

# Deficiencia enzimática D-bifuncional peroxisomal.

## Caso clínico

### RESUMEN

Recién nacido con diagnóstico de epilepsia neonatal, en quien el abordaje interdisciplinario permitió sospechar deficiencia enzimática de la proteína D-bifuncional peroxisomal dado antecedente heredofamiliar, síndrome hipotónico neonatal severo, convulsiones neonatales, dismorfia craneofacial, retraso psicomotor, trastorno en la migración neuronal y tamiz peroxisomal positivo. Se realizó el cultivo de fibroblastos de piel para análisis enzimático, estudios de complementación y análisis molecular del ADN. La acumulación de los ácidos grasos de cadena muy larga, la deficiencia parcial en la oxidación de ácido fitánico y la morfología anormal de peroxisomas confirmaron el diagnóstico, lo cual es importante para ofrecer asesoramiento genético preconcepcional a los padres, identificar el riesgo de recurrencia y analizar la mutación para el gen D-bifuncional para un futuro diagnóstico prenatal.

### SUMMARY

Newborn was referred with diagnosis of neonatal epilepsy. Medical team could suspect and confirm D-bifunctional peroxisomal enzymatic deficiency diagnosis. It was made by family antecedents, severe neonatal hypotonia, uncontrolled neonatal seizures, craniofacial dysmorphic features, psychomotor retardation, neuronal migration defect and a positive peroxisomal panel. The full study in skin fibroblasts involved enzyme analysis, complementation studies and DNA analysis. The accumulation of very long chain fatty acids, partial deficiency in phytanic acid oxidation, and abnormal morphology of peroxisomes was consistent with a defect in peroxisomal fatty acid oxidation, involving D-bifunctional protein. It is very important to make a diagnosis of this innate error of metabolism in order to give preconceptional genetic counseling, to identify recurrence risk and to perform mutation analysis for the D-bifunctional protein gene, and to offer the prenatal diagnosis.

Recibido: 11 de diciembre de 2006

Aceptado: 4 de abril de 2007

### Caso clínico

Recién nacido masculino de padre de 40 años y madre de 25 años, sanos, no consanguíneos ni endogámicos. Un hermano producto del primer embarazo falleció a los tres meses de edad; el informe anatopatológico indicó adrenoleucodistrofa neonatal. Un hermano sano de cinco años de edad, producto de la segunda gesta. El paciente fue producto del tercer embarazo, el cual cursó con amenaza de aborto en el primer trimestre y culminó a las 39 semanas de edad gestacional por cesárea programada debido a presentación pélvica. Peso al nacimiento 3150 g, talla 53 cm, perímetrocefálico 36 cm, Apgar 8-9. Se identificó síndrome hipotónico sin requerir ventilación asis-

tida. A las seis horas de vida extrauterina presentó movimientos clónicos multifocales y *nistagmus* horizontal de dos minutos de duración, con períodos de apnea y cianosis.

A los 16 días de vida fue remitido al tercer nivel de atención por recurrencia de las crisis e hipotonía. Se detectó dolicocefalia, cabalgamiento moderado de suturas, fontanela anterior amplia, normotensa, 3 × 3 cm, con frontal prominente, cabello y cejas escasas, puente nasal plano, narinas antevertidas, *philtrum* largo, paladar ojival, pliegues palpebrales oblicuos, micrognatia, occipucio prominente, resto sin alteraciones (figura 1). Olor no *sui generis*.

A la exploración neurológica, letargia, movilización de las cuatro extremidades, postura cor-

Raquel  
Chávez-Torres,<sup>1</sup>  
Jaime Ruiz-Chávez,<sup>1</sup>  
Eugenio Ruiz-Cruz,<sup>1</sup>  
Evelyn  
Juárez-Naranjo,<sup>1</sup>  
Laura Campos-Campos,<sup>1</sup>  
Laura  
Villanueva-Padrón,<sup>1</sup>  
Adriana  
Horta-Martínez,<sup>1</sup>  
María de la Luz  
Montes-Castillo,<sup>2</sup>  
Víctor  
Monroy-Hernández,<sup>3</sup>  
Elena Hernández-  
Caballero<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Hospital General,  
Centro Médico Nacional  
La Raza

<sup>2</sup>Unidad de Medicina  
Física y Rehabilitación  
Norte "Magdalena de las  
Salinas"

<sup>3</sup>Hospital de Especialidades,  
Centro Médico Nacional  
La Raza

<sup>4</sup>Hospital de Pediatría,  
Centro Médico Nacional  
Siglo XXI

Instituto Mexicano del  
Seguro Social, Distrito  
Federal, México

Comunicación con:  
Raquel Chávez-Torres.  
Correo electrónico:  
rpchavez@prodigy.net.mx

### Palabras clave

- ✓ peroxisomas
- ✓ alteraciones
- peroxisomales
- ✓ ácidos grasos

### Key words

- ✓ peroxisomes
- ✓ fatty acids
- ✓ peroxisomal disorders

poral flácida en reposo. Caída en gota de la cabeza. Fondo de ojo sin alteraciones. Succión, deglución, reflejo tusígeno y nauseoso presentes. Reflejos de estiramiento muscular presentes en miembros torácicos y disminuidos en patellar y aquileo. Ausencia de presión palmar y plantar. Los exámenes de laboratorio y gabinete con resultados normales. La resonancia magnética de cráneo inicial mostró displasia cortical no lisencéfala; heterotopias nodulares en la región parietal izquierda; encefalopatía hipoxica y retraso en la mielinización. El electroencefalograma inicial con datos sugestivos de síndrome de Ohtahara y en un segundo trazo de tipo hipsarrítmico compatible con síndrome de West.

A la edad de dos meses se concluyó encefalopatía hipoxica isquémica moderada, disgenesia cerebral y síndrome de West. Fue egresado y simultáneamente se incluyó en la clínica de seguimiento de neurodesarrollo neonatal e infantil del hospital. El posterior abordaje multi e interdisciplinario llevó a reiniciar el protocolo de investigación.

El antecedente heredofamiliar de un hermano muerto por adrenoleucodistrofia neonatal obligó a la toma del panel peroxisomal para la determinación de los ácidos grasos de cadena muy larga en suero, con resultados alterados expresados por el incremento del C26:0, de las relaciones C24:0/C22:0, C26:0/C22:0 y ácido pristánico/ácido fitánico. Se procedió a biopsia de piel para el cultivo de fibroblastos y se determinó el contenido de ácidos grasos de cadena muy

larga, la síntesis de plasmalógeno, la oxidación de ácido fitánico, la solubilidad de catalasa y la visualización de peroxisomas por inmunocitoquímica.

El resultado confirmó deficiencia enzimática en la proteína D-bifuncional en la  $\beta$ -oxidación de ácidos grasos peroxisomal, fundamentada en la acumulación de ácidos grasos de cadena muy larga, deficiencia parcial en la oxidación del ácido fitánico y morfología anormal de los peroxisomas.

Durante el seguimiento se documentó calcificaciones patelares puntiformes en ambas rodillas, epilepsia mixta mioclónica de difícil control, polineuropatía sensorimotora, alteración en la segunda fase de la mecánica de la deglución, enfermedad de reflujo gastroesofágico severa con esofagitis y retraso en el vaciamiento gástrico, con la expresión clínica de bronconeumonías intercurrentes, por lo que el paciente requirió gastrostomía y funduplicatura de Nissen a los seis meses. A los ocho meses de edad se documentó disfunción visual severa y atrofia óptica; a los nueve meses se identificó hipoacusia superficial bilateral por defecto en la mielinización, retraso severo del desarrollo global, con deterioro multisistémico progresivo y macrocráneo al año.

El electroencefalograma a los ocho y 12 meses mostró moderada desorganización de la actividad de base, aumento de la excitabilidad cortical parietal derecha y frontocentral izquierda, en ocasiones con tendencia a la generalización secundaria y pobre estructuración de elementos de sueño; la resonancia magnética de cráneo a los 12 meses mostró paquigiria, retraso en la mielinización, disgenesia de cuerpo calloso y quiste aracnoideo en fosa posterior. El paciente falleció al año y tres meses de edad.

Las alteraciones identificadas en el estudio anatomopatológico fueron atrofia bilateral de glándula suprarrenal (corteza), desmielinización de la sustancia blanca en centro semioval cerebral, neuromitis intersticial y focos de bronconeumonía bacteriana con reacción granulomatosa a cuerpo extraño; edema pulmonar por historia clínica de enfermedad de reflujo gastroesofágico; esofagitis aguda, histiocitos de almacenamiento en timo y ganglios linfáticos, hepatomegalia con colestasis centrolobulillar y esplenomegalia congestiva.

Se extendió el estudio a los padres y al hermano, con la determinación de ácidos grasos de cadena muy larga en suero, que resultó normal. La madre no era portadora para adrenoleuco-



**Figura 1. Dismorfia craneo-facial:  
región frontal muy amplia**

distrofia ligada al cromosoma X. Se está realizando el análisis de la mutación para el gen de la proteína D-bifuncional en ambos padres.

## Discusión

Los errores innatos del metabolismo son enfermedades monogénicas con patrón de herencia autosómica recesiva. Las enfermedades peroxisomales son patologías metabólicas genéticamente heterogéneas caracterizadas por alteraciones en las vías metabólicas localizadas en el peroxisoma.

Las alteraciones del peroxisoma pueden deberse a ausencia total por defecto en su génesis o a ausencia parcial por falla en la importación de una enzima. Las manifestaciones clínicas neurológicas por su carencia sugieren un papel preponderante en la mielinización y migración neuronal.<sup>1</sup>

Se desconoce la frecuencia de la enfermedad peroxisomal en México. En Europa tiene una incidencia de uno por cada cinco mil nacimientos.<sup>2</sup> No encontramos informes en el país de la deficiencia enzimática en la proteína D-bifuncional en la  $\beta$ -oxidación peroxisomal.

En el neonato o lactante con hipotonía generalizada, dismorfia craneofacial (macrocefalia, frente prominente, puente nasal plano, baja implantación de pabellones auriculares, fontanela anterior muy amplia y micrognatia), convulsiones neonatales recurrentes, hepatomegalia y retraso en el neurodesarrollo por afectación visual y auditiva, debe sospecharse deficiencia de la proteína D-bifuncional en la  $\beta$ -oxidación peroxisomal. Un hallazgo sobresaliente son los trastornos en la migración neuronal: áreas de polimicrogiria y neuronas heterotópicas en el cerebro y cerebelo.<sup>3,4</sup> La mayoría de los pacientes fallece en el primer año de vida, es de término y no muestra evidencia de retraso en el crecimiento intrauterino.

Las pruebas de laboratorio específicas para llevar a cabo el diagnóstico diferencial<sup>4,5</sup> consisten en tamizaje selectivo, panel peroxisomal en suero, con determinación de ácidos grasos de cadena muy larga, tasa de plasmalógenos, ácido fitánico y pristánico, ácidos biliares intermedios y ácidos orgánicos y distribución de catalasa subcelular.

Los estudios confirmatorios se realizan en fibroblastos de piel con análisis enzimático, estudios de complementación y análisis de ADN.<sup>6</sup>

Para comprender este tipo de enfermedad metabólica es importante revisar la estructura, las funciones y la biogénesis de los peroxisomas.<sup>7</sup>

El peroxisoma es uno de los cuatro sistemas de organelos presentes en toda célula nucleada. Presenta una membrana única y una matriz proteica interna donde se realizan más de 50 reacciones enzimáticas.<sup>8</sup> Interviene activamente en el metabolismo de lípidos y entre las principales funciones tiene la  $\beta$ -oxidación de los ácidos grasos saturados de cadena muy larga, larga y media, y la oxidación de los ácidos grasos monoinsaturados, poliinsaturados y ramificados (ácido pristánico). Dicha oxidación no se realiza en su totalidad en el peroxisoma, sino que los productos parcialmente oxidados, con excepción de los que utilizan esta vía para su síntesis, son transportados a la mitocondria para completar su degradación; la  $\alpha$ -oxidación del ácido fitánico; los primeros pasos de la síntesis de éter-fosfolípidos (plasmalógenos); los diferentes pasos de la síntesis del colesterol y de la síntesis de los ácidos biliares, así como la eliminación del peróxido de hidrógeno.

Las consecuencias metabólicas más importantes de la deficiencia en la proteína D-bifuncional son la acumulación de ácidos grasos de cadena muy larga, como C26:0;  $\alpha$ -metil de ácidos grasos de cadena ramificada, como el ácido pristánico e intermediarios de ácidos biliares: ácidos di y trihidrocolestanicos.<sup>9</sup>

La deficiencia de la enzima D-bifuncional puede dividirse en tres tipos:<sup>10</sup> I, deficiencia de las funciones hidratasa y deshidrogenasa, que consiste en defectos graves dados por grandes delecciones o proteínas truncadas y los pacientes mueren en los 14 primeros meses de vida; II, deficiencia aislada de la unidad hidratasa; III, deficiencia aislada de la unidad deshidrogenasa.

Existen dos grupos de alteraciones peroxisomales, según existan o no peroxisomas.<sup>3</sup> En el primer grupo están los trastornos de la biogénesis en los que no pueden importarse las proteínas de la matriz peroxisomal, en las que están ausentes todas o gran parte de las funciones peroxisomales. Las enfermedades de la biogénesis de los peroxisomas son genéticamente heterogéneas, presentan un fenotipo variable entre la forma grave del síndrome cerebrohepatorenal de Zellweger, la menos grave de adrenoleucodistrofia neonatal, hasta la menos intensa de la enfermedad de Refsum infantil, formando un espectro continuo

Raquel Chávez-Torres  
et al. Deficiencia  
enzimática D-bifuncional  
peroxisomal

sintomático en función de la gravedad del déficit enzimático y no de la cualidad de este déficit; se incluye en este grupo la condrodisplasia punctata rizomiélica.

El segundo grupo abarca los procesos en los que existe falla de una sola enzima peroxisomal. La más frecuente es la adrenoleucodistrofia ligada al cromosoma X, pero también están las deficiencias de la acil-CoA oxidasa, de la proteína D-bifuncional,<sup>11</sup> de la tiolasa peroxisomal y de la 2-metilacil-CoA racemasa. La presentación clínica de las tres primeras simula trastornos en la biogénesis peroxisomal.<sup>12</sup> De aquí la importancia de clasificar las enfermedades peroxisomales desde el punto de vista metabólico, enzimático y molecular.<sup>13</sup>

El tratamiento es muy limitado y no cambia la evolución clínica de la deficiencia enzimática D-bifuncional peroxisomal, la cual es letal.<sup>14,15</sup> En el paciente descrito, el centro de referencia internacional recomendó modificar la dieta para evitar la acumulación del ácido fitánico, la suplementación con ácido docosahexaenoico y la terapia con ácidos biliares, no disponibles en nuestro país.<sup>15</sup>

La importancia de confirmar el diagnóstico radica en que es una enfermedad monogénica con patrón de herencia autosómica recesiva. Los padres son portadores heterocigotos con 25 % de riesgo de recurrencia en cada embarazo. Por lo que una vez confirmado el diagnóstico del *propositus*, se debe extender el estudio a la familia y ofrecer el asesoramiento genético preconcepcional, información del riesgo de recurrencia y el diagnóstico prenatal con fines de prevención.<sup>16</sup>

## Referencias

1. López-Terradas JM. Introducción al estudio de las enfermedades peroxisomales. Rev Neurol 1999; 28(1):S34-S37.
2. Möller G, van Grunsven EG, Wanders RJA, Adamski J. Molecular basis of D-bifunctional protein deficiency. Mol Cell Endocrinol 2001; 171:61-70.
3. Martínez M. Sintomatología clínica de las enfermedades peroxisomales generalizadas. Rev Neurol 1999;28(1):S49-S54.
4. Wanders RJA, Barth PG, Heymans HSA. Single peroxisomal enzyme deficiencies. En: Scriver, Beaudet, Valle, Sly, editors. The metabolic and molecular bases of inherited disease. Eight edition. New York, USA: McGrawHill; 2001. p. 3219-3256.
5. Baumgartner MR, Verhooeven NM, Jacobs C, Roels F, Espeel M, Martínez M, et al. Defective peroxisome biogenesis with a neuromuscular disorder resembling Werdnig-Hoffman disease. Neurology 1998;51:1427-1432.
6. Van Grunsven EG, van Berke E, Mooijer PAW, Watkins PA, Moser HW, Susuki Y, et al. Peroxisomal bifunctional protein deficiency revisited: resolution of its true enzymatic and molecular basis. Am J Hum Genet 1999;64:99-107.
7. Moser HW. El peroxisoma: estructura, función y biogénesis. Rev Neurol 1999;28(1):S37-S39.
8. Van der Zand A, Braakman I, Geuze HJ, Tabak HF. The return of the peroxisomes. J Cell Sci 2006;119:989-994.
9. Ferdinandusse S, Ylianttila MS, Gloerich J, Koski K, Oostheim W, Waterham HR, et al. Mutational spectrum of D-bifunctional protein deficiency and structure based genotype-phenotype analysis. Am J Hum Genet 2006;78:112-124.
10. Gloerich J, Denis S, Van Grunsven EG, Dacomont G, Wanders RJ, Ferdinandusse S. A novel HPLC-based method to diagnose peroxisomal D-bifunctional protein enoyl-CoA hidratase deficiency. J Lipid Res 2003;44: 2714-2723.
11. Watkins PA, McGuinness MC, Raymond GV, Hicks BA, Sisk JM, Moser AB, et al. Distinction between peroxisomal bifunctional enzyme and acyl-coA oxidase deficiencies. Ann Neurol 1995; 38:472-477.
12. Clayton PT. Clinical consequences of defects in peroxisomal  $\beta$ -oxidation. Biochemical Society 2001; 29(2):298-305.
13. Chang Ch-Ch, South S, Warren D, Jones J, Moser AB, Moser H, Gould SJ. Metabolic control of peroxisome abundance. J Cell Sci 1999;112: 1579-1590.
14. Moser HW. Estrategias terapéuticas para las enfermedades peroxisomales. Rev Neurol 1999; 28(1):S65-S69.
15. Martínez M, Vázquez E, García-Silva MT, Beltrán JM, Castelló F, Pineda M, et al. Tratamiento de las enfermedades peroxisomales generalizadas con etil éster del ácido docosahexaenoico. Rev Neurol 1999;28(1):S59-S64.
16. Paton BC, Solly PB, Nelson PV, Pollard NA, Sharp PC, Fietz MJ. Molecular analysis of genomic DNA allows rapid, and accurate, prenatal diagnosis of peroxisomal D-bifunctional protein deficiency. Prenat Diagn 2002;22:38-41. **rm**