

ARTICULO CIENTÍFICO

Comportamiento de la GM-1 gangliosidosis en Cuba.

Diagnosis of GM-1 gangliosidosis in Cuba

MSc Caridad Menéndez Saínez¹, MSc Sergio González García¹, Dra. Claudina Zaldívar Muñoz¹, Dra. Alina González-Quevedo Monteagudo¹.

¹Dres en Medicina. Instituto de Neurología y Neurocirugía. Ciudad de la Habana Cuba.

RESUMEN

Fundamento: La GM1 gangliosidosis se encuentra incluida dentro del grupo de las enfermedades lisosomales. Se caracteriza por la deficiencia de la enzima b-galactosidasa, lo cual tiene como consecuencia la acumulación del gangliosido GM1 en células nerviosas y galactosil oligosacáridos y productos de degradación de keratán sulfato en otros tejidos. Clínicamente esta enfermedad se expresa por un temprano deterioro psicomotor, mancha rojo-cereza en la mácula, dismorfia facial, deformidades óseas y hepatoesplenomegalia. Se transmite con un patrón de herencia autosómico-recesivo. **Objetivo:** Determinar la actividad enzimática de la β-galactosidasa ácida en pacientes con sospecha de GM-1 gangliosidosis. **Métodos:** Se atendieron 1851 pacientes procedentes de todo el país en el período comprendido entre 1986-2006, de ellos 851 con la impresión diagnóstica de padecer alguna forma de GM1 gangliosidosis. Para la determinación de la actividad enzimática en leucocitos de pacientes, controles y progenitores se empleó una técnica fluorimétrica (derivados metilumbelliferil) y las proteínas leucocitarias se determinaron por el método de Lowry. **Resultados y conclusiones:** Se pudo llegar al diagnóstico de GM-1 gangliosidosis en 11 de los pacientes, siendo la actividad enzimática tres veces menor respecto a sus padres y cinco veces menor respecto al grupo control. La actividad de b-galactosidasa no resultó dependiente del sexo ni de la edad.

Palabras clave: Enfermedades lisosomales;

Recibido: 16 de enero de 2007

Correspondencia:

MSc Caridad Menéndez Saínez
Instituto de Neurología y Neurocirugía.
Ciudad de la Habana, Cuba
Email: cary@infomed.sld.cu

gangliosidosis GM-1; b-galactosidasa

ABSTRACT

Background: GM-1 gangliosidosis is included in the group of lysosomal diseases and is characterized by a deficiency of the enzyme b-galactosidase, which as a consequence produces accumulation of GM1 ganglioside in nervous cells and galactosil oligosaccharides and products of keratan sulfate degradation in other tissues. Clinically this disease presents with an early psychomotor impairment, macular cherry red spots, facial dysmorphism, bone deformities and hepatosplenomegaly. It has a hereditary autosomic-recessive pattern. **Objective:** To determine of β-galactosidase acid activity in patients with suspicion of GM-1 gangliosidosis. **Methods.** From 1986 to 2006, 1851 patients have been received in our laboratory from all the country, of which 851 had the diagnostic impression of GM-1 gangliosidosis. In samples from patients, parents and controls, the activity of leukocyte b-galactosidase was determined by a fluorimetric technique (metilumbelliferil derivatives) and leukocyte protein level was determined according to Lowry's method. **Results and conclusions:** The diagnosis of GM-1 gangliosidosis was attained in 11 patients, and the enzymatic activity was three times lower in patients with respect to their parents and five times lower with respect to controls. The enzymatic activity was not related with gender or age.

Key words: Lysosomal diseases; GM-1gangliosidosis; b-galactosidase

Aprobado: 20 de febrero de 2007

INTRODUCCIÓN

La GM-1 gangliosidosis es una enfermedad de almacenamiento lisosomal caracterizada por el acumulo cerebral del gangliósido GM-1, debido al déficit de la enzima β -galactosidasa ácida (EC 3.2.1.23). Esta enzima cataliza la hidrólisis de los grupos β -galactosa de glucoproteínas y glucosaminoglicanos, por lo que su déficit provoca la acumulación de estos compuestos en órganos viscerales y tejido óseo, excretándose en la orina galactosiloligosacáridos y derivados del queratán sulfato (1). También el acúmulo del gangliósido GM-1, que es el principal sialoglicolípido de las membranas neurales modula la homeostasia del calcio, y su excesiva acumulación, debido a la deficiencia de la β -galactosidasa ácida, caracteriza las enfermedades neurodegenerativas (2).

La enzima β -galactosidasa ácida se codifica en un locus del cromosoma 3 y se transmite siguiendo un patrón de herencia autosómico recesivo. Existe una variedad alélica que da lugar a diferentes formas clínicas, que se agrupan según la edad de aparición en infantil, juvenil y adulta. La enfermedad se caracteriza por: retraso en el desarrollo psicomotor, macroglosia, tosquedad de los rasgos, manchas rojo cereza en la mácula en algunos casos y visceromegalia (1,3).

La GM1 gangliosidosis es una enfermedad poco frecuente, que cursa según sea la edad de aparición, con diversos síntomas que conllevan a la muerte en edades prematuras. Su diagnóstico se realiza mediante la determinación de la actividad enzimática de β -galactosidasa ácida en leucocitos (1). Este análisis junto con el estudio molecular complementa el diagnóstico de laboratorio de esta enfermedad (4). Teniendo en cuenta estos aspectos el objetivo principal de este estudio fue determinar la actividad enzimática de la β -galactosidasa ácida en pacientes con sospecha de GM-1 gangliosidosis.

MÉTODOS

En un período de 20 años se estudiaron en el Departamento de Bioquímica del Instituto de Neurología y Neurocirugía 1851 pacientes procedentes de todo el país, de ellos 851 con la impresión diagnóstica de padecer alguna forma de GM1 gangliosidosis.

Las determinaciones se realizaron en homogenato de leucocitos obtenidos según los métodos descritos por (5,6). Se procesó en las mismas condiciones que las muestras de los pacientes y progenitores, un control obtenido de un sujeto supuestamente sano de aproximadamente la misma edad, con el cual comparamos los resultados obtenidos.

La actividad enzimática específica de β -galactosidasa se determinó utilizando el método fluorimétrico descrito por Galjaard (7) empleando como sustrato 4-metilumbelliferil-B-D-galactopiranosido. Las lecturas se realizaron en un espectrofluorímetro Shimadzu RF-540 a una longitud de onda de excitación de 365 nm, longitud de onda de emisión 448 nm.

La determinación de proteínas leucocitarias se realizó por el método descrito por Lowry (8). Los resultados de actividad enzimática específica se expresaron en nmoles/h/mg de proteína.

Se calculó la media de la actividad enzimática porcentual de pacientes y controles con respecto a la de los controles.

RESULTADOS:

Del total de individuos con sospecha de padecer GM1 gangliosidosis (n=851), se diagnosticaron 11 pacientes (1,29%), 6 del sexo masculino (54,5%) y 5 del sexo femenino (45,5%). De estos niños un 57,1% pertenecen a la forma infantil, 14,2% a la forma juvenil y 28,5% a la forma adulta.

En la figura 1 se representa la actividad específica de la enzima β -galactosidasa leucocitaria en pacientes, padres y controles, y como se observa existe una disminución de la actividad enzimática ($p=0,000$) en pacientes con GM1 gangliosidosis, respecto a sus padres y controles. También la actividad enzimática de la β -galactosidasa en los padres fue significativamente inferior ($p=0,000$) a la encontrada en los controles.

El porcentaje de la actividad enzimática de la β -galactosidasa con respecto a la media del grupo control fue de un 20% para los pacientes y de 55% para los progenitores.

Al comparar la actividad enzimática específica de la β -galactosidasa en los pacientes según el sexo, no se observaron diferencias significativas ($t=-0,263$; $p=0,798$). Tampoco se encontró correlación entre la edad de los pacientes y la actividad específica de la β -galactosidasa ($r=0,492$; $p=0,261$).

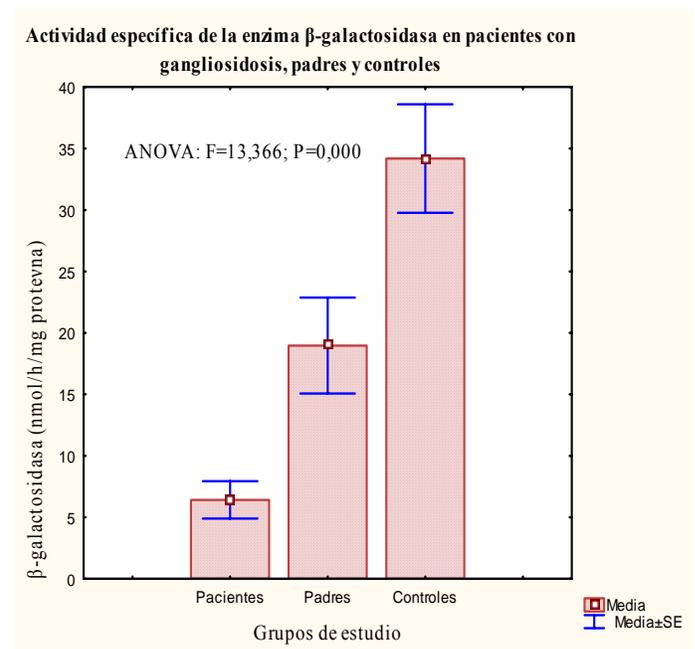


Figura 1. Actividad enzimática específica de la β -galactosidasa en pacientes con GM1 gangliosidosis, progenitores y controles.

DISCUSIÓN

La GM1 es una enfermedad poco frecuente. Este es el primer estudio que se realiza en nuestro país y reporta una frecuencia de diagnóstico de 1,29%, siendo la forma más frecuente la infantil (57,1% e los casos diagnosticados). Giuglianni (9) informa que en Brasil la frecuencia de diagnóstico de GM1 gangliosidosis fue de un 7%, siendo también la forma infantil la de mayor incidencia. En el Instituto de Bioquímica Clínica de Barcelona (IBC) se han reportado 34 casos positivos con GM1 gangliosidosis durante 19 años de estudio (10), lo que no contradice los 11 casos diagnosticados por nuestro laboratorio durante dos décadas de trabajo, ya que hay que considerar que el IBC es un instituto científico especializado en los errores congénitos del metabolismo y enfermedades raras, que le brinda servicio a toda España dotado de modernos equipos y medios diagnósticos. Hoffman (11) resume los resultados obtenidos de la literatura internacional en un estudio que abarca varios países europeos. Los porcentajes de diagnóstico van de un 1,7-9,2%, siendo los mejores resultados los correspondientes a Amsterdam (9,2%), lo cual indica que Holanda es el país con más organización en el diagnóstico de enfermedades genéticas y metabólicas hereditarias.

La variación en el porcentaje de casos diagnosticados depende de (10):

- Cantidad de medios disponibles para el diagnóstico.
- Eficacia diagnóstica del laboratorio.
- Selección de los pacientes por los clínicos.

Los resultados de este trabajo demuestran que la actividad enzimática de la β -galactosidasa en los pacientes con GM1 gangliosidosis fue 3 veces menor respecto a sus padres y 5 veces menor respecto al grupo control.

En muchas ocasiones el diagnóstico de los heterocigóticos (padres) tropieza con la dificultad de

lograr una confianza estadística, ya que el margen de diferencia entre los rangos de los valores de actividad enzimática de los heterocigóticos y los controles es estrecho o se solapa (12, 13), aunque esto no ocurrió en nuestro caso, donde se obtuvo una diferencia altamente significativa en la actividad enzimática de la β -galactosidasa entre progenitores y controles.

La actividad enzimática específica no estuvo asociada al sexo, o sea, no se observaron variaciones entre pacientes masculinos o femeninos, lo cual era de esperar ya que es una enfermedad no ligada al sexo. Tampoco se demostró correlación entre la actividad enzimática y la edad de los pacientes.

Existe una gran variabilidad alélica en el gen que codifica para la β -galactosidasa, hay descritas más de 40 mutaciones, lo que implica una gran variación en la actividad enzimática.

Una consecuencia adicional de la existencia de mutaciones alélicas que complica el diagnóstico bioquímico es que pueden existir las denominadas pseudodeficiencias enzimáticas, o sea, individuos de la población general con una actividad enzimática *in vitro* reducida a niveles incluso comparables a la de los homocigóticos afectados (14).

Este trabajo describe por primera vez el diagnóstico enzimático de la GM1 gangliosidosis en Cuba, el cual se ha realizado sistemáticamente en el Instituto de Neurología y Neurocirugía desde 1986.

La disponibilidad de métodos enzimáticos no es solo importante para el diagnóstico de GM1 gangliosidosis, sino además es una herramienta importante para el seguimiento de estos pacientes, sobre todo teniendo en cuenta la posibilidad cercana de disponer de técnicas novedosas como son la terapia enzimática de reemplazo, terapia con chaperonas moleculares, inyección de proteína recombinante y trasplante de médula ósea (15, 16).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Pámpols T. Enfermedades lisosomales. Del cromosoma la gen. Libro conmemorativo del 25 aniversario del Instituto de Bioquímica Clínica de Barcelona; 1995:332-358.
2. Tessitore A, del P Martin M, Sano R, Ma Y, Mann L, Ingrassia A, Laywell E D, et al. GM1 gangliosidose mediated activation of the unfolded protein response causes neuronal death in a neurodegenerative gangliosidosis. *Mol Cell* 2004; 15(5):753-66.
3. Caciotti A., Donati MA, Boneh A., dAzzo A., Federico A., Parini R., et al. Role of beta-galactosidase and elastin binding protein in lysosomal and nonlysosomal complexes of patients with GM1 gangliosidosis. *Hum Mutat* 2005; 25(3):285-92.
4. Suzuki Y. Gene diagnosis of lysosomal disease. *Nippon Rinsho* 1995; 53(12): 294-5.
5. Skoog and Beck. Extraction of leucocytes. *Blood* 1956; 11: 436-54.
6. Kolodny EH., Mumford RA. Obtention of leucocytes. *Clin Chem Acta* 1976; 7: 247-57.
7. Galjaard H. genetic Metabolic Disease. Early diagnoses and prenatal analysis Elsevier/North Holland Biomedical Press. Amsterdam. New York. Oxford 1980.
8. Lowry OH. Protein measurement with folin-phenol reagent. *J. Biol Chem* 1951; 193: 265-68.
9. Giuglianni R, Carneiro Coelho. Diagnóstico de errores inatos de metabolismo na América Latina. *Braz J Genetics* 1997, 20 (1) supl: 147-154.

10. Menéndez C. Diagnóstico enzimático de las mucopolisacaridosis en Cuba. Tesis presentada en opción al título académico de Máster en Bioquímica clínica. Facultad de Biología. Universidad de La Habana. 2000.
11. Hoffman GF. Selective screening for inborn errors of metabolism, present, past and future. *Eur J Pediatr* 1994; 153: suppl 1; 52-58.
12. Pámpols T, Chabás A. Enfermedades por depósito en los lisosomas. En: *Medicina Interna, XIII. Edición, Metabolismo y Nutrición*. Ed Farreras y Rozmán. Morby-Doyma SA. Barcelona p1886-92, 1995.
13. Pámpols T, Ribes A. Enfermedades genético-metabólicas. En: *Bioquímica Clínica. Semiología y Diagnóstico: Interpretación de los datos clínicos*. Ed F. González-Sastre. Edit Barcanova, Barcelona, p567-617, 1994.
14. Chabás A, Castellvi S, Bayne M, Barcells S, Grinberg D, Vilageli LI, et al. Frequency of the arylsulphatase A pseudodeficiency allele in the Spanish population. *Clin Genet* 1993; 44: 320-23.
15. Eto Y, Shen J-S, Meng X-L, Ohashi T. Treatment of lysosomal storage disorders: Cell therapy and gene therapy. *J. Inherit Metab. Dis* 2004; 27: 411-415.
16. Yoshiyuki S. β -Galactosidase deficiency: An approach to chaperone therapy. *J Inherit Metab Dis* 2006, 29: 471-476