmed Central, Scielo and Sci-Hub, and in the Google Scholar search engines to find journal articles not indexed on these sites. The following keywords were included as selection criteria: GD; biomarkers in GD; Biomarkers for evaluation of treatment; biomarkers of lysosomal storage diseases and new biomarkers in GD. The main challenge is the selection of the biomarker considering aspects of cost-effectiveness and availability in Health Systems. However, 19 biomarkers are described in the literature, of which only chitotriosidase, lung regulatory activation chemokine (CCL18/PARC) and Glycosylsphingosine (Lyso-Gb1) are internationally validated in clinical practice, and they also allow the clinical effects to be assessed: normalization of hemoglobin and platelet levels, decreased visceral volume and decreased bone inflammation. Thus, expert groups recommend that at least one of these biomarkers be integrated into the management plan for patients with GD. Therefore, the choice of a biomarker provides valuable information on the response to treatment, clinical evolution and could serve as key elements in the development and evaluation of new drugs.

RESUMEN

Los biomarcadores son una herramienta importante en el diagnóstico, seguimiento y evaluación de la respuesta al tratamiento en pacientes

Historial del artículo

Recibido: 9 abr 2021

Aceptado: 23 jun 2021

Disponible en línea: 1 sep 2021

Palabras clave

Enfermedad de Gaucher; biomarcadores; tratamiento de reemplazo enzimático; enfermedades lisosomales.

Keywords

Biomarkers; Gaucher disease; enzyme replacement treatment; lysosomal diseases.

Copyright © 2021 por autores y Revista Biomédica.

Este trabajo está licenciado bajo las atribuciones de la *Creative Commons* (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>

*Autor para correspondencia:

José Elías García-Ortiz, MD, PhD, División de Genética, Centro de Investigación Biomédica del Occidente, CMNO-IMSS. Sierra Mojada 800, Col. Independencia. Guadalajara, Jalisco, México. 44340

Tel. + 52 (33) 3668300 x 31929

E-mail: jose.garciaor@imss.gob.mx

<https://revistabiomedica.mx>

con enfermedad de Gaucher (EG). El presente trabajo tiene como objetivo una revisión bibliográfica descriptiva para evaluar y analizar los biomarcadores disponibles, por lo que se describen los tipos, la utilidad, validez, ventajas y desventajas de cada uno de ellos. Las bases de datos utilizadas fueron Pubmed Central, Scielo y Sci-Hub, y en el buscador Google Académico para encontrar artículos de revistas no indexadas en estos sitios. Como criterio de selección fueron incluidas las siguientes palabras clave: EG; biomarcadores en EG, biomarcadores para evaluación del tratamiento, biomarcadores de enfermedades de depósito lisosomal y nuevos biomarcadores en EG. El principal desafío es la selección del biomarcador considerando aspectos de costo-efectividad y disponibilidad en los Sistemas de Salud. No obstante, en la literatura se encuentran descritos 19 biomarcadores, de los cuales en la práctica clínica están validados internacionalmente solo quitotriosidasa, quimiocina de activación reguladora pulmonar (CCL18/PARC) y Glucosilesfingosina (Lyso-Gb1) que evalúan los efectos clínicos como: normalización de niveles de hemoglobina y plaquetas, disminución del volumen visceral e inflamación ósea. De esta manera, los grupos de expertos recomiendan que al menos uno de estos biomarcadores sea integrado en el plan de manejo de pacientes con EG. Por lo tanto, la elección de un biomarcador proporciona información valiosa sobre la respuesta al tratamiento, evolución clínica y podrían servir como elementos claves en el desarrollo y evaluación de nuevos fármacos.

INTRODUCCIÓN

La enfermedad de Gaucher (EG) es una patología lisosomal autosómica recesiva causada por mutaciones en el gen *GBA* que origina deficiencia en la enzima β -glucocerebrosidasa ácida (BGA) (EC 3.2.1.45, OMIM 606463) caracterizada por degradar la glucosilceramida a glucosa y ceramida, cuyo déficit provoca el acúmulo del glucocerebrósido en los lisosomas (1, 2).

La EG es una de las patologías de depósito lisosomal más comunes. A nivel mundial, se reporta su prevalencia de 1/40,000 a 1/60,000 individuos en

población general (3). Sin embargo, en la etnia judía Ashkenazi (JA) es mayor: 1/800 en homocigotos y 1/14 para individuos heterocigotos; específicamente en México su frecuencia se estima en 1/50,000 (4). Para su estudio se clasifica clínicamente en: Gaucher tipo 1 (OMIM#230800) no neuronopático, es la forma más frecuente que representa aproximadamente 95-99 % de los casos (3); Gaucher tipo 2 (OMIM # 230900) es el tipo neuronopático agudo que se caracteriza por el inicio durante el primer año de vida, la disfunción del tronco cerebral, la progresión rápida y organomegalia asociada con opistótonos, estrabismo y rigidez muscular (5) y Gaucher tipo 3 (OMIM # 231000) es neuronopático crónico o subagudo que se caracteriza por la encefalopatía progresiva, asociada a las manifestaciones de la enfermedad tipo 1 con etapa de aparición en la infancia o adolescencia (3, 5).

El estándar de oro para el diagnóstico de EG es la determinación de la actividad enzimática residual de BGA en leucocitos de sangre periférica (4, 6, 7). Una vez confirmada la deficiencia enzimática, se debe aplicar el protocolo de terapia de reemplazo enzimático (TRE) o terapia de reducción de sustrato (TRS) (2, 8), sin embargo, en los pacientes tipo 2 es pobre la respuesta al TRE (8).

El manejo integral de los pacientes debe de ser multidisciplinario y estar enfocado en mejorar la calidad de vida, por lo que deben integrarse tres actividades permanentes: 1) tratamiento correctivo de la proteína deficiente (TRE y TRS), 2) tratamiento sintomático y 3) monitoreo de la progresión y gravedad de la enfermedad (7, 8). En este contexto, los biomarcadores son útiles para evaluar las tres actividades permanentes en los pacientes por lo que proporcionan información valiosa de la respuesta al tratamiento y el adecuado manejo clínico (9).

Por lo tanto, el objetivo de esta revisión bibliográfica descriptiva es analizar la información más reciente de los biomarcadores disponibles que mejoran el seguimiento clínico y evalúan la respuesta al tratamiento en pacientes con EG. Para la búsqueda bibliográfica se consideraron las siguientes fuentes primarias como PubMed Central, Scielo, Sci-hub, Google Scholar, Dialnet

y fuentes secundarias como Google Académico y BioOne. Fueron obtenidos un total de 245 artículos relacionados con las palabras clave: enfermedad de Gaucher, biomarcadores en enfermedad de Gaucher, tratamientos en EG, biomarcadores para evaluación del TRE, biomarcadores de enfermedades de depósito lisosomal y nuevos biomarcadores en EG. En los criterios de eliminación no se consideraron referencias publicadas anteriores al año 2015, a no ser que esta estuviera considerada como clásica. Por lo tanto, 79 artículos cumplieron con los criterios de inclusión para realizar la revisión.

Biomarcadores

Se define como biomarcador, a un elemento biológico que puede ser medido y evaluado objetivamente, es un indicador de procesos fisiológicos, patológicos o de respuestas farmacológicas (10). Uno de los desafíos en la atención de los pacientes con EG es el establecimiento de biomarcadores como herramientas validadas que ayuden en el diagnóstico, pronóstico, seguimiento, toma de decisiones farmacológicas y mayor comprensión de la fisiopatología (11). Se considera que el mejor biomarcador es el más específico, sensible, económico, con obtención de resultados rápidos, reproducibles y cuya muestra sea de fácil obtención (12).

Los biomarcadores más utilizados por su especificidad y sensibilidad en individuos con EG son: quitotriosidasa, quimiocina de activación reguladora pulmonar (CCL18/PARC) y glucosil esfingosina (Lyso-Gb1); además son útiles la fosfatasa ácida, enzima convertidora de angiotensina (ECA) y ferritina, sin embargo, su sensibilidad y especificidad diagnóstica pueden estar comprometida debido a la interferencia con otras alteraciones metabólicas (3, 13, 14).

Descripción de los biomarcadores más frecuentes

Quitotriosidasa o quitinasa humana (EC 3.2.1.14) (OMIM: 600031): es una enzima codificada por el gen *CHIT1* e hidroliza la quitina que sólo es secretada a la circulación por neutrófilos y macrófagos. Es el biomarcador más utilizado en pacientes con EG (15), su concentración se correlaciona con la carga total de células de Gaucher, por lo que sus valores pueden relacionarse con la evolución y respuesta al tratamiento (1). En estos pacientes, los niveles de quitotriosidasa son ~1000 veces más altos, sin embargo, en otras enfermedades lisosomales, infecciosas, endócrinas, respiratorias, neurológicas, entre otras, se encuentra elevada esta enzima (9, 16) (Tabla 1). Es importante mencionar que están descritas variantes polimórficas del gen *CHIT1* que reducen la actividad enzimática, por ejemplo alrededor del 6 % de la población caucásica es homocigoto para la duplicación de 24 pares de bases dup 24pb (rs3831317) en el exón 10 (13, 17) que causa la falta total de la quitotriosidasa y se describe que hasta un 52 % son heterocigotos para esta variante (15); en población mestiza mexicana, la frecuencia de homocigotos es 5.6 % y heterocigotos 36 % para la dup 24pb (17, 18); en amerindios mexicanos las frecuencias son un poco más altas de 10-16 % para homocigotos y 29-37 % para heterocigotos (19). Otros polimorfismos asociados con baja actividad de quitotriosidasa son: p.G102S (rs2297950), p.G354R (rs9943208), p.A442G/V (rs1065761) y p.G354R (rs9943208) (20, 21). Por ello es recomendable considerar el estudio molecular del gen *CHIT1* para determinar la actividad enzimática en EG cuyo tratamiento será vigilado con este biomarcador, aunque en genotipos homocigotos, para este polimorfismo, el seguimiento de la respuesta al tratamiento es recomendable cambiar al biomarcador CCL18/PARC (19, 20, 22).

Tabla 1. Ventajas y desventajas del uso de biomarcadores en enfermedad de Gaucher.

Biomarcador	Ventajas	Desventajas	Sensibilidad/ especificidad	Referencias
Quitotriosidasa	-Concentración: más 100-4000 veces. -Biomarcador de etapa tardía.	-No es específico de EG, los niveles aumentan en otras enfermedades lisosomales.	91.7%/ 86.1% (n=233)	(16, 22, 24, 69)

	-TRE: la concentración disminuye significativamente (diagnóstico y pronóstico de la eficacia terapéutica). -Secretado solo por macrófagos activados.	-Aumento de falsos negativos debido al polimorfismo (dup-24pb) -Se recomienda usar siempre junto con otro biomarcador.		
Quimiocina pulmonar de activación reguladora (CCL18/ PARC)	-Concentración: más de 29 veces. -Secretado por macrófagos activados en diferentes tejidos. - Puede cuantificarse en orina. -Biomarcador alternativo en pacientes con el polimorfismo de quitotriosidasa (dup24bp). -Su concentración se modifica con y sin tratamiento.	-No es específica de EG, se eleva en otras enfermedades como: artritis reumatoide, Niemann Pick, β-talasemia, entre otras.	76.2% /79.4% (n=207)	(15, 16, 23, 70, 71)
Glucosilesfingosina (GluSph, Lyso-GL1 o Lyso-Gb1)	-Concentración: más de 200 veces. -Específica para el diagnóstico y monitoreo de EG. -Indicador de severidad en EG tipo 1. -Sin falsos negativos reportados.	-Se puede evidenciar su elevación en enfermedad como Krabbe y Niemann-Pick tipo C, pero no son los niveles esperados en EG.	100% / 100% (n=521)	(14, 16, 30, 71)
Marcadores de inflamación (TNF-α; MIP-1β; MIP-1α; IL-4)	- Modulador de la resorción ósea, por lo que su incremento en EG podría indicar enfermedad ósea.	-Puede estar elevado en cualquier enfermedad inflamatoria.	SD	(32, 35, 41)
Fosfatasa ácida resistente a tartrato (TRAP)	-Indicador de patología de resorción ósea.	- También se eleva en Niemann-Pick, osteopetrosis y mieloma múltiple. -La proteína es inestable y presenta amplia variabilidad analítica.	SD	(24, 38, 72, 73)
Ferritina	-Concentración: niveles elevados en células patognomónicas de casi todos los pacientes con EG. -Asociado a estadios más graves de la EG.	-Se considera un biomarcador secundario al uso de quitotriosidasa y CCL18/ PARC. -Relacionado con aumento de citocinas.	57% (n=19) / 75% (n=10)	(39, 72)
Osteopontina (OPN)	-Concentración: aumenta en EG tipo 1. -Disminución de los niveles plasmáticos en pacientes con TRE. -Puede utilizarse para el seguimiento de pacientes deficientes de quitotriosidasa.	-Sin utilidad en enfermedad autoinmune que cause daño tisular.	SD	(35, 70)

Neopterina	-Concentración: aumenta en plasma en EG. - Indica acúmulo y activación sistémica de las células Gaucher. - Confirma el diagnóstico y útil en el monitoreo de TRE en EG. -Analito poco costoso y de fácil acceso en hospitales.	-No es específica de EG. -Concentraciones plasmáticas elevadas en enfermedades inflamatorias causadas por activación de macrófagos. -Número limitado de estudios por lo que es necesario realizar más investigaciones.	77.4% / 77.8% (n=31)	(14, 45, 46)
Enzima convertidora de angiotensina (ECA)	-Concentraciones: más 2-10 veces. - Disminución de la concentración posterior al tratamiento de TRE. -Biomarcador alternativo a la quitotriosidasa.	-Variaciones en concentración por polimorfismos. -Sin utilidad en pacientes tratados con inhibidores de ECA. -No es específico de EG, también se eleva en sarcoidosis.	78.5% (n=1,014) / 74.6% (n=1,016)	(24, 39, 70, 73)
Semaforina (Sema7A)	-Disminución evidente de expresión de Sema7A en plasma.	- Requiere de más estudios para validarla como biomarcador.	81% / 81% (n=33)	(54)
Lipoproteínas	-No requiere un laboratorio especializado para realizar su análisis. -No hay reportes de polimorfismos que afecten las concentraciones de HDL.	- Niveles elevados por otras enfermedades, como hipercolesterolemia familiar.	SD	(19, 33, 55)
Catepsinas	-La catepsina D es importante en la degradación lisosomal de la proteína alfa-sinucleína, y es candidato a biomarcador de la enfermedad de Parkinson asociada a EG.	-Han sido poco estudiada y correlacionada con EG.	88.9% / 90.9% (n=140)	(61)
YKL-40	- Sensible durante los procesos inflamatorios subyacentes en enfermedades de depósito lisosomal.	- Concentraciones elevadas en artritis reumatoide, otros procesos reumáticos y sarcoidosis pulmonar.	70% / 70% (n=140)	(32, 35, 61)
Progranulina (PGRN)	-Las concentraciones de PGRN se correlacionan positivamente con YKL-40 y quitotriosidasa en pacientes con EG.	- Mutaciones del gen granulina están ampliamente presentes en pacientes con EG	80% / 80% (n=140)	(32, 61)
gpNMB	- Se correlacionaron positivamente con los biomarcadores de quitotriosidasa y CCL18/PARC.	-Presentan escasos resultados como biomarcador de EG y requieren más pruebas de validación.	SD	(66-68)

SD: sin datos descritos en literatura. n= número de individuos estudiados

Quimiocina (de motivo C-C) de ligando 18 o quimiocina reguladora de activación pulmonar (Chemokine (C-C motive) ligand 18/ Pulmonary and activation-regulated chemokine o CCL18 / PARC) (OMIM: 603757): es una pequeña proteína de 7.8 kDa identificada por estudios proteómicos en EG (15). Es específica (79.4 %) y sensible (76.2 %) en EG (10, 16) (Tabla 1); los valores plasmáticos

se elevan 29 veces más en pacientes con EG que en controles, una ventaja es que también puede cuantificarse en orina (10, 23). En pacientes con TRE, los valores bajos de CCL18/PARC correlacionan positivamente con las manifestaciones clínicas de la enfermedad, como reducción de visceromegalia, normalización de concentración de hemoglobina, mejora en el recuento de plaquetas y disminución de crisis ósea (2, 24). Actualmente es el biomarcador de elección en presencia de polimorfismos en el gen CHIT1 (22).

Glucosilesfingosina (GluSph, Lyso-GL1 o Lyso-Gb1): es el biomarcador más importante en la actualidad debido a su sensibilidad y especificidad diagnóstica del 100% durante el monitoreo de TRE (16, 25). En individuos sanos la vía metabólica de la glucosilceramida se degrada en glucosa y ceramida por la enzima BGA. Sin embargo, en ausencia de BGA en pacientes con EG, la glucosilceramida se eleva y se acompaña de acúmulo de lisolípido deacilado llamado glucosilesfingosina (Lyso-Gb1) (25, 26).

Algunos estudios sugieren que los altos niveles de Lyso-Gb1 correlacionan con el mayor grado de visceromegalia, aumento de quitotriosidasa y CCL18; los valores cuantificados de Lyso-Gb1 tienden a disminuir en pacientes que recibieron TRE (27-29). Específicamente, en EG tipo 2 y 3, los niveles plasmáticos de Lyso-Gb1 se elevan más de 200 veces, por lo que es un marcador de la severidad en EG tipo 1 (23, 30) (Tabla 1). La técnica de gotas de sangre seca en papel filtro (en inglés: DBS) se aplica para la determinación de niveles de Lyso-Gb1, es rápida, robusta y puede ser empleado en programas de detección prenatal o neonatal, donde las concentraciones por otras técnicas suelen ser indetectables (31). Es un biomarcador confiable, seguro y con estabilidad farmacodinámica que revela una reducción del sustrato glucosilceramida tras el inicio de la TRE (31).

Biomarcadores de inflamación en EG: TNF- α (OMIM: 191160); MIP-1 β (OMIM: 182284); MIP-1 α (OMIM: 182283); IL-4 (OMIM: 147780): estos factores se correlacionan con la presencia de células de Gaucher y cuyas características fisiopatológicas,

son la capacidad de infiltrar en médula ósea, pulmones, hígado, bazo, corazón y cerebro; así mismo aumentan la actividad inflamatoria de las citocinas como interleucina 6 (IL-6), interleucina 10 (IL-10) y factor de necrosis tumoral tipo alfa (TNF- α) provenientes de los macrófagos que contribuyen a la patogénesis de EG en pacientes tipo 1 y 3, correlacionándose con el aumento de la actividad osteoclástica que provoca osteopenia, osteoporosis y fracturas. Asimismo, la concentración de macrófagos en los órganos afectados incrementa la severidad de la enfermedad (4, 8, 32) (Tabla 1). En modelos *in vivo* de EG se ha descrito elevación de interferón γ (INF- γ), IL-10, IL-6, TNF- α e interleucina 1 β (IL-1 β) (23, 33). Un estudio en pacientes con EG tipo 1 demuestra elevación específica de las siguientes citocinas proinflamatorias, interleucina 4 (IL-4), proteína inflamatoria de macrófagos tipo 1 α o quimiocina de ligando tipo 3 (CCL3/MIP-1 α), proteína inflamatoria de macrófagos tipo 1 β (MIP-1 β) y TNF- α , contrariamente, se reporta disminución de los niveles de IL-10 e interleucina 3 (IL-3) (30, 32). En cerebros de modelos animales con EG neuronopático están descritos niveles altos de las siguientes proteínas: IL-1 β , TNF- α , receptor 1 del factor de necrosis tumoral (TNFR-1) y factor estimulante de colonias de macrófagos (M-CSF), 30 veces más, y mayor elevación de la proteína quimioatrayente de monocitos tipo 1 o quimiocina de ligando tipo 2 (CCL2/MCP-1), CCL3/MIP1 α y quimiocina de ligando tipo 5 o reguladora de activación y expresión normal de células T (CCL5/RANTES) (23, 30, 34). En pacientes con EG tipo neuronopático que reciben TRE, los niveles de TNF- α disminuyen (35).

Fosfatasa ácida resistente al tartrato (TRAP) (EC 3.1.3.2): es una metaloproteína monomérica glicosilada encontrada en mamíferos y expresada en células monohistiocíticas como macrófagos, dendríticas, osteoclastos y también en neuronas (36). Las células del sistema fagocitario-mononuclear son las principales que contienen acúmulo de glucosilceramida en EG, así la enzima TRAP está elevada en los 3 tipos de EG, en otras enfermedades como Niemann-Pick A/B, mieloma múltiple y

osteoporosis (37). A pesar de que TRAP es un biomarcador asociado a EG, no se han reportado estudios sobre sensibilidad y especificidad de esta enzima, ya que se considera una proteína inestable (8, 10, 38) (Tabla 1).

Ferritina (OMIM 134790): es una proteína almacenadora de hierro intracelular; de acuerdo a las necesidades es liberada durante el metabolismo por el hígado, bazo y médula ósea (39). Específicamente, la ferritina se ha relacionado con los procesos inflamatorios presentes en EG (2, 9, 33). Así mismo, estudios de seguimiento de pacientes Gaucher con TRE demuestran disminución de los niveles de ferritina después de recibir el tratamiento (33, 40, 41). Se debe tener en cuenta que las cifras elevadas de ferritina pueden variar de acuerdo con la edad, sexo y origen étnico, además pueden presentarse en enfermedades neurodegenerativas e inflamatorias (41, 42). Por lo que, la ferritina sérica debe ser utilizada de manera cautelosa en la evaluación de la respuesta al tratamiento (35, 41) (Tabla 1).

Osteopontina (OPN) (OMIM: 166490): es una glucoproteína presente en todos los tejidos y fluidos orgánicos relacionados con procesos inflamatorios, proliferación celular, invasión de la matriz extracelular asociada a algunos tipos de cáncer y metástasis (35, 43). Las citocinas que promueven la expresión de OPN son: TNF, INF- γ , CCL4, IL-1 β , IL-2, IL-6 e IL-10 (44). La disminución de los niveles de OPN en EG tipo 1, parece ser más sensible en respuesta a la TRE (imiglucerasa) que la quitotriosidasa, por lo que podría ser utilizada como biomarcador en el seguimiento de pacientes con deficiencia de quitotriosidasa (35) (Tabla 1). Sin embargo, aún es controversial el papel de la osteopontina en la fisiopatología de EG (23, 35, 43).

Neopterina: es producto del proceso catalítico de guanosina trifosfato (GTP) perteneciente a la familia de las proteínas pteridinas; en inflamación y en la activación del sistema inmune es liberada por macrófagos debido a la estimulación de interferón- γ e indirectamente por TNF- α (45-47). En macrófagos y células dendríticas una deficiencia constitutiva de piruvato-tetrahidropterina sintasa, que participa en la vía catalítica, impide estos pasos metabólicos

adicionales. De esta manera, la neopterina circulante es secretada por macrófagos activados y células dendríticas (23). Drugan y colaboradores (45) publicaron que los niveles plasmáticos de neopterina son reflejo del acúmulo y activación de células espumosas, por ello en la actualidad la cuantificación de esta proteína circulante podría ser considerada como posible biomarcador para la confirmación diagnóstica y el monitoreo de la eficacia terapéutica en pacientes con EG (16, 33) (Tabla 1). En este contexto, el análisis de la secreción de neopterina por las células de Gaucher activadas podría abrir nuevas vías de investigación para esclarecer un poco más la patogénesis de la enfermedad (35, 45).

Enzima convertidora de angiotensina (ECA) (EC 3.4.15.1)(OMIM:10618): también llamada carboxipeptidasa (48) presenta dos sitios catalíticos, un dominio de unión en la membrana y otro soluble que es responsable de la conversión de angiotensina I a angiotensina II; también funciona como un regulador clave de la presión arterial (49). En la circulación sistémica los niveles son estables en personas sanas, pero en pacientes con EG aumentan de 3-4 veces con respecto al grupo control (50) (Tabla 1). La ECA fue el primer biomarcador en EG descrito en 1976, posteriormente fue correlacionado con la gravedad de la enfermedad (23). Desafortunadamente, en la práctica médica este biomarcador es poco utilizado por dos razones, en primer lugar por el traslape de los niveles séricos entre casos y controles, de manera secundaria debido a que la TRE normaliza los niveles séricos de ECA rápidamente, incluso antes que sea revertida la carga sistémica de la enfermedad (9).

Semaforina 7A (Sema7A) (OMIM: 607292): es un glicosilfosfatidilinositol (GPI) con función de proteína de superficie anclada en la membrana, conformada por 666 aminoácidos que participa en procesos fisiológicos y patológicos (51). Es expresada por células neuronales, plaquetas, monocitos, células T, células dendríticas, células endoteliales, osteoclastos y osteoblastos (51-53). Se ha relacionado con la respuesta del sistema inmune principalmente a nivel celular en la producción

de citocinas, migración, propagación, adhesión y activación de macrófagos (51). Para lograr todos estos procesos, se requiere la interacción de Sema7A con los receptores de membrana plexin-C1 e integrinas ($\alpha 1\beta 1$) (51). En 2020, Sema7A fue propuesta como candidata a biomarcador al detectar una expresión menor en glóbulos rojos de pacientes con EG sin tratamiento al comparado con el grupo control, lo anterior se debe a la sobrecarga de esfingolípido en las membranas de estas células (54). El estudio también encuentra que los casos post-TRE presentaron niveles normales, lo que indica que el tratamiento reestablece los niveles de expresión de Sema7A (54). Esta proteína presenta sensibilidad y especificidad diagnóstica del 81 %, al ser comparada con los biomarcadores Lyso-Gb1 y CCL18 (54) (Tabla 1). Sin embargo, son necesarios otros estudios para validar a Sema7A como biomarcador y conocer más sobre el papel biológico en procesos inflamatorios de EG (54).

Lipoproteínas: son macromoléculas complejas compuestas por proteínas y lípidos que transportan masivamente las grasas por todo el organismo, son clasificadas de acuerdo a su densidad (55). Pacientes con diagnóstico de EG presentan reducción de niveles de lipoproteína de baja densidad (LDL) y lipoproteína de alta densidad (HDL) (56). La fisiopatología de la hipocolesterolemia en EG es causada por el aumento del catabolismo de LDL y HDL, como consecuencia de la deficiente síntesis y secreción de apolipoproteína E (ApoE) en macrófagos cargados de glucocerebrósidos (56). De este modo, ApoE facilita el transporte inverso de HDL al hígado, aumenta la captación y catabolismo lo que genera niveles bajos de HDL circulante (33, 56, 57). Un estudio retrospectivo con 278 pacientes compara algunos de los biomarcadores más utilizados (quitotriosidasa, ACE, ferritina, inmunoglobulinas) con HDL, LDL, colesterol total, triglicéridos y CCL18 (33). Encontraron que los valores de HDL aumentan significativamente después de la TRE, lo que comprueba una correlación fuerte de HDL con las mediciones del volumen del hígado y bazo (33, 55). Por lo anterior, en pacientes con TRE los niveles de triglicéridos se han mostrado disminuidos y las

cifras de HDL y LDL elevadas (55). Otros estudios han comprobado correlación entre los niveles bajos de HDL con organomegalia, citopenia y elevada actividad de quitotriosidasa. Esta investigación, sugiere a las lipoproteínas como biomarcadores de severidad y seguimiento durante tratamiento (57). Sin embargo, no se han reportado estudios sobre sensibilidad y especificidad para estas moléculas (Tabla 1).

Catepsinas: este biomarcador pertenece a la familia de proteasas lisosomales que han sido clasificadas para su estudio en A, B, D, K, V, S, entre otras. Conocidas también como endopeptidasas y exopeptidasas que requieren el microambiente ácido de los lisosomas para su activación (58). La catepsina K (conocida como CATK) (OMIM: 601105) es una proteasa de cisteína constituida por 215 aminoácidos, es expresada por osteoclastos con alta actividad contra elastina y colágeno tipo 1 (59). CATK participa funcionalmente en la resorción ósea en los osteoclastos, y también en procesos fisiológicos de la matriz ósea y la remodelación ósea (59). Por lo anterior, se ha propuesto que los niveles séricos de CATK podrían ser un biomarcador en EG tipo 1 y 3 para evaluar la afectación ósea y la respuesta al tratamiento (59, 60). Se ha demostrado en EG aumento de los niveles de CATK, CATK/P1NP y CATK/B-ALP al ser comparados con el grupo control. La sensibilidad y especificidad es de 88.9 y 90.9%, respectivamente (60) (Tabla 1). Otro estudio describe que los niveles séricos de catepsinas D y S fueron significativamente elevados y modificados a la baja al recibir TRE; sin embargo, no se reportaron datos de sensibilidad y especificidad (61). De estas proteasas lisosomales, CATK sérica podría ser un indicador de desequilibrio de osteoclastos/osteoblastos, en pacientes con EG utilizado como marcador en el seguimiento del tratamiento de la afectación ósea (60).

YKL-40 proteína-1 similar a quitinasa-3 (CH3L1) (OMIM: 601525): es una glicoproteína secretada por macrófagos, condrocitos, células del músculo liso vascular, algunas células cancerosas y tejidos con alta actividad celular; también se ha encontrado en muestras de líquido cefalorraquídeo (LCR) de

pacientes con enfermedades neuro-inflamatorias agudas y crónicas (62). Desde 2019 se relacionan los altos niveles de YKL-40 con mayor afectación esquelética y esplenomegalia residual detectados en sueros de pacientes con EG. La especificidad y sensibilidad reportada es 70% (61) (Tabla 1).

Progranulina (PGRN)(OMIM: 138945): es una proteína que actúa como regulador de la función lisosomal, también como factor de crecimiento en inflamación, cicatrización de heridas, proliferación celular y neurodegeneración (63). Los niveles séricos elevados de PGRN pueden funcionar como biomarcador útil e indicativo de enfermedad y mal pronóstico en varios cánceres, como el epitelial de ovario y el linfoma maligno (63, 64). Contrariamente, la disminución significativa de los niveles séricos de PGRN se ha asociado a EG (64). La especificidad y sensibilidad reportada en este estudio fue 80% (61) (Tabla 1). También se ha demostrado que la progranulina acompaña a la liberación lisosomal de glucocerebrosidasa y se presentan niveles bajos en pacientes con Parkinson. Por ende, podría ser un biomarcador de la actividad de BGA (61, 64).

Glicoproteína transmembrana no melanómica tipo B (gpNMB) (OMIM: 604368): participa en la unión al sulfato de heparina y las integrinas, favorece la mineralización ósea, la diferenciación de osteoclastos, reduce la inflamación que involucra la participación de los macrófagos, participa en el estrés lisosomal y en la degradación de los desechos celulares y la macro-autofagia (65). La expresión de gpNMB está relacionada con la agresividad en las líneas celulares de melanomas y como supresor tumoral en cáncer de mama (66). Un análisis proteómico demostró sobreexpresión de gpNMB (más de 15 veces) en suero de pacientes con EG sin tratamiento, contrariamente dichos niveles bajan considerablemente con TRE; por lo que, podría ser un biomarcador para el diagnóstico y el seguimiento del tratamiento (67). Un estudio previo con 59 pacientes con EG y 20 controles, demostró correlación positiva de quitotriosidasa y CCL18 con los altos niveles plasmáticos de gpNMB, aunque los autores no establecieron sensibilidad y especificidad del biomarcador (66). Otro estudio

sobre gpNMB detectó que los valores no aumentan significativamente en pacientes con EG, sin embargo la limitante puede deberse al número de individuos estudiados (68) (Tabla 1).

Con el objetivo de realizar una revisión descriptiva, que contenga el análisis de los biomarcadores más recientes que permiten una mejor evaluación de la respuesta al tratamiento y diagnóstico de EG, queda claro, a pesar de que la lista es creciente, y no todos están aprobados por la comunidad científica, solamente tres están aceptados a nivel internacional: quitotriosidasa, CCL18/PARC y Lyso-Gb1. No obstante, la utilidad y la aplicación clínica son limitadas para la mayoría de los países, ya sea por la accesibilidad o ejecución de la técnica. Así, debe ser introducida gradualmente en las solicitudes médicas, optimizando su utilidad en el diagnóstico, seguimiento y/o pronóstico de la EG (32, 74).

En México, el uso de TRE para EG está disponible desde hace más de 20 años, particularmente en las instituciones públicas de salud; se estima que aproximadamente el 40 % de la población mexicana no tiene acceso a la seguridad social ni a un diagnóstico confirmatorio, por lo que el tratamiento se ve comprometido (75). Las guías de práctica clínica (GPC) de México recomiendan la medición de la actividad enzimática, además de la integración de un biomarcador (quitotriosidasa o CCL18) para confirmar el diagnóstico e iniciar TRE (4, 75, 76); el biomarcador seleccionado, debe cuantificarse cada tres o seis meses en los primeros dos años y después cada seis o 12 meses en forma conjunta con otros estudios de laboratorio y gabinete (hemograma, química sanguínea, fosfatasa ácida, ecografía o resonancia magnética de hígado-bazo y densitometría ósea) (4, 75, 77, 78). En un paciente adecuadamente tratado, los valores de quitotriosidasa descienden hasta un 50-60 % en los primeros 12-24 meses (8, 77, 78). Sin embargo, en la actualidad, no hay publicaciones en revistas internacionales e indexadas que describan la experiencia mexicana en la utilización de estos biomarcadores en GPC. Por ende, es importante también la actualización constante de las GPC para facilitar el acceso y

conocimiento de los biomarcadores en la consulta médica.

En los últimos años, la utilización de Lyso-Gb1 ha aumentado en nuestro país, aunque no se ha generalizado debido a la disponibilidad dependiente de terceros y el mayor costo comparada a quitotriosidasa, sin embargo, ese biomarcador presenta 100 % de sensibilidad y especificidad diagnósticas; otra ventaja de Lyso-Gb1 es que el resultado es más rápido, sin perder la eficacia por lo que es considerado el biomarcador más adecuado para el diagnóstico y monitoreo de pacientes con EG (11).

Los biomarcadores plasmáticos de fácil acceso como: TRAP, ECA, ferritina y fosfatasa alcalina, no son específicos de EG, sólo están elevados moderadamente en relación con los controles, además que pueden estar influenciados por otros factores (11, 27, 38). La selección del biomarcador más adecuado ha sido limitada debido a la complejidad de este trastorno monogenético, gran heterogeneidad clínica y bioquímica, además de la actividad de genes modificadores, a la epigenética y otros factores externos; por lo anterior, como herramientas de diagnóstico, seguimiento y pronóstico existen correlaciones erróneas entre el genotipo en *GBA* y la actividad enzimática de BGA (11, 30, 79).

De manera idónea se deben considerar siempre más de una opción de biomarcadores para evaluar de manera integral a los pacientes con EG, debido a que es una enfermedad de afectación multisistémica (8, 32), y lo recomendable es elegir más de un biomarcador para que todos los tejidos afectados sean valorados (1, 3, 8, 30, 32).

CONCLUSIONES

En la actualidad existen más de una docena de biomarcadores publicados en estudios prospectivos y longitudinales. Sin embargo, el principal reto es la selección del biomarcador para EG considerando aspectos de especificidad-sensibilidad, costo-efectividad, validez, ventajas, desventajas y su disponibilidad en el sistema de salud nacional.

Conforme a lo revisado en la literatura, las características del biomarcador ideal en el manejo de los pacientes son las siguientes: 1) reflejar la actividad celular con distintos niveles entre casos y controles, 2) alta especificidad y sensibilidad, 3) cambios en la concentración para evaluar eficacia terapéutica, 4) los resultados no deben depender de variaciones genéticas en el paciente, 5) análisis del biomarcador de manera rápida, confiable y accesible, 6) detectar niveles de acuerdo al grado de afectación clínica y 7) integrar más de un biomarcador para evaluar la afectación multisistémica de EG.

En conclusión, a pesar de que la lista de biomarcadores es amplia, la quitotriosidasa, CCL18/PARC y Lyso-Gb1 se deben considerar en primera instancia por ser clínicamente los biomarcadores más útiles por su alta sensibilidad y especificidad para el seguimiento y evaluación del tratamiento en los pacientes con enfermedad de Gaucher.

REFERENCIAS

1. Pastores GM, Weinreb NJ, Aerts H, Andria G, Cox TM, Giralto M, et al. Therapeutic goals in the treatment of Gaucher disease. *Semin Hematol*. 2004;41(4 Suppl 5):4-14 DOI: 10.1053/j.seminhematol.2004.07.009.
2. Rosenbloom BE, Weinreb NJ. Gaucher disease: a comprehensive review. *Crit Rev Oncog*. 2013;18(3):163-75 DOI: 10.1615/critrevoncog.2013006060.
3. Giraldo P, de las Guías GdT. Guía de actuación en pacientes con enfermedad de Gaucher tipo 1. *Medicina Clínica*. 2011;137:55-60 DOI: 10.1016/S0025-7753(11)70019-7.
4. Franco-Ornelas S, Gaucher GdEeEd. Consenso mexicano de enfermedad de Gaucher. *Revista Médica del Instituto Mexicano del Seguro Social*. 2010;48(2):167-86.
5. Barranger J, O'Rourke E. Lessons learned from the development of enzyme therapy for Gaucher disease. *Journal of inherited metabolic disease*. 2001;24:89-96 DOI: 10.1023/a:1012440428282.
6. Nasher O, Gupta A. An ACE diagnosis. *BMJ Case Rep*. 2013;2013 DOI: 10.1136/bcr-2012-008185.
7. Gort L, Coll MJ. [Diagnosis, biomarkers and biochemical alterations in Gaucher's disease]. *Med Clin (Barc)*. 2011;137 Suppl 1:12-6 DOI: 10.1016/S0025-7753(11)70011-2.
8. Giraldo P, Roca M. [Therapeutic targets in Gaucher's disease]. *Med Clin (Barc)*. 2011;137 Suppl 1:46-9 DOI: 10.1016/S0025-7753(11)70017-3.
9. Aerts JM, Van Breemen MJ, Bussink AP, Ghauharali K, Sprenger R, Boot RG, et al. Biomarkers for lysosomal

- storage disorders: identification and application as exemplified by chitotriosidase in Gaucher disease. *Acta paediatrica*. 2008;97:7-14 DOI: 10.1111/j.1651-2227.2007.00641.x.
10. Grabowski GA. *Advances in Gaucher Disease: Basic and Clinical Perspectives*. London: Future Medicine Ltd. 2013 DOI: 10.2217/9781780842011.
 11. Revel-Vilk S, Fuller M, Zimran A. Value of Glucosylsphingosine (Lyso-Gb1) as a Biomarker in Gaucher Disease: A Systematic Literature Review. *International journal of molecular sciences*. 2020;21(19):7159 DOI: 10.3390/ijms21197159.
 12. Bobillo Lobato J, Jimenez Hidalgo M, Jimenez Jimenez LM. Biomarkers in Lysosomal Storage Diseases. *Diseases*. 2016;4(4) DOI: 10.3390/diseases4040040.
 13. Michelin K, Wajner A, Bock H, Fachel A, Rosenberg R, Pires RF, et al. Biochemical properties of beta-glucosidase in leukocytes from patients and obligated heterozygotes for Gaucher disease carriers. *Clin Chim Acta*. 2005;362(1-2):101-9 DOI: 10.1016/j.cccn.2005.06.010.
 14. Murugesan V, Chuang WL, Liu J, Lischuk A, Kacena K, Lin H, et al. Glucosylsphingosine is a key biomarker of Gaucher disease. *American journal of hematology*. 2016;91(11):1082-9 DOI: 10.1002/ajh.24491.
 15. Boot RG, Verhoek M, Langeveld M, Renkema GH, Hollak CE, Weening JJ, et al. CCL18: a urinary marker of Gaucher cell burden in Gaucher patients. *Journal of inherited metabolic disease*. 2006;29(4):564-71 DOI: 10.1007/s10545-006-0318-8.
 16. Rolfs A, Giese A-K, Grittner U, Mascher D, Elstein D, Zimran A, et al. Glucosylsphingosine is a highly sensitive and specific biomarker for primary diagnostic and follow-up monitoring in Gaucher disease in a non-Jewish, Caucasian cohort of Gaucher disease patients. *PloS one*. 2013;8(11):e79732 DOI: 10.1371/journal.pone.0079732.
 17. Juárez-Rendón KJ, Lara-Aguilar RA, García-Ortiz JE. 24-bp duplication on CHIT1 gene in Mexican population. *Revista Médica Del Instituto Mexicano Del Seguro Social*. 2012;50(4):375-7.
 18. Malaguarnera L, Ohazuruike LN, Tsianaka C, Antic T, Di Rosa M, Malaguarnera M. Human chitotriosidase polymorphism is associated with human longevity in Mediterranean nonagenarians and centenarians. *Journal of human genetics*. 2010;55(1):8-12 DOI: 10.1038/jhg.2009.111.
 19. Da Silva-Jose TD, Juarez-Rendon KJ, Juarez-Osuna JA, Porras-Dorantes A, Valladares-Salgado A, Cruz M, et al. Dup-24 bp in the CHIT1 Gene in Six Mexican Amerindian Populations. *JIMD Rep*. 2015;23:123-7 DOI: 10.1007/8904_2015_442.
 20. Lee P, Waalen J, Crain K, Smargon A, Beutler E. Human chitotriosidase polymorphisms G354R and A442V associated with reduced enzyme activity. *Blood Cells, Molecules, and Diseases*. 2007;39(3):353-60 DOI: 10.1016/j.bcmd.2007.06.013.
 21. Sperb-Ludwig F, Heineck BL, Michelin-Tirelli K, Alegra T, Schwartz IVD. Chitotriosidase on treatment-naïve patients with Gaucher disease: A genotype vs phenotype study. *Clinica Chimica Acta*. 2019;492:1-6 DOI: 10.1016/j.cca.2019.01.018.
 22. Giraldo P, Cenarro A, Alfonso P, Pérez-Calvo JI, Rubio-Félix D, Giralt M, et al. Chitotriosidase genotype and plasma activity in patients type 1 Gaucher's disease and their relatives (carriers and non carriers). *haematologica*. 2001;86(9):977-84.
 23. Deegan PB, Moran MT, McFarlane I, Schofield JP, Boot RG, Aerts JM, et al. Clinical evaluation of chemokine and enzymatic biomarkers of Gaucher disease. *Blood Cells, Molecules, and Diseases*. 2005;35(2):259-67 DOI: 10.1016/j.bcmd.2005.05.005.
 24. Cabrera-Salazar MA, O'Rourke E, Henderson N, Wessel H, Barranger JA. Correlation of surrogate markers of Gaucher disease. Implications for long-term follow up of enzyme replacement therapy. *Clinica chimica acta*. 2004;344(1-2):101-7 DOI: 10.1016/j.cccn.2004.02.018.
 25. Mirzaian M, Wisse P, Ferraz MJ, Gold H, Donker-Koopman WE, Verhoek M, et al. Mass spectrometric quantification of glucosylsphingosine in plasma and urine of type 1 Gaucher patients using an isotope standard. *Blood Cells, Molecules, and Diseases*. 2015;54(4):307-14 DOI: 10.1016/j.bcmd.2015.01.006.
 26. Orvisky E, Park JK, LaMarca ME, Ginns EI, Martin BM, Tayebi N, et al. Glucosylsphingosine accumulation in tissues from patients with Gaucher disease: correlation with phenotype and genotype. *Molecular genetics and metabolism*. 2002;76(4):262-70 DOI: 10.1016/S1096-7192(02)00117-8.
 27. Elstein D, Mellgard B, Dinh Q, Lan L, Qiu Y, Cozma C, et al. Reductions in glucosylsphingosine (lyso-Gb1) in treatment-naïve and previously treated patients receiving velaglucerase alfa for type 1 Gaucher disease: Data from phase 3 clinical trials. *Molecular Genetics and Metabolism*. 2017;122(1-2):113-20 DOI: 10.1016/j.ymgme.2017.08.005.
 28. Dekker N, van Dussen L, Hollak CE, Overkleeft H, Scheij S, Ghauharali K, et al. Elevated plasma glucosylsphingosine in Gaucher disease: relation to phenotype, storage cell markers, and therapeutic response. *Blood*. 2011;118(16):e118-e27 DOI: 10.1182/blood-2011-05-352971.
 29. Smid BE, Ferraz MJ, Verhoek M, Mirzaian M, Wisse P, Overkleeft HS, et al. Biochemical response to substrate reduction therapy versus enzyme replacement therapy in Gaucher disease type 1 patients. *Orphanet journal of rare diseases*. 2016;11(1):28 DOI: 10.1186/s13023-016-0413-3.

30. Ferraz MJ, Marques AR, Gaspar P, Mirzaian M, van Roomen C, Ottenhoff R, et al. Lyso-glycosphingolipid abnormalities in different murine models of lysosomal storage disorders. *Molecular genetics and metabolism*. 2016;117(2):186-93 DOI: 10.1016/j.ymgme.2015.12.006.
31. Saville JT, McDermott BK, Chin SJ, Fletcher JM, Fuller M. Expanding the clinical utility of glucosylsphingosine for Gaucher disease. *Journal of Inherited Metabolic Disease*. 2020;43(3):558-63 DOI: 10.1002/jimd.12192.
32. Giraldo P, de Frutos LL, Cebolla JJ. Biomarker combination is necessary for the assessment of Gaucher disease? *Annals of translational medicine*. 2018;6(Suppl 1) DOI: 10.21037/atm.2018.10.69.
33. Stein P, Yang R, Liu J, Pastores GM, Mistry PK. Evaluation of high density lipoprotein as a circulating biomarker of Gaucher disease activity. *Journal of inherited metabolic disease*. 2011;34(2):429-37 DOI: 10.1007/s10545-010-9271-7.
34. Pavlova EV, Deegan PB, Tindall J, McFarlane I, Mehta A, Hughes D, et al. Potential biomarkers of osteonecrosis in Gaucher disease. *Blood Cells, Molecules, and Diseases*. 2011;46(1):27-33 DOI: 10.1016/j.bcmd.2010.10.010.
35. Vairo F, Sperb-Ludwig F, Wilke M, Michellin-Tirelli K, Netto C, Neto EC, et al. Osteopontin: a potential biomarker of Gaucher disease. *Annals of hematology*. 2015;94(7):1119-25 DOI: 10.1007/s00277-015-2354-7.
36. Ljusberg J, Wang Y, Lång P, Norgård M, Dodds R, Hultenby K, et al. Proteolytic excision of a repressive loop domain in tartrate-resistant acid phosphatase by cathepsin K in osteoclasts. *Journal of Biological Chemistry*. 2005;280(31):28370-81.
37. Komninaka V, Kolomodis D, Christoulas D, Marinakis T, Papatheodorou A, Repa K, et al. Evaluation of bone involvement in patients with Gaucher disease: a semi-quantitative magnetic resonance imaging method (using ROI estimation of bone lesion) as an alternative method to semi-quantitative methods used so far. *European journal of haematology*. 2015;95(4):342-51 DOI: 10.1111/ejh.12504.
38. Aerts JM, Kallemeijn WW, Wegdam W, Ferraz MJ, van Breemen MJ, Dekker N, et al. Biomarkers in the diagnosis of lysosomal storage disorders: proteins, lipids, and antibodies. *Journal of inherited metabolic disease*. 2011;34(3):605-19 DOI: 10.1007/s10545-011-9308-6.
39. Bradley JM, Le Brun NE, Moore GR. Ferritins: furnishing proteins with iron. *JBIC Journal of Biological Inorganic Chemistry*. 2016;21(1):13-28 DOI: 10.1007/s00775-016-1336-0.
40. Mekinian A, Stirnemann J, Belmatoug N, Heraoui D, Fantin B, Fain O, et al. Ferritinemia during type 1 Gaucher disease: mechanisms and progression under treatment. *Blood Cells, Molecules, and Diseases*. 2012;49(1):53-7.
41. Koppe T, Doneda D, Siebert M, Paskulin L, Camargo M, Tirelli KM, et al. The prognostic value of the serum ferritin in a southern Brazilian cohort of patients with Gaucher disease. *Genetics and molecular biology*. 2016;39(1):30-4 DOI: 10.1590/1678-4685.
42. Ferraro S, Mozzi R, Panteghini M. Reevaluating serum ferritin as a marker of body iron stores in the traceability era. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)*. 2012;50(11):1911-6 DOI: 10.1515/cclm-2012-0129.
43. Limgala RP, Goker-Alpan O. Effect of Substrate Reduction Therapy in Comparison to Enzyme Replacement Therapy on Immune Aspects and Bone Involvement in Gaucher Disease. *Biomolecules*. 2020;10(4):526 DOI: 10.3390/biom10040526.
44. Pedraza CE, Nikolcheva LG, Kaartinen MT, Barralet JE, McKee MD. Osteopontin functions as an opsonin and facilitates phagocytosis by macrophages of hydroxyapatite-coated microspheres: implications for bone wound healing. *Bone*. 2008;43(4):708-16 DOI: 10.1016/j.bone.2008.06.010.
45. Drugan C, Drugan TC, Miron N, Grigorescu-Sido P, Naşcu I, Cătană C. Evaluation of neopterin as a biomarker for the monitoring of Gaucher disease patients. *Hematology*. 2016;21(6):379-86 DOI: 10.1080/10245332.2016.1144336.
46. Murr C, Winklhofer-Roob BM, Schroecksnadel K, Maritschnegg M, Mangge H, Böhm BO, et al. Inverse association between serum concentrations of neopterin and antioxidants in patients with and without angiographic coronary artery disease. *Atherosclerosis*. 2009;202(2):543-9.
47. Fuchs D, Weiss G, Reibnegger G, Wachter H. The role of neopterin as a monitor of cellular immune activation in transplantation, inflammatory, infectious, and malignant diseases. *Critical reviews in clinical laboratory sciences*. 1992;29(3-4):307-44 DOI: 10.3109/10408369209114604.
48. Danilov SM, Tikhomirova VE, Metzger R, Naperova IA, Bukina TM, Goker-Alpan O, et al. ACE phenotyping in Gaucher disease. *Molecular genetics and metabolism*. 2018;123(4):501-10 DOI: 10.1016/j.ymgme.2018.02.007.
49. Sturrock ED, Anthony CS, Danilov SM. Peptidyl-dipeptidase A/Angiotensin I-converting enzyme. *Handbook of Proteolytic Enzymes*: Elsevier; 2013. p. 480-94.
50. Nascimbeni F, Cassinerio E, Dalla Salda A, Motta I, Bursi S, Donatiello S, et al. Prevalence and predictors of liver fibrosis evaluated by vibration controlled transient elastography in type 1 Gaucher disease. *Molecular genetics and metabolism*. 2018;125(1-2):64-72 DOI: 10.1016/j.ymgme.2018.08.004.

51. Delorme G, Saltel F, Bonnelye E, Jurdic P, Machuca-Gayet I. Expression and function of semaphorin 7A in bone cells. *Biology of the Cell*. 2005;97(7):589-97 DOI: 10.1042/BC20040103.
52. Costa C, Martínez-Sáez E, Gutiérrez-Franco A, Eixarch H, Castro Z, Ortega-Aznar A, et al. Expression of semaphorin 3A, semaphorin 7A and their receptors in multiple sclerosis lesions. *Multiple Sclerosis Journal*. 2015;21(13):1632-43 DOI: 10.1177/1352458515599848.
53. Xie J, Wang H. Semaphorin 7A as a potential immune regulator and promising therapeutic target in rheumatoid arthritis. *Arthritis research & therapy*. 2017;19(1):1-12 DOI: 10.1186/s13075-016-1217-5.
54. Franco M, Reihani N, Dupuis L, Collec E, Billette de Villemeur T, de Person M, et al. Semaphorin 7A: A novel marker of disease activity in Gaucher disease. *American journal of hematology*. 2020;95(5):483-91 DOI: 10.1002/ajh.25744.
55. Watad S, Abu-Saleh N, Yousif A, Agbaria A, Rosenbaum H. The role of high density lipoprotein in type 1 Gaucher disease. *Blood Cells, Molecules, and Diseases*. 2018;68:43-6 DOI: 10.1016/j.bcmd.2016.11.005.
56. Von Eckardstein A, Nofer J-R, Assmann G. High density lipoproteins and arteriosclerosis: role of cholesterol efflux and reverse cholesterol transport. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. 2001;21(1):13-27 DOI: 10.1161/01.atv.21.1.13.
57. Zimmermann A, Grigorescu-Sido P, Rossmann H, Lackner KJ, Drugan C, Al Khzouz C, et al. Dynamic changes of lipid profile in Romanian patients with Gaucher disease type 1 under enzyme replacement therapy: a prospective study. *Journal of inherited metabolic disease*. 2013;36(3):555-63 DOI: 10.1007/s10545-012-9529-3.
58. Costa AG, Cusano NE, Silva BC, Cremers S, Bilezikian JP. Cathepsin K: its skeletal actions and role as a therapeutic target in osteoporosis. *Nature Reviews Rheumatology*. 2011;7(8):447 DOI: 10.1038/nrrheum.2011.77.
59. Muñoz-Torres M, García RR. Cathepsina K y resorción ósea. *Revista Española de Enfermedades Metabólicas Óseas*. 2006;15(4):88-9 DOI: 10.1016/S1132-8460(06)75270-9.
60. Lobato JB, Parejo PD, Vázquez RJN, Jiménez LMJ. Cathepsin K as a biomarker of bone involvement in type 1 Gaucher disease. *Medicina Clínica (English Edition)*. 2015;145(7):281-7.
61. Afinogenova Y, Ruan J, Yang R, Kleytman N, Pastores G, Lischuk A, et al. Aberrant progranulin, YKL-40, cathepsin D and cathepsin S in Gaucher disease. *Molecular genetics and metabolism*. 2019;128(1-2):62-7 DOI: 10.1016/j.ymgme.2019.07.014.
62. Mylin AK, Abildgaard N, Johansen JS, Heickendorff L, Kreiner S, Waage A, et al. Serum YKL-40: a new independent prognostic marker for skeletal complications in patients with multiple myeloma. *Leukemia & lymphoma*. 2015;56(9):2650-9.
63. Townley RA, Boeve BF, Benarroch EE. Progranulin: functions and neurologic correlations. *Neurology*. 2018;90(3):118-25 DOI: 10.1212/WNL.0000000000004840.
64. Jian J, Chen Y, Liberti R, Fu W, Hu W, Saunders-Pullman R, et al. Chitinase-3-like PROTEIN 1: A Progranulin downstream molecule and potential biomarker for Gaucher disease. *EBioMedicine*. 2018;28:251-60 DOI: 10.1016/j.ebiom.2018.01.022.
65. Li B, Castano AP, Hudson TE, Nowlin BT, Lin S-L, Bonventre JV, et al. The melanoma-associated transmembrane glycoprotein Gpnmb controls trafficking of cellular debris for degradation and is essential for tissue repair. *The FASEB Journal*. 2010;24(12):4767-81.
66. Kramer G, Wegdam W, Donker-Koopman W, Ottenhoff R, Gaspar P, Verhoek M, et al. Elevation of glycoprotein nonmetastatic melanoma protein B in type 1 Gaucher disease patients and mouse models. *FEBS Open Bio*. 2016;6(9):902-13 DOI: 10.1002/2211-5463.12078.
67. Murugesan V, Liu J, Yang R, Lin H, Lischuk A, Pastores G, et al. Validating glycoprotein non-metastatic melanoma B (gpNMB, osteoactivin), a new biomarker of Gaucher disease. *Blood Cells, Molecules, and Diseases*. 2018;68:47-53 DOI: 10.1016/j.bcmd.2016.12.002.
68. Ługowska A, Hetmańczyk-Sawicka K, Iwanicka-Nowicka R, Fogtman A, Cieśla J, Purzycka-Olewiecka JK, et al. Gene expression profile in patients with Gaucher disease indicates activation of inflammatory processes. *Scientific reports*. 2019;9(1):1-14 DOI: 10.1038/s41598-019-42584-1.
69. Boot RG, Verhoek M, De Fost M, Hollak CE, Maas M, Bleijlevens B, et al. Marked elevation of the chemokine CCL18/PARC in Gaucher disease: a novel surrogate marker for assessing therapeutic intervention. *Blood*. 2004;103(1):33-9 DOI: 10.1182/blood-2003-05-1612.
70. Medrano-Engay B, Irun P, Gervas-Arruga J, Andrade-Campos M, Andreu V, Alfonso P, et al. Iron homeostasis and inflammatory biomarker analysis in patients with type 1 Gaucher disease. *Blood Cells, Molecules, and Diseases*. 2014;53(4):171-5 DOI: 10.1016/j.bcmd.2014.07.007.
71. Polo G, Burlina AP, Kolamunnage TB, Zampieri M, Dionisi-Vici C, Strisciuglio P, et al. Diagnosis of sphingolipidoses: a new simultaneous measurement of lysosphingolipids by LC-MS/MS. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)*. 2017;55(3):403-14.
72. Gras-Colomer E, Martínez-Gómez MA, Climente-Martí M, Fernandez-Zarzoso M, Almela-Tejedo M, Giner-Galvañ V, et al. Relationship between glucocerebrosidase activity and clinical response to enzyme replacement therapy in patients with Gaucher Disease type I. *Basic &*

- clinical pharmacology & toxicology. 2018;123(1):65-71 DOI: 10.1111/bcpt.12977.
73. Bodamer OA, Hung C. Laboratory and genetic evaluation of Gaucher disease. *Wiener Medizinische Wochenschrift*. 2010;160(23-24):600-4 DOI: 10.1007/s10354-010-0814-1.
74. Franco-Ornelas S. Mexican consensus on Gaucher's disease. *Revista Médica del Instituto Mexicano del Seguro Social*. 2010;48(2):167-86.
75. Carbajal-Rodríguez L, Gómez-González MF, Rodríguez-Herrera R, Zarco-Román J, Mora-Tiscareño MA. Terapia de reemplazo enzimático en una paciente con enfermedad de Gaucher tipo III. *Acta Pediátrica de México*. 2012;33(1):9-19.
76. Pompa-Garza MT, González-Villarreal MG, Cedillo-de la Cerda JL. Experiencia en el manejo de pacientes pediátricos con enfermedad de Gaucher. *Revista Médica del Instituto Mexicano del Seguro Social*. 2010;48(6):653-6.
77. Fraile PQ, Hernández EM, García-Silva MT. Evolución clínica de dos pacientes pediátricos con enfermedad de Gaucher en tratamiento enzimático durante 9 años. *Medicina Clínica*. 2011;137:43-5.
78. Navarrete-Martínez JI, Limón-Rojas AE, de Jesús Gaytán-García M, Reyna-Figueroa J, Wakida-Kusunoki G, del Rocío Delgado-Calvillo M, et al. 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*. 2017;121(1):16-21 DOI: 10.1016/j.ymgme.2017.03.001.
79. Hassan S, Sidransky E, Tayebi N. The role of epigenetics in lysosomal storage disorders: uncharted territory. *Molecular Genetics and Metabolism*. 2017;122(3):10-8 DOI: 10.1016/j.ymgme.2017.07.012.