



UNIVERSIDAD
DE LA REPÚBLICA
URUGUAY



Facultad de Veterinaria
Universidad de la República
Uruguay

UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA

FACULTAD DE VETERINARIA

**GANGLIOSIDOSIS HEREDITARIA FELINA. ACTUALIZACIÓN EN TÉCNICAS DE
DIAGNÓSTICO, TRATAMIENTO y CONTROL**

por

Lois GOODSON

TESIS DE GRADO presentada como uno de los requisitos
para obtener el título de Doctor en Ciencias Veterinarias,
Orientación: Higiene, Inspección, Control y Tecnología de los Alimentos de Origen
Animal

MODALIDAD: Revisión Monográfica.

MONTEVIDEO

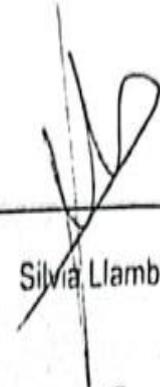
URUGUAY

2023

PÁGINA DE APROBACIÓN

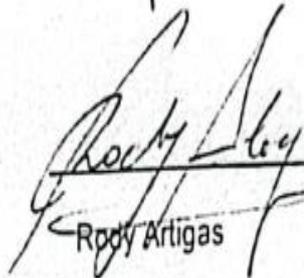
Tesis de grado aprobada por:

Presidente de mesa:



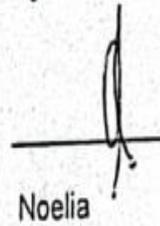
Silvia Llambi

Segundo miembro (Tutor):



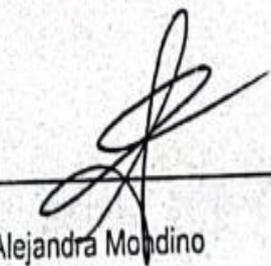
Rody Artigas

Tercer miembro:



Noelia Vázquez

Cuarto miembro (Co-tutor):



Alejandra Mondino

Agradecimientos

Le quiero agradecer a la Facultad de Veterinaria, ya que es como mi segundo hogar, a mis tutores que me han apoyado y enseñado muchísimo, y a mi familia y amigos.

Tabla de contenido

Agradecimientos	3
Lista de Tablas y Figuras	5
Resumen	6
Summary	7
1.Introducción	8
2 Objetivos	11
2.1. Objetivo General:	11
2.2. Objetivos específicos	11
1.Revisión Bibliográfica	12
3.1 Las enfermedades de depósito lisosomal (EDL).	12
3.1.1. Enfermedad por acúmulo de esteres de colesterol:	13
3.1.2. Glicoproteinosis:	14
3.1.3. Enfermedades de almacenamiento de Glucógeno:	15
3.1.4 Mucopolidosis:	17
3.1.5 Mucopolisacaridosis:	17
3.1.6. Esfingolipidosis:	18
3.2 Gangliosidosis	20
3.2.1. Gangliosidosis GM1	21
3.2.2. Gangliosidosis GM2	23
3.2.3. Signos clínicos:	24
3.2.4. Diagnostico:	26
3.2.5 Tratamiento	35
4. Conclusiones	43
5 Bibliografía	44

Lista de Tablas y Figuras

Tablas	Página
1. Diferentes tipos de glucosidosis en los animales domésticos.	16
2. Resumen de parámetros afectados en ambos tipos de Gangliosidosis	28
Figuras	Página
1. Imagen del gen y la proteína afectada en la gangliosidosis tipo 1	22
2. Esquema de los mecanismos de acción en los genes y las proteínas afectadas de la Gangliosidosis GM2	24
3. Imágenes radiográficas de un caso de gangliosidosis felina	25
4. Imágenes de resonancia magnética en gatos normales y con ganliosidosis	29
5. Registro electroencefalográfico de un gato con gangliosidosis GM1 y de un gato normal	30
6. Electroforesis en gel de agarosa para la detección de una mutación responsable de GM2	31
7. Electroforesis en gel de agarosa para la detección de la mutación responsable de la GM1	32
8. Hallazgos histopatológicos en animales afectados y no afectados con gangliosidosis	33

Resumen

La gangliosidosis es una enfermedad de depósito lisosomal, de naturaleza hereditaria, que afecta al sistema nervioso de diferentes especies animales. En el gato doméstico se han descrito dos formas denominadas GM1 y GM2 (con las variantes Sandhoff, también conocida como variante O y AB), en función del tipo de gangliósido acumulado en los lisosomas. A diferencia de otras enfermedades neurodegenerativas, la gangliosidosis felina se manifiesta principalmente a edad temprana. Los principales síntomas clínicos incluyen ataxia, disfunciones motoras, temblores en la cabeza, trastornos visuales, pérdidas de reacciones posturales, hiperreflexia, convulsiones y retraso en el crecimiento. La enfermedad se presenta en gatos de diferentes razas, así como en mestizos. La GM1 es producto de una única mutación en el gen *GLB1* que codifica para la enzima β -galactosidasa, mientras que la base molecular de la GM2 resulta mucho más compleja. La variante de Sandhoff presenta heterogeneidad alélica, pudiendo presentarse como consecuencia de tres mutaciones diferentes en el gen *HEXB* que codifica para la subunidad β de la enzima hexosaminidasa. En cambio, la variante AB es producto de una mutación en el gen *GM2*. El mecanismo de herencia de esta enfermedad es autosómico recesivo, viéndose afectados los animales de genotipo homocigota para la mutación. El diagnóstico de la enfermedad reviste de dificultad, puesto que no existen técnicas antemortem que permitan llegar a un diagnóstico definitivo. La confirmación del mismo se realiza postmortem en función de las lesiones histopatológicas en los tejidos afectados y la detección característica de acúmulos de bioquímicos a nivel neuronal. En esta tesis se ha realizado una revisión bibliográfica de los diferentes aspectos de la enfermedad en el gato doméstico, profundizando en su patogenia, signos clínicos, epidemiología, diagnóstico y terapéutica, a los efectos de brindar una compilación actualizada del estado del arte de la enfermedad.

Summary

Gangliosidosis is a hereditary lysosomal storage disease that affects the nervous system of different animal species. Two forms have been described in the domestic cat, based on the type of ganglioside accumulated in the lysosomes, gangliosidosis GM1 and GM2 (with two variants, Sandhoff, also known as variant 0 and AB). Unlike other neurodegenerative diseases, feline gangliosidosis manifests mainly at an early age. The main clinical signs include ataxia, motor dysfunction, head tremors, visual disturbances, loss of postural reactions, hyperreflexia, seizures, and delayed growth. The disease occurs in cats of different breeds, as well as in mix breeds. GM1 is caused by a mutation in the *GLB1* gene which codes for the enzyme β -galactosidase, while the molecular basis of GM2 is much more complex. The Sandhoff variant presents allelic heterogeneity and can occur as a consequence of three different mutations in the *HEXB* gene that codes for the β subunit of the Hexosaminidase enzyme. Instead, the AB variant is the product of a mutation in the *GM2* gene. The inheritance mechanism of this disease is autosomal recessive, and animals with a homozygous genotype for the mutation are affected. The diagnosis of the disease is challenging, since there are no antemortem techniques that allow to establish a definitive diagnosis. Its confirmation is made postmortem based on the histopathological lesions of the affected tissues and the characteristic detection of accumulations of gangliosides at the neuronal level. In this thesis, a bibliographical review of the different aspects of the disease in the domestic cat has been carried out, delving into its pathogenesis, clinical signs, epidemiology, diagnosis, and therapy, in order to provide an updated compilation of the state of the art of the disease.

1. Introducción

La cría de animales de raza pura ha llevado a un incremento en la endogamia debido a que, en general, los criadores buscan mantener determinados rasgos específicos limitando el número de animales utilizados como reproductores (Gandolfi y Alhaddad, 2015). La fijación de estos rasgos puede verse acompañada, en ocasiones, de características no deseadas como defectos hereditarios congénitos, o que se expresan en etapas posteriores de la vida del animal (Gandolfi y Alhaddad, 2015).

Un defecto congénito hace referencia a anomalías estructurales y/o funcionales que se presentan al momento del nacimiento, producto de errores durante la embriogénesis, desde lo molecular hasta lo orgánico (Ahmady, Lisey y Sajjad, 2009). Las alteraciones pueden abarcar un órgano específico, parte de o, incluso, un sistema completo, lo que podría llevar a la muerte del animal. Algunas anomalías reproductivas, musculares o nerviosas no se presentan en el momento del nacimiento, sino que, en etapas posteriores de la vida postnatal, independientemente de que su origen se haya dado durante el desarrollo embrionario (Noden y De Lahunta, 1990). Dada su presentación tardía, en algunos casos es posible que los animales afectados dejen descendencia, transmitiendo el defecto a las siguientes generaciones.

Dentro de las enfermedades hereditarias no congénitas en los pequeños animales, las neurológicas han cobrado especial interés por ser consideradas especialmente invalidantes (Noden y De Lahunta, 1985). Las patologías neurológicas hereditarias más comunes suelen ser neurodegenerativas, lo que lleva al deterioro gradual de los animales. Algunas de las mismas presentan gran similitud y han servido como modelos naturales de ciertas patologías en humanos, como por ejemplo, las enfermedades de depósito lisosomal (EDL) (O'Brien y Leeb, 2014)

Las EDL consisten en desórdenes que afectan el mecanismo de degradación de macromoléculas que son transportadas a los lisosomas para ser degradadas, conduciendo a su acumulación dentro de los mismos (Lara-Aguilar, Juárez-Vázquez y Medina-Lozano, 2011)

La gangliosidosis es un ejemplo claro de EDL. Esta patología de naturaleza hereditaria, autosómica recesiva, produce un cuadro neurológico de curso progresivo y fatal. Ha sido reconocida en el hombre y en otros animales domésticos, como en felinos, caninos y bovinos (OMIA, 2022), y se caracteriza por la acumulación patológica de gangliósidos a nivel de los lisosomas. Los gangliósidos son glicoesfingolípidos, componentes exteriores de las membranas plasmáticas en las células animales que cumplen diversas funciones en la interacción y diferenciación celular, organización de las membranas e inflamación (Kohyama et al., 2016; Leal et al., 2020). Los principales gangliósidos neuronales son el GM1 y GM2 y la acumulación de los mismos conduce a la gangliosidosis GM1 y gangliosidosis GM2 respectivamente (Kohyama et al., 2016). La acumulación masiva de estos gangliósidos a nivel cerebral debido a la deficiencia de la actividad de enzimas lisosomales conduce al daño y disfunción neural producto de diversas respuestas citotóxicas, que llevan a un cuadro clínico neurodegenerativo (Brunetti-Pierri y Scaglia, 2008; Rigat et al., 2012; Ueno et al., 2016).

La gangliosidosis ha sido particularmente estudiada en el gato doméstico ya que es el principal modelo animal utilizado para la investigación de la enfermedad en humanos por diversas razones (Mc Coll y Vadolas, 2016). En primer lugar, en ratones (principal animal utilizado como modelo en la investigación preclínica de enfermedades) la enfermedad no ocurre de forma natural y los modelos transgénicos no han logrado reproducir las características fenotípicas de la patología en humanos debido a que los ratones poseen vías alternativas para la degradación de gangliósidos. Dentro de los animales domésticos, la enfermedad ha sido más ampliamente descrita en gatos que en perros. Además, existen grandes similitudes fenotípicas, bioquímicas y genéticas entre las enfermedades en gatos y en humanos y el gato ha tenido un papel líder en cuanto a la genómica comparativa (O'Brien, 2002). Otra ventaja de los gatos frente a los ratones es su cerebro más desarrollado y con una organización similar a la de los humanos, así como también un mayor tamaño corporal que facilita la extracción de muestras de sangre o líquido cefalorraquídeo (LCR) (Griffin y Baker, 2002; Lawson y Martin, 2016)

Desafortunadamente, en la actualidad, no existe una cura definitiva para estas enfermedades, por lo cual nuevas terapias están siendo continuamente evaluadas mediante estudios preclínicos y clínicos (Bradbury et al., 2013; Cachon-Gonzalez, Zaccariotto y Cox, 2018; Hayward, Patel, Manohar y Lyon, 2015) Algunas de estas terapias resultan muy novedosas y han mostrado gran potencialidad para el tratamiento de esta y otras enfermedades hereditarias como, por ejemplo, la terapia de reemplazo y mejora enzimática (Condori et al., 2016; Rigat et al., 2012), el trasplante de médula ósea (Condori et al., 2016 ; Norflus et al., 1998) y la terapia génica (Bradbury et al., 2013; McCurdy et al., 2014)

En este trabajo se pretende describir la fisiopatología, presentación clínica, métodos de diagnóstico y tratamiento de las gangliosidosis en gatos. Se realizará especial énfasis en los avances obtenidos en la búsqueda de terapias que pueden ser útiles para el tratamiento de estas y otras enfermedades neurodegenerativas en medicina veterinaria, así como también su posible traslación a la medicina humana.

2 Objetivos

2.1. Objetivo General:

Realizar una revisión bibliográfica sobre gangliosidosis en el gato doméstico, describiendo su fisiopatología, las herramientas actuales para su diagnóstico, prevención y control, así como los tratamientos disponibles en la actualidad y aquellos tratamientos potenciales que están siendo evaluados en estudios preclínicos.

2.2. Objetivos específicos

- a. Describir la fisiopatología de los diferentes tipos de gangliosidosis en felinos domésticos.
- b. Describir y comparar las diferentes técnicas de diagnóstico disponibles y su utilidad en el control y la prevención de la gangliosidosis.
- c. Describir las terapias disponibles y en fase experimental para la gangliosidosis y comparar sus ventajas y desventajas.

1. Revisión Bibliográfica

3.1 Las enfermedades de depósito lisosomal (EDL).

Los lisosomas son organelos citoplasmáticos relacionados con el catabolismo y recambio de macromoléculas, tales como proteínas, sacáridos y lípidos complejos (Jolly y Walkley, 1997). Las EDL son errores innatos del metabolismo caracterizados por la acumulación excesiva de esas macromoléculas, lo que causa la disfunción del órgano afectado, dando lugar a una gran morbilidad y mortalidad. Los síntomas son muy variables entre las diferentes EDL, pero están directamente vinculados con el sitio de acumulación del sustrato.

En los humanos se han descrito más de 30 EDL, con varios subtipos, producto de deficiencias en las enzimas hidrolasas de los lisosomas (Jolly y Walkley, 1997). Muchas de las EDL descritas en humanos han sido reconocidas en los animales domésticos, algunas como casos aislados, pero otras de gran importancia, ya sea por su frecuencia y severidad, como por tratarse de valiosos modelos para enfermedades análogas en el hombre (Jolly y Walkley, 1997).

Los trastornos de almacenamiento lisosomal (LSD) ocurren a partir de mutaciones en diferentes genes (Meikle, Hopwood, Clague y Carey, 1999). Las mutaciones sin sentido (que producen un codón stop prematuro) tienen un efecto mucho mayor que las mutaciones de pérdida de sentido (mutaciones que producen un cambio aminoacídico). De todas formas, el fenómeno de heterogeneidad alélica ha sido ampliamente comunicado en estas enfermedades, donde muchas mutaciones diferentes son capaces de producir la misma enfermedad

Las EDL que son hereditarias siguen un patrón de herencia monogénica autosómica recesiva en la mayoría de los casos y tienden a recibir el nombre del sustrato que se acumula a nivel celular (Jolly y Walkley, 1997). Es importante destacar que también existen EDL secundarias, las cuales se producen como consecuencia de la ingestión de sustancias capaces de inhibir el funcionamiento de las enzimas lisosomales (Jolly y Walkley, 1997). Independientemente del tipo, casi todas afectan al sistema nervioso, principalmente a las neuronas, puesto que son células postmitóticas longevas, lo que permite que el sustrato no degradado se acumule (Jolly, 1993)

A continuación, se comentarán brevemente las principales EDL comunicadas en los animales domésticos:

3.1.1. Enfermedad por acúmulo de esteres de colesterol:

La enfermedad por acúmulo de esteres de colesterol, también conocida como enfermedad de Wolman se ha descrito en humanos y caninos (Jolly y Walkley, 1997). La misma se produce como consecuencia de una deficiencia a nivel de una enzima lipasa lisosomal, llevando a la acumulación de triglicéridos y esteres de colesterol en los macrófagos del hígado y bazo. Este depósito lipídico da como resultado un aumento en el tamaño del hígado y del bazo (hepatoesplenomegalia). Además, se acumulan esteres de colesterol en la médula ósea, intestino y glándulas suprarrenales (Valles-Ayoub et al., 2011). En los bebés afectados se describen casos de desnutrición grave, llegándose a la muerte antes de llegar al año de vida. En los caninos los reportes son escasos, habiéndose descrito en animales de la raza Fox Terrier los cuales murieron aproximadamente al año de edad (Jolly y Walkley, 1997)

3.1.2. Glicoproteínosis:

- α -manosidosis: ocurre por deficiencia de una enzima que ocasiona la acumulación en los lisosomas de productos del catabolismo de oligosacáridos ricos en manosa y glicoproteínas. La enfermedad es de rara ocurrencia en los humanos, pero ha sido reconocida como una importante enfermedad de depósito lisosomal en animales domésticos como por ejemplo los bovinos (OMIA 000625-9913) (Jolly y Walkley, 1997). En nuestro país dicha enfermedad se diagnosticó en el año 2001 en novillos de la raza Aberdeen Angus (Rivero, Kautz, Gomar, Barros y Gimeno, 2001). La mutación de la α -manosidasa bovina equivale a la enfermedad en humanos de α -manosidosis B (Kelly et al, 2012).

La α -manosidosis también fue reportada en gatos de pelo corto y en gatos persa (Jolly y Walkley, 1997). El modo de herencia es autosómico recesivo, y está causada por una delección de 4pb (c.1749_1752delCCAG) en el gen *MAN2B1* (que codifica para la enzima α -mannosidasa). Esto provoca un codón stop prematuro y como consecuencia una proteína trunca incapaz de ejercer su función (Berg, Tollersrud, Walkley, Siegel y Nilssen, 1997). La α -manosidasa se necesita para que las glicoproteínas puedan ser degradadas. La deficiencia en esa enzima provoca que oligosacáridos ricos en manosa se acumulen a nivel intracelular (Kumar et al., 2016). Los signos que se pueden observar son: déficits neurológicos (ataxia, temblores, pérdida de equilibrio y pérdida de audición), retraso en el crecimiento, temblores de cabeza, agresión, parálisis y muerte (Kumar et al., 2016). También se ha descrito deformaciones esqueléticas, hiperplasia gingival y opacidades corneales y lenticulares (OMIA, 2022). Si no se los expone a tratamiento, su esperanza de vida no suele superar los 6 meses.

- β -mannosidosis: patológicamente es similar a la α -manosidosis, pero con efectos más severos (Jolly y Walkley, 1997). Se trata también de un trastorno autosómico recesivo, que ha sido reportado en los bovinos (OMIA 000626-9913), caprinos (OMIA 000626-9925) y caninos (OMIA 000626-9615). El gen responsable de la enfermedad en estas especies es *MANBA* que codifica para la enzima β -manosidasa A (OMIA, 2022).

- Fucosidosis: es otro tipo de glicoproteínosis en la cual se acumulan diferentes azúcares en los lisosomas. Se ha descrito en los perros Springer Spaniel (OMIA 000396-9615) como consecuencia de una deficiencia en la enzima fucosidasa- α -L1 (Occhiodoro y Anson, 1995). Se trata de una enfermedad de almacenamiento lisosomal a nivel neurovisceral de carácter multifocal que produce la muerte de los animales en torno a los 4 años de edad (Taylor, Farrow, y Healy 1987). En la raza Springer Spaniel la enfermedad es causada por una delección de 14pb al final del primer exón del gen *FUCA1*. En los felinos la enfermedad también ha sido descrita (OMIA00396-9685), sin embargo, aún no se conoce el gen responsable de la misma (OMIA, 2022). Los signos son principalmente de naturaleza nerviosa, aunque, inespecíficos como ataxia e hipermetría (Arrol, Kerrins, Yamakawa y Smith, 2011).

3.1.3. Enfermedades de almacenamiento de Glucógeno:

La enfermedad de almacenamiento de glucógeno se caracteriza por la acumulación de ese polisacárido en los lisosomas. Ha sido descrita en diferentes especies domésticas y es producto de mutaciones en diferentes enzimas lisosomales que dan lugar a distintos tipos de glucosidosis (tabla 1).

Es una enfermedad que causa trastornos multisistémicos, de origen autosómico recesivo. Principalmente se ven afectados el músculo cardíaco y esquelético. En algunos casos reportados en humanos el inicio de la enfermedad ocurre en los primeros 1-2 años de vida, produciéndose la muerte por insuficiencia cardíaca y respiratoria (Schoser, Hill, y Raben., 2008) Se pueden llegar a ver afectados otros sistemas como el sistema nervioso periférico y central. Este grupo de enfermedades afecta a varias especies, en las cuales difieren la edad de inicio de los signos, la morbilidad y mortalidad. Cada tipo en los diferentes animales posee una variación fenotípica a nivel clínico, clasificándose las mismas según la deficiencia enzimática específica (Almodóvar-Payá et al., 2020).

Tabla 1. Diferentes tipos de glucosidosis en los animales domésticos

Especie	Tipo	OMIA	Gen	Mutacion	Herencia	Referencia
Perro	Tipo VII	000421-9615	<i>PFKM</i>	c.2228G>A ¹ c.550C>T ²	AR	Smith et al., 1996
	Tipo Ia	000418-9615	<i>G6PC</i>	c.363G>C ³ c.634_635insN[76] ⁴	AR	Kishnani et al., 1997
	Tipo IV	000420-9615	S/D	S/D	S/D	Jolly et al. (2002)
	Tipo II	000419-9615	<i>GAA</i>	S/D	S/D	Seppälä et al. (2013)
	Tipo IIIa	001577-9615	<i>AGL</i>	c.4223del ⁵	AR	Gregory et al., 2007
Gato	Tipo II	000419-9685	S/D	S/D	S/D	Gilbert et al. (1988)
	Tipo IV	00420-9685	<i>GBE1</i>	Del 6,2 kb (elimina el exón 12) + Ins 334pb ⁶	AR	Fyfe et al., 2007
Caballo	Tipo IV	000420-9796	<i>GBE1</i>	c.102C>A ⁷	AR	Ward et al., 2004
Vaca	Tipo II	000419-9913	<i>GAA</i>	c.2454_2455del ⁸ c1783C>T ⁹ c.1057_1058del ¹⁰	AR	Dennis et al., 2000
	Tipo V	001139-9913	<i>PyGM</i>	c.1468C>T ¹¹	AR	Tsujino et al., 1996
	Tipo V	001139-9940	<i>PyGM</i>	c.2380-1G>A ¹²	AR	Tan et al., 1997
Oveja	Tipo II	000419-9940	S/D	S/D	S/D	Manktelow, y Hartley (1975)

Perros: 1: American Cocker Spaniel, English Springer Spaniel y Whippet, 2: Wachtelhund, 3: Maltés, 4: German Pinscher, 5: Curly-coated retriever. Gatos: 6: Norwegian Forest. Caballo: 7: American Paint Horse y American Quarter Horse. Vacas: 8: Shorthorn, 9: Brahman, 10: Brahman y Droughtmaster, Ovejas: 11: Charolais, 12: Merino. AD: autosómica dominante, AR: autosómica recesiva, S/D: sin datos.

3.1.4 Mucopolipidosis:

La mucopolipidosis es otra enfermedad que tiene características en común con las esfingolipidosis así como con las mucopolisacaridosis. Esta enfermedad se asocia con deficiencias enzimáticas por errores que ocurren a nivel de hidrolasas lisosomales, dándose un aumento de las enzimas tanto a nivel extracelular como en el plasma (Jolly y Walkley, 1997). Histológicamente en esta enfermedad se pueden observar vesículas de almacenamiento parecidas a las que también pueden verse en las esfingoliposis y mucopolisacaridosis (Jolly y Walkley, 1997). El contenido de los lisosomas se reporta como oligosacáridos, mucopolisacáridos y lípidos, siendo los tejidos más afectados los huesos, el cartílago, la piel y otros tejidos conectivos, como ser las válvulas cardiacas, la pared aortica y las cuerdas vocales (Bosshard et al., 1996). Algunas neuronas del cerebro a nivel de la corteza pueden contener inclusiones lipídicas. Se establece que se encuentran una cantidad de similitudes

tanto clínicas, bioquímicas como morfológicas en este trastorno entre el gato y el humano (Bosshard et al., 1996). En el gato se describe la Mucopolidosis II, la cual ocurre por deficiencia de la enzima Golgi UDP-N-acetilglucosamina-1-fosfotransferasa (GlcNAc-fosfotransferasa) (OMIA, 2022).

3.1.5 Mucopolisacaridosis:

Otro subgrupo de enfermedades de almacenamiento lisosomal son las mucopolisacaridosis (MPS), las cuales también son enfermedades genéticas autosómicas recesivas, y en las cuales hay acumulación de glucosaminoglicanos en los lisosomas, ya que también hay una deficiencia a nivel de la degradación enzimática (Patterson et al., 1989). Se han descrito múltiples trastornos de MPS en los seres humanos, cada uno es debido a una enzima lisosomal específica (Green et al., 1989). En el hombre, las MPS pueden variar desde una hidropesía letal fetal hasta una calidad de vida casi normal (Meikle et al., 1999). En el caso de la MPS tipo VII los glucosaminoglicanos no degradados, se acumulan en diferentes tejidos y esto es debido a la deficiencia de la enzima glucoronidasa (Patterson et al., 1989). Si una mutación afecta solo de forma parcial la actividad enzimática, puede que los signos clínicos se retrasen y no aparezcan de inmediato (O'Brien y Leeb, 2014). Es de suma importancia destacar que se pueden identificar mediante ensayos enzimáticos a los portadores heterocigotos (Patterson et al., 1989). Como tratamientos se ha experimentado con la terapia génica in vitro mediada por fibroblastos (Menotti-Raymon, y O'Brien , 2008), así como también se ha investigado con tratamientos específicos de sustitución enzimática (García Díaz, Mesa Latorre, Corps Fernandez y Valbuena Parra, 2016). Las MPS tienen tres tipos de manifestaciones clínicas, comprendiendo desde un síndrome dismórfico, dificultades en el aprendizaje, trastornos de comportamiento y demencia, hasta una displasia ósea grave (García Díaz et al., 2016)

3.1.6. Esfingolipidosis:

Los esfingolípidos son un grupo importante de lípidos estructurales en los que el compuesto base, las ceramidas (esfingosina + ácidos grasos) se esterifican para formar glicolípidos denominados gangliósidos, globósidos o esfingomielina (Jolly, 1993)

Los errores innatos en la degradación de los esfingolípidos dan lugar a la mayor familia de EDL que afectan tanto al hombre como a los animales (Jolly, 1993) Dentro de estas enfermedades encontramos la gangliosidosis, galactocerebrósidos, glucocerebrosidosis y lipidosis por esfingomielina, que se detallarán a continuación.

a) Galactocerebrosidosis:

La galactocerebrosidosis o también llamada leucodistrofia de células globoides, se trata de una enfermedad de almacenamiento lisosomal que provocada por mutaciones en el gen GALC que codifica para la enzima galactosilceramidasa (Corado et al., 2020)

La enfermedad en perros es caracterizada por la progresión rápida en la disfunción del sistema nervioso, evidenciándose una gran pérdida de mielina, así como también una disminución en el número de oligodendrocitos (Corado et al., 2020). Se documenta la aparición de signos clínicos en perros a las 4-6 semanas de edad, llegando a desarrollar parálisis de las extremidades pélvicas (Corado et al., 2020).

b) Glucocerebrosidosis:

La glucocerebrosidosis, también conocida como enfermedad de Gaucher (GD) es una enfermedad de almacenamiento lisosomal, la cual es causada por un déficit en la actividad de la enzima glucocerebrosidasa hidrolasa lisosomal, la cual es codificada por el gen GBA (Farfel-Becker, Vitner y Futerman, 2011). Esta enfermedad se divide en 3 subtipos, dos de los cuales presentan sintomatología neuropática, además de síntomas a nivel visceral (Farfel-Becker et al., 2011).

c) Lipidosis por esfingomielina:

En la lipidosis por esfingomielina o conocida también como enfermedad de Niemann y Pick (NPD), se trata también de una enfermedad de almacenamiento lisosomal, ocurriendo una reducción o ausencia de la actividad enzimática lo que resulta de acumulación de esfingomielina en los lisosomas (Vapniarsky, Wenger, Scheenstra y Mete, 2013). Podemos encontrar una severa deficiencia de la enzima fosfodiesterasa de esfingomielina, acumulando la misma en macrófagos y neuronas. Se reporta esta enfermedad en gatos domésticos de pelo corto y en los perros caniche

miniatura. También ocurre en los niños, los cuales mueren antes de llegar a los 4 años (Jolly y Walkley, 1997).

Finalmente, dentro de las esfingolipidosis, encontramos a la gangliosidosis, que será descrita en la siguiente sección.

3.2 Gangliosidosis

En esta enfermedad ocurre una acumulación anormal de gangliósidos. Estos están compuestos por un esqueleto de ceramida y una cadena de oligosacáridos con o sin ácido siálico. Se clasifican de acuerdo a la nomenclatura de Svennerholm (1963) la cual consiste en una letra "G" que refiere a "gangliósido", una letra que representa el número de residuos de ácido siálico: A = 0, M = 1, D = 2 y T = 3 y, por último, se incluye un número de acuerdo a la cantidad de residuos de monosacáridos: "1" = 4, "2" = 3 y "3" = 2 (Cavdarli, Groux-degroote y Delannoy, 2019 ;Svennerholm, 1963) Los gangliósidos son componentes de la membrana plasmática neuronal, y, en número adecuado son importantes para diversas funciones neuronales y el desarrollo cerebral ya que se encuentran involucrados en procesos de neurotransmisión, neurogénesis, modulación de transmisión sináptica, regulación de proteínas de membranas, adhesión y transducción de señales de citoquinas (Palmano, Rowan, Guillermo, Guan y Mcjarrow, 2015; Sandhoff y Harzer, 2013) sin embargo, su acúmulo anormal debido a la falla en las enzimas que los degradan provoca la enfermedad gangliosidosis.

En los felinos se han descrito dos tipos principales de gangliosidosis, la gangliosidosis GM1 y la GM2 (por acumulo de gangliósidos del mismo nombre respectivamente) (Martin y col, 2004; McColl y Vadolas, 2016; Uddin et al., 2012). Los gangliósidos GM1 son normalmente degradados por la enzima β -galactosidasa mientras que los GM2 por enzimas hexosaminidasas (Sandhoff y Harzer, 2013). El acúmulo de gangliósidos lleva a la distensión y posterior muerte de las neuronas a nivel del sistema nervioso central, aunque también se ha descrito una afección en menor medida del sistema nervioso periférico. Por último, en algunos casos existe también depósito de gangliósidos en tejidos no neurales como vísceras o tejido óseo (Leal et al., 2020; Sandhoff y Harzer, 2013).

3.2.1. Gangliosidosis GM1

Esta patología ocurre por una mutación en el gen *GLB1*, que codifica para la enzima β -galactosidasa (Figura 1) (Ueno et al., 2016). En humanos se han descrito hasta 56 mutaciones diferentes en este gen, sin embargo, en el gato sólo se conoce la mutación que provoca un cambio de G>C (c1448G>C) en el exón 14 del gen *GLB1*, que produce una sustitución de arginina por prolina en la posición 483 de la proteína (p. R483P) provocando una enzima β -galactosidasa no funcional (Martin et al., 2008). La mutación ha sido demostrada en gatos de la raza siamés (Martin et al., 2004; Uddin et al., 2012) Korat (Wang y Smith, 2007) y mestizos (Udin et al., 2012), sugiriendo que la mutación puede estar mundialmente distribuida.

La β -galactosidasa no solo se encarga de la degradación de los gangliósidos GM1 sino también de otros oligosacáridos y de queratán sulfato. Por lo tanto, la gangliosidosis GM1 puede acompañarse de oligosacaridosis y mucopolisacaridosis (Martin et al., 2008). Si bien el sistema nervioso central es el sistema más afectado, también se han observado lesiones a nivel del sistema nervioso periférico, lesiones oculares y atrofia del timo (Murray, Blakemore y Barnett, 1977).

En humanos, se han descrito tres subtipos de la enfermedad de acuerdo a los signos clínicos y la edad de presentación. La GM1 infantil (tipo 1), la juvenil (tipo 2) y la forma adulta (tipo 3). La forma infantil es la más severa, con los signos presentándose a los 6 meses de edad y conduciendo a la muerte en 2 a 4 años. En esta forma ocurren alteraciones en la forma de la cara (con forma de gárgola) y hepatoesplenomegalia. En la gangliosidosis tipo 2 los primeros signos aparecen entre los 7 meses y los 5 años de edad.

Por último, en el tipo 3 los signos ocurren en la adolescencia y es la que presenta los signos clínicos menos severos, lo cual se atribuye a que existe un grado de actividad residual de la beta galactosidasa. En estas últimas formas no ocurren cambios morfológicos ni hepatoesplenomegalia (Baker, Lindsey, McKhann y Farrell 1971; Rha, Maguire y Martin, 2021).

En felinos, la forma descrita se asemeja a la forma juvenil (tipo 2) de los humanos. Se caracteriza por la presencia de temblores de cabeza y miembros que progresan a una disfunción motora progresiva, dismetría, ataxia que pueden conducir a tetraplejía, seguidas por ceguera y crisis epilépticas en las etapas terminales de la enfermedad. Los signos comienzan a manifestarse a partir de los 3 meses y medio de edad y la muerte ocurre aproximadamente a los 10 meses (Baker et al, 1971; Jope, Baker y Connor, 1986; Martin et al., 2008).

En los gatos con GM1, al igual que en la gangliosidosis juvenil en humanos no ocurren alteraciones morfológicas. Sin embargo, se han descrito alteraciones en tejidos no neurales como, por ejemplo, a nivel ocular, presentándose opacidad corneal y lesiones en la retina que conducen a ceguera (Murray et al., 1977).

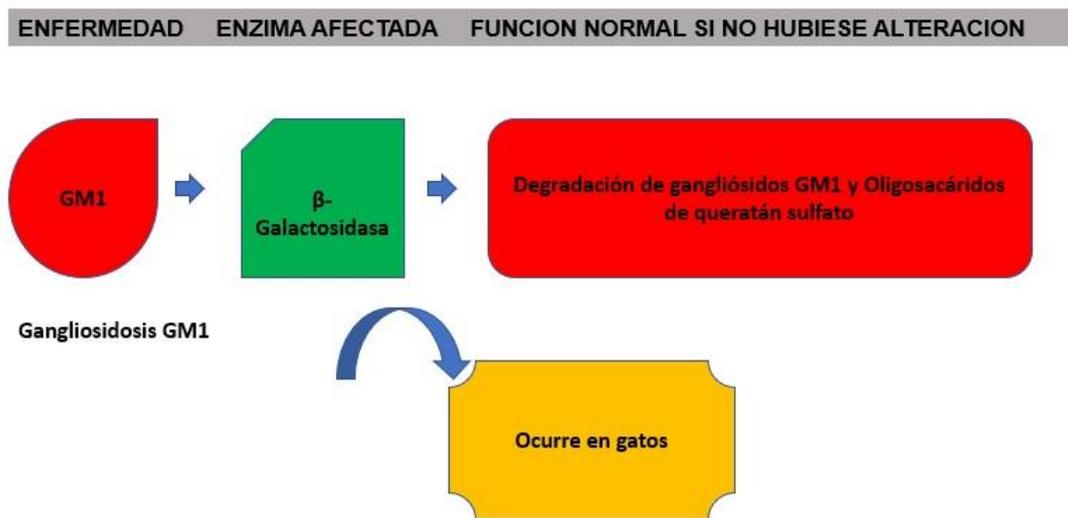


Figura 1: Imagen del gen y la proteína afecta en la gangliosidosis tipo 1. Debido a la falla en la enzima β -galactosidasa, en la gangliosidosis tipo 1 no ocurre la degradación de los GM1 en los lisosomas y estos se acumulan.

3.2.2. Gangliosidosis GM2

En la gangliosidosis GM2 la acumulación de gangliósidos GM2 es debida a la falla en las enzimas β -N-acetil hexosaminidasas (Hex) (McColl y Vadolas, 2016). Las Hex consisten en 3 isoenzimas, cada una compuesta por dos subunidades; la HexA compuesta por la subunidad α y β , la HexB por dos subunidades β y la HexS por dos subunidades α . Un gen específico codifica para cada subunidad, el gen *HEXA* para la subunidad α y la *HEXB* para la subunidad β (Lawson y Martin, 2016). Adicionalmente, existe una proteína GM2 activadora que es necesaria para la degradación de gangliósidos por parte de las Hex. Por lo tanto, un daño en cualquiera de las subunidades de las Hex o en la proteína activadora puede provocar gangliosidosis (Figura 2).

En humanos existen tres variantes de gangliosidosis que se clasifican de acuerdo a la subunidad que permanece funcional: En primer lugar, la variante B ocurre por una falla en el gen *HEXA* y por lo tanto una subunidad alfa deficiente, afectando las proteínas HexA y HexS. Esta patología también es conocida con el nombre de enfermedad de Tay–Sachs (Chen et al., 2018). La variante 0, también conocida como enfermedad de Sandhoff ocurre por la deficiencia de la subunidad β , dañando por lo tanto a la HexA como a la HexB (Lawson y Martin, 2016). Por último, la variante AB deja las enzimas HexA y HexB intactas pero la proteína activadora se encuentra afectada (Martin et al., 2005). En los felinos domésticos se han descrito dos de las tres formas de gangliosidosis GM2: la variante 0 (OMIA 001462, 2020) y la variante AB (OMIA 001427, 2020).

En cuanto a la variante 0, las mutaciones varían en las distintas razas, en el Korat, por ejemplo, la enfermedad se produce por la delección de una citosina en la posición +39, lo que genera un codón stop prematuro (Muldoon, Neuwelt, Pagel y Weiss, 1994), mientras que, en el gato doméstico de pelo corto ocurre por una inversión de 25pb al inicio de *HEXB* (Martin et al., 2004) o por un cambio de C>T en la posición 667 (Kanae et al., 2007). En el Burmés se da por una delección de 15pb entre el intrón 11 y el exón 12 (Bradbury et al., 2009). Por otra parte, la variante AB ha sido reportada en una familia de gatos domésticos de pelo corto, producto de una

delección de cuatro pares de bases entre la posición 516 y 519 del gen GM2 (Martin et al., 2005).

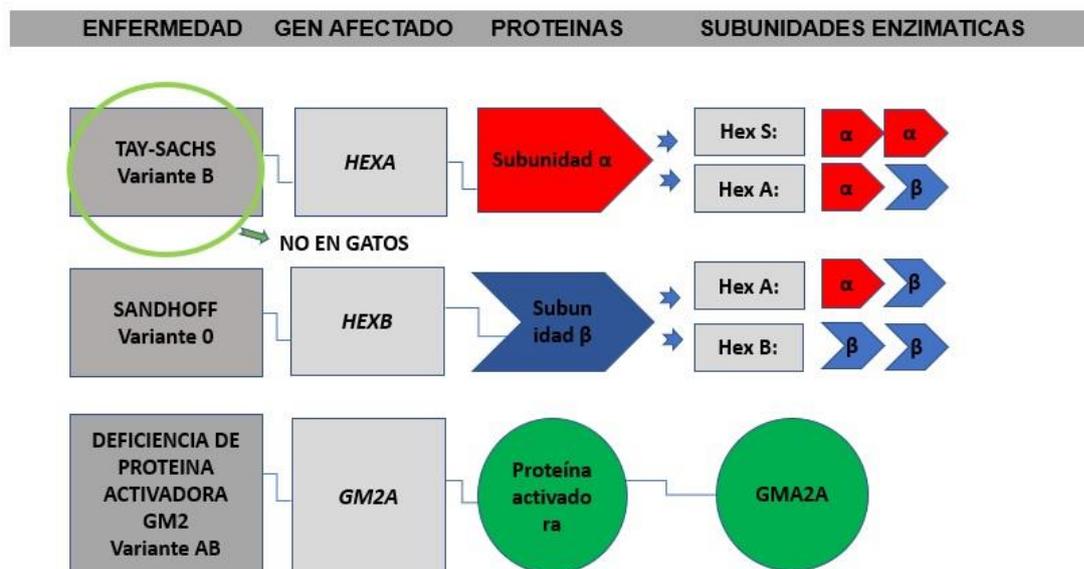


Figura 2: Esquema de los mecanismos de acción en los genes y las proteínas afectadas de la Gangliosidosis GM2

Como fue mencionado anteriormente, en el gato se han reportado dos de los tres tipos de gangliósidos GM2 existentes en humanos, la variante 0 o enfermedad de Sandhoff y la variante AB. La presentación clínica de la variante 0 ha sido descrita en gatos domésticos de pelo corto (Cork et al., 1977), gatos Korat (Muldoon et al., 1994; Neuwelt et al., 1985) gatos domésticos japoneses (Hasegawa et al., 2007; Kanae y col, 2007; Yamato et al., 2004, 2008) gatos burmeses (Bradbury et al., 2009).

3.2.3. Signos clínicos:

Todos los tipos de gangliosidosis se caracterizan por la afectación del sistema nervioso central, aunque puede existir también involucramiento del sistema nervioso periférico somático y autónomo. Adicionalmente, en la gangliosidosis GM1 y en la variante 0 de la GM2 puede ocurrir una afectación extraneuronal (Sandhoff y Harzer, 2013).

La enfermedad se manifiesta a edades tempranas (tres a cuatro meses en gatos), y la sobrevivida no supera los nueve meses debido al severo deterioro (Ueno et al., 2016). Sin embargo, en algunas razas de gatos el inicio de los signos puede ser aún más temprano, por ejemplo en el gato Burmés, en el que los primeros signos puede aparecer desde las 4 semanas de edad (Bradbury et al., 2009). Contrariamente, también

existe un reporte de caso de GM2, variante AB en la que los signos clínicos se presentaron de forma tardía (a los 14 meses de edad) (Martin et al., 2005).

Los principales signos clínicos de la gangliosidosis son: ataxia, disfunciones motoras, temblores en la cabeza, trastorno visual, pérdida de reacciones posturales, hiperreflexia en las cuatro extremidades y convulsiones. Además, se han descrito nistagmo, atrofia muscular generalizada, disfagia y disuria (Bradbury et al., 2009; Cork et al., 1977; Kohyama et al., 2016; Ueno et al., 2016). Por último, se ha reportado enanismo o retardo en el crecimiento

En gatos con gangliosidosis GM2 variante 0 se han observado casos de enanismo o retraso del crecimiento (Yamato et al., 2004; Yamato et al., 2008).

Recientemente se han descrito anomalías esqueléticas en gatos con GM2 variante 0 como, por ejemplo, alteración en la forma de cuerpos vertebrales y osteopenia en la columna vertebral y neoformación ósea en las facetas articulares (yu et al., 2022). Las imágenes radiográficas presentadas en este artículo pueden ser observadas en la Figura 3. Además, otro reporte describió alteraciones radiolúcidas en las epífisis de humero, radio distal y tibia (Gray-Edwards et al., 2015). Cuando la enfermedad se manifiesta con alteraciones óseas se la denomina como “de fenotipo similar a mucopolisacaridosis”

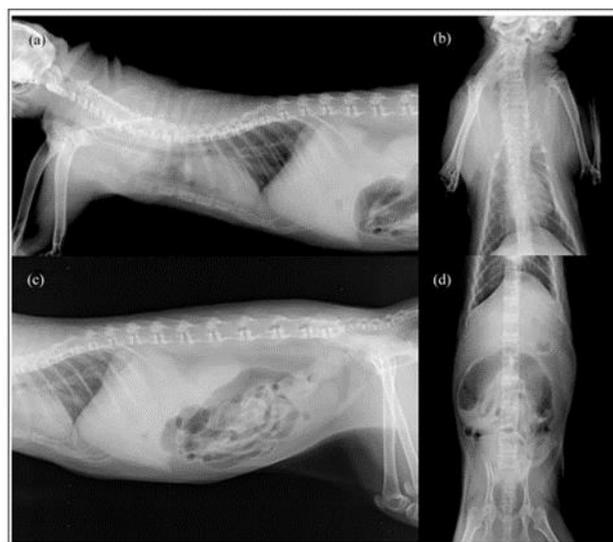


Figura 3: Imágenes radiográficas de un caso de gangliosidosis felina. (a) radiografía cervicotorácica lateral derecha; (b) radiografía cervicotorácica dorsoventral; (c) radiografía abdominal lateral derecha; y (d) radiografía abdominal dorsoventral, tomado de Yu et al. (2022).

3.2.4. *Diagnostico:*

No es posible realizar un diagnóstico definitivo de gangliosidosis ante-mortem. El diagnóstico presuntivo se basa en la anamnesis, signos clínicos, cambios en la bioquímica sanguínea y del LCR, la presencia de lesiones características en la resonancia magnética, alteraciones características en estudios electrofisiológicos, la exclusión de otros diagnósticos diferenciales. Además, es posible confirmar la presencia de la mutación mediante test genéticos (Ueno et al., 2016).

El diagnóstico definitivo puede ser realizado post-mortem mediante análisis histológicos, siendo muy utilizadas las técnicas de inmunohistoquímica e inmunofluorescencia para detectar la acumulación patológica de los gangliósidos (Kohyama et al., 2016).

Uno de los principales diagnósticos diferenciales en estos animales es la hipoplasia cerebelosa, enfermedad que cursa con la presencia de temblores de 2 a 6 veces por segundo. Otros signos presentes son ataxia, hipermetría, inclinación de cabeza y nistagmo (Platt y Olby, 2014). Una de las principales diferencias con las gangliosidosis es que los signos clínicos en la hipoplasia cerebelosa no son progresivos, generalmente permanecen estáticos o suelen mejorar cuando el animal crece (Platt y Olby, 2014). Se trata de una malformación congénita la cual se puede ver a las 3 semanas de vida, cuando los animales intentan ponerse de pie y querer caminar (Platt y Olby, 2014). La causa más estudiada de este trastorno es la infección intrauterina por el parvovirus causante de la panleucopenia felina, presentándose en camadas donde la madre sufrió una infección natural (Poncelet et al., 2013) o fue vacunada contra este virus durante la gestación, pero aún no se sabe con certeza si la infección natural se da en el útero o a los pocos días del nacimiento (De Lahunta, Glass y Kent, 2014). Por lo tanto, es importante descartar esta patología a la hora de establecer el diagnóstico presuntivo ante-mortem. Para ello, es necesario realizar resonancia magnética que, en caso de hipoplasia cerebelosa, permitirá la observación de un cerebelo más pequeño de lo normal (Platt y Olby, 2014).

A continuación, definiremos las herramientas diagnósticas que son de utilidad para establecer un diagnóstico presuntivo de gangliósidos en el animal vivo. La tabla 2 consiste en un resumen de los cambios observados con estas herramientas.

a) Marcadores bioquímicos

En gatos con gangliosidosis GM1 y GM2 variante 0 se ha observado un aumento de la enzima aspartato aminotransferasa (AST) tanto en el LCR como en suero (Gray-Edwards et al., 2017; Gross et al., 2022). Además, en suero de gatos con GM1 se ha reportado un aumento de la enzima alanino aminotransferasa (ALT), hipocalcemia, hipoalbuminemia y disminución de la creatinina (Gray-Edwards et al., 2017). En la gangliosidosis GM1 adicionalmente, se observa un aumento de la enzima lactato deshidrogenasa (LDH) a nivel del LCR, no habiendo aumento de esta en suero. Los niveles de estas enzimas se correlacionan con la gravedad de la enfermedad (Tabla 2) (Gray-Edwards et al., 2017; Gross et al., 2022).

Además, mediante cromatografía de capa fina es posible detectar gangliósidos GM1 y GM2 en el LCR. Por ejemplo, Yamato et al. 2004 demostraron que en animales con enfermedad de Sandhoff, se observan importantes aumentos de gangliósido GM2 en el LCR. Además, en un perro (Satoh, Yamato, Asano, Yamasaki y Maede, 2004) y un gato con enfermedad de Sandhoff (Yamato et al., 2004) también se encontró también un incremento del gangliósido GM1. Se ha propuesto que esta acumulación de GM1 en el LCR puede deberse a la muerte neuronal debida a la acumulación de GM2 y la consecuente liberación de gangliósidos al LCR.

En orina también se han observado cambios bioquímicos, por ejemplo, los gatos con GM1 presentan valores elevados de glucosaminoglicanos (Gray-Edwards et al., 2017; Gross et al., 2022).

Tabla 2. Resumen de parámetros afectados en ambos tipos de Gangliosidosis

	GM1	GM2
Sangre	Aumento Enzima AST Aumento Enzima ALT Hipocalcemia Hipoalbuminemia Disminución creatinina	Aumento Enzima AST
Orina	Aumento de glucosaminoglicanos	S/D
LCR	Aumento Enzima AST Aumento LDH	Aumento Enzima AST
Resonancia Magnética	Pérdida de límites entre sustancia gris y blanca Degradación de la arquitectura cerebral Materia blanca hiperintensa a nivel de todo el cerebro	Pérdida de límites entre sustancia gris y blanca Degradación de la arquitectura cerebral Materia blanca hiperintensa a nivel de todo el cerebro
EEG	Alteración de la actividad rítmica, ondas cerebrales más lentas	S/D

LCR: Líquido cefalorraquídeo, EEG: Electroencefalograma, S/D: Sin datos

b) Resonancia Magnética

Mediante resonancia magnética, en un cerebro normal es posible diferenciar con claridad las sustancias gris y blanca por sus diferentes intensidades. En gatos con gangliosidosis estos límites entre ambas se pierden, debido al daño de la arquitectura cerebral y subsecuentes cambios de intensidad (Figura 4). (Gray-Edwards et al., 2017). Además, en los gatos enfermos es posible evidenciar atrofia cortical.

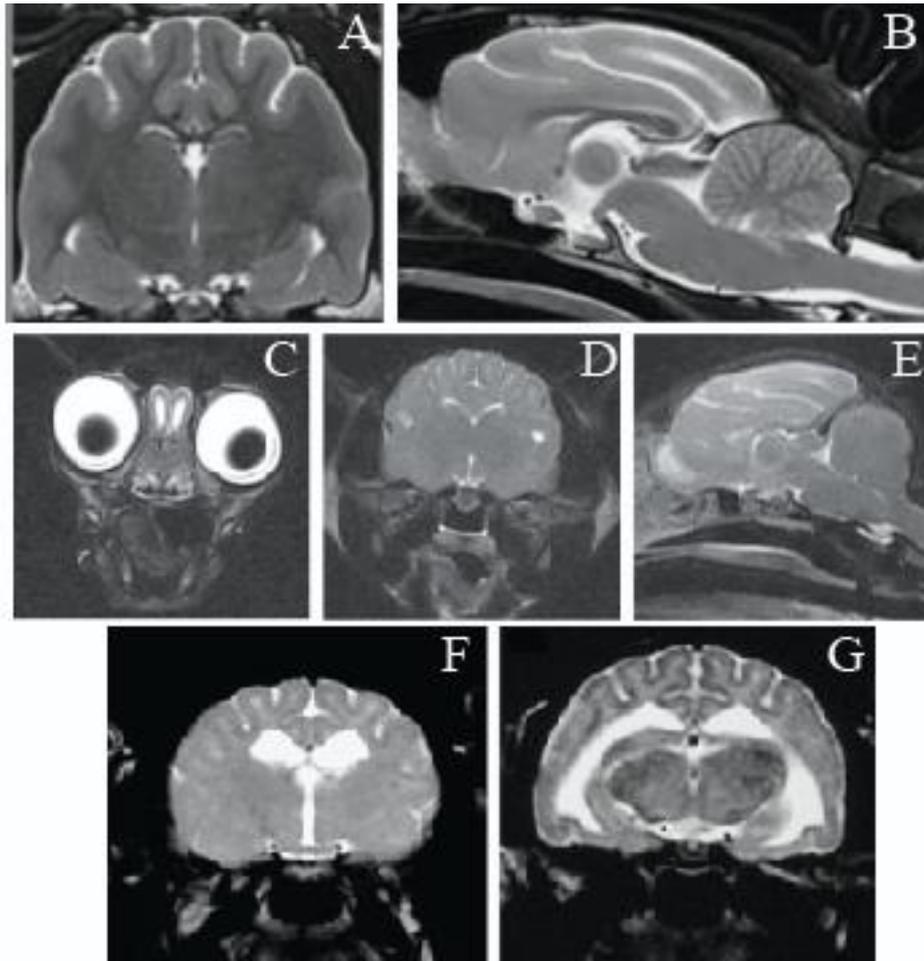


Figura 4. Imágenes de resonancia magnética en gatos normales y con gangliosidosis. Imagen de resonancias magnéticas ponderadas en T2 de un gato normal (A, corte transversal y B corte longitudinal), de un gato con gangliosidosis GM1 (C, D, E). C y D muestran cortes transversos y E un corte sagital en la línea media y de un gato con gangliosidosis GM2 (F, G ambos cortes transversales). En el gato con GM1 se observa falta de definición de la sustancia blanca, atrofia en los bulbos olfatorios (aumento del LCR) y dificultad para reconocer estructuras como el cuerpo calloso y la comisura rostral. En el gato con GM2 se observa ventriculomegalia y pérdida de definición de la sustancia blanca. Imágenes tomadas Gray-Edwards (2014) (A y B), de Ueno et al. 2016 (C, D y E).

c) Electroencefalograma

El electroencefalograma (EEG) registra la actividad eléctrica de conjuntos neuronales. La vigilia en gatos y en muchas otras especies es un estado comportamental caracterizado por actividad de baja amplitud y alta frecuencia en (Castro et al., 2014) sin embargo, en los gatos con gangliosidosis GM1 se ha demostrado en vigilia un patrón electroencefalográfico continuo, irregular, de actividad principalmente lenta (frecuencia delta; 1 – 4 Hz). La figura 5 muestra el EEG en vigilia de un gato con GM1 y de un gato normal (Gray-Edwards et al., 2017).



Figura 5. Registro electroencefalográfico de un gato con gangliosidosis GM1 en el momento previo a la eutanasia humanitaria y de un gato normal. En el gato con GM1 se observan ondas lentas de gran amplitud mientras que en el gato normal la actividad es de una frecuencia más rápida y de menor amplitud. Imagen modificada de Gray-Edwards (2017)

d) BAER Potenciales evocados auditivos

Otro estudio realizado fue la respuesta auditiva evocada del tronco encefálico, conocida como BAER, porque la mayoría de los gatos con enfermedad de Sanhoff manifiestan sordera y ceguera (Bley et al., 2011 ; Maegawa et al., 2006) Se midieron las ondas I, II, III y V asociadas al nervio coclear, el núcleo coclear, el núcleo del cuerpo trapezoide y el colículo caudal, respectivamente (Buchwald y Huang, 1975; Jewett, 1970). Los estudios revelan que la función del nervio coclear es normal pero no en el resto de los órganos. Para lograr la caracterización de las anomalías que presentaba la vía auditiva se realizaron medidas a las 8-12 semanas y a las 16-23 semanas. En los gatos enfermos no tratados se evidenció que aumentaron las latencias en las ondas II, III, y V a las 16-23 semanas mientras que a las 8-12 semanas se vio un aumento en las ondas II y V. Esto tiene correlación con la progresión que va adquiriendo la enfermedad. (Buchwald y Huang, 1975).

e) Pruebas genéticas

Se han utilizado diferentes pruebas para obtener el genotipo de los animales para las diferentes mutaciones efectoras de los distintos tipos de gangliosidosis. Kanae y col. (2007) desarrollaron una técnica rápida y simple, basada en la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) asociada a RFLP (polimorfismo en el largo de los fragmentos de restricción) para identificar la mutación c.667C>T en el gen *HEXB* responsable de la GM2. La técnica de PCR empleada implica la utilización de primers que introducen un sitio de restricción en el amplicón para la endonucleasa *RsaI*, de forma tal que la

enzima no corta el fragmento cuando la mutación está presente. El tamaño del fragmento amplificado es de 91pb, de modo que en los animales homocigotas normales (AA) se presentaran dos bandas (de 29pb y 62pb). Contrariamente, en los animales homocigotas recesivos (aa), la enzima no reconoce el sitio de corte, por lo que el amplicon no será cortado. Los animales portadores (Aa) presentaran tres bandas, las correspondientes al alelo A y la del alelo a (figura 6). Otros autores han empleado la técnica descrita por Kanae y col. (2007) en diferentes trabajos de investigación (Hasegawa et al., 2007; Rahman et al., 2011; Yamato et al., 2008).

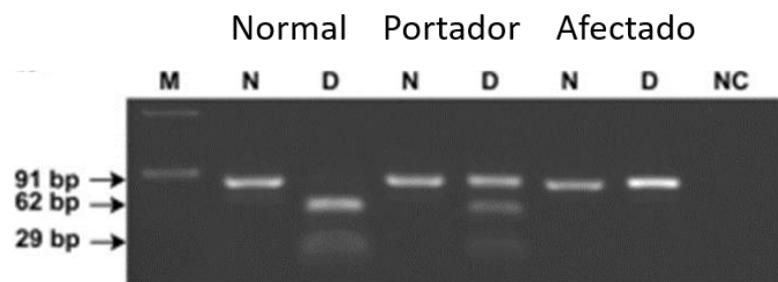


Figura 6.

Electroforesis en gel de agarosa para la detección de una mutación responsable de GM2. Se muestra el patrón de digestión (D) con la enzima *RsaI* de los amplicones obtenidos por PCR (N), para los tres genotipos posibles de gangliosidosis GM2 (modificado de Kanae et al., 2007).

Para el caso de la GM1 Uddin et al., (2013) diseñaron una técnica de genotipado basada en PCR y RFLP, para detectar la mutación c.1448G>C. En la misma el fragmento amplificado presenta un tamaño de 326pb, que solo es cortado por la enzima *HaeIII* cuando la mutación está presente. En el caso de los animales afectados (genotipo aa) se observarán dos fragmentos, uno de 218 pb y otro de 108 pb. Para los animales homocigotas dominantes (AA) el amplicón no es cortado por la enzima por lo que se obtendrá un fragmento de 326 pb. En los animales portadores se observarán tres fragmentos: uno de 326 pb, otro de 218 pb y otro de 108 pb (Figura 7).

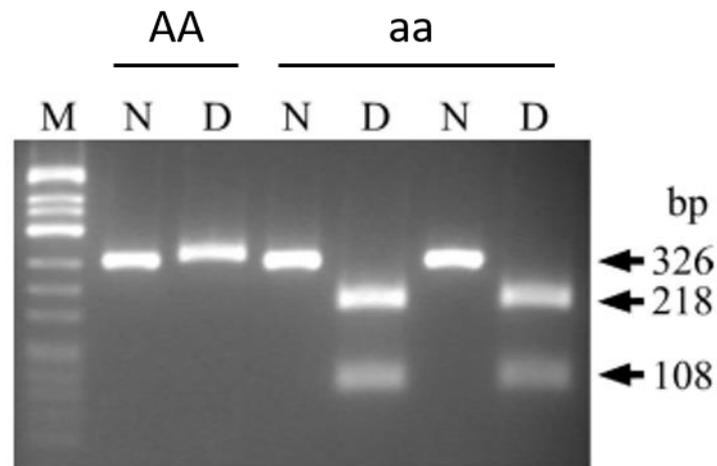


Figura 7. Electroforesis en gel de agarosa para la detección de la mutación responsable de GM1. Se muestra el patrón de digestión (D) con la enzima *HaeIII* de los amplicones obtenidos por PCR (N), para los genotipos AA y aa de la gangliosidosis GM1 (tomado de Uddin et al., 2013).

Otros autores han empleado la PCR en tiempo real para genotipar las mutaciones responsables de GM1 y GM2, utilizando primers alelo específicos, así como la secuenciación directa (Wang y Smith, 2007).

f) Diagnóstico definitivo - Histopatología

Como fue mencionado, el diagnóstico definitivo es realizado post-mortem mediante la evidencia de lesiones histopatológicas características en los tejidos afectados y por la detección molecular de depósitos de gangliosidos a nivel neuronal (Cork, Munnell y Lorenz, 1978; Kohyama et al., 2016)

En ambos tipos de gangliosidosis, es posible visualizar acumulación de material citoplasmático granular a nivel de todo el sistema nervioso central. En un estudio realizado en Hokkaido, Japón, se pudo determinar la localización específica de estos gránulos mediante el uso de microscopía electrónica, en los cuerpos membranosos en los lisosomas de las neuronas (Ueno et al., 2016).

Una interesante característica histopatológica es que las neuronas afectadas se tiñen fuertemente con ácido periódico de Schiff (PAS), el cual detecta las cadenas de oligosacáridos de los gangliosidos (Rha et al., 2021). Adicionalmente, las neuronas

afectas sufren una pérdida de sustancia de Nissl (retículo endoplasmático rugoso), y la sustancia remanente se ve condensada en la región perinuclear (Baker et al., 1971). Se observa, además, gliosis a nivel del sistema nervioso central (Figura 8). La sustancia blanca se encuentra alterada dado que la gangliosidosis conduce a la desmielinización y los axones se observan hinchado (Gross et al., 2022). En gatos con gangliosidosis GM2 las células de Purkinje del cerebelo aparecen particularmente afectadas (Cork et al., 1978).

Los cambios histopatológicos no ocurren únicamente en el sistema nervioso central, se han evidenciado también alteraciones en los ganglios autonómicos (Barnes et al., 1981; Cork et al., 1978; Müller et al., 2001; Salman et al, 2001) así como también en tejidos extraneurales. Por ejemplo, en gatos con GM1 se pueden observar depósitos vacuolares de polisacáridos en la córnea y el epitelio anterior del cristalino lo que es causante de la opacidad de los ojos. Asimismo, se ha evidenciado en ambos tipos de gangliosidosis, acumulación de gangliósidos en las células ganglionares de la retina (Cork et al., 1978; Murray et al., 1977) por otro lado, una característica notoria en gatos con gangliosidosis GM2 es la leucocitosis con linfocitosis y contenido vacuolar dentro del citoplasma de los linfocitos (Yamato et al., 2008).

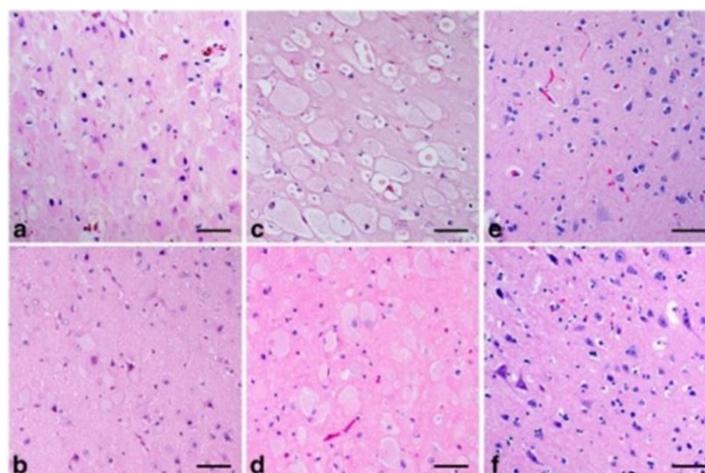


Figura 8: Hallazgos histopatológicos en animales afectados y no afectados con gangliosidosis. Se realizó tinción de hematoxilina y eosina en secciones de la corteza cerebral incrustadas en parafina de los siguientes animales: un perro (a) y un gato (b) afectados con gangliosidosis GM1; un perro (c) y un gato (d) afectados con gangliosidosis GM2; un perro de control no afectado (e) y un gato (f). Bar = 50 μ m. Imagen extraída de Kohyama et al., (2016) Se puede ver neuronas agrandadas (hinchadas) con contenido vacuolar. Además, se puede ver gliosis de todo el cerebro. En estas imágenes vemos pálidos materiales granulares y eosinofílicos tanto de perros como de gatos.

El uso de técnicas de inmunohistoquímica e inmunofluorescencia han mostrado ser de utilidad para el diagnóstico de gangliosidosis canina y felina (Kohyama et al., 2016).

La inmunohistoquímica consiste en un método que se basa en reacciones inmunoenzimáticas, mediante la utilización de anticuerpos mono o policlonales, con el fin de detectar antígenos en las células de diferentes tejidos. La inmunofluorescencia, por otra parte, consiste en un conjunto de ensayos biológicos los cuales actúan mediante la combinación de anticuerpos y moléculas fluorescentes para la detección de determinados agentes, como por ejemplo proteínas dentro de las células o tejidos (Husain et al., 2011).

Un estudio desarrolló y comparó técnicas de inmunohistoquímica e inmunofluorescencia para la detección de gangliosidosis GM1 y gangliosidosis GM2 en gatos y perros (Kohyama et al., 2016). Estos autores utilizaron la subunidad B de una toxina de colera biotinilada (proteína con es capaz de unirse hasta a 5 moléculas de gangliosido GM1 (Santi, Mancini y Barnes, 1994) para la detección de gangliosidos GM1, y un anticuerpo monoclonal Igm anti-GM2 como anticuerpo primario y anticuerpo biotinilado de cabra anti IgM de ratón como anticuerpo secundario. Para la detección inmunohistoquímica, los tejidos fueron incubados con peroxidasa conjugada con estreptavidina (una proteína con alta afinidad por la biotina). La inmunorreactividad fue detectada con diaminobencidina (DAB). Para la técnica de inmunofluorescencia, la detección de gangliosidos GM1 se realizó utilizando Alexa Fluor conjugada con estreptavidina, y la de GM2 conjugando el anticuerpo secundario también con Alexa Fluor (Duraiyan et al., 2012).

Estos autores demostraron que ambas técnicas fueron eficaces para la detección tanto de ganlgiosidos GM1 como de GM2, incluso en tejidos embebidos en parafina que habían sido preservados por hasta 11 años. Sin embargo, la técnica de inmunohistoquímica aporta más información debido a que permite una mejor visualización morfológica del tejido (la técnica de inmunofluorescencia presenta un fondo negro y no se puede visualizar la exacta localización tisular o celular de los gangliosidos fluorescentes. (Kohyama et al., 2016).

3.2.5 Tratamiento

Actualmente, desafortunadamente, el pronóstico de la gangliosidosis es de reservado a malo (Dewey y Da Costa, 2015), siendo los animales sometidos a eutanasia en la mayoría de los casos. Sin embargo, la comunidad científica ha estado investigando arduamente la eficacia y seguridad de diferentes tratamientos potenciales. Dado que el gato es considerado un excelente modelo en investigación en estas enfermedades, las terapias que han resultado eficaces en gatos han colaborado inmensamente en las estrategias para corregir los tratamientos en humanos (O'Brien et al., 2002). Algunas de ellas son el reemplazo enzimático, el trasplante de médula ósea y la terapia génica. Otras terapias como la terapia de reducción de sustrato, la terapia con chaperonas y con trasplante de células madre ha sido probada en modelos murinos y podría potencialmente ser utilizada en medicina veterinaria a futuro (McColl y Vadolas, 2016).

En este capítulo discutiremos cada uno de estos tratamientos.

3.2.5.1 Terapia de reemplazo enzimático

La terapia de reemplazo enzimático (TRE) ha sido una de las primeras terapias estudiadas y consiste en la administración crónica y periódica (usualmente semanal) de la enzima que es deficiente en la enfermedad. La TRE resulta particularmente atractiva dado que se ha demostrado que en diversas enfermedades de acumulo lisosomal incluida la gangliosidosis, un leve incremento de la cantidad de enzima disponible, un 5% según algunos autores (Grabowski y Hopkin, 2003) suficiente para prevenir la enfermedad. Para esto es necesario el desarrollo de enzimas recombinantes. En este sentido el gato ha sido un modelo utilizado para el desarrollo de la β -galactosidasa recombinante (Samoylova et al., 2008).

Desde la circulación sanguínea estas enzimas pueden ser endocitadas por células mediante receptores de membrana y transportadas a los lisosomas donde hidrolizan los sustratos acumulado (Concolino, Deodato y Parini, 2018 ; Grabowski y Hopkin, 2003).

Sin embargo, si bien este tipo de terapias ha demostrado ser eficaz en algunas enfermedades de almacenamiento lisosomal, uno de los principales problemas de la misma es que la dificultad que presentan estas enzimas para atravesar la barrera hematoencefálica y llegar en cantidades suficientes al sistema nervioso central

(Condori et al., 2016). Algunos autores han intentado utilizar la inyección intratecal o intracerebroventricular con buenos resultados, pero esta técnica resulta altamente invasiva (Dickson et al., 2007; Matsuoka et al., 2011; Tsuji et al., 2010). Por otro lado, distintos estudios han tratado de desarrollar técnicas que faciliten la llegada de estas enzimas al SNC. Por ejemplo, se ha utilizado la fusión de la enzima β -galactosidasa con lectinas, glicoproteínas que tienen gran afinidad con la galactosa, (presente en amplia cantidad en glicoproteínas y glicolípidos de membranas). Estas lectinas son capaces de iniciar un proceso de endocitosis adsorbente permitiendo el pasaje de la β -galactosidasa a través de la barrera hematoencefálica (Condori et al., 2016). Un reciente trabajo realizó un estudio preclínico de la eficacia de la terapia de remplazo enzimático utilizando B-galactosidasa fusionada con una lectina proveniente de la planta *Ricinus communis* para el tratamiento de gangliosidosis GM1 en un modelo de ratón y obtuvo excelentes resultados. Ocurrió una muy buena distribución de la enzima en diferentes tejidos incluido en el encéfalo. Además, los niveles de GM1 fueron reducidos y se revirtió la neuroinflamación (Weesner et al., 2022).

Por último, en la gangliosidosis GM2 se ha observado, además, otra dificultad de la terapia con remplazo enzimático, la enzima β -hexosaminidasa es metabolizada en el gato rápidamente por el hígado y por lo tanto su vida media es muy corta.

.3.2.5.2 Trasplante de médula ósea

El trasplante de médula ósea se empezó a considerar como un tratamiento para las enfermedades de almacenamiento lisosomal en base a un estudio que data de 1968 que demostró que el co-cultivo de fibroblastos de la piel sanos y afectados culminaba en la eliminación de los depósitos lisosomales de las células afectadas (Frantanoni, Hall y Neufel, 1968). Este fenómeno recibió el nombre de corrección metabólica cruzada y se demostró que ocurre porque las células sanas liberan la enzima deficiente y ésta es captada por las células sanas. Este descubrimiento sentó las bases para comenzar a considerar el trasplante de médula ósea en enfermedades de almacenamiento lisosomal. Con esta terapia se busca que macrófagos y microglía pueblen el sistema nervioso central y proporcionen las enzimas necesarias, corrigiendo las células enfermas (Cachon-Gonzalez et al., 2018 ; Krivit et al., 1995). Se han obtenido algunos resultados alentadores en estudios en humanos,

principalmente para la leucodistrofia de células globoides y la mucopolisacaridosis tipo 1 (Krivit et al., 1999 ; Prasad y Kurtzberg, 2010) En una niña con gangliosidosis tipo 1 que recibió médula ósea de una hermana donante, llevó a la normalización de los niveles de beta galactosidasa pero no mejoró los signos ni la evolución de la enfermedad (Shield, Stone y Steward, 2005).

En cuanto a su uso en gangliosidosis en medicina veterinaria, se ha estudiado el efecto de trasplante de médula ósea en un perro de 8 años con gangliosidosis GM1, utilizando médula ósea de un hermano idéntico para los antígenos caninos para leucocitos (del inglés DLA, dog leukocyte antigens) Desafortunadamente, el tratamiento fue ineficaz, los niveles acumulados de gangliósidos en el cerebro no disminuyeron, no aumentó la actividad de la de β -galactosidasa, ni se mejoraron los signos clínicos (O'Brien et al., 1990).

En cuanto a los felinos se ha utilizado el trasplante de médula ósea en la deficiencia de α -manosidasa, lo que produce también afectación del sistema nervioso. En estos, se observó una restauración en la actividad enzimática y una mejora de los signos clínicos (Walkley et al., 1994). Sin embargo, no hemos encontrado estudios que hayan evaluado el efecto del trasplante de médula ósea en gatos con gangliosidosis GM1 ni GM2.

Una de las principales desventajas de este tipo de terapias es la necesidad de contar con donantes disponibles, la potencialidad de rechazo por parte del huésped y que el número de microglías disponibles a nivel del encéfalo tras un trasplante suele ser limitado.

3.2.5.3 Terapia utilizando Chaperonas.

Otra terapia que ha sido evaluada en el tratamiento de gangliosidosis es la terapia de chaperonas. Las chaperonas consisten en moléculas pequeñas que son capaces de asistir a proteínas dianas para estabilizar su conformación nativa (Cortez y Sim , 2014; Leal et al., 2020 ; Pereira , Valentao y Andrade , 2018).

Existen dos tipos principales chaperonas, las químicas y las farmacológicas (Leal et al., 2020). Las chaperonas químicas, tienen un modo de acción inespecífico, y ayudan a estabilizar las proteínas sin unirse directamente a ellas. Estas chaperonas suelen ser menos eficaces y potencialmente más tóxicas (Leal et al., 2020). Las chaperonas

farmacológicas pueden unirse a las proteínas e inducir estabilización termodinámica, o cambios en la cinética de plegado y desplegado (Loo y Clark, 2007; Pereira et al, 2018).

En las enfermedades de almacenamiento lisosomal, su principal función es estabilizar las enzimas lisosomales mal plegadas, llevar enzimas dentro de los lisosomas y aumentar la actividad enzimática favorable (Boyd et al., 2013; Parenti, 2009).

Es importante aclarar que esta terapia puede ser útil solo para ciertos pacientes ya que las chaperonas constan de una actividad que depende de la mutación, y suelen necesitar de enzimas con algún grado de funcionalidad residual, lo cual limitaría la cantidad de pacientes que pueden responder de manera favorable al tratamiento (Boyd et al., 2013; Díaz, Cepeda del Castillo, Rodríguez-López y Alméciga-Díaz, 2019 Matsuda et al., 2003).

En cuanto a la gangliosidosis GM1, estudios preclínicos han demostrado efectividad de iminoazucres como chaperonas farmacológicas en la mejora de la función de la beta galactosidasa, uno de estos estudios fue realizado en gatos (Rigat et al., 2012) De forma similar, en estudios invitro, iminoazucres también han demostrado mejora de la funcionalidad enzimática en gangliosidosis GM2 (González-cuesta et al., 2022; Leal et al., 2020). No hemos encontrado trabajos que evaluaran su uso en modelos felinos de esta enfermedad.

3.2.5.4 Terapia de reducción de sustrato

Otra terapia bajo investigación es la llamada terapia de reducción de sustratos. Esta se basa en la inhibición parcial de la producción de esfingolípidos, reduciendo por tanto el número que debe ser degradado dentro de los lisosomas (Radin, 1996; Rastall y Amalfitano, 2017).

Esta terapia tiene como ventaja que algunas de las moléculas utilizadas son capaces de atravesar la barrera hematoencefálica a diferencia de lo que ocurre con las terapias de remplazo enzimático (Ivanova et al., 2021).

En el caso de la gangliosidosis y otras enfermedades en las que ocurre almacenamiento de glucoesfingolípidos esta terapia se basa en inhibir la acción de la enzima ceramida glucosiltransferasa, retrasando la formación de dichos glucoesfingolípidos (Ivanova et al., 2021 ; Jeyakumar et al., 2002). Esta terapia es de

utilidad en casos en los que aún se cuenta con algo de actividad enzimática residual que sea capaz de catabolizar los glucoesfingolípidos que ya se habían acumulado. Además, esta terapia puede llegar a tener un alto grado de valor terapéutico si es utilizado en combinación con otras terapias que sean de complemento a la hora de realizar la degradación de los sustratos en los lisosomas (Cachon-Gonzalez et al., 2018).

Hoy en día se siguen desarrollando y obteniendo resultados prometedores en la realización de ensayos preclínicos con animales (Marshall et al., 2016). Uno de los principales inhibidores de la ceramida glucosil transferasa utilizados es el iminoazúcar N-Butil-Deoxynojirimicina, también conocido como Miglustat (Rha et al., 2021). Se considera que Miglustat actuaría también como chaperona farmacológica para la β -galactosidasa deficiente (Alfonso et al., 2005) No hemos encontrado trabajos que evalúen estas terapias en gatos con gangliosidosis pero, existen algunos reportes en humanos. Por ejemplo, Fischetto (2020) demostró que el tratamiento fue seguro y que permitió el enlentecimiento de la progresión de los signos clínicos en tres casos de GM1 pediátrica.

Por el contrario, para la gangliosidosis GM2, si bien se han observado resultados alentadores en modelos de roedores (Jeyakumar et al., 1999; Platt et al., 1997) , los beneficios del uso de Miglustat en humanos con GM2 han sido escasos (Maegawa et al., 2009; Masciullo et al., 2010).

3.2.6. Terapia génica

La utilización de la terapia génica permite corregir las anomalías moleculares que subyacen a las enfermedades genéticas, ofreciendo un tratamiento potencialmente a largo plazo con una sola administración (Hayward et al., 2015). Para el caso de la gangliosidosis GM1 se ha demostrado en modelos neonatales murinos que la administración de vectores virales genéticamente modificados ha sido relativamente efectiva, ya sea utilizando Adenovirus (AV) por vía intravenosa (Takaura et al., 2003) o virus asociados a Adenovirus (VAA) por vía intracerebroventricular (Broekman et al., 2007) La inoculación viral de un cDNA codificante de la enzima β -galactosidasa permitió aumentar la actividad enzimática en los diferentes tejidos corporales retrasando la aparición de los síntomas hasta por 60 días (Takaura et al.,

2003), e incluso realizar una corrección completa de la deficiencia enzimática (Broekman et al., 2007).

Si bien los ensayos realizados en modelos murinos han demostrado ser prometedores, la complejidad del cerebro del ratón, comparado al de otras especies es muy diferente. McCurdy et al., (2014) aplicaron VAA genéticamente modificados en gatos con GM1. Los animales tratados recibieron una inyección intracraneana en el tálamo y en el núcleo cerebelar profundo, conteniendo dos serotipos distintos de vectores VAA (VAA1 y VAArh8) con cDNA para la enzima β -galactosidasa felina. Los resultados fueron considerablemente buenos, observándose que independientemente del sitio de inyección, el vector lograba distribuirse adecuadamente, encontrándose en todo el cerebro y la médula espinal. Además, en ciertas regiones del cerebro, la actividad enzimática superaba ampliamente la observada en gatos normales, reduciéndose la acumulación de gangliósidos en todo el SNC de los animales afectados. Los efectos a largo plazo fueron considerables, observándose individuos con una supervivencia 4.7 veces superior a los animales enfermos no tratados. Si bien algunos individuos no respondieron de manera tan efectiva, esos animales lograron una supervivencia que duplicó la de los gatos enfermos sin tratamiento.

Una limitante importante a considerar en el trabajo de McCurdy et al., (2014) es que no se utilizaron dobles ciegos. Esto podría haber influido al interpretar algunos resultados, ya que cargan con una cuota de subjetividad. Además, se observó que la mitad de los animales a los cuales se les administró la terapia génica desarrollaron convulsiones tardías ($20,1 \pm 7,4$ meses). Estas convulsiones podrían deberse a un curso más tardío de la propia GM1 o a efectos no colaterales de la propia terapia, lo cual no puede aclararse debido a que no se incluyó en el estudio un grupo de animales sanos a los cuales se les inyectaron los vectores.

En un trabajo similar al descrito anteriormente, (Gross et al., 2022) utilizaron un VAA9 por vía endovenosa en gatos con GM1, buscando lograr una mayor biodistribución sistémica del vector, y una vía menos invasiva. Este tipo de vector cruza la barrera hematoencefálica, las neuronas transductoras y las células gliales del sistema nervioso central. Los animales GM1 no tratados sobrevivieron $8,0 \pm 0,6$ meses, mientras que la supervivencia de los tratados alcanzó un promedio de 3,5 años,

con mejoras sustanciales en la calidad de vida y la función neurológica. La actividad enzimática se vio mejorada en los animales tratados, tanto en el SNC como en tejidos periféricos (corazón, nervios periféricos y musculo esquelético), y la acumulación de gangliósidos se vio disminuida.

En un estudio más reciente se evaluó la utilización del vector AAVrh.10-f β gal (conteniendo cDNA de β gal felina) en gatos afectados por GM1, utilizando tres vías de administración: intracerebroventricular (icv), intracisterna magna (icm) e intratecal lumbar (itl). Las vías icv e icm lograron una actividad β galactosidasa elevada en diferentes tejidos (cerebro, cerebelo, médula espinal, corazón e hígado), sin embargo, la vía itl solo logró aumentar la actividad enzimática en la médula espinal (Hocquemiller et al., 2022).

Para la enfermedad de Sandhoff (GM2) en felinos existen algunos reportes de tratamiento con terapia génica. Bradbury et al. (2013) utilizaron vectores VAArh8 que contenían cDNA para las subunidades α y β de la enzima hexosaminidasa. Los vectores fueron inoculados por inyección intracraneana bilateral a nivel del tálamo. Los gatos que fueron tratados aumentaron la actividad enzimática a más de 75 veces del valor normal, logrando una sobrevida 2.3 veces superior que los gatos que no fueron tratados. El experimento de Bradbury et al. (2013), sentó las bases de la terapia génica para la enfermedad, siendo replicado con diferentes variantes en los años siguientes. Otros autores utilizaron el mismo vector (VAArh8), pero como vía de administración, además del tálamo, emplearon los núcleos cerebelosos profundos. En este trabajo se observó que la enzima se distribuyó de manera generalizada a nivel del sistema nervioso central, pero la acumulación de material almacenado se mantuvo. Sin embargo, los gatos tratados al inicio de los signos clínicos mostraron un notorio retraso en la progresión de la enfermedad, aumentando la supervivencia en comparación con los gatos enfermos sin tratar (McCurdy et al., 2021).

McCurdy et al. (2014) utilizaron el vector VAArh8 (con cDNA para las subunidades Hex α y Hex β) mediante la aplicación de cuatro inyecciones intracraneales bilaterales en el tálamo y los núcleos cerebelosos. Se observó que la actividad enzimática de la enzima HEX se elevó por encima de los niveles normales a lo largo de todo el sistema nervioso central y en el líquido cefalorraquídeo. El almacenamiento del gangliósido si bien mejoró notoriamente, no se llegó a eliminar

por completo. En este estudio se pudo ver que los gatos tratados mantuvieron la función neurológica y la marcha en comparación con los animales enfermos que no recibieron el tratamiento (McCurdy et al., 2014).

Gray-Edwards et al., (2015) aplicaron terapia génica intracraneal con el mismo vector que (Bradbury et al., 2013), ensayando diferentes vías. Por un lado, se inoculó bilateralmente a nivel del tálamo y en los núcleos cerebelares profundos, y por otro, se inoculó bilateralmente en el tálamo y unilateralmente a nivel intracerebroventricular. Los autores observaron que, en ambas vías de aplicación, 16 meses luego del tratamiento, la acumulación de glicosaminoglicanos disminuyó en la corteza cerebral y en el hígado, aunque no así en órganos periféricos como corazón, pulmón, musculo esquelético, riñón, bazo y páncreas. En otro trabajo, la aplicación del vector en tálamo e intracerebroventricular aumentó la actividad de la enzima hexosaminidasa en los gatos tratados respecto a los normales, hasta 56.6 veces en el cerebro, y 16.4 veces en la médula espinal (Rockwell et al., 2015). Además, la acumulación de gangliósidos se vio disminuida en algunos de los gatos tratados hasta niveles similares al de los gatos sanos.

4. Conclusiones

- Las gangliosidosis GM1 y GM2 son enfermedades hereditarias neurodegenerativas de curso clínico fatal en el gato. Su ocurrencia en animales de diferentes razas e incluso en los gatos domésticos de pelo corto, hacen pensar que estas mutaciones podrían haberse generado antes del proceso de formación de las razas.
- La base genética de estas enfermedades, sus signos clínicos y su fisiopatología, son similares a la gangliosidosis en humanos, por lo que el gato doméstico reviste de interés como modelo, lo que ha permitido ensayar diferentes protocolos terapéuticos de alto costo, con relativo éxito.
- Dado que no se cuenta con técnicas diagnósticas antemortem para confirmar la enfermedad, las pruebas de genotipado revisten de especial interés, orientando hacia el diagnóstico definitivo.
- Aún no se conocen terapias para la cura de la enfermedad tanto en humanos como en los animales domésticos. Sin embargo, varios protocolos de terapia génica para GM1 y GM2 han logrado mejorar la actividad de las enzimas deficientes, la función neurológica de los animales afectados, así como su calidad y esperanza de vida.
- El alto costo de las terapias experimentales hace que actualmente sean poco aplicables en el gato doméstico, por lo que es necesario aumentar la investigación en estas áreas mediante ensayos clínicos en modalidad prospectiva doble ciego, que aporten resultados obtenidos con metodología rigurosa.

5 Bibliografía

- Ahmady, E.B., Lise y, M.S.B.L (2009). Notificación de anomalías en un cordero. *REDVET*, 10(10), 1-10.
- Alfonso, P., Pampín, S., Estrada, J., Rodríguez-Rey, J.C., Giraldo, P., Sancho, J., y Poció, M. (2005). Miglustat (NB-DNJ) works as a chaperone for mutated acid β -glucosidase in cells transfected with several Gaucher disease mutations. *Blood Cells, Molecules, and Diseases*, 35(2), 268–276.
- Almodóvar-Payá, A., Villarreal-Salazar, M., Luna, N., Nogales-Gadea, G., Real-Martínez, A., Andreu, A.L., ...Pinós, T. (2020). Preclinical research in glycogen storage diseases: A comprehensive review of current animal models. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(24), 1–50.
- Arrol, L.P., Kerrins, A.M., Yamakawa, Y., y Smith, P.M. (2011). Fucosidosis in a domestic shorthair cat. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 13(2), 120–124.
- Baker, H.J., Jr, Lindsey, J.R., McKhann, G.M., y Farrell, D.F. (1971). Neuronal GM1 gangliosidosis in a Siamese cat with beta-galactosidase deficiency. *Science*, 174 (4011), 838–839.
- Barnes, I.C., Kelly, D F., Pennock, C.A. y Randell, J.A.J. (1981). Hepatic Beta Galactosidase and Feline GM1 Gangliosidosis. *Neuropathology and Applied Neurobiology*, 7 (6), 463–476.
- Berg, T., Tollersrud, O.K., Walkley, S.U., Siegel, D., y Nilssen, Ø. (1997). Purification of feline lysosomal α -mannosidase, determination of its cDNA sequence and identification of a mutation causing α -mannosidosis in Persian cats. *Biochemical Journal*, 328(3), 863-870.
- Bley, A.E., Giannikopoulos, O.A., Hayden, D., Kubitius, K., Tiffit, C.J., y Eichler, F.S. (2011). Natural history of infantile GM2 gangliosidosis. *Pediatrics*, 128(5), e1233-e1241.

- Bosshard, N.U., Hubler, M., Arnold, S., Briner, J., Spycher, M.A., Sommerlade, H.J., ...Gitzelmann, R. (1996). Spontaneous mucopolipidosis in a cat: An animal model of human I-cell disease. *Veterinary Pathology*, 33(1), 1–13.
- Boyd, R.E., Lee, G., Rybczynski, P., Benjamin, E.R., Khanna, R., Wustman, B.A., y Valenzano, K.J. (2013). Pharmacological chaperones as therapeutics for lysosomal storage diseases. *Journal of Medicinal Chemistry*, 56(7), 2705–2725.
- Bradbury, A.M., Cochran, J.N., McCurdy, V.J., Johnson, A.K., Brunson, B.L., Gray-Edwards, H., ...Martin, D.R. (2013). Therapeutic Response in Feline Sandhoff Disease Despite Immunity to Intracranial Gene Therapy. *Molecular Therapy*, 21 (7), 1306–1315.
- Bradbury, A.M., Morrison, N.E., Hwang, M., Cox, N.R., Baker, H.J., y Martin, D.R. (2009). Neurodegenerative lysosomal storage disease in European Burmese cats with hexosaminidase beta-subunit deficiency. *Molecular Genetics and Metabolism*, 97(1), 53–59.
- Broekman, M.L.D., Baek, R.C., Comer, L.A., Fernandez, J.L., Seyfried, T.N., y Sena-Esteves, M. (2007). Complete correction of enzymatic deficiency and neurochemistry in the GM1-gangliosidosis mouse brain by neonatal adeno-associated virus-mediated gene delivery. *Molecular Therapy*, 15(1), 30–37.
- Brunetti-Pierri, N., y Scaglia, F. (2008). GM1 gangliosidosis: Review of clinical, molecular, and therapeutic aspects. *Molecular Genetics and Metabolism*, 94(4), 391–396.
- Buchwald, J.S., y Huang, C.M. (1975). Far-field acoustic response: Origins in the cat. *Science*, 189(4200), 382–384.

- Cachon-Gonzalez, M.B., Zaccariotto, E., y Cox, T.M. (2018). Genetics and Therapies for GM2 Gangliosidosis. *Current Gene Therapy*, 18(2), 68–89.
- Castro, S., Cavelli, M., Vollono, P., Chase, M.H., Falconi, A., y Torterolo, P. (2014). Inter-hemispheric coherence of neocortical gamma oscillations during sleep and wakefulness. *Neuroscience Letters*, 578, 197–202.
- Cavdarli, S., Groux-degroote, S., y Delannoy, P. (2019). Gangliosides. The Double-Edge Sword of Neuro-Ectodermal Derived Tumors. *Biomolecules*, 9(8), 311.
- Chen, Y., Jian, J., Hettinghouse, A., Zhao, X., Setchell, K.D.R., y Sun, Y. (2018). Progranulin associates with hexosaminidase A and ameliorates GM2 ganglioside accumulation and lysosomal storage in Tay-Sachs disease. *Journal of Molecular Medicine*, 96, 1359–1373.
- Concolino, D., Deodato, F., y Parini, R. (2018). Enzyme replacement therapy: Efficacy and limitations. *Italian Journal of Pediatrics*, 44, 117-126.
- Condori, J., Acosta, W., Ayala, J., Katta, V., Flory, A., Martin, R., ... Radin, D.N. (2016). Enzyme replacement for GM1-gangliosidosis: Uptake, lysosomal activation, and cellular disease correction using a novel β -galactosidase: RTB lectin fusion. *Molecular Genetics and Metabolism*, 117(2), 199–209.
- Corado, C.R., Pinkstaff, J., Jiang, X., Galban, E.M., Fisher, S.J., Scholler, O., ... Bradbury, A.M. (2020). Cerebrospinal fluid and serum glycosphingolipid biomarkers in canine globoid cell leukodystrophy (Krabbe Disease). *Molecular and Cellular Neuroscience*, 102, 103451.
- Cork, L.C., Munnell, J.F., Lorenz, M.D., Murphy, J.V., Baker, H.J., y Rattazzi, M.C. (1977). Lysosomal storage disease of gangliosides GM2 in cats with α -hexosaminidase deficiency. *Science*, 196(4293), 1014-1017.
- Cork, L.C., Munnell, J.F., y Lorenz, M.D. (1978). The pathology of feline GM2 Gangliosidosis. *American Journal of Pathology*, 90(3), 723.

- Cortez, L. y Sim, V. (2014). Protein folding diseases The therapeutic potential of chemical chaperones in protein folding diseases. *Prión*, 8(2), 197-202.
- De Lahunta, A., Glass, E.N., y Kent, M. (2014). *Veterinary Neuroanatomy and Clinical Neurology* (4^{ta} ed.). Riverport: Elsevier.
- De Lahunta, A.D., y Noden, D.M. (1990). *Embriología de los animales domésticos; mecanismos de desarrollo y malformaciones*. Zaragoza: Acribia.
- Dewey, C.W., y Da Costa, R.C. (2015). *Practical Guide to Canine and Feline Neurology*. (3^{era} ed.). New Jersey: John Wiley y Sons.
- Díaz, J.C., Cepeda del Castillo, J., Rodríguez-López, E.A., y Alméciga-Díaz, C.J. (2019). Advances in the development of pharmacological chaperones for the mucopolysaccharidoses. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(1), 232.
- Dickson, P., Mcentee, M., Vogler, C., Le, S., Levy, B., Peinovich, M., ... Kakkis, E. (2007). Intrathecal enzyme replacement therapy : Successful treatment of brain disease via the cerebrospinal. *Molecular Genetics Metabolism*, 91(1), 61–68.
- Duraiyan, J., Govindarajan, R., Kaliyappan, K., y Palanisamy, M. (2012). Applications of immunohistochemistry. *Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences*, 4(Suppl 2): S307–S309.
- Farfel-Becker, T., Vitner, E.B., y Futerman, A.H. (2011). Animal models for Gaucher disease research. *Disease Models and Mechanisms*, 4(6), 746–752.

- Fischetto, R., Palladino, V., Mancardi, M.M., Giacomini, T., Palladino, S., Gaeta, A., ... Giordano, P. (2020). Substrate reduction therapy with Miglustat in pediatric patients with GM1 type 2 gangliosidosis delays neurological involvement. A multicenter experience. *Molecular Genetics and Genomic Medicine*, 8(10), e1371.
- Frantanoni, J.C., Hall, C.W., y Neufel, E.F. (1968). Hurler and Hunter Syndromes: mutual correction of the defect in cultured Fibroblast. *Science*, 162(3853), 370–572.
- Gandolfi, B., y Alhaddad, H. (2015). Investigation of Inherited Diseases in Cats. Genetic and genomic strategies over three decades. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 17(5), 405-415.
- García Díaz, J.D., Mesa Latorre, J.M., Corps Fernández, D., y Valbuena Parra, A. (2016). Enfermedades por depósito lisosomal. *Medicine-Programa de Formación Médica continuada Acreditado*, 12(19), 1072–1081.
- González-Cuesta, M., Herrera-gonzález, I., García-moreno, M.I., Ashmus, R.A., Vocadlo, D.J., García Fernández, J.M., ... Ortiz Mellet, C. (2022). sp2 - Iminosugars targeting human lysosomal β - hexosaminidase as pharmacological chaperone candidates for late-onset Tay-Sachs disease chaperone candidates for late-onset Tay-Sachs disease. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 37(1), 1364–1374.
- Grabowski, G.A., y Hopkin, R.J. (2003). Enzyme Therapy for Lysosomal Storage Disease: Principles, Practice, and Prospects. *Annual Review of Genomics and Human Genetics*, 4(1), 403–436.

- Gray-Edwards, H.L., Brunson, B.L., Holland, M., Hespel, A.M., Bradbury, A.M., McCurdy, V.J., ... Martin, D.R. (2015). Mucopolysaccharidosis-like phenotype in feline Sandhoff disease and partial correction after AAV gene therapy. *Molecular Genetics and Metabolism*, 116(1–2), 80–87.
- Gray-Edwards, H.L., Regier, D.S., Shirley, J.L., Randle, A.N., Salibi, N., Thomas, S.E., ... Martin, D.R. (2017). Novel Biomarkers of Human GM1 Gangliosidosis Reflect the Clinical Efficacy of Gene Therapy in a Feline Model. *Molecular Therapy*, 25(4), 892–903.
- Gray-Edwards, H.L., Salibi, N., Josephson, E.M., Hudson, J.A., Cox, N.R., Randle, A.N., ... Martin, D.R. (2014). High resolution MRI anatomy of the cat brain at 3Tesla. *Journal of Neuroscience Methods*, 227, 10–17.
- Griffin, B., y Baker, H.J. (2002). Domestic Cats as Laboratory Animals. *Laboratory Animal Medicine*, 2002, 459-482
- Gross, A.L., Gray-edwards, H.L., Bebout, C.N., Ta, N.L., Nielsen, K., Brunson, B.L., ... Martin, D.R. (2022). Intravenous delivery of adeno-associated viral gene therapy in feline GM1 gangliosidosis. *Brain*, 145(2), 655-669.

- Hasegawa, D., Yamato, O., Kobayashi, M., Fujita, M., Nakamura, S., Takahashi, K., ... Orima, H. (2007). Clinical and molecular analysis of GM2 gangliosidosis in two apparent littermate kittens of the Japanese domestic cat. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 9(3), 232–237.
- Hayward, C., Patel, H.C., Manohar, S.G., y Lyon, A.R. (2015). Gene therapy for GM1 gangliosidosis: Challenges of translational medicine. *Annals of Translational Medicine*, 3, (Suppl 1), S28.
- Hocquemiller, M., Giersch, L., Mei, X., Gross, A.L., Randle, A.N., Gray-Edwards, H.L., ... Laufer, R. (2022). AAVrh10 vector corrects pathology in animal models of GM1 gangliosidosis and achieves widespread distribution in the CNS of nonhuman primates. *Molecular Therapy*, 27, 281-292.
- Husain, Z., Rojas, J., Maghari, A., y Lambert, W.C. (2011). Why immunofluorescence? *Skinmed*, 9(1), 52–54.
- Ivanova, M.M., Dao, J., Kasaci, N., Adewale, B., Nazari, S., Noll, L., ...Goker-Alpan, O. (2021). Cellular and biochemical response to chaperone versus substrate reduction therapies in neuropathic Gaucher disease. *PLoS One*, 16(10), e0247211.
- Jewett, D.L. (1970). Volume-conducted potentials in response to auditory stimuli as detected by averaging in the cat. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology*, 28(6), 609–618.

- Jeyakumar, M., Butters, T.D., Cortina-Borja, M., Hunnam, V., Proia, R.L., Perry, V.H., ... Platt, F.M. (1999). Delayed symptom onset and increased life expectancy in Sandhoff disease mice treated with N-butyldeoxynojirimycin. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 96(11), 6388–6393.
- Jeyakumar, M., Butters, T.D., Dwek, R.A., y Platt, F.M. (2002). Glycosphingolipid lysosomal storage diseases: Therapy and pathogenesis. *Neuropathology and Applied Neurobiology*, 28(5), 343–357.
- Jolly, R.D., y Walkley, S.U. (1997). Lysosomal Storage Diseases of animals: An Essay in Comparative Pathology. *Veterinary Pathology*, 34(6), 527-548.
- Jolly, R.D. (1993). Lysosomal storage diseases in livestock. *The Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice*, 9(1), 41–53.
- Joep, R.S., Baker, H.J., y Connor, D.J. (1986). Increased Acetylcholine Synthesis and Release in Brains of Cats with GM1 Gangliosidosis. *Journal of Neurochemistry*, 46(5), 1567–1572.
- Kanae, Y., Endoh, D., Yamato, O., Hayashi, D., Matsunaga, S., Ogawa, ... Hayashi, M. (2007). Nonsense mutation of feline β -hexosaminidase β -subunit (HEXB) gene causing Sandhoff disease in a family of Japanese domestic cats. *Research in Veterinary Science*, 82(1), 54–60.
- Kelly, L., Dutra, F., Llambí, S., Rivero, R., Moraes, J., Trenchi, G., ... Dalla Rizza, M. (2012). Diagnóstico molecular de enfermedades hereditarias bovinas en el Uruguay. *Veterinaria (Montevideo)*, 48, (188), 3-11.
- Kohyama, M., Yabuki, A., Ochiai, K., Nakamoto, Y., Uchida, K., Hasegawa, D., ... Yamato, O. (2016). In situ detection of GM1 and GM2 gangliosides using immunohistochemical and immunofluorescent techniques for auxiliary diagnosis of canine and feline gangliosidoses. *BMC Veterinary Research*, 12, 1–8.
- Krivit, W., Aubourg, P., Shapiro, E., y Peters, C. (1999) Bone marrow transplantation for globoid cell leukodystrophy, adrenoleukodystrophy, metachromatic leukodystrophy, and Hurler syndrome. *Current Opinion in Hematology*, 6(6), 377.

- Krivit, W., Sung, J.H., Shapiro, E.G., y Lockman, L.A. (1995). Microglia: the effector cell for reconstitution of the central nervous system following bone marrow transplantation for lysosomal and peroxisomal storage diseases. *Cell Transplantation*, 4(4), 385-392
- Kumar, M., Duda, J.T., Yoon, S.Y., Bagel, J., O'Donnell, P., Vite, C., ... Poptani, H. (2016). Diffusion Tensor Imaging for Assessing Brain Gray and White Matter Abnormalities in a Feline Model of a -Mannosidosis. *Journal of Neuropathology and Experimental Neurology*, 75(1), 35–43.
- Lara-Aguilar, R.A., Juárez-Vázquez, C.I., y Medina-Lozano, C. (2011). Terapia de las enfermedades por depósito lisosomal: actualidad y perspectivas. *Revista de Investigación Clínica*, 63(6), 651-658.
- Lawson, C.A., y Martin, D.R. (2016). Animal models of GM2 gangliosidosis: utility and limitations. *Application of Clinical Genetics*, 9, 111-120.
- Leal, A.F., Benincore-Flórez, E., Solano-Galarza, D., Jaramillo, R.G.G., Echeverri-Peña, O.Y., Suarez, D.A., ... Espejo-Mojica, A.J. (2020). GM2 Gangliosidosis. Clinical features, pathophysiological aspects, and current therapies. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(17), 6213.
- Loo, T.W., y Clark, D.M. (2007). Chemical and pharmacological chaperones as new therapeutic agents. *Reviews of Experts in Molecular Medicine*, 9(16), 1–18.
- Maegawa, G.H.B., Banwell, B.L., Blaser, S., Sorge, G., Toplak, M., Ackerle Y. C., ... Clarke, J.T.R. (2009). Substrate reduction therapy in juvenile GM2 gangliosidosis. *Molecular Genetics and Metabolism*, 98(1–2), 215–224.
- Maegawa, G.H.B., Stockle Y, T., Tropak, M., Banwell, B., Blaser, S., Kok, F., ... Clarke, J.T.R. (2006). The natural history of juvenile or subacute GM2 gangliosidosis: 21 New cases and literature review of 134 previously reported. *Pediatrics*, 118(5), e1550-e1562.

- Marshall, J., Sun, Y., Bangari, D.S., Budman, E., Park, H., Nietupski, J.B., ... Cheng, S.H. (2016). CNS-accessible inhibitor of glucosylceramide synthase for substrate reduction therapy of neuronopathic gaucher disease. *Molecular Therapy*, 24(6), 1019–1029.
- Martin, D.R., Cox, N.R., Morrison, N.E., Kennamer, D.M., Peck, S.L., Dodson, A.N, ... Baker, H.J. (2005). Mutation of the GM2 activator protein in a feline model of GM2 gangliosidosis. *Acta Neuropathologic*, 110, 443–450.
- Martin, D.R., Krum, B.K., Varadarajan, G.S., Hathcock, T.L., Smith, B.F., y Baker, H.J. (2004) An inversion of 25 base pairs causes feline GM2 gangliosidosis variant 0. *Experimental Neurology*, 187(1), 30–37.
- Martin, D.R., Rigat, B.A., Foureman, P., Varadarajan, G.S., Hwang, M., Krum, B.K, ...Baker, H.J. (2008). Molecular consequences of the pathogenic mutation in feline GM1 gangliosidosis. *Molecular Genetics and Metabolism*, 94(2), 212–221.
- Masciullo, M., Santoro, M., Modoni, A., Ricci, E., Guitton, J., Tonali, P., y Silvestri, G. (2010). Substrate reduction therapy with miglustat in chronic GM2 gangliosidosis type Sandhoff: results of a 3-year follow-up. *Journal of Hereditary Metabolic Diseases*, 33, 355-361.
- Matsuda, J., Suzuki, O., Oshima, A., Yamamoto, Y., Noguchi, A., Takimoto, K., ... Suzuki, Y. (2003). Chemical chaperone therapy for brain pathology in GM1-gangliosidosis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100(26), 15912–15917.

- Matsuoka, K., Tamura, T., Tsuji, D., Dohzono, y., Kitakaze, K., Ohno, K., ... Itoh, K. (2011). Therapeutic Potential of Intracerebroventricular Replacement of Modified Human β -Hexosaminidase B for GM2 Gangliosidosis. *Molecular Therapy*, 19(6), 1017–1024.
- McColl, B., y Vadolas, J. (2016). Animal models of β -hemoglobinopathies: Utility and limitations. *Journal of Blood Medicine*, 7, 263–274.
- McCurdy, V.J., Johnson, A.K., Gray-Edwards, H.L., Randle, A.N., Brunson, B.L., Morrison, N.E., ... Martin, D.R. (2014). Sustained normalization of neurological disease after intracranial gene therapy in a feline model. *Science Translational Medicine*, 6(231), 231ra48-231ra48.
- McCurdy, V.J., Johnson, A.K., Gray-Edwards, H.L., Randle, A.N., Bradbury, A.M., Morrison, N.E., ... Martin, D.R. (2021). Therapeutic benefit after intracranial gene therapy delivered during the symptomatic stage in a feline model of Sandhoff disease. *Gene Therapy*, 28(3–4), 142–154.
- Meikle, P.J., Hopwood, J.J., Clague, A.E., y Carey, W.F. (1999). Prevalence of lysosomal storage disorders. *Journal of the American Medical Association*, 281(3), 249–254.
- Menotti-Raymon, M., y O'Brien, S.J. (2008). The domestic cat, felis catus, as a model of hereditary and infectius disease. En P.M. Conn, (Ed.), *Model reference book for biomedical research* (pp. 221–232). Totowa: Humana Press.
- Muldoon, L.L., Neuwelt, E.A., Pagel, M.A., y Weiss, D.L. (1994). Characterization of the molecular defect in a feline model for type II G(M2)-gangliosidosis (Sandhoff disease). *American Journal of Pathology*, 144(5), 1109.
- Müller, G., Alldinger, S., Moritz, A., Zurbriggen, A., Kirchhof, N., Sewell, A. y Baumgärtner, W. (2001). GM1-gangliosidosis in Alaskan Huskies: Clinical and Pathologic Findings. *Veterinary Pathology*, 38(3), 281-290.
- Murray, J.A., Blakemore, W.F., y Barnett, K.C. (1977). Ocular lesions in cats with GM - gangliosidosis with visceral involvement. *Journal of Small Animal Practice*, 18(1), 1-10.

- Neuwelt, E.A., Johnson, W.G., Blank, N.K., Pagel, M.A., Maslen-McClure, C., McClure, M.J., y Wu, P.M. (1985). Characterization of a new model of G(M2)-gangliosidosis (Sandhoff's disease) in Korat cats. *Journal of Clinical Investigation*, 76(2), 482–490.
- Noden, D.M., y De Lahunta, A. (1985). *La embriología de los animales domésticos. Mecanismos de desarrollo y malformaciones*. Baltimore: Williams y Wilkins.
- Noden, D.M., y De Lahunta. A. (1990). *Embriología de los animales demesticos*. Zaragoza: Acribia.
- Norflus, F., Tifft, C.J., McDonald, M.P., Goldstein, G., Crawley, J.N., Hoffmann, A., ... Proia, R.L. (1998). Bone marrow transplantation prolongs life span and ameliorates neurologic manifestations in sandhoff disease. *The Journal of Clinical Research*, 101(9), 1881–1888.
- O'Brien, S.J., Lander, E.S., Haskins, M.E., Giger, U., Pederson, N.C., Wildt, D.E, ... Menotti-Raymond, M. (2002). Sequencing the genome of the domestic cat felis catus. *NHGRI white paper*. Recuperado de https://nsuworks.nova.edu/cgi/viewcontent.cgi?article=1788&context=cnsobio_farticles/
- O'Brien, D.P., y Leeb, T. (2014). DNA Testing in Neurologic Diseases. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 28(4), 1186–1198.
- O'Brien, J.S., Storb, R., Raff, R.F., Harding, J., Appelbaum, F., Morimoto, S., ... O'Brien, S.L. (1990). Bone marrow transplantation in canine GM1 gangliosidosis. *Clinical Genetics*, 38(4), 274–280.
- Occhiodoro, T., y Anson, D.S. (1995). Isolation of the canine et-L-fucosidase cDNA and definition of the fucosidosis mutation in English Springer Spaniels. *Mammalian genome*, 7(4), 271-274.
- Palmano, K., Rowan, A., Guillermo, R., Guan, J., y Mcjarrow, P. (2015). The Role of Gangliosides in Neurodevelopment. *Nutrients*, 7(5), 3891–3913.
- Parenti, G. (2009). Treating lysosomal storage diseases with pharmacological chaperones: From concept to clinics. *EMBO Molecular Medicine*, 1(5), 268–279.

- Patterson, D.F., Aguirre, G.A., Fyfe, J.C., Giger, F.U., Green, P.L., Haskins, M.E, ... Meyers-Wallen, V.N.(1989). Is this a genetic disease?. *Magazine of Practice of Small Animals*, 30(3),127–139.
- Pereira, D.M., Valentão, P., y Andrade, P.B. (2018). Adjustment of protein folding in y Isosomal storage diseases: the chemistry behind pharmacological chaperones. *Chemical Science*, 9(7), 1740-1752.
- Platt, F.M., Neises, G.R., Reinkensmeier, G., Townsend, M.J., Perry, V.H., Proia, R.L., ...Butters, T.D. (1997). Prevention of lysosomal storage in tay-sachs mice treated with n- butyldeoxynojirimycin. *Science*, 276 (5311), 428-431.
- Platt, S.R., y Olby, N. (2014). *BSAVA manual of canine and feline neurology* (4^a ed.). Athens: British Association of Veterinarians of Small Animals.
- Poncelet, L., Héraud, C., Springinsfeld, M., Ando, K., Kabova, A., Beineke, A., ... Brion, J.P. (2013). Identification of feline panleukopenia virus proteins expressed in Purkinje cell nuclei of cats with cerebellar hypoplasia. *Veterinary Journal*, 196(3), 381–387.
- Prasad, V.K., y Kurtzberg, J. (2010). Transplant Outcomes in Mucopolysaccharidoses. *Seminars in Hematology*, 47(1), 59-69.
- Radin, N.S. (1996). Treatment of Gaucher disease with an enzyme inhibitor. *Glycoconjugate Journal*, 13, 153–157.
- Rahman, M.M., Shoubudani, T., Mizukami, K., Chang, H.S., Hossain, M.A., Yabuki, A., ...Yamato, O. (2011). Rapid and simple polymerase chain reaction-based diagnostic assays for GM2 gangliosidosis variant 0 (Sandhoff-like disease) in Japanese domestic cats. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 23(2), 338–342.
- Rastall, D.P., y Amalfitano, A. (2017). Current and Future Treatments for Lysosomal Storage Disorders. *Current Treatment Options in Neurology*, 19, 1-14.
- Rha, A.K., Maguire, A.S., y Martin, D.R. (2021). Gm1 gangliosidosis: Mechanisms and management. *Application of Clinical Genetics*, 14, 209–233.

- Rigat, B.A., Tropak, M.B., Buttner, J., Crushell, E., Benedict, D., Callahan, J.W., ... Mahuran, D.J. (2012). Evaluation of N-nonyl-deoxygalactonojirimycin as a pharmacological chaperone for human GM1 gangliosidosis leads to identification of a feline model suitable for testing enzyme enhancement therapy. *Molecular Genetics and Metabolism*, 107(1–2), 203–212.
- Rivero, R., Kautz, S., Gomar, M.S., Barros, S.S., y Gimeno, E.J. (2001). Enfermedad de almacenamiento lisosomal en terneros del norte de Uruguay. *Veterinaria (Montevideo)*, 36(144-145), 5-9.
- Rockwell, H.E., McCurdy, V.J., Eaton, S.C., Wilson, D.U., Johnson, A.K., Randle, A.N., ... Martin, D.R. (2015). AAV-mediated gene delivery in a feline model of sandhoff disease corrects lysosomal storage in the central nervous system. *ASN Neuro*, 7 (2), 1759091415569908.
- Salman, M.S., Clarke, J.T.R, Midroni, G., y Waxman, M.B. (2001). Peripheral and autonomic nervous system involvement in chronic GM2-gangliosidosis. *Review of Inherited Metabolic Diseases*, 24(1), 65-71.
- Samoylova, T.I., Martin, D.R., Morrison, N.E., Hwang, M., Cochran, A.M., Samoylov, A.M., ... Cox, N.R. (2008). Generation and characterization of recombinant feline β -galactosidase for preclinical enzyme replacement therapy studies in GM1 gangliosidosis. *Metabolic Brain Disease*, 23, 161–173.
- Sandhoff, K., y Harzer, K. (2013). Gangliosides and Gangliosidoses. Principles of Molecular and Metabolic Pathogenesis. *Journal of Neuroscience*, 33(25), 10195–10208.
- Santi, P.A., Mancini, P., y Barnes, C. (1994). Identification and localization of the GM1 ganglioside in the cochlea using thin-layer chromatography and cholera toxin. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry*, 42(6), 705–716.
- Satoh, H., Yamato, O., Asano, T., Yamasaki, M., y Maede, Y. (2004). Increased concentration of GM1-ganglioside in cerebrospinal fluid in dogs with GM1- and GM2-gangliosidoses and its clinical application for diagnosis. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 16(3), 223-226.

- Schooser, B., Hill, V., y Raben, N. (2008). *Therapeutic approaches in glycogen storage disease type II / Pompe disease. Neurotherapy*, 5, 569–578.
- Shield, J.P.H., Stone, J., y Steward, C.G. (2005). Bone marrow transplantation correcting β -galactosidase activity does not influence neurological outcome in juvenile GM1-gangliosidosis. *Journal of Inherited Metabolic Disease*, 28(5), 797–798.
- Svennerholm, L. (1963). Chromatographic separation of human brain gangliosides. *Journal of Neurochemistry*, 10(9), 613–623.
- Takaura, N., Yagi, T., Maeda, M., Nanba, E., Oshima, A., Suzuki, Y., ... Tanaka, A. (2003). Attenuation of ganglioside GM1 accumulation in the brain of GM1 gangliosidosis mice by neonatal intravenous gene transfer. *Gene Therapy*, 10 (17), 1487–1493.
- Taylor, R.M., Farrow, B.R.H., y Healy, P.J. (1987). Canine fucosidosis: clinical findings. *Journal of Small Animal Practice*, 28(4), 291–300.
- Tsuji, D., Akeboshi, H., Matsuoka, K., Yasuoka, H., Miyasaki, E., Kasahara, Y., ... Itoh, K. (2010). Highly Phosphomannosylated enzyme replacement therapy for gm2 gangliosidosis. *Neurological Annals*, 69(4), 691-701.
- Uddin, M.M., Hossain, M.A., Rahman, M.M., Chowdhury, M.A., Tanimoto, T., Yabuki, A., ... Yamato, O. (2013). Identification of Bangladeshi domestic cats with GM1 gangliosidosis caused by the c.1448G>C mutation of the feline GLB1 gene. Case study. *Journal of Veterinary Medical Science*, 75(3), 395–397.
- Uddin, M.M., Tanimoto, T., Yabuki, A., Kotani, T., Kuwamura, M., Chang, H.S., y Yamato, O. (2012). Mutation analysis of GM1 gangliosidosis in a Siamese cat from Japan in the 1960s. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 14(12), 900–902.
- Ueno, H., Yamato, O., Sugiura, T., Kohyama, M., Yabuki, A., Miyoshi, K., ... Uchide, T. (2016). GM1 gangliosidosis in a Japanese domestic cat: A new variant identified in Hokkaido, Japan. *Journal of Veterinary Medical Science*, 78(1), 91–95.

- Valles-Ayoub, Y., Esfandiarifard, S., No, D., Sinai, P., Khokher, Z., Kohan, M., ... Darvish, D. (2011). Wolman disease (LIPA p.G87V) genotype frequency in people of Iranian-Jewish ancestry. *Genetic Testing and Molecular Biomarkers*, 15(6), 395–398.
- Vapniarsky, N., Wenger, D.A., Scheenstra, D., y Mete, A. (2013). Sphingomyelin lipidosis (Niemann-Pick Disease) in a juvenile raccoon (*Procyon lotor*). *Journal of Comparative Pathology*, 149(2–3), 385–389.
- Walkley, S.U., Thral, M.A., Dobrenis, K., Huang, M., March, P.A., Siegel, D.A., y Wurzelmann, S. (1994). Bone marrow transplantation corrects the enzyme defect in neurons of the central nervous system in a lysosomal storage disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 91(8), 2970–2974.
- Wang, C.y.J., y Smith, B.F. (2007). Development of quantitative polymerase chain reaction assays for allelic discrimination of gangliosidoses in cats. *American Journal of Veterinary Research*, 68(3), 231–235.
- Weesner, J.A., Annunziata, I., Yang, T., Acosta, W., Gomero, E., Hu, H., ... d’Azzo, A. (2022). Preclinical enzyme replacement therapy with a recombinant β -galactosidase-lectin fusion for cns delivery and treatment of GM1-Gangliosidosis. *Cells*, 11(16), 2579.
- Yamato, O., Hayashi, D., Satoh, H., Shoda, T., Uchida, K., Nakayama, H., ... Arai, T. (2008). Retrospective diagnosis of feline GM2 gangliosidosis variant 0 (sandhoff-like disease) in Japan. Possible spread of the mutant allele in the Japanese domestic cat population. *Journal of Veterinary Medical Science*, 70(8), 813–818.
- Yamato, O., Satoh, H., Matsuki, N., Ono, K., Yamasaki, M., y Maede, Y. (2004). Laboratory diagnosis of canine GM2-gangliosidosis using blood and cerebrospinal fluid. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 16(1), 39–44.

Yu, Y., Hasegawa, D., Hamamoto, Y., Mizoguchi, S., Fujimori, T., Kubo, Y., ... Yamato, O. (2022). Skeletal radiographic manifestations of GM2 gangliosidosis variant 0 (Sandhoff disease) in two Japanese domestic cats. *Journal of Feline Medicine and Surgery Open Reports*, 8(1), 20551169221074964.