

Rev. Chil. Pediatr. 67 (2); 79-83, 1996

Síndrome cerebrohepatorrenal de Zellweger: una enfermedad peroxisomal

Eliana Rodillo B.¹; Marcos Vallejos A.¹;
León Adlerstein S.¹; Wanda Fernández M.²; Sergio González B.³;
María E. Kawada S.⁵; Manuel J. Santos A.⁴

Zellweger syndrome: a peroxisomal abnormality

An infant with craneofacia dysmorphia, hepatomegaly, kidney cysts and severe neurological dysfunction is reported. No abnormalities were detected on either serum ornithoacid, lactic acid and ammonia levels or urinary aminoacid excretion, but accumulation of very long chain fatty acids, abnormal subcellular distribution of the peroxisomal enzyme catalase and peroxisomal ghosts were found in cultured fibroblasts. These clinical and laboratory findings support the diagnosis of Zellweger (cerebrohepatorrenal) syndrome, a peroxisomal disease.

Key words: Zellweger syndrome, cerebrohepatorrenal syndrome.

El síndrome cerebrohepatorrenal o síndrome de Zellweger, es una enfermedad autosómica recesiva, letal, cuya incidencia es estimada entre 2 y 4 por 100 000 nacidos vivos¹. Corresponde al prototipo de las llamadas enfermedades peroxisomales^{2, 3}. Se caracteriza clínicamente por dismorfias craneofaciales, hepatomegalia y disfunción neurológica severa¹. En esta presentación se describen las características clínicas y de laboratorio del primer paciente con síndrome de Zellweger identificado en nuestro país y se revisa el tema con el propósito de estimular la búsqueda y contribuir al estudio de estos raros pacientes.

Caso clínico

Recién nacido masculino, de término. Al nacer pesaba 2 900 g. Calificación Apgar 9 al minuto, 9 a los 5 minutos. Síndrome de dificultad respiratoria, bronconeumonía e hipoglicemia asintomática en período postnatal inmediato. Posteriormente sufrió bronconeumonía intrahospitalaria que se trató con ampicilina y amikacina. Durante su hospitalización se registró hipotonía severa, dismorfias faciales y pie bot bilateral, para lo cual se indicó yeso corrector en otro hospital. Fue referido a nuestro servicio para completar su estudio. Ingresó con dificultad respiratoria, hipotonía severa y retención de CO₂, por lo que fue conectado a ventilación mecánica. Su bregma era amplio, las suturas del cráneo separadas, frente amplia, epicanto, paladar ojival, cuello corto y hepatomegalia. No se conectaba bien con el medio. Hipoactivo. Reflejo de Moro y succión ausentes. Hipotonía extrema. Durante su hospitalización sufrió convulsiones que respondieron favorablemente a fenobarbital. Por la asociación de dismorfias faciales, hipotonía severa, hepatomegalia y convulsiones se sospechó el síndrome de Zellweger. La ecografía cerebral mostró lesiones quísticas en ambas cabezas de los núcleos caudados. En la tomografía axial cerebral se registró hipodensidad de la sustancia blanca en la región frontoparietal derecha y, en la ecografía abdominal, un quiste renal y hepatomegalia. La biopsia muscular y la actividad sérica de CPK (creatina fosfoquinasa) eran normales. En el examen ocular se encontró restos de membrana mesodérmica en el iris de ambos ojos, pequeña opacidad del limbo corneal derecho y papilas pálidas. El rastreo metabólico para aminoacidemia, aminoaciduria, ácido láctico y amonio dio resultados normales. Los ácidos grasos de cadena muy larga estaban muy aumentados en el plasma, especialmente en C26:0 = 6,289

1. Servicio de Neurología, Hospital Roberto del Río.
 2. Servicio de Anatomía Patológica, Hospital Roberto del Río.
 3. Departamento Anatomía Patológica, Facultades de Ciencias Biológicas y Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile.
 4. Departamentos de Biología Celular y Molecular y Pediatría, Facultades de Ciencias Biológicas y Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile.
 5. Tecnóloga Médica. Departamentos de Biología Celular y Molecular y Pediatría, Facultades de Ciencias Biológicas y Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile.
- Financiado parcialmente por Fondecyt 1940686.

$\mu\text{g/ml}$ en plasma (normal aproximadamente $0,33 \pm 0,18 \mu\text{g/ml}$). La distribución subcelular de la catalasa peroxisomal en cultivo de fibroblastos, mediante fraccionamiento celular, mostró que 90% de la enzima estaba libre en el citoplasma y la técnica de inmunodetección de proteínas peroxisomales en fibroblastos de piel y en la biopsia de hígado reveló gran escasez de peroxisomas (visualizados como partículas que contienen catalasa) y su reemplazo por sacos membranosos peroxisomales vacíos (fantasmas peroxisomales). Cabe señalar que en cultivos de fibroblastos se detectaron algunos peroxisomas residuales mediante inmunofluorescencia indirecta con anticuerpos anti catalasa (figura). Con estos antecedentes se formuló el diagnóstico de síndrome de Zellweger. A los seis meses de edad el paciente fue trasladado a su ciudad de origen, donde permaneció hospitalizado, sin mostrar avances en su desarrollo psicomotor y sufriendo repetidas bronconeumonías, hasta la edad de 10 meses de edad, en que falleció, al parecer a causa de una de ellas.

Comentario

El diagnóstico de síndrome de Zellweger debe sospecharse clínicamente en todo niño con

dismorfias craneofaciales, asociadas a hepatomegalia y compromiso neurológico severo. El estudio metabólico habitual (aminoácidos, amonio, y ácido láctico) es normal. Sin embargo, la elevación de ácido grasos de cadena muy larga en sangre o tejidos, como método de rastreo, orienta al diagnóstico.

El síndrome de Zellweger corresponde a la típica afección que compromete a los peroxisomas (enfermedad peroxisomal). Los peroxisomas son organelos subcelulares esenciales, como los lisosomas y las mitocondrias⁴. Están rodeados por una membrana simple, que limita a una matriz (o contenido) granular. Fueron denominados peroxisomas por C. de Duve, dado que ellos contienen enzimas oxidadas que generan peróxido de hidrógeno (H_2O_2), que es detoxificado en el mismo organelo por la enzima catalasa. Los peroxisomas contienen, además, otras enzimas, cerca de cuarenta, que participan en diversas rutas metabólicas, tales como la β -

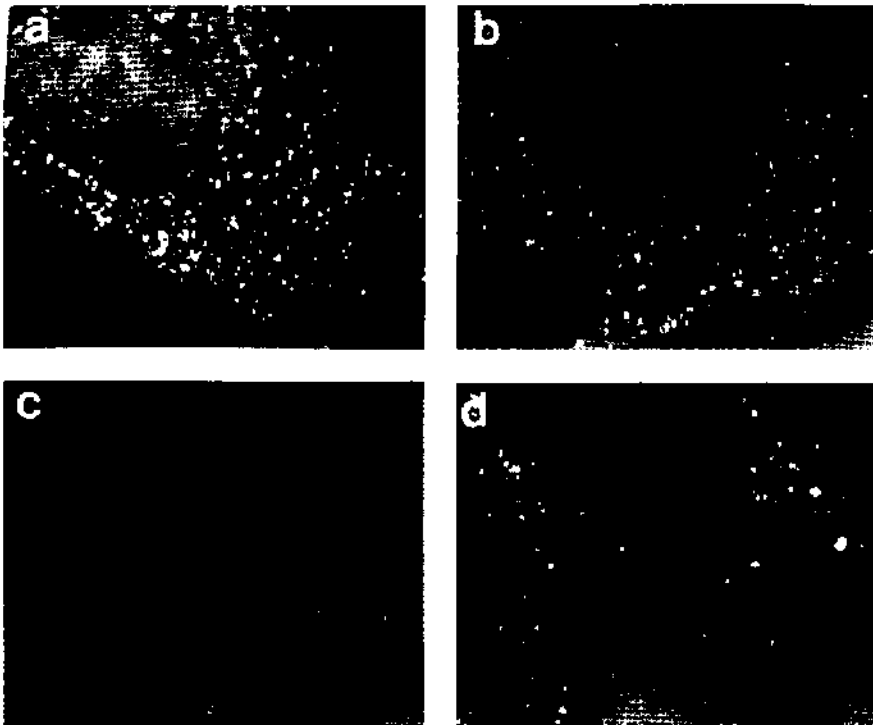


Figura: Inmunodetección de peroxisomas en fibroblastos en cultivo, mediante inmunofluorescencia indirecta. Fibroblastos en cultivo de un sujeto control (a y b) y del paciente (c y d), fueron cultivados y sometidos a inmunofluorescencia indirecta, utilizando anticuerpos anticatalasa (a y c) y antiproteínas de membrana peroxisomal (b y d). En fibroblastos controles se observan abundantes peroxisomas normales (a y b), en tanto en los fibroblastos del paciente se observan abundantes fantasmas peroxisomales (d) y muy escasos peroxisomas residuales (c), (objetivo 100%).

oxidación de ácidos grasos de cadena muy larga (> 22 átomos de carbono), resultando en un acortamiento de éstos a cadenas medianas y cortas (6-8 átomos de carbono); la síntesis de éter-fosfolípidos, como los plasmalógenos; la oxidación de varios ácidos como el fitánico y dicarboxílicos⁴. Las proteínas (enzimas) peroxisomales son sintetizadas en los polirribosomas del citoplasma y son importadas al organelo en forma postraducciona, de modo que el organelo crece y se divide por fisión. En la membrana peroxisomal existe una maquinaria de importación encargada de reconocer (receptores) y transportar (translocasas dependiente de ATP) las proteínas peroxisomales⁵. Si existe una falla en este mecanismo de importación, las proteínas peroxisomales no son capaces de incorporarse a los peroxisomas, quedando libres en el citosol donde pueden permanecer activas o ser degradadas⁵.

Las enfermedades peroxisomales se dividen en tres grupos (tabla)³: En el grupo I los peroxisomas están muy disminuidos y hay deficiencia

de múltiples funciones peroxisomales. Su prototipo corresponde al síndrome de Zellweger, e incluyen a otras afecciones tales como: adrenoleucodistrofia neonatal (NALD), enfermedad de Refsum infantil (IRD) y acidemia hiperpípecólica (HA). Todas estas enfermedades, a su vez, se consideran afecciones de la biogénesis peroxisomal⁵. En el grupo II los peroxisomas están presentes y existe más de una función peroxisomal alterada, como ocurre con la condrodismplasia punctata de tipo rizomélico (RCDF) y el síndrome tipo Zellweger y en el grupo III los peroxisomas están presentes, pero hay pérdidas de una función (enzima) peroxisomal. Integran este grupo las típicas afecciones genéticas metabólicas debido a fallas de una enzima peroxisomal. La más conocida es la adrenoleucodistrofia ligada al cromosoma X, en que habría una falla de la enzima que activa a los ácidos grasos (ligasa) para su posterior oxidación³.

Las manifestaciones clínicas del síndrome de Zellweger fueron descritas por Bowen en 1964⁶. Los pacientes afectados son letárgicos, inactivos

Tabla

Clasificación de las enfermedades peroxisomales

Grupo I

Peroxisomas deficientes y pérdida generalizada de funciones peroxisomales (afecciones de la biogénesis peroxisomal)

- Síndrome cerebrohepatorrenal (Zellweger) (ZS)
- Adrenoleucodistrofia neonatal (NALD)
- Enfermedad de Refsum infantil (IRD)
- Acidemia hiperpípecólica (HPA)

Grupo II

Peroxisomas presentes y pérdida de múltiples funciones peroxisomales

- Condrodisplasia punctata tipo rizomélico (RCDF)
- Síndrome tipo Zellweger

Grupo III

Peroxisomas presentes y pérdida de una función peroxisomal

- Adrenoleucodistrofia ligada al X (X-ALD) y sus variantes
- Deficiencia del sistema de β -oxidación peroxisomal:
 - Deficiencia de acil-CoA oxidasa (pseudo-NALD)
 - Deficiencia de proteína bifuncional
 - Deficiencia de tiolasa peroxisomal (pseudo-ZS)
- Deficiencia de dehidroxiacetona fosfato aciltransferasa (deficiencia de DHAPAT, pseudo-RCDF)
- Deficiencia de glutaril-CoA oxidasa
- Acidemia Di- y trihidroxicolestanoica
- Hiperoxaluria tipo I
- Acatalsemia

y sufren convulsiones. No responden a estímulos externos, succionan o degluten. Muestran hipotonía severa, arreflexia y no tienen reflejo de Moro. La hipotonía es de origen supranuclear, pero se asemeja a la neuromuscular. Estos pacientes presentan dismorfias craneofaciales como frente alta, suturas frontales muy amplias, reborde supraorbitario plano, implantación baja de las orejas y paladar alto. Las alteraciones oculares incluyen telecanto, opacidades corneales, cataratas, glaucoma, alteraciones retinianas y displasia del nervio óptico. Existe hepatomegalia y alteración de las pruebas hepáticas, quistes renales y detención del desarrollo psicomotor. Su expectativa de vida es muy baja: 70% fallecen en los primeros seis meses de vida y 92% en el primer año. La supervivencia más allá de los 2 años y medio de vida es excepcional¹.

En 1973 Goldfischer y cols. describieron la ausencia de peroxisomas en hígado de pacientes con síndrome de Zellweger⁷. Posteriormente, se demostró que en otros pacientes la enzima catalasa (el marcador biológico para los peroxisomas) se encontraba libre en el citosol⁸. Otras enzimas, como el sistema de β -oxidación peroxisomal estaban ausentes⁹. Santos y cols en 1988¹⁰ usando técnicas de inmunodetección de proteínas de la membrana peroxisomal, encontraron que estas membranas estaban presentes en forma íntegra, pero su interior estaba vacío (ausencia de proteínas y enzimas de la matriz) denominando a estas estructuras como "fantasmas peroxisomales". El defecto genético de esta afección podría residir a nivel de la maquinaria de importación de proteínas al interior del peroxisoma, ejemplificando un nuevo tipo de error congénito del metabolismo: una afección organelar, que afecta la biogénesis de todo un organelo¹⁰. Hay gran heterogeneidad genética entre los pacientes con síndrome de Zellweger, mencionándose alrededor de 10 grupos de complementación genética distintos¹¹, en tres de los cuales se han identificado las fallas, que corresponden a alteraciones de proteínas de la membrana peroxisomal, presumiblemente involucradas en la importación¹¹.

Los hallazgos neuropatológicos en el síndrome comprenden anomalías en la citoarquitectura cerebral, como microgiría y paquigiría, heterotopías y desmielinización^{12, 13}. Ellas se han atribuido a la deficiencia de enzimas peroxisomales. Así, en animales de experimentación

el déficit de ácido pipercolico produce hipotonía¹. Los plasmalógenos son importantes constituyentes de la membrana celular eléctricamente activa en el cerebro, representando 80 a 90% de los fosfolípidos de la sustancia blanca cerebral. Los peroxisomas son muy numerosos en las células especializadas en el metabolismo lipídico, tales como los oligodendrocitos, que producen la mielina del sistema nervioso central. En ellos los peroxisomas aumentan concordantemente con la máxima producción de mielina, sugiriendo un rol importante en la mielogénesis¹³. En fetos con síndrome de Zellweger los defectos de migración se inician alrededor del tercer mes de gestación y han sido relacionados con la acumulación de ácidos grasos de cadena muy larga⁴.

El estudio de laboratorio del síndrome de Zellweger y de las enfermedades peroxisomales debiera incluir, entre otros, la determinación de la concentración de los ácidos grasos de cadena muy larga en sangre (o tejidos), la evaluación de la distribución subcelular de enzimas peroxisomales (p.e. catalasa) en fibroblastos en cultivo o hepatocitos (enzima que en la enfermedad Zellweger se encuentra en su mayoría libre en el citosol), la evaluación de la ausencia de peroxisomas normales y su reemplazo por los fantasmas peroxisomales, mediante inmunodetección de enzimas de la matriz y proteínas de la membrana peroxisomal en fibroblastos en cultivo o biopsia hepática, la medición del ácido fitánico y de ácidos biliares; la determinación de la actividad de las enzimas peroxisomales de la biosíntesis de plasmalógenos^{3, 5}. Recientemente, también se ha utilizado linfoblastos (linfocitos transformados por el virus Epstein Barr) para estudios del síndrome de Zellweger¹⁴. Nuestro paciente presentaba, además de los signos clínicos característicos, aumento de ácidos grasos de cadena muy larga (C26:0), presencia de catalasa mayoritariamente en el citoplasma, y fantasmas peroxisomales en fibroblastos y hepatocitos. Todos estos hallazgos fundamentan el diagnóstico de síndrome de Zellweger. Conviene señalar que un paciente con un fenotipo similar al reportado aquí, es decir con algunos peroxisomas residuales en sus fibroblastos, ya se había detectado anteriormente¹⁵.

Por último, cabe destacar que el diagnóstico prenatal es posible a través de la detección de ácidos de cadena muy larga en el cultivo de

células de líquido amniótico¹⁶. El tratamiento para la enfermedad de Zellweger hasta el momento es sólo de apoyo⁵.

Resumen

Se describe el caso clínico de un lactante con dismorfias craneofaciales, hepatomegalia, quistes renales y disfunción neurológica severa. Los exámenes de rastreo para aminoacidemia, aminoaciduria, ácido láctico y amonio dieron resultados normales, pero había altas concentraciones plasmáticas de ácidos grasos de cadena muy larga, distribución subcelular anormal de la catalasa peroxisomal y fantasmas peroxisomales en fibroblastos cultivados. Estas características clínicas y de laboratorio sustentan el diagnóstico de síndrome de Zellweger.

(**Palabras clave:** síndrome de Zellweger, síndrome cerebrohepatorrenal.)

Referencias

1. Zellweger H: The cerebro-hepato-renal (Zellweger) syndrome and other peroxisomal disorders. Review article. *Dev Med Child Neurol* 1987; 821-829.
2. Schutgens R, Heymans H, Wanders R, et al.: Peroxisomal disorders: a newly recognized group of genetic diseases. *Eur J Pediatr* 1986; 144: 430-440.
3. Wanders R, Barth P, Schutgens R, et al.: Clinical and biochemical characteristics of peroxisomal disorders: update. *Eur J Pediatr* 1994; 153 (Supl.1): 544-548.
4. Moser H: The peroxisome: nervous system role of a previously underrated organelle. *Neurology* 1988; 38: 1617-1627.
5. Lazarow PB, Moser H: Disorders of peroxisomal biogenesis. In: *The metabolic basis of inherited diseases*. Scriver C, Beaudet A, Sly W, Valle D (Eds.). McGraw Hill Co. New York, 6th Ed, 1989: 1479-1509.
6. Bowen P, Lee C, Zellweger H, Lidenberg R: A familial syndrome of multiple congenital defects. *Bull Johns Hopkins Hospital* 1964; 114: 402-414.
7. Goldfischer S, Moore C, Johnson A, et al: Peroxisomal and mitochondrial defects in the cerebro-hepato-renal syndrome. *Science* 1973; 182: 62-64.
8. Santos M, Ojeda J, Garrido J, et al: Peroxisomal organization in normal and cerebrohepatorrenal (Zellweger) syndrome fibroblasts. *Proc Natl Acad Sci USA* 1985; 82: 6556-6560.
9. Schram AW, Strijland A, Hashimoto T, et al: Biosynthesis and maturation of peroxisomal β -oxidation enzymes in fibroblasts in relation to the Zellweger syndrome and infantile Refsum disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 1986; 83: 6156-6158.
10. Santos MJ, Imanaka T, Shio H, et al: Peroxisomal membrane ghosts in Zellweger syndrome, aberrant organelle assembly. *Science* 1988; 239: 1536-1538.
11. Dadi G, Braverman N, Wong C, et al: Mutations in the PTS1 receptor gene, PXR1, define complementation group 2 of the peroxisome biogenesis disorders. *Nature Genetics* 1995; 9: 115-125.
12. Wanders R, Heymans H, Schutgens R, et al: Peroxisomal disorders in neurology. Review article. *J Neurol Sci* 1988; 88: 1-39.
13. Brown FR, Voight R, Singh AK, Singh I: Peroxisomal disorders neurodevelopmental and biochemical aspects. Review. *AJDC* 1993; 147: 617-626.
14. Santos MJ, Moser AB, Drwinga H, et al: Analysis of peroxisomes in lymphoblasts: Zellweger syndrome and a patient with a deletion in chromosome 7. *Pediatr Res* 1993; 33: 441-444.
15. Santos MJ, Hoefler S, Moser AB, et al: Peroxisomal assembly mutations in humans: structural heterogeneity in Zellweger syndrome. *J Cell Physiol* 1992; 151: 103-112.
16. Moser AE, Singh AB, Brown FR, et al: Increased levels & impaired degradation of VLCFA and their use in prenatal diagnosis. *New Engl J Med* 1984; 310: 1141-1146.

AVISO A LOS AUTORES

Con el objeto de dar prioridad a los trabajos de investigación, en vista de las limitaciones de espacio de la Revista Chilena de Pediatría, el Comité Editorial ha acordado restringir la impresión de casos clínicos a un máximo de dos por cada número.