

ESTUDIO BIOQUIMICO DE UN CASO DE MUCOLIPIDOSIS TIPO II (ENFERMEDAD DE LAS CELULAS I)

M.D. del Castillo, C. Menendez*, L. Borbolla**, J. Pascual*, C. Pascual y J. Castro***.

Centro Nacional de Investigaciones Científicas, * Instituto de Neurología y Neurocirugía, ** Hospital Pediátrico Docente "William Soler", *** Instituto Superior de Ciencias Médicas de La Habana, Ciudad de La Habana, Cuba.

RESUMEN. Se describe el diagnóstico bioquímico de un caso de Mucopolipidosis tipo II. Desde el punto de vista clínico el paciente de 18 meses de edad presentaba facies tosca con fenotipo "hurleroide", hepatoesplenomegalia y retraso psicomotor. Bioquímicamente se detectó un elevado incremento de múltiples enzimas lisosomales en el suero y niveles normales en leucocitos, lo que permitió llegar a un diagnóstico definitivo.

ABSTRACT. The biochemical diagnosis of a patient with Mucopolipidosis type II is described. From the clinical point of view the 18 months old patient presented coarse face, a hurloid phenotype, hepatoesplenomegalia and psychomotor retardation. A highly increase of multiple lysosomal enzymes was detected in serum, with normal enzyme levels in leukocytes, which permitted the definite diagnosis of this disease.

INTRODUCCION

La Mucopolipidosis tipo II (o enfermedad de las células I) es una patología heredo-metabólica lisosomal, con herencia autosómica recesiva. Su base molecular es el déficit de la enzima N-acetil-glucosaminil-fosfotransferasa^{1,2}. Esta enfermedad lisosomal se caracteriza por un retraso psicomotor marcado y una deformación esquelética severa³. Su diagnóstico actual se basa en la demostración de un incremento de diversas enzimas lisosomales en el plasma y otros fluidos biológicos y su simultánea deficiencia en los cultivos de fibroblastos^{4,5}.

A continuación se describe el estudio bioquímico realizado a una paciente con características clínicas de Mucopolipidosis tipo II con el objetivo de establecer un diagnóstico definitivo.

MATERIALES Y METODOS

Primeramente se le realizaron a la paciente las pruebas químicas cualitativas para pesquisaje de enfermedades heredo-metabólicas⁶ siguientes: test de cloruro férrico, test de nitroprusiato de cianuro, prueba de 2,4-dinitrofenilhidrazina, test de azul de toluidina y test de bromuro de cetiltrimetilamonio.

Los parámetros bioquímicos determinados en suero fueron: aspartato amino transferasa, alanina amino transferasa, fosfatasa ácida, fosfatasa alcalina, creatín fosfoquinasa y lactato deshidrogenasa. Estas pruebas se realizaron mediante juegos de diagnóstico de la Böhringer Mannheim GmbH.

La cromatografía en placa delgada para la detección de oligosacáridos en orina se realizó mediante el método descrito por Hambel y col⁷. La determinación de mucopolisacáridos totales en orina se realizó mediante el método de Azul de Alcian⁸ y el fraccionamiento de los diferentes mucopolisacáridos según el procedimiento descrito por Calatoni⁹.

Para completar el estudio bioquímico de la paciente se determinó la actividad enzimática de un conjunto de enzimas lisosomales en el suero y en los leucocitos respectivos según la metodología descrita por Galjaard⁴.

RESULTADOS Y DISCUSION

Debido a que la paciente presentaba características clínicas propias de una enfermedad heredo-metabólica se le realizaron pruebas químicas cualitativas cuyos resultados fueron negativos, la determinación en orina de oligosacáridos, encontrándose resultados normales y además pruebas más especializadas para la cuantificación y el fraccionamiento de mucopolisacáridos en orina las cuales demostraron una alteración consistente en el incremento del sulfato de heparán (Tabla I). Este incremento puede deberse a la deficiencia celular de enzimas que intervienen en la degradación del sulfato de heparán lo que provoca una acumulación en los tejidos y por tanto su eliminación incrementada en orina.

TABLA I

Determinación de mucopolisacáridos en la orina total

Mucopolisacárido	Paciente	Valor normal(%) en orina de 24 h
ácido hialurónico	13,1	4-13
sulfato de heparán	38,6	16-25
sulfato de keratán	4,1	3-8
condroitin sulfato	64,0	55-76
sulfato de dermatán	3,1	1-4

Entre las enfermedades que provocan una excreción incrementada de sulfato de heparán en orina, la más común es la de Sanfilippo tipo B aunque a partir de estos resultados no se puede descartar la posibilidad de otros tipos de mucopolisacaridosis como la enfermedad de Hurler¹⁰.

Por tanto, se realizó el estudio de las actividades enzimáticas lisosomales. Los resultados de esta determinación en leucocitos (Tabla II) permitieron descartar la presencia de las enfermedades Sanfilippo tipo B y Hurler, así como otros tipos de mucopolisacaridosis como el síndrome de Maroteaux-Lamy y la mucopolisacaridosis tipo VII. Por esta vía fueron excluidas también del posible diagnóstico las patologías mucopolipidosis tipo I, mannosidosis y fucosidosis, así como el resto de las esfingolipidosis debido a que los valores de las actividades específicas de las enzimas leucocitarias cuyas deficiencias son responsables de la aparición de cada una de estas patologías se encontraban dentro de los límites normales.

A partir de estos resultados se sospechó la presencia de una Enfermedad de las células I, ya que ésta se caracteriza por presentar actividades prácticamente normales en leucocitos^{5,11}. Por tanto, se procedió al estudio de las enzimas lisosomales en suero.

La Tabla III demuestra un incremento manifiesto de las actividades correspondientes a arilsulfatasa A, N-acetil-β-D-hexosaminidasa total, -D-fucosidasa, -manosidasa, β-glucuronidasa, -glucosidasa, -galactosidasa y β-galactosidasa. Las enzimas que mostraron un mayor incremento en el suero fueron la glucocerebrósido -D-glucosidasa, β-glucuronidasa, -manosidasa, -fucosidasa y N-acetil-β-D-hexosaminidasa. Estos resultados permitieron confirmar el diagnóstico de la Enfermedad de las células I o Mucopolipidosis tipo II, que se caracteriza porque las enzimas lisosomales en diversos tejidos no se encuentran compartimentadas en los lisosomas sino por el contrario son excretadas al medio extracelular.

La Mucopolipidosis II no se caracteriza por presentar un incremento manifiesto de los mucopolisacáridos en la orina, de ahí que es posible no se detecte por las pruebas cualitativas de pesquisaje como el test de azul de toluidina y el test de bromuro de cetiltrimetilamonio.

De los parámetros bioquímicos habitualmente analizados, lo más significativo fue el incremento en dos veces el límite superior del rango normal de la fosfatasa alcalina (Tabla IV). Este incremento posiblemente se debió a los trastornos en el crecimiento que presentaba

TABLA II

Actividad específica de las enzimas lisosomales leucocitarias en la paciente

Enzima	Actividad específica (nmol. h ⁻¹ .mg proteína ⁻¹)	Paciente	Control	Relación Paciente/Control (%)
Hurler	-L-Iduronidasa	1,8	2,1	86,0
Sanfilippo Tipo B	N-acetil-β-D-glucosaminidasa	17,4	23,9	73,0
Maroteaux-Lamy	arilsulfatasa B	337,4	359,8	93,7
Mucopolisacaridosis VII	β-glucuronidasa	3,9	5,4	72,2
Manosidosis	-manosidasa	18,2	23,8	76,4
Fucosidosis	-fucosidasa	5,8	6,4	90,6
Mucopolisacaridosis I	neuroaminidasa	0,34	0,25	136,0
Gaucher	glucocerebrósido β-glucosidasa	41,0	40,0	103,0
Leucodistomatocromática	arilsulfatasa A	84,4	94,8	89,0
Fabry	galactosidasa	5,3	9,7	55,0
Sandhoff	N-acetil-β-D-hexosaminidasa	1 488	1 586	93,7
Tay-Sachs	β-N-acetil-hexosaminidasa A	357,0	368,0	97,0

la paciente o pudo deberse también al daño hepático existente, aunque no se mostraban alteradas las actividades de las transaminasas lo que puede deberse al tiempo de vida media de estas enzimas en el suero.

El defecto primario de la Enfermedad de las células I o Mucopolisacaridosis II es atribuible a la deficiencia primaria de la enzima lisosomal N-acetilglucosaminilfosfotransferasa¹². Normalmente esta enzima cataliza la incorporación de una molécula de β-N-acetilglucosaminilfosfato a la posición 6 del carbono de la manosa que forma parte de las cadenas de oligosacáridos de las glicoproteínas enzimáticas lisosomales.

Subsiguientemente, se produce una rotura de enlaces fosfodiéster con exposición de residuos de manosa-6-fosfato que actúan como marcadores de reconocimiento.

Como consecuencia de este defecto las enzimas lisosomales que recién se sintetizan, no son capaces de unirse a los receptores de manosa-6-fosfato para ser incorporadas a los lisosomas y por tanto son segregadas al medio extracelular.

CONCLUSIONES

Se realizó el diagnóstico bioquímico definitivo a una paciente que presentaba características clínicas correspondientes a una Enferme-

TABLA III

Actividad específica de las enzimas lisosomales en suero

Enzima	Actividad específica (nmol. h ⁻¹ .mg proteína ⁻¹)		Relación Paciente/Control (%)
	Paciente	Control	
β-glucuronidasa	3 070	58,0	52,9
-manosidasa	2 980	58,0	51,4
-fucosidasa	1 940	120,0	16,2
glucocerebrósido-β	660,0	10,7	61,7
-glucosidasa			
-galactosidasa	14,0	no se detecta	-
β-galactosidasa	5,7	no se detecta	-
arilsulfatasa A	148,0	34,0	4,4
N-acetil-β-D-hexosaminidasa	3 884	290,0	13,4

TABLA IV

Parámetros bioquímicos determinados en el suero

Parámetro	Paciente UI	Valor Norma
aspartato-aminotransferasa	2	hasta 12
alanina-aminotransferasa	5	hasta 12
fosfatasa ácida	1	hasta 11
fosfatasa alcalina	190.10 ⁻³	24-94.10 ⁻³
creatín fosfoquinasa	7	10-70
lactato deshidrogenasa	16	120-240

dad de las Células I o Mucopolisacaridosis tipo II mediante la determinación de la actividad específica de las enzimas lisosomales en el suero.

Los valores de las actividades enzimáticas encontrados en suero de la paciente son 50 veces superiores a los del control. Otros aspectos concluyentes lo constituyeron el mantenimiento de los valores de actividad específica de las enzimas lisosomales leucocitarias dentro de los límites normales así como la detección de una excreción incrementada de la fracción de sulfato de heparán de los mucopolisacáridos en orina.

BIBLIOGRAFIA

1. Hasilik A., Waheed A. y Von Figura K. *Biochem Biophys Res Commun* 98, 761, 1981.
2. Duran P. *Enzyme* 38, 256, 1987.
3. Tames I. et al. *An. Esp. Pediatr.* 27, 297, 1987.
4. Galjaard H. In: *Genetic metabolic diseases. Early diagnosis and prenatal analysis*. Amsterdam, Elsevier North Holland, Biomedical Press, 1980.
5. Watts R.W.E., Gibbs D.A. In: *Lysosomal storage disease: Biochemical and clinical aspects*. Taylor and Francis, London and Philadelphia, 1986.
6. Shih V.E. In: *Laboratory techniques for the detection of metabolic hereditary disorders*. C.R.C. Bress, Cleveland, 1973.