

Enfermedades peroxisomales generalizadas: nuevas posibilidades terapéuticas

M. Martínez

Doctor en Medicina, Jefe de Investigación en Lípidos y Desarrollo Cerebral, Centro de Investigación en Bioquímica y Biología Molecular (CIBBIM), Hospital Materno-Infantil Vall d'Hebron, Barcelona

1. INTRODUCCIÓN

Las enfermedades peroxisomales generalizadas o de la biogénesis del peroxisoma constituyen un heterogéneo grupo de patologías caracterizado por la carencia o total ausencia de peroxisomas funcionantes en las células del organismo. Los peroxisomas son organelas o partículas intracelulares de pequeño tamaño (diámetro promedio, 0,5 μ m), cuya importancia en medicina ha crecido espectacularmente desde que en 1973 Goldfischer y cols.⁽¹⁾ descubrieran la ausencia de peroxisomas identificables en el hígado de enfermos con el síndrome cerebrohepato renal de Zellweger⁽²⁾. Hasta ese momento, la principal función atribuida a los peroxisomas se limitaba al reino vegetal y consistía en la capacidad de oxidar diversos substratos con producción de peróxido de hidrógeno (de ahí su nombre), que posteriormente es descompuesto por la catalasa.

En el ser humano, el síndrome de Zellweger constituye el prototipo de la carencia de peroxisomas y ha servido para incentivar considerablemente el estudio en este área, de tal modo que en los últimos años se han adscrito a los peroxisomas más de 50 reacciones enzimáticas distintas. Las más características de estas reacciones afectan el metabolismo lipídico, como la defectuosa β -oxidación de los ácidos grasos de más de 22 átomos de carbono (llamados de cadena muy larga o, en inglés, *very long chain fatty acids*, VLCFA), especialmente del 26:0 y 26:1n-9, que tiene lugar en el peroxisoma^(3,4). Las dos primeras etapas en la síntesis de plasmalógenos también son peroxisomales^(5,6), como lo son la degradación del ácido fitánico^(7,8), la β -oxidación del ácido pristánico y la síntesis de ácidos biliares^(9,10). La grave patología del síndrome de Zellweger se ha atribuido a la deficiencia de estas reacciones peroxisomales⁽¹¹⁾. El origen de todo ello sería un fallo en el ensamblaje del peroxisoma debido a la defectuosa importación de proteínas de nueva síntesis en la matriz peroxisomal. No obstante, el mecanismo patogénico profundo de los gravísimos síntomas y signos de esta letal enfermedad permanece, por el momento, en la obscuridad.

Las medidas terapéuticas seguidas con estos enfermos se han limitado comúnmente a tratar de corregir algunas de las anomalías bioquímicas que presentan los enfermos con síndrome de Zellweger y sus variantes. Dado que muchos de los signos bioquímicos que manifiestan estos pacientes consisten en acumulaciones de compuestos lipídicos anómalos, la terapia ha consistido generalmente en tratar de disminuir los niveles de dichos metabolitos. Como veremos

más adelante, también se han ensayando tratamientos con el fin de aumentar los niveles de plasmalógenos y de normalizar la función hepática administrando ácidos biliares. En general, la eficacia de estas medidas dietéticas se ha limitado a ciertas mejorías bioquímicas, con una escasa o nula respuesta clínica. El presente capítulo presenta una orientación terapéutica de estas enfermedades totalmente nueva, basada en los hallazgos y experiencia personales acumulados durante los últimos diez años. Comenzaremos por exponer un breve repaso clínico de estas enfermedades, necesario para evaluar la eficacia del tratamiento.

2. CLÍNICA DE LAS ENFERMEDADES PEROXISOMALES GENERALIZADAS

Las enfermedades peroxisomales constituyen un grupo de patologías sumamente heterogéneo, no sólo clínicamente sino también desde los puntos de vista bioquímico y genético. En primer lugar, hay que distinguir las llamadas enfermedades de la biogénesis peroxisomal o generalizadas de aquellas otras caracterizadas por un defecto aislado de una sola enzima (adrenoleucodistrofia ligada al cromosoma X/adrenomieloneuropatía) o de varias enzimas peroxisomales (condrodisplasia punctata rizomélica), enfermedades que no vamos a tratar aquí por tener patogenias totalmente distintas. Pero aún citándonos a las enfermedades peroxisomales generalizadas, en que el defecto enzimático es múltiple y el fallo peroxisomal, total, la sintomatología de estos pacientes es profundamente diferente de unos a otros casos. Clásicamente, se han distinguido tres variantes distintas dentro de este grupo de enfermedades: el síndrome cerebrohepato renal de Zellweger, la adrenoleucodistrofia neonatal y la llamada enfermedad de Refsum infantil. Aunque la distinción entre estos tres fenotipos es bastante artificial y se solapan entre ellos, como también lo hacen sus genotipos, vamos a enumerar brevemente algunas características de cada uno de ellos que, al menos, nos permitan distinguir entre formas más y menos malignas de la enfermedad. Ello será necesario a la hora de evaluar la eficacia del tratamiento.

El síndrome de Zellweger es el más grave y letal a corto plazo. Los pacientes con este síndrome no suelen sobrepasar los 6 meses o, como máximo, el año de vida. Las anomalías del sistema nervioso central son muy profundas y existen defectos en la migración neuronal, con heterotopias, polimicrogiria y paquigiria, y un defecto básico de la mielinogénesis que impide desde el principio la formación

de una vaina mielínica normal (dismielinización). Estas alteraciones se traducen en graves signos y síntomas neurológicos, con marcada hipotonía generalizada, convulsiones y afectación neurosensorial profunda, con ceguera, sordera y falta de contacto con el mundo exterior. Hay hepatomegalia (a veces acompañada de esplenomegalia) y la función hepática está constantemente alterada. En la biopsia o necropsia hepáticas se descubre la falta de peroxisomas y una cirrosis, generalmente micronodular. En la ecografía abdominal o necropsia suelen descubrirse quistes renales, usualmente silentes desde el punto de vista clínico. El metabolismo óseo está alterado y existe una osteopenia generalizada. Los huesos del cráneo están especialmente afectados, con fontanelas extraordinariamente amplias y, a menudo, una diástasis completa de suturas⁽¹²⁾. Es muy característica la observación radiológica de un punteado óseo en las rótulas y acetábulos (condrodisplasia punctata). Estos niños presentan anomalías craneofaciales típicas, con frente alta y a menudo prominente, paladar ojival o hendido, orejas de implantación baja, arcos superciliares poco acentuados y epicanto interno. La nariz es pequeña y de raíz aplanada. De perfil, la facies de estos enfermos adquiere un aspecto peculiar aplanado. Las glándulas suprarrenales suelen estar afectadas y la respuesta suprarrenal a la estimulación con ACTH es pobre.

El diagnóstico se hace *in vivo* mediante la detección de los niveles anormalmente elevados de los ácidos grasos de cadena muy larga 26:0 y 26:1n-9 en plasma y una disminución drástica de los plasmalógenos en las células hemáticas (hematíes, linfocitos). Aunque la degradación de los ácidos fitánico y pristánico es defectuosa, estos ácidos apenas aumentan en sangre, dado su origen exógeno y la poca edad y dieta pobre de estos enfermos. La síntesis defectuosa de ácidos biliares en el síndrome de Zellweger se traduce en el acúmulo de metabolitos anormales, como los ácidos 3 α ,7 α ,12 α -trihidroxi-5 β -colestanoico (THCA) y 3 α ,7 α -dihidroxi-5 β -colestanoico (DHCA)⁽¹³⁾. En fibroblastos cultivados de piel se confirma el aumento de los VLCFA y la disminución severa de la síntesis de plasmalógenos⁽¹⁴⁾. A nivel anatomopatológico, es patognomónica la ausencia de peroxisomas normales y su substitución por membranas peroxisomales, vacías de contenido matricial (*peroxisomal ghosts*)⁽¹⁵⁾.

Las otras variantes del síndrome de Zellweger no suelen ser tan graves a corto plazo y algunos pacientes pueden llegar a sobrepasar la primera o, incluso, la segunda infancia. La constelación de signos y síntomas es la misma, si bien con menor constancia y gravedad. En la llamada adrenoleucodistrofia neonatal, puede observarse un cierto grado de mielinización, al principio difícil de distinguir por RM cerebral de un simple retraso de la mielinización. Sin embargo, si el niño sobrevive, más tarde suele perderse parte de la mielina (probablemente anormal) adquirida, apareciendo una franca desmielinización de tipo inflamatorio, similar a la observada en la adrenoleucodistrofia ligada al cromosoma X, que se traduce en una captación anómala de contraste endovenoso⁽¹⁶⁾. Bioquímicamente, aparecen las mismas anomalías que en el síndrome de Zellweger, aunque algo menos acentuadas. Los VLCFA están francamente elevados y los plasmalógenos están muy disminuidos, aunque no tan drásticamente como en el síndrome de Zellweger. Los ácidos fitánico y pristánico están elevados, dependiendo su cuantía de la edad y dieta del paciente. Es usual que los enfermos con NALD adquieran un cierto grado de desarrollo psicomotor inicial, desarrollo que suele llegar hasta los 6-12 meses de vida, para después perder progresivamente

las funciones adquiridas, al propio tiempo que aparece la desmielinización. Estos niños no suelen sobrepasar los 2 o 3 años de vida.

La enfermedad de Refsum infantil es la menos grave de las tres variantes peroxisomales. Algunos de estos pacientes han alcanzado incluso la edad adulta. En estos enfermos suele predominar la patología hepatodigestiva sobre la neurológica, hasta el punto de que no es raro que sea el gastroenterólogo el primer médico consultado por los problemas del niño. No obstante, el retraso psicomotor, la afectación neurosensorial y la hipotonía más o menos acentuada son constantes y es muy difícil que un pediatra o neuropediatra azeado las pase por alto. La hepatomegalia es un signo prominente de esta enfermedad, a veces acompañada de esplenomegalia, y la función hepática está siempre alterada. Comúnmente, existe esteatorrea, más llamativa en el lactante joven. Bioquímicamente, el ácido fitánico suele estar muy elevado en estos pacientes, existiendo además una alteración en el patrón de ácidos biliares y un aumento, aunque no tan marcado como en las otras dos variantes, de los VLCFA. En cambio, los plasmalógenos están tan sólo discretamente disminuidos en hematíes, de tal modo que, a no ser que se tenga mucha experiencia en su determinación, se suelen dar por normales. No obstante, un cuidadoso análisis de sus niveles en relación a los ácidos grasos de la misma cadena (índices 18:0DMA/18:0 y 16:0DMA/16:0) siempre descubre valores inferiores a los auténticamente normales. Es común, en cambio, que la síntesis *in vitro* de plasmalógenos en fibroblastos cultivados de piel se dé por normal, debido a los nutrientes de los medios de cultivo que en parte compensan las anomalías metabólicas de estas células. En nuestra experiencia personal, siempre que la carencia de plasmalógenos sea discreta, es mejor dar por válidos los datos obtenidos en hematíes. De otro modo nos exponemos a considerar como normal una síntesis de plasmalógenos ligeramente afectada.

A pesar de esta distinción, que es en cierto modo real en cuanto a gravedad clínica, hay que insistir en que la diferenciación entre fenotipos es artificial, y no basada en la genética. Este solapamiento se manifiesta también clínicamente, sobre todo, entre los dos fenotipos NALD y IRD. En nuestra experiencia, enfermos que se habían diagnosticado de Refsum infantil, correctamente desde el punto de vista clínico, han resultado después ser casos de adrenoleucodistrofia neonatal, como ha quedado evidenciado por RM craneal⁽¹⁶⁾. Se ha propuesto una diferenciación bioquímica, basada en los niveles relativos de los dos VLCFA 26:0 y 26:1n-9⁽¹⁷⁾, en el sentido de que en el Zellweger verdadero predominaría el 26:1n-9, en el Refsum infantil, el 26:0 y en la NALD ambos VLCFA tendrían niveles equivalentes. Sin embargo, personalmente hemos visto varios enfermos con grandes elevaciones de los VLCFA y franca predominancia del 26:1n-9, cuyo cuadro clínico se situaba entre una adrenoleucodistrofia neonatal y una enfermedad de Refsum infantil.

No obstante, sí creemos que el típico síndrome cerebrohepato-renal de Zellweger es realmente diferente de los otros dos fenotipos, tanto clínica como bioquímicamente. Estos enfermos no sólo son mucho más graves, sino que además tienen características que los diferencian de un modo claro de los otros dos fenotipos. Probablemente la más evidente es la cifra de plasmalógenos, que es prácticamente nula. En las otras dos variantes fenotípicas, en cambio, no hemos hallado nunca niveles de plasmalógenos que fueran inferiores al 50% del mínimo normal. Clínicamente, en los más graves de estos enfer-

mos con Zellweger clásico, hemos encontrado quistes renales, *condrodysplasia punctata* y claras heterotopias neuronales detectables en RM craneal. Estos niños presentaban siempre un cuadro convulsivo de aparición muy precoz, ya al nacimiento o poco después. En cambio, las crisis comiciales que han aparecido en los otros fenotipos han sido inconstantes y de aparición más tardía. Por ello, proponemos reservar el término síndrome de Zellweger para este cuadro clásico, clasificando a los demás como enfermos peroxisomales generalizados o variantes del síndrome de Zellweger, sin especificar más en tanto nuestros conocimientos no nos permitan llegar a una diferenciación más clara que la que ahora existe entre NALD e IRD.

3. TRATAMIENTO DE LA ENFERMEDADES PEROXISOMALES GENERALIZADAS

Las medidas terapéuticas administradas a los enfermos peroxisomales han sido, en general, sintomáticas y básicamente han consistido en una drástica reducción de los lípidos en la dieta, con el fin de disminuir los niveles de ácido fitánico⁽¹⁸⁾. También con dietas muy pobres en grasas, y al igual que en los pacientes con X-ALD, se ha intentado disminuir los niveles plasmáticos de VLCFA, en especial de 26:0⁽¹⁹⁾. En algunos casos, se han añadido incluso ácidos grasos monoinsaturados a la dieta (18:1n-9, 22:1n-9), mediante la conocida mezcla *aceite de Lorenzo*, en un esfuerzo por inhibir la síntesis de 26:0. Estas medidas han producido, en efecto, una caída en plasma del 26:0 pero, como contrapartida, han provocado un gran aumento de los niveles de 26:1n-9, ácido graso de la misma serie que el 18:1n-9 y el 22:1n-9 y una marcada disminución de los ácidos grasos polinsaturados. Además, no se ha conseguido que el índice 26:0/22:0, diagnóstico de la enfermedad, disminuya lo más mínimo, detectándose en cambio un aumento marcado del cociente 26:1n-9/22:0, que en ocasiones ha alcanzado valores extraordinarios, muy por encima de los espontáneamente hallados en la enfermedad (datos personales no publicados). Desde el punto de vista clínico estas dietas no han producido mejoría alguna.

Otros intentos de mejorar el severo cuadro clínico de estos pacientes han sido la aportación de precursores de plasmalógenos⁽²⁰⁾, efectuada en un solo enfermo con resultados dudosos, la plasmaféresis⁽²¹⁾, realizada en un paciente para disminuir los niveles de ácido fitánico, con resultados bioquímicos y clínicos transitoriamente positivos y la terapéutica con ácidos bilitares (cólico, quenodesoxicólico)⁽²²⁾, administrada con el fin de suplir la carencia de estos compuestos e inhibir la síntesis de metabolitos anormales (THCA y DHCA, ácidos di y trihidroxicolestanoico). Esta última terapia está aún en fase experimental y hay datos que indican una mejoría hepática. Los intentos de estimular la formación de peroxisomas⁽²³⁾ han fracasado.

Hace ya más de una década, descubrimos que el cerebro de los enfermos con síndrome de Zellweger clásico y sus variantes tiene unas cifras bajísimas de ácido docosahexaenoico (DHA, 22:6n-3)^(24,25). Esta carencia de DHA estaba también presente en otros tejidos (hígado, riñones, suprarrenales, sangre), e incluso en la retina, que es la estructura más rica en este ácido graso⁽²⁶⁻²⁸⁾. Dado el crucial papel atribuido al DHA en las membranas celulares en general y, especialmente, en las neuronas y células fotorreceptoras de la retina, una carencia tan drástica como la hallada en los enfermos peroxisomales podía ser patogénica. Ello constituyó la hipótesis de trabajo de

un ensayo terapéutico comenzado en 1990^(29,30), que sigue en marcha en la actualidad y cuyos resultados hasta la fecha vamos a tratar de resumir.

4. PACIENTES

La tabla I resume los datos más importantes de los 25 enfermos tratados hasta el momento. El diagnóstico, la edad al comienzo del tratamiento y la duración del mismo viene dados en la tabla, así como los resultados más significativos. En cuanto al diagnóstico, se distingue entre el síndrome cerebrohepatorrenal de Zellweger clásico y sus variantes. Personalmente creemos que el verdadero síndrome de Zellweger se diferencia claramente de sus variantes, incluso bioquímicamente, cosa que no sucede con los otros dos fenotipos. En efecto, la carencia de plasmalógenos es prácticamente total en el síndrome de Zellweger mientras que en la adrenoleucodistrofia neonatal y en la enfermedad de Refsum infantil los niveles de plasmalógenos en hematíes están más o menos disminuidos, pero raramente descienden por debajo del 50% del límite inferior normal. En la tabla I se ha seguido este criterio bioquímico (junto con la clínica) para distinguir entre síndrome de Zellweger clásico y sus variantes. En cuanto a la IRD y NALD, dado lo artificioso que resulta en el estado actual de nuestro conocimiento distinguirlas, en general damos el diagnóstico conjunto de estas dos entidades en la tabla I. No obstante algunos pacientes diagnosticados originariamente como IRD, y que posteriormente manifestaron desmielinización y/o insuficiencia suprarrenal, aparecen en la tabla como claras adrenoleucodistrofias neonatales, ya que se suele considerar que la IRD es menos severa y no origina desmielinización.

5. MEDICACIÓN Y DIETA

El preparado utilizado como medicación ha sido siempre el etil ester del ácido docosahexaenoico (DHA-EE), producto de una pureza superior al 90% obtenido mediante ayudas de investigación de los National Institutes of Health (NIH, Bethesda, EEUU). El producto puro se ha administrado diluido en aceite de oliva como excipiente, en monodosis de administración diaria, preparadas bajo atmósfera de nitrógeno en viales herméticos conteniendo de 100 a 500 mg de DHA en un volumen total de 2 ml. Hay que puntualizar que la dosis diaria ha dependido de la carencia de DHA y la edad del paciente, pero no de un modo proporcional al peso como suele hacerse, sino teniendo en cuenta que cuanto más joven es el enfermo mayores son sus necesidades de DHA. Otro punto importante a subrayar es que la dieta no ha consistido en restringir las grasas sino que, por el contrario, ha estado constituida por una alimentación completa y lo más nutritiva posible. Sólo como medida de precaución, se ha procurado eliminar las verduras de hojas, pero el resto de vegetales y todas las frutas se han administrado libremente. Se ha permitido toda clase de carnes, pescados y huevos, así como lácteos completos y sus derivados.

6. RESULTADOS

La tabla I resume los resultados más significativos, tanto bioquímicos como clínicos, en los 25 enfermos tratados. Como puede

Tabla I. Evolución clínica de 25 pacientes con enfermedades peroxisomales generalizadas tratados con etil ester del ácido docosahexaenoico (DHA-EE)

Paciente	Edad	Diagnóstico	Duración tratamiento	DHA	VLCFA	Plasmalógenos	Pruebas hepáticas	Visión	SNC	RM craneal
1	2 meses	SZ clásico	2 meses †	↑	↑	=	=	-	-	n.d.
2	2 meses	NALD/IRD	7 años	↑↑↑	↓↓↓	↑	↓↓↓	+	+	+
3	4 meses	NALD/IRD	2 años	↑↑↑	↓↓↓	↑↑↑	↓↓↓	+	+	+
4	5 meses	NALD/IRD	5 años	↑↑↑	↓↓↓	↑↑↑	↓↓↓	-	+	+
5	6 meses	SZ clásico	3 meses †	↑↑	=	↑	↓↓↓	-	-	n.d.
6	7 meses	NALD	4 años	↑↑↑	↓	=	↓↓↓	+	-	-
7	7 meses	SZ	6 años	↑↑↑	=	↑	↓↓↓	+	-	+
8	8 meses	NALD	1 mes	↑	↓↓↓	=	↓↓↓	-	-	n.d.
9	9 meses	NALD/IRD	6 años	↑↑↑	↓	↑↑	↓↓↓	+	+	+
10	9 meses	NALD/IRD	1 año †	↑↑↑	↓	↑	↓↓↓	+	+	n.d.
11	10 meses	NALD/IRD	5 meses	↑↑↑	↓↓↓	=	↓	-	+	n.d.
12	1 año	SZ clásico	15 meses	↑	=	↑	↓	-	-	-
13	13 meses	NALD/IRD	7 años	↑↑	↓	↑	↓↓↓	+	-	-
14	14 meses	NALD	2 años †	↑↑↑	=	↑	↓↓↓	-	-	+
15	15 meses	NALD	6 años	↑↑↑	↓	↑	↓↓↓	+	+	+
16	15 meses	NALD/IRD	4 años	↑↑↑	↓↓↓	↑	↓↓↓	-	+	+
17	2 años	NALD/IRD	1 año †	↑↑↑	=	↑	↓	-	-	-
18	2 años	NALD	9 meses	↑↑	=	=	=	-	-	n.d.
19	2 años	NALD	8 meses	↑↑↑	↓	↑↑	↓↓↓	+	-	n.d.
20	3 años	NALD/IRD	2 años	↑↑	=	=	↓	+	+	+
21	3 años	NALD	6 semanas †	↑↑↑	=	↑	↓	-	-	n.d.
22	5 años	NALD	6 años	↑↑↑	↓	↑	↓	+	+	+
23	5 años	NALD	4 años	↑↑↑	↓	↑	↓↓↓	-	-	n.d.
24	5 años	NALD/IRD	2 años	↑	=	↑	↓	+	+	-
25	7 años	NALD	9 años	↑↑↑	↓	↑	↓	+	-	-

SZ, síndrome de Zellweger. NALD, adrenoleucodistrofia neonatal. IRD, enfermedad de Ressum infantil. Las flechas indican descenso o aumento, según su dirección. +, mejoría. -, sin efecto detectable. =, sin cambio. n.d., no determinado.

verse, en estos años han fallecido cinco pacientes, de los cuales dos tenían un síndrome de Zellweger clásico (casos 1 y 5), estando tan gravemente afectados que fallecieron en breve plazo de complicaciones respiratorias. Un tercer enfermo con Síndrome de Zellweger (caso 12) aún sobrevive, pero el pronóstico es siempre sombrío a corto plazo en estos pacientes. Otra enferma (caso 21), afecta de NALD en fase terminal⁽³⁰⁾ pudo recibir tratamiento con DHA-EE por un período de sólo 6 semanas en total. Una cuarta paciente (caso 10), que había mejorado espectacularmente durante el primer año de tratamiento⁽³¹⁾ falleció luego súbita e inesperadamente de sepsis fulminante. El último enfermo fallecido (caso 14) era un niño afecto de NALD severa, cuyo hermano con la misma enfermedad había sobrevivido sólo unos meses. Este paciente experimentó, sin embargo, una mejoría clínica y bioquímica inicial y un cierto progreso en la mielinización durante más de un año y luego no pudimos seguir su evolución ni tratamiento, teniendo sólo noticia de que había fallecido un año más tarde.

Los otros 20 pacientes sobreviven, si bien el tiempo de tratamiento ha sido muy variable, como puede verse en la tabla. La mejoría más constante ha sido la normalización de los niveles de DHA y de la función hepática. Esta última pudo detectarse incluso en el síndrome de Zellweger verdadero. Otra mejoría bastante constante ha sido la disminución de los dos índices diagnósticos 26:0/22:0 y 26:1n-9/22:0 en plasma. Esta mejoría bioquímica ha sido especialmente significativa si se considera el marcado aumento de grasas en la dieta

que ha acompañado el tratamiento. Otra mejoría bioquímica inesperada ha sido el aumento de plasmalógenos en hematíes, especialmente del índice 18:0DMA/18:0, en paralelo con la normalización del DHA. Este aumento de plasmalógenos, a veces muy sutil, así como la disminución de los índices de VLCFA, se pueden ver más claramente si se correlacionan con los niveles de DHA, como puede observarse en los dos ejemplos de las figuras 1 y 2.

Clínicamente, el desarrollo pondoestatural ha mejorado mucho en aquellos pacientes que lo tenían más afectado (casos 3, 4, 8, 10). Curiosamente, la abundante esteatorrea que tenían dos enfermos (casos 3 y 8), sometidos previamente a una dieta desgrasada, desapareció en tan sólo tres semanas de tratamiento con DHA-EE y una dieta rica en grasas (Tabla II). Ello coincidió con una rápida mejoría hepática en ambos pacientes. Desde el punto de vista neurológico y sensorial la mejoría ha sido menos constante, pero bastante frecuente y significativa. En general, el tono muscular, actividad y contacto social ha mejorado claramente en la mayoría de los pacientes. La visión ha mejorado en todos los pacientes que no tenían una ceguera total (aproximadamente la mitad). Una enferma que comenzó el tratamiento bastante tarde (caso 9), cuando ya tenía una retinopatía pigmentaria y aparente ceguera con desviación conjugada de la mirada hacia arriba, recuperó gran parte de la visión y ahora puede defenderse con gafas⁽³²⁾. Otros pacientes, con una afectación visual probablemente aún más profunda, han conseguido sólo ver la luz. En este punto, como en lo referente al desarrollo neurológico, es fun-

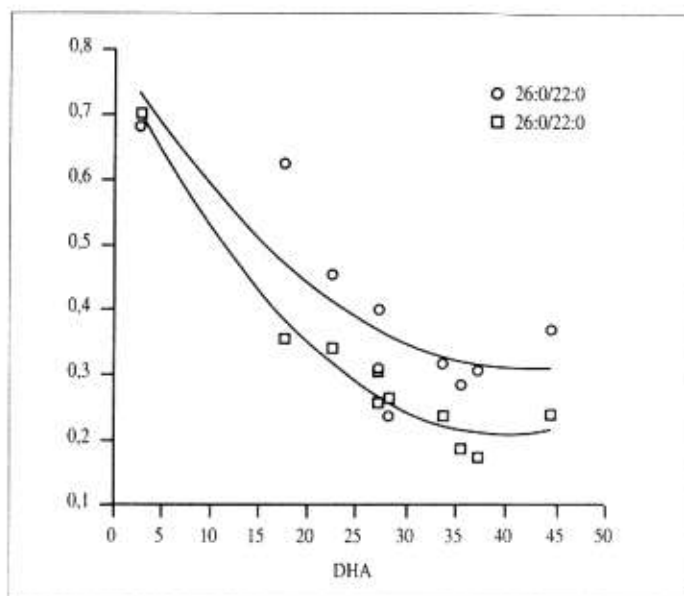


Figura 1. Índices plasmáticos de ácidos grasos de cadena muy larga (VLCFA) en el paciente n° 2 frente a los niveles de DHA (nmol/ml). Como puede verse, los VLCFA disminuyeron marcada y rápidamente al principio del tratamiento, hasta alcanzar una concentración de DHA de unos 40-50 nmol/ml.

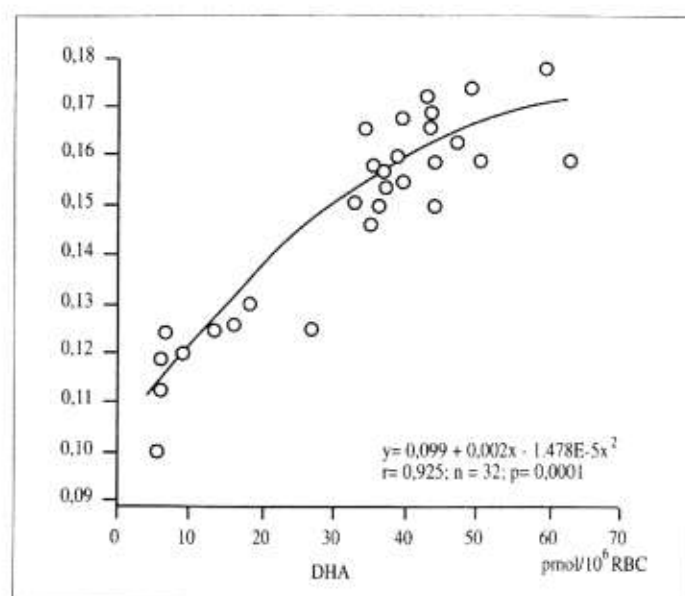


Figura 2. Índice de plasmalógenos 18:0 (18:0 dimetilacetal)/18:0 en hemáties de la paciente n° 9 a lo largo del tratamiento con DHA-etil ester. Obsérvese la normalización del índice al alcanzarse niveles óptimos de DHA de más de 40 pmol/10⁶ células.

Tabla II. Efectos iniciales del tratamiento con etil ester del ácido docosahexaenoico en dos pacientes con enfermedades peroxisomales generalizadas

Tiempo de tratamiento	Caso n° 2		Caso n° 10	
	Basal	3 semanas con DHA-EE	Basal	3 semanas con DHA-EE
Peso	5.070 g	6.010 g	5.630 g	6.260 g
Esteatorrea	++++	+	11,99%	5,78%
ALT	300	141	199	48
AST	459	238	384	90
GGT	123	40	41	20

damental que el tratamiento se inicie lo antes posible, dado el importante papel del DHA durante el desarrollo del cerebro y la retina. A este respecto, hay que recordar que la máxima acreción cerebral de DHA, y por tanto su período de máxima vulnerabilidad, se extiende desde las 32 semanas de gestación hasta los primeros meses de la vida⁽³³⁾, y en la retina el comienzo del período vulnerable es aún más precoz⁽³⁴⁾. En consonancia con ello, cabe esperar que los efectos de la terapéutica con DHA sean tanto más marcados cuanto más precozmente se inicie el tratamiento. Un enfermo que comenzó a tomar DHA a los 3 meses de edad y que presentaba un fallo importante del desarrollo pondoestatural y psicomotor, con pérdida de visión, mejoró espectacularmente en tan sólo 3 semanas (Tabla II y Fig. 3), tanto desde el punto de vista hepatodigestivo como pondoestatural y neurológico. Este niño es capaz ahora (a los 2 años de edad) de ver objetos con muy poco contraste y color (Fig. 3Ds), y su mielina cerebral está prácticamente normalizada (Fig. 4).

La deambulación es una función muy difícil de adquirir en un enfermo peroxisomal, debido a la severa afectación motora unida a la poca actividad de estos pacientes y a problemas ortopédicos. Sin embargo, mediante el tratamiento con DHA-EE unido a medidas

fisioterapéuticas, hemos conseguido mejorías motoras y deambulación autónoma en varios casos. Estas mejorías se han correlacionado a menudo con la normalización de la mielina cerebral detectada por RM^(16, 35). Una de las pacientes (caso 9), cuya mielina cerebral está normalizada desde los 3 años de edad y que está desde entonces caminando con ayuda, ha adquirido la marcha autónoma a los 7 años. Otro paciente (caso 16), que cuando comenzó el tratamiento a los 15 meses estaba ya empezando a desmielinizarse, está andando sin ayuda desde los 4 años y su mielina cerebral es ahora prácticamente normal. Una paciente, cuya grave afectación hepática mejoró espectacularmente durante el primer mes (caso 4) y que está siguiendo el tratamiento desde los 6 meses de edad, comenzó a andar a los 3 años y ahora (5 años) es capaz de andar sola, sentarse, levantarse, e incluso incorporarse desde el suelo (Fig. 5).

7. CONCLUSIONES

Los resultados del tratamiento con DHA indican que la carencia de este importante ácido graso poliinsaturado juega un papel fundamental en la patogenia de las enfermedades peroxisomales gene-

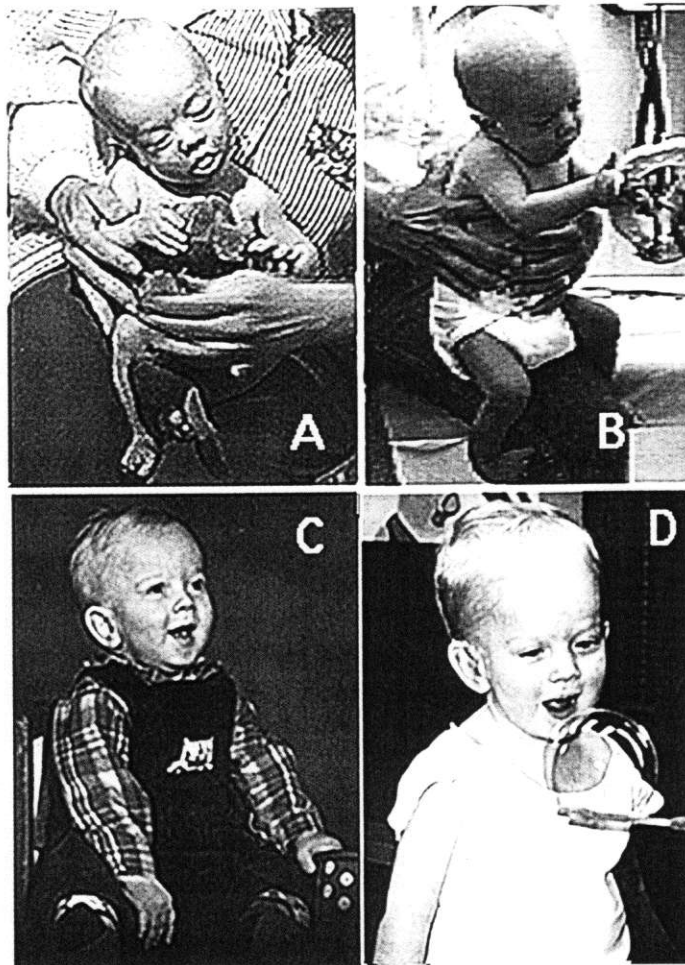


Figura 3. Paciente nº 3 antes de comenzar el tratamiento, a los 4 meses de edad (A), 3 semanas después (B), al cumplir un año de edad (C) y a los 2 años (D). Puede apreciarse la marcada mejoría del desarrollo somático y psicomotor. El niño es ahora capaz de ver objetos sutiles, como una pompa de jabón (D).

realizadas. El mero hecho de que los índices 26:0/22:0 y 26:1n-9/22:0, patognomónicos de la enfermedad, tiendan a normalizarse con el tratamiento sugiere una acción del DHA sobre la β -oxidación peroxisomal. En el mismo sentido apunta el aumento de plasmalógenos que acompaña a la normalización de los niveles de DHA. Pero, sobre todo, son las mejorías clínicas las que indican que, como mínimo, algunos de los síntomas de los enfermos peroxisomales van ligados a la carencia de DHA en las membranas celulares. El constante efecto beneficioso de la terapéutica con DHA sobre el funcionamiento hepático, así como la desaparición de la esteatorrea, sugieren una implicación profunda de la carencia de DHA en estos trastornos. Aunque el número de casos no es aún lo suficientemente grande para sacar conclusiones definitivas, la correlación inversa que existe entre el grado de mejoría clínica y la edad al comienzo del tratamiento subraya la importancia del DHA durante el desarrollo normal.

Por todo ello se puede concluir que el tratamiento con DHA tiene importantes efectos beneficiosos en los enfermos con enfermedades peroxisomales generalizadas, tanto más marcados cuanto más joven es el paciente. El tratamiento debe pues instaurarse sin tardanza. Debe, además, tenerse muy en cuenta que se trata de un tratamiento fisiológico, no de una droga. Lo que pretendemos es normalizar los patrones de ácidos grasos poliinsaturados, aportando el que es deficitario sin por ello afectar el equilibrio con otras familias de poliinsaturados. Por lo mismo, la dieta debe ser la normal para un niño en crecimiento, e incluso más nutritiva si cabe, a fin de contrarrestar las carencias acumuladas. Cualquier restricción en el aporte lipídico conllevaría una carencia adicional de DHA o, en caso de aportar este último como tratamiento exclusivo, provocaríamos además una carencia de los ácidos grasos de la serie n-6 (especialmente araquidónico). Hay que tener en cuenta, asimismo, que la finalidad de la restricción de grasas es la disminución de los ácidos grasos de cadena muy larga, ácidos grasos que, como hemos visto, disminuyen de todos modos por el mero hecho de normalizar los niveles de DHA. Otro objetivo de la dieta pobre en grasas es disminuir el aporte de ácido

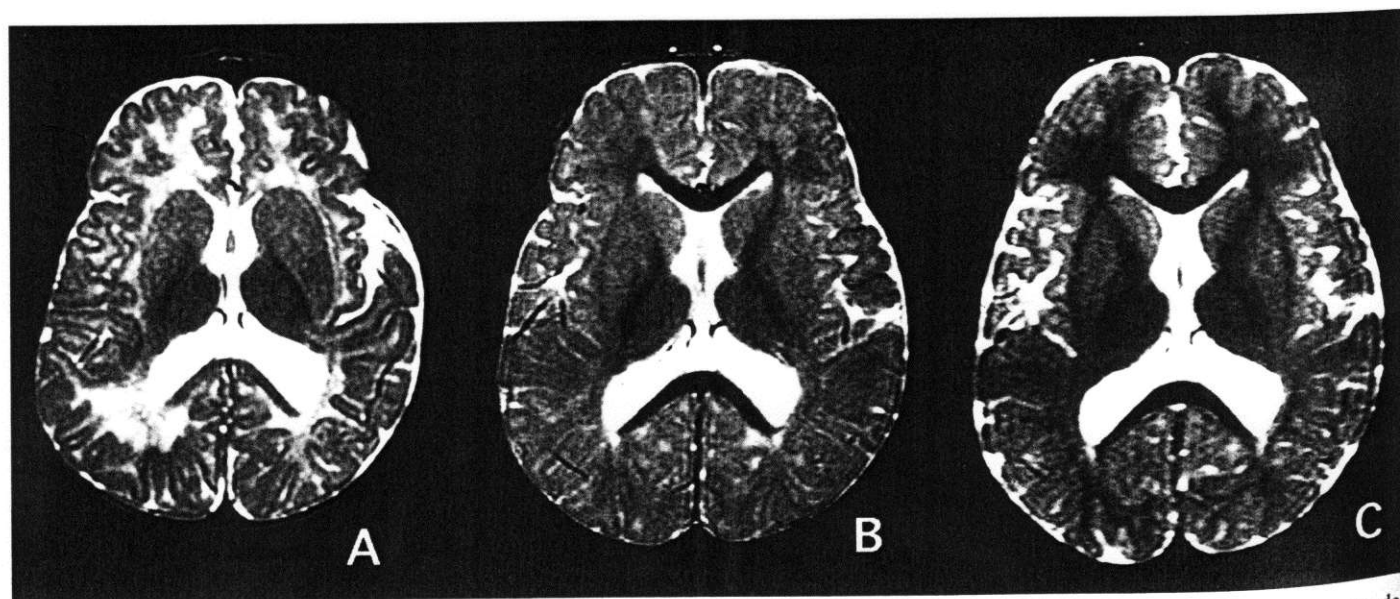


Figura 4. Resonancia magnética craneal, potenciada en T2, en el paciente nº 3, a los 6 meses (A), 16 meses (B) y 2 años (C). Obsérvese el progreso de la mielinización, que es ahora prácticamente normal para la edad, restando sólo unas pequeñas zonas de hipomielinización en áreas occipitales.

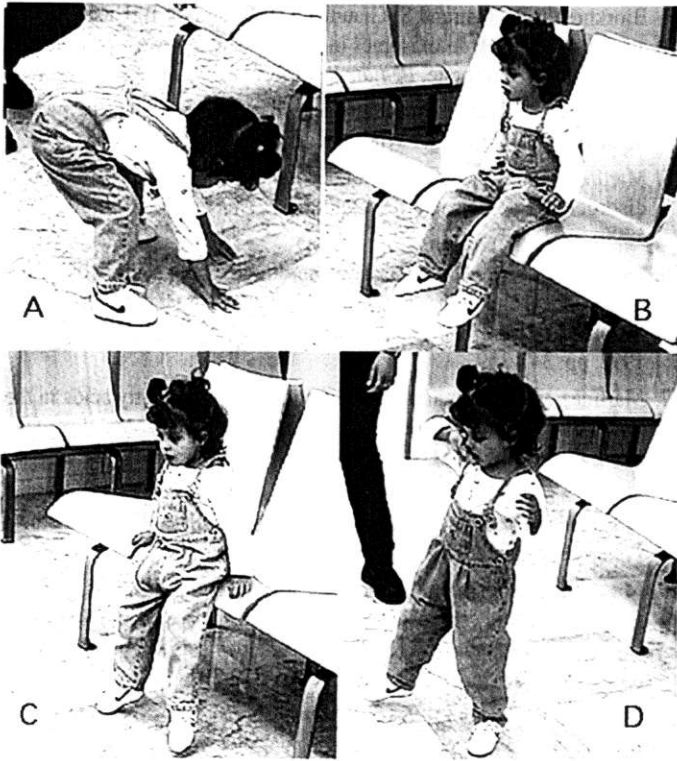


Figura 5. Paciente nº 4 en la actualidad (5 años). Esta niña debutó con un grave cuadro hepatodigestivo y marasmo (35). El estado general y función hepática mejoraron espectacularmente. La niña comenzó a andar a los 3 años y, a pesar de su escasa visión, ahora es capaz de levantarse del suelo sin ayuda (A), y de sentarse (B), incorporarse (C) y andar independientemente (C).

fitánico, que es exclusivamente de origen exógeno. No obstante, el ácido fitánico está ampliamente extendido en la naturaleza y es imposible eliminarlo del todo sin desnutrir al niño gravemente. El remedio, pues, sería mucho más grave que la enfermedad, sobre todo si se tiene en cuenta que el ácido fitánico no alcanza nunca en el niño peroxisomal niveles peligrosos parecidos a los detectados en la enfermedad de Refsum del enfermo adulto. Además, hemos observado que tras una elevación inicial al introducir una dieta completa, los niveles de ácido fitánico tienden después a normalizarse. En todo caso, siempre estaremos a tiempo de reducir la ingesta de algún alimento rico en ácido fitánico, en el supuesto de que los controles efectuados nos indiquen un aumento peligroso de este ácido. En cambio, desnutrir *a priori* a un niño con una dieta restrictiva estricta es siempre sumamente peligroso, sobre todo si es un enfermo peroxisomal.

En resumen, el tratamiento con DHA debe iniciarse lo más cerca posible del período neonatal, momento en que las necesidades de este ácido graso son máximas. Lógicamente, los enfermos menos afectados y tratados más precozmente serán los que respondan mejor al tratamiento. En el síndrome de Zellweger clásico el daño está tan avanzado ya al nacimiento que posiblemente no podremos hacer nada para mejorarlo. En cambio en las variantes menos malignas el tratamiento con DHA-EE produce significativos efectos beneficiosos. El tratamiento debe acompañarse de una dieta completa y debe controlarse bioquímicamente para ajustar las dosis de DHA y evitar dese-

quilibrios con otros ácidos grasos. Así empleado, creemos que el tratamiento con DHA contribuye significativamente a mejorar el estado y calidad de vida de los pacientes peroxisomales.

8. AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, deseamos agradecer aquí las repetidas becas de los National Institutes of Health (NIH, Bethesda, EEUU) que nos han proporcionado el etil ester de DHA (DHA-EE) empleado en el tratamiento de los enfermos. La especial ayuda de los Dres. Norman Salem, Jr. y Patricia Fair ha sido muy eficaz en la obtención del DHA-EE procedente de los NIH y de otras fuentes (Harima Chemicals, Japón). Los laboratorios Pronova Biocare (Noruega) han contribuido también con una pequeña cantidad de DHA-EE. Numerosos médicos y bioquímicos han colaborado en el diagnóstico y seguimiento de los pacientes. Especial mención merece nuestra neurorradióloga, E. Vázquez, y los neuropediatras y neurofisiólogos M. T. García-Silva, M. Pineda, R. Vidal, A. Verdú, M. Olesti, J. Conill, M. Pasqual y M. Tallada. Agradecemos también la ayuda prestada por numerosos pediatras de nuestro Hospital Infantil, en especial J.M. Bertrán y F. Castelló.

9. BIBLIOGRAFÍA

1. Goldfischer S, Moore CL, Johnson AB, Spiro AJ, Valsmis MP, Wisniewski HK, Ritch RH, Norton WT, Rain I, Gartner LM. Peroxisomal and mitochondrial defects in the cerebro-hepato-renal syndrome. *Science* 1973;182:62-64.
2. Bowen P, Lee CSN, Zellweger H, Lindenberg R. A familial syndrome of multiple congenital defects. *Bull Johns Hopkins Hosp* 1964;114:402-414.
3. Moser AE, Singh I, Brown FR 3d, Solish GI, Kelley RI, Benke PJ, Moser HW. The cerebro-hepato-renal (Zellweger) syndrome: Increased levels and impaired degradation of very long chain fatty acids, their use in prenatal diagnosis. *N Engl J Med* 1984 May 3;310:1141-1146.
4. Bakkeren JA, Monnens LA, Trijbels JM, Maas JM. Serum very long chain fatty acid pattern in Zellweger syndrome. *Clin Chim Acta* 1984; 138:325-331.
5. Hajra AK, Bishop JE. Glycerolipid biosynthesis in peroxisomes via de acyl dihydroxyacetone phosphate pathway. *Am N Y Acad Sci* 1982; 386:170-182.
6. Heymans HSA, Schutgens RBH, Tan R, van den Bosch H, Borst P: Severe plasmalogen deficiency in tissues of infants without peroxisomes (Zellweger syndrome). *Nature* 1983;306:69-70.
7. Poulos A, Sharp P, Fellenberg AJ, Danks DM. Cerebro-hepato-renal (Zellweger) syndrome, adrenoleukodystrophy and Refsum's disease; Plasma changes and skin fibroblast phytanic acid oxidase. *Hum Genet* 1985;70:172-177.
8. Singh H, Usher S, Johnson D, Poulos A. A comparative study of straight chain and branched chain fatty acid oxidation in skin fibroblasts from patients with peroxisomal disorders. *J Lipid Res* 1990;31:217-25.
9. Pedersen JI, Gustafsson J. Conversion of 3 α ,7 α ,12 α -trihydroxy-5 β -cholestanic acid into cholic acid by rat liver peroxisomes. *FEBS Lett* 1980; 121:345-348.
10. Krisans SK, Thompson SL, Pena LA, Kok E, Javitt NB: Bile acid synthesis in rat liver peroxisomes: Metabolism of 26-hydroxycholesterol to 3 β -hydroxy-5-holenic acid. *J Lipid Res* 1985;26:1324-1332.
11. Lazarow PB, Moser HW. Disorders of peroxisome biogenesis. In: Scri-

- ver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D (eds). *The Metabolic Basis of Inherited Disease*. 7th CD-ROM edition, New York: McGraw-Hill, 1997: records 38247-38973.
12. Martínez M. Sintomatología clínica de las enfermedades peroxisomales generalizadas. *Rev Neurología* 1998;28:S49-54.
 13. Hanson RF, Szczepanick-van Leeuwen P, Williams GC, Grabowski G, Sharp HL. Defects of bile acid synthesis in Zellweger's syndrome. *Science* 1979;203:1107-1108.
 14. Wanders RJA, van Roermund CWT, van Wijland MJA, Heikoop J, Schutgens RBH, Schram AW, Tager JM, van den Bosch H, Poll-The BT, Saudubray JM, Moser HW, Moser AB. Peroxisomal very long chain fatty acid β -oxidation in human skin fibroblasts: Activity in Zellweger syndrome and other peroxisomal disorders. *Clin Chim Acta* 1987;166:255-263.
 15. Santos MJ, Imanaka T, Shio H, Small GM, Lazarow PB. Peroxisomal membrane ghosts in Zellweger syndrome - aberrant organelle assembly. *Science* 1988;239:1536-1538.
 16. Martínez M, Vázquez E. MRI evidence that docosahexaenoic acid ethyl ester improves myelination in generalized peroxisomal disorders. *Neurology* 1998;51:26-32.
 17. Moser AE, Singh I, Brown FR 3d, Solish GI, Kelley RI, Benke PJ, Moser HW. The cerebro-hepato-renal (Zellweger) syndrome: Increased levels and impaired degradation of very long chain fatty acids, their use in prenatal diagnosis. *N Engl J Med* 1984 May 3;310:1141-1146.
 18. Dry J, Pradalier A, Canny M. Maladie de Refsum: Dix ans de régime pauvre en acide phytanique et phytol. *Ann Med Interne (Paris)* 1982; 133:483-487.
 19. Moser AB, Borel J, Odone A, Naidu S, Cornblath D, Sanders DB, Moser HW. A new dietary therapy for adrenoleukodystrophy: biochemical and preliminary clinical results in 36 patients. *Ann Neurol* 1987;21:240-9.
 20. Wilson GN, Holmes RG, Custer J, Lipkowitz JI, Stover J, Datta N, Hajra A. Zellweger syndrome: diagnostic assays, syndrome delineation, and potential therapy. *Am J Med Genet* 1986;24:69-82.
 21. Smeitink JMA, Beemer FA, Speel M, Donckerwolcke RAMG, Jakobs C, et al. Bone dysplasia associated with phytanic acid accumulation and deficient plasmalogen synthesis: a peroxisomal entity amenable to plasmapheresis. *J Inher Metab Dis* 1992;15:377-380.
 22. Setchell KDR, Bragetti P, Zimmer-Nechemias L, Daugherty C, Pelli MA, Vaccaro R, Gentili G, Distrutti E, Dozzini G, Morelli A, Clerici C. Oral bile acid treatment and the patient with Zellweger syndrome. *Hepatology* 1992;15:198-207.
 23. Bjorkhem I, Blomstrand S, Glaumann H, Strandvik B. Unsuccessful attempts to induce peroxisomes in two cases of Zellweger disease by treatment with clofibrate. *Pediatr Res* 1985;19:590-593.
 24. Martínez M. Polyunsaturated fatty acid changes suggesting a new enzymatic defect in Zellweger syndrome. *Lipids* 1989;24:261-265.
 25. Martínez M. Severe deficiency of docosahexaenoic acid in peroxisomal disorders: A defect of $\Delta 4$ -desaturation? *Neurology* 1990;40:1292-1298.
 26. Martínez M. Severe changes in polyunsaturated fatty acids in the brain, liver, kidney, and retina in patients with peroxisomal disorders. In: N. Bazan (ed). *Neurobiology of Essential Fatty Acids*. New York: Plenum, 1992. pp. 347-359.
 27. Martínez M. Abnormal profiles of polyunsaturated fatty acids in the brain, liver, kidney and retina of patients with peroxisomal disorders. *Brain Res* 1992;583:171-182.
 28. Martínez M, Mougán I, Roig M, Ballabriga A. Blood polyunsaturated fatty acids in patients with peroxisomal disorders. A multicenter study. *Lipids* 1994;29:273-280.
 29. Martínez M. Treatment with docosahexaenoic acid favorably modifies the fatty acid composition of erythrocytes in peroxisomal patients. In: Coates PM, Tanaka K (eds). *New Developments in Fatty Acid Oxidation*. New York: Wiley-Liss, 1992. pp. 389-397.
 30. Martínez M, Pineda M, Vidal R, Martín B. Docosahexaenoic acid - A new therapeutic approach to peroxisomal-disorder patients: Experience with two cases. *Neurology* 1993;43:1389-1397.
 31. Martínez M. Polyunsaturated fatty acids in the developing human brain, erythrocytes and plasma in peroxisomal disease: therapeutic implications. *J Inher Metab Dis* 1995;18(Suppl. 1):61-75.
 32. Martínez M. Docosahexaenoic acid therapy in DHA-deficient patients with disorders of peroxisomal biogenesis. *Lipids* 1996;31:S145-152.
 33. Martínez M. Tissue levels of polyunsaturated fatty acids during early human development. *J Pediatr* 1992;120:S129-138.
 34. Martínez M, Gil-Gibernau JJ, Ballabriga A. Lipids of the developing human retina: I. Total fatty acids, plasmalogens, and fatty acid composition of ethanolamine and choline phosphoglycerides. *J Neurosci Res* 1988;20:484-490.
 35. Martínez M, Vázquez E, García Silva MT, Manzanares J, Bertran JM, Castelló F, Mougán I. Therapeutic effects of docosahexaenoic acid ethyl ester in patients with generalized peroxisomal disorders. *Am J Clin Nutr* 2000;71:376S-385S.