

Aspectos clínicos, bioquímicos, moleculares y tratamiento de 2 pacientes con enfermedad de Gaucher

Clinical, biochemical and molecular features and the treatment of two patients presenting with Gaucher's disease

Dra. Kalia Lavaut Sánchez^I; Dr. Aramis Núñez Quintana^I; Dra. Ileana Nordet Carreras^I; Dr. Alejandro González Otero^I; Dra. Eva Svarch^I; Dr. Sergio Machín García^I; Dra. Pilar Giraldo^{II}; Dra. Clara Sá Miranda^{III}

^IInstituto de Hematología e Inmunología. Ciudad de La Habana, Cuba.

^{II}Hospital Universitario Miguel Servet, España.

^{III}Lysosome and Peroxisome Biology Unit, Portugal.

RESUMEN

La enfermedad de Gaucher es una entidad hereditaria del metabolismo de los esfingolípidos con un patrón de herencia autosómico recesivo determinada por una deficiencia de la actividad de la enzima b-glucosidasa ácida. En este trabajo se presentan 2 pacientes en edad pediátrica, uno del sexo femenino y otro del masculino, ambos con anemia y hepatoesplenomegalia confirmadas por ultrasonido. El aspirado de médula ósea mostró infiltración por células de almacenamiento, niveles bajos de la actividad enzimática de b-glucocerebrosidasa y el diagnóstico molecular de las posibles mutaciones conocidas confirmaron la enfermedad en ambos pacientes que se encuentran en tratamiento con terapia enzimática sustitutiva (imiglucerasa), con evolución favorable en los aspectos clínicos y humorales.

Palabras clave: enfermedad de Gaucher, terapia enzimática sustitutiva, b-glucosidasa, imiglucerasa.

ABSTRACT

Gaucher's disease is a hereditary entity related to sphingolipids metabolism with an autosomal recessive hereditary pattern determined by a failure of the acid b-glucosidase enzyme. In present paper authors present the case of two pediatric patients (1 female and 1 male) both presenting with anemia and hepatosplenomegaly by ultrasound (US). Bone marrow aspirate showed infiltration by storage cells, low levels of enzymatic activity of b-glucocerebroside and a molecular diagnosis of potential known mutations confirmed the disease in both patients, who are under treatment with substitutive enzymatic therapy (imiglucerase) with a favorable course in clinical and humoral features.

Key words: Gaucher's disease, substitutive enzymatic therapy, b-glucosidase, imiglucerase.

INTRODUCCIÓN

La enfermedad de Gaucher (EG) es una entidad hereditaria que tiene un patrón de herencia autosómico recesivo y en la que se encuentra afectado el metabolismo de los esfingolípidos. Fue descrita por primera vez en 1882 por el médico francés *Phillip Charles Gaucher*. (*Gaucher PCE*. De l'epithelioma primitif de la rate, hypertrophie idiopathique de la rate sans leucemie. Tesis. París: Facultad de Medicina; 1882). En 1965, se demostró que la EG estaba producida por el déficit de la enzima lisosomal glucosilceramida-b-glucosidasa (b-glucocerebroside), que es la responsable de la hidrólisis intracelular de la glucosilceramida y otros esfingolípidos afines y que provoca su acumulación en los lisosomas del sistema retículoendotelial.¹

Su incidencia aproximada en la población general es de 1/100 000 habitantes, pero entre los judíos de origen Ashkenazi es de 1/500-1/1 000.²

Es una enfermedad con gran heterogeneidad clínica dentro de la que se describen 3 formas: tipo I (EG I) (230800), que es la forma más común y que se encuentra asociada con anemia de intensidad variable, trombocitopenia, hepatoesplenomegalia y compromiso óseo; el tipo II (EGII) (230900), que tiene una forma de presentación más grave con alteraciones neurológicas desde el nacimiento y deterioro cerebral progresivo; mientras que el tipo III (231000), unido con la afectación visceral, presenta trastornos neurológicos precoces, aunque menos graves. Se ha señalado una forma atípica de esta entidad en la que se han encontrado mutaciones en el gen que codifica para el saposín C (610539), que es un activador de la enzima.³

En la actualidad, el diagnóstico de la enfermedad se realiza mediante la determinación de la actividad enzimática en leucocitos de sangre periférica. Se han encontrado más de 200 mutaciones en el gen, de ellas, la N370S y L444P son las que se presentan con mayor frecuencia.⁴ El gen para la enzima está ubicado en *locus* 1q21 y la identificación de las mutaciones es de gran utilidad para la detección de portadores en la familia, para el asesoramiento genético y el diagnóstico prenatal; además, permite realizar una correlación entre el genotipo y el fenotipo clínico. El tratamiento enzimático sustitutivo (TES) ha mostrado resultados alentadores.

Este trabajo tiene como objetivo describir los aspectos clínicos, bioquímicos, moleculares y la respuesta al tratamiento empleado en 2 pacientes con EG.

PRESENTACIÓN DE CASOS

Caso 1

S.T.O. Paciente femenina de 7 años que a los 8 meses de edad ingresó en nuestro instituto para estudio de la anemia. Al examen físico se comprobó esplenomegalia y hepatomegalia, ambas confirmadas por ultrasonido. Los exámenes indicados mostraron:

Hb 98g/L, conteo de reticulocitos 3,1 %, leucocitos $9,6 \times 10^9/L$, plaquetas $150 \times 10^9/L$, medulograma: infiltrado por células de almacenamiento.

A los 3 años de edad se indicó la esplenectomía por el criterio de aumento de volumen y peligro de ruptura. Se realizó esplenectomía parcial y en el estudio histológico se apreció incremento marcado de histiocitos con depósitos intracitoplasmáticos.

A los 4 años de edad presentó celulitis con miositis en región lateral del muslo derecho, sin traumatismo aparente, confirmada por ultrasonido de partes blandas. Al año se observó en el muslo izquierdo una imagen radiológica compatible con osteomielitis. Varios meses después presentó fractura ósea del codo derecho.

Los resultados de los estudios enzimáticos y moleculares fueron:

- Actividad de b-glucosidasa: 0,029 nmol/h, control 0,12.
- Niveles de quitotriosidasa: 29,27 nmol/h, control 1,39.
- Estudio molecular del gen de la b-glucocerebrosidasa: mutación N370/?

Desde hace 1 año y medio se encuentra recibiendo tratamiento con Imiglucerasa (Cerezyme®, Genzyme Corporation, Cambridge, U.S.A.) (TES) en una dosis de 1 200 mg cada 15 días.

La evolución ha sido favorable desde el punto de vista humoral y clínico: Hb 128 g/dL; plaquetas $210 \times 10^9/L$; el ultrasonido mostró hepatomegalia ligera y el bazo medía 41×42 mm. La radiología ósea fue normal. El desarrollo estatural y ponderal se mantenían normales, sin afectación neurológica.

Caso 2

B.M.A. Paciente masculino de 3 años de edad, que a los 9 meses ingresó en nuestra institución para el estudio de una esplenomegalia de 3 meses de evolución y anemia. Al examen físico se encontró estrabismo en ambos ojos, palidez cutáneo-mucosa, esplenomegalia de 8 cm y hepatomegalia difusa de 5 cm confirmadas ambas por ultrasonido. En los exámenes realizados se encontró: Hb 89 g/L, conteo

de plaquetas: $150 \times 10^9/L$ y conteo de leucocitos normales. En el medulograma se informó infiltración por células de almacenamiento.

Evolutivamente continuó con gran hepatoesplenomegalia, por lo que se decidió realizar esplenectomía parcial. En la biopsia se apreció incremento marcado de histiocitos con depósitos intracitoplasmáticos.

Los análisis enzimáticos y moleculares mostraron:

- Actividad de b-glucosidasa: 0,024 nmol/h, control 0,12.
- Niveles de quitotriosidasa: 29,27 nmol/h, control 1,39.
- Estudio molecular del gen de la b-glucocerebrosidasa: mutación L444P/L444P.

Desde hace 1 año y medio se encuentra en tratamiento con imiglucerasa con una dosis de 800 mg cada 15 días. La evolución ha sido favorable desde el punto de vista humoral y clínico.

Los estudios complementarios mostraron: Hb 130 g/L; plaquetas $350 \times 10^9/L$; en el ultrasonido se observó hepatomegalia ligera. El bazo medía 68 x 42 mm. La radiografía ósea fue normal. El desarrollo estatural y ponderal era adecuado, sin afectación neurológica.

El estudio molecular de ambos pacientes se realizó en colaboración con el Instituto de Biología Molecular y Celular de Portugal y la Fundación Española para el Estudio y Terapéutica de la Enfermedad de Gaucher (FEETEG).

DISCUSIÓN

La enfermedad de Gaucher tipo I presenta gran heterogeneidad clínica. Pueden encontrarse pacientes desde muy severamente afectados hasta individuos asintomáticos, debido a que el depósito lisosomal del glucocerebrósido no degradado condiciona el espectro de las manifestaciones fenotípicas. Los macrófagos son las células diana del defecto enzimático, por ello, los órganos de la economía con un amplio substrato reticuloendotelial serán los más afectados. Esto explica que las manifestaciones más importantes y frecuentes sean la hepatoesplenomegalia, las citopenias de elementos sanguíneos por hiperesplenismo y trastornos óseos. Pueden ocurrir infartos esplénicos, que son comunes y pudieran ser dolorosos y a veces peligrar la vida del paciente. Estas manifestaciones ocurrieron en ambos pacientes.⁴

Se estima que las complicaciones óseas en la EG tipo I se presentan en el 80 % de los casos y se caracterizan por fallo en el remodelado de la parte distal del fémur y la parte proximal de la tibia, osteopenia, osteonecrosis y osteomielitis. En algunos estudios a pacientes afectados con esta enfermedad se ha visto que, si bien el dolor óseo y las fracturas son poco frecuentes como síntoma de presentación, el compromiso óseo puede ser la mayor causa de morbilidad a largo plazo, lo que incide en la calidad de vida del enfermo.⁵

La paciente No. 1 presentó cuadros de miositis, osteomielitis y fractura ósea sin trauma aparente.

En la EG tipo I se considera que no aparecen manifestaciones neurológicas. Sin embargo, algunos investigadores han descrito pacientes con retraso del desarrollo psicomotor, enfermedad de Parkinson, demencia y neuropatía periférica, por lo que es importante la vigilancia de los síntomas y signos neurológicos en la paciente para detectar complicaciones de forma precoz.⁶

Las manifestaciones en la piel se pueden presentar en forma de pigmentación difusa, amarronada o amarillenta. Han sido descritas manchas en la córnea y complicaciones pulmonares, las que no fueron detectadas en nuestros pacientes.^{7,8}

La EG tipo III (231000) es una forma subaguda neuropática, su comienzo y la progresión más lenta permiten diferenciarla del tipo II. Se describen varios subtipos: el IIIA se caracteriza por la aparición de síntomas como ataxia, demencia y rigidez; el IIIB se distingue por el comienzo temprano de la hepatoesplenomegalia y por movimientos anormales de los ojos; mientras que el IIIC está asociado con calcificaciones cardiovasculares.

El paciente No. 2 presentó un cuadro de gran visceromegalia y afectación sistémica muy temprana. Se le realizó esplenectomía por compromiso mecánico, sin afectación neurológica hasta el momento. Algunos autores plantean que los pacientes pueden desarrollar síntomas neurológicos motores y cognitivos en etapas más avanzadas de la vida, por lo que es necesario seguir su evolución.⁹

El paciente no ha presentado afectaciones oculomotoras caracterizadas por apraxia con afectación de los movimientos oculares horizontales, con preservación de los movimientos verticales. Al examen físico solo se comprueba estrabismo.

En el análisis de la médula ósea de ambos paciente se detectaron histiocitos con acúmulo intracitoplasmático. La gran cantidad de glucocerebrósido le confiere al citoplasma de estas células un aspecto de papel arrugado. Aunque la demostración citológica ha sido un método de diagnóstico muy utilizado, actualmente se sugiere que ante la sospecha de EG, se evalúe la actividad de la enzima b-glucosidasa. Este es un método más confiable y específico, ya que existen otras enfermedades de depósito que muestran inclusiones semejantes en el citoplasma. La actividad enzimática en leucocitos de sangre periférica de ambos pacientes se encontró disminuida con respecto al control.

Existen otros marcadores enzimáticos que pueden ser medidos en la EG que no solo ayudan en el diagnóstico, sino que también sirven para medir la eficacia del tratamiento. La quitotriosidasa producida por los macrófagos activados está aumentada en el plasma de los pacientes con la enfermedad; en ambos pacientes el nivel de esta enzima se encontró elevado.

En los últimos años se han identificado diferentes mutaciones en el gen que codifica la quitotriosidasa en pacientes con EG.¹⁰ Los estudios moleculares resultan de gran importancia para establecer la correlación genotipo-fenotipo, no solo para predecir la severidad de la enfermedad, sino su progresión.

Entre las más de 200 mutaciones identificadas en el gen de la glucocerebrosidasa, las sustituciones de leucina por prolina en la posición 444 (L444P) y asparagina por serina en la posición 370 (N370S), son las más frecuentes (55-65 % de los alelos mutados). Esta última es la de mayor incidencia en la población judía ashkenazi.¹¹

El alelo N370S, en homocigosis o heterocigosis, se encuentra únicamente en las formas de EG tipo I. Cuando se encuentra en homocigosis se asocia con una forma leve de la enfermedad, que en ocasiones permanece asintomática o es más tardío

el inicio de los síntomas. En la paciente No. 1 se encontró la mutación N370S en uno de sus alelos y el otro alelo no pudo ser identificado (N370/?). Este es un genotipo frecuente en los pacientes con EG tipo I. El otro alelo desconocido pudiera explicar el comienzo más temprano de los síntomas en esta paciente.

La mutación L444P ha sido identificada en los 3 tipos clínicos de la EG. En su forma homocigótica L444P/L444P está asociada con más frecuencia al tipo III, con un inicio precoz de los síntomas en edad pediátrica y compromiso neurológico. Esto coincide con el cuadro clínico del paciente No. 2, en el que la hepatoesplenomegalia severa con anemia tuvo un comienzo temprano, a los 6 meses de edad, con evolución desfavorable. Sin embargo, existe gran variabilidad en la expresión y progresión de la enfermedad en pacientes con este genotipo. En individuos afectados por la EG tipo III de la región sueca de Norbottnian y descendientes de un ancestro común, se manifiesta variabilidad clínica en este genotipo, por lo que se piensa que deben existir otros genes modificadores o factores ambientales que contribuyan a la expresión de la enfermedad.¹²

La enfermedad de Gaucher es la primera enfermedad lisosomal de depósito por esfingolípidos en la que se ha utilizado con éxito un tratamiento enzimático sustitutivo, que constituye el tratamiento de elección. Desde 1998 se usa la imiglucerasa (Cerezyme[®]), fármaco producido por ingeniería genética. Este medicamento disminuye la visceromegalia, recupera la velocidad de crecimiento y normaliza los niveles de hemoglobina y el conteo de plaquetas. Este tratamiento se ha empleado en la enfermedad de Gaucher tipo I y tipo III con buenos resultados. En la tipo II no tiene utilidad, ya que no atraviesa la barrera hematoencefálica.¹³

La investigación sobre el proceso metabólico alterado ha proporcionado nuevas opciones terapéuticas, como son los inhibidores del sustrato, y se han empleado fármacos activos por vía oral como el miglustat (Zavesca[®]), cuya acción es reducir la formación de la proteína glucosilceramida en el organismo. Otras moléculas que están en desarrollo son las chaperonas farmacológicas, también de uso oral, que se encuentran en fase de investigación avanzada. Estas son pequeñas moléculas que llegan hasta el interior de las células, al retículo endoplásmico y proporcionan estabilidad a la enzima glucocerebrosidasa.¹⁴

Nuestros pacientes se encuentran bajo tratamiento con imiglucerasa desde hace año y medio y la respuesta ha sido favorable. Se ha observado crecimiento y desarrollo normal, disminución de la visceromegalia y normalización de los valores hematológicos sin afectación ósea.

REFERENCIAS BIBLOGRÁFICAS

1. Brady RO, Kanfer JN, Shapiro D. Metabolism of glucocerebrosides. Evidence of an enzymatic deficiency in Gaucher's disease. *Biochem Biophys Res Commun* 1965; 18: 221-25.
2. Michelin K, Wajner A, de Souza F, de Mello A, Burin MG, Pereira ML, et al. Application of a comprehensive protocol for the identification of Gaucher disease in Brazil. *Amer J Med Genet* 2005; 136A: 58-62.
3. Jmoudiak M, Futerman AH. Online Mendelian Inheritance in Man, (OMIM), Gaucher disease: Pathological mechanisms and modern management. *Br J Haematol* 2005; 129: 178-88.

4. Alfonso P, Aznárez S, Giralt M, Pocoví M, Giraldo P. Análisis de mutaciones y relación entre el fenotipo y genotipo de la enfermedad de Gaucher en España. *J Hum Genet* 2007;52:391-6.
5. Morillo JP, Bouvier M, Petaja-Repo UE, Bichet DG. Pharmacological chaperones: A new twist on receptor folding. *Trends Pharm Sci* 2000;21:466-9.
6. Wenstrup RJ, Roca-Espiau M, Weinreb NJ, Bembi B. Skeletal aspect of Gaucher disease: A review. *Br J Radiol* 2002;75:2-12.
7. Capablo JL, Saénz de Cabezón A, Fraile J, Alfonso P, Pocoví M, Giraldo P. Evaluación neurológica de pacientes diagnosticados con la enfermedad de Gaucher tipo 1. *J Neurol Neurosurg Psychiatr* 2007;6:87-90.
8. Wang TJ, Chen MS, Shih YF, Hwu WL, Lai MY. Fundus abnormalities in a patient with type I Gaucher's disease with 12-year follow-up. *Am. J. Ophthalmol* 2005;139:359-62.
9. Miller A, Brown LK, Pastores GM, Desnick RJ. Pulmonary involvement in type 1 Gaucher disease: Functional and exercise findings in patients with and without clinical interstitial lung disease. *Clin Genet* 2003;63:368-76.
10. Raja M, Azzoni A, Giona F, Regis S, Grossi S, Filocamo M, et al. Movement and mood disorder in two brothers with Gaucher disease. *Clin Genet* 2007;72:357-61.
11. Grace ME, Balwani M, Nazarenko I, Prakash-Cheng A, Desnick RJ. Type 1 Gaucher disease: Null and hypomorphic novel chitotriosidase mutations-implications for diagnosis and therapeutic monitoring. *Hum Mutat* 2007;28:866-73.
12. Zuckerman S, Lahad A, Shmueli A, Zimran A, Peleg L, Orr-Urtreger A, et al. Carrier screening for Gaucher disease: Lessons for low-penetrance, treatable diseases. *JAMA* 2007;298:1281-90.
13. Park JK, Orvisky E, Tayebi N, Kaneshki C, Lamarca M, Stubblefield B, et al. Myoclonic epilepsy in Gaucher disease: Genotype-phenotype insights from a rare patient subgroup. *Pediatr Res* 2003;53:387-95.
14. Moreel A, Escrig R, Dalmau J. Enfermedad de Gaucher tipo I: 10 años de experiencia en el tratamiento sustitutivo. *Acta Pediatr Esp* 2005;63:373-6.

Recibido: 5 de noviembre de 2009.

Aprobado: 27 de noviembre de 2009.

Dra. *Kalía Lavaut Sánchez*. Instituto de Hematología e Inmunología. Apartado 8070. Ciudad de La Habana, CP 10800, Cuba. Tel (537) 643 8695, 8268, Fax (537) 644 2334. E-mail: ihidir@hemato.sld.cu y www.sld.cu/sitios/ih
