

ENFERMEDAD DE FABRY. AFECTACION DE CUATRO MIEMBROS DE UNA FAMILIA DE RAZA NEGRA

Humberto Moreno Fuenmayor*, Félix Gómez**, Ingrid Martínez*, Jorge Cure* y José Zabala***

RESUMEN

En el presente trabajo se demuestra clínicamente y por pruebas bioquímicas, la presencia de enfermedad de Fabry (*Angiokeratoma corporis diffusum*, glicosfingolipidosis o deficiencia de ceramida trihexosidasa), en cuatro hermanos varones de una misma familia. Se comprobó la excreción aumentada de glicosfingolípidos totales en la orina de los varones afectados y así mismo la ausencia casi absoluta de actividad relativa de alfa-galactosidasa en lágrimas del propósito y de dos hermanos afectados. Este es posiblemente, el primer reporte de enfermedad de Fabry en nuestro país, y es interesante el hecho de que aparezca en miembros de una familia de raza negra, dada la hasta recientemente alegada preferencia de la enfermedad por individuos de raza caucásica.

INTRODUCCION

En este reporte, la excreción aumentada de glicosfingolípidos urina-

* Unidad de Genética Médica, Facultad de Medicina, Universidad del Zulia, Apartado 1154, Maracaibo. Venezuela.

** Cátedra de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad del Zulia, Maracaibo. Venezuela.

*** Cátedra de Medicina Interna, Facultad de Medicina, Universidad del Zulia, Maracaibo. Venezuela.

rios, así como la casi ausente actividad de alfa-galactosidasa, en los miembros afectados de esta genealogía, comprueban la sospecha clínica de enfermedad de Fabry, en quienes se diagnosticó el defecto.

La enfermedad de Fabry, es un error congénito del metabolismo de los glicoesfingolípidos transmitido por un gen ligado a X dominante, y cuya resultante fisiopatológica es la acumulación de galactosil-galactosil-glicosil-ceramida en la mayoría de los tejidos corporales. En condiciones normales, el gen codifica por la síntesis de una alfa-hidrolasa que desprende la galactosa unida en posición alfa, al trihexósido de ceramida. El defecto enzimático en la enfermedad de Fabry es la ausencia de la actividad de galactosil hidrolasa (ceramida trihexosidasa) en tejidos, plasma y algunos emuntorios tales como las lágrimas. Los niveles elevados del Gal-Gal-Glu-Cer (trihexósido de ceramida) en el plasma y la acumulación progresiva de estos glicoesfingolípidos en endotelios y músculo liso de vasos sanguíneos, en las células ganglionares y perineurales del sistema nervioso autónomo, tejido conectivo, miocárdico y reticuloendotelial, así como en células de la córnea, riñón y otros tejidos, son debidos al defecto del catabolismo de este compuesto por la ausencia de actividad enzimática en los pacientes afectados.

Los ensayos de actividad enzimática en la fracción particulada de las células indican que la enzima es probablemente lisosomal (15).

Las manifestaciones clínicas varían de acuerdo con el sexo de la persona afectada, siendo más severas en el varón hemizigótico. Estos últimos presentan lesiones cutáneas características, de donde deriva el nombre original de la enfermedad: *angiokeratoma corporis difusum*. Las primeras descripciones de que se tienen conocimiento en la literatura mundial son las de Fabry (6), y Anderson (1), quienes originalmente la describieron independientemente. En la literatura hispanoamericana, encontramos las referencias a Soto (11), Soto Melo (12), Castelletto (3) y Gómez (6) en España, y a Texier (13) en Argentina. No pudimos hallar reportes de la enfermedad en fuentes de literatura Bolivariana ni en la Nacional.

La enfermedad demuestra su presencia solamente al final de la primera o segunda década de la vida, por los signos de dolor en las extremidades y la aparición de las lesiones cutáneas principalmente. La enfermedad cardiovascular o renal es de aparición más tardía; la distrofia corneal, otro signo de la misma, consiste en una opacidad difícil de evidenciar sobre la capa epitelial de la córnea, mejor observable con luz oblícua en una sala oscura. Los cambios clínicos finales, dependen de enfermedad glomerular y vascular los cuales llevan a la hipertensión arterial complicada por insuficiencia cardíaca congestiva, insuficiencia renal progresiva

y muerte en uremia. En general el promedio de vida de estos pacientes está acortado en unos 20 años.

MATERIAL Y METODOS

Casos clínicos.

Caso 1 (III-7 en la genealogía, figura 1). Propósito (Fig. 2): varón de 28 años que ingresa al H.U.M. con las siguientes manifestaciones clínicas: dolor urente en las extremidades, manos y pie, el cual se exacerbaba con la exposición al calor y mejoraba con la exposición al frío. Al interrogatorio, el paciente manifiesta que la sintomatología descrita había comenzado a presentarse tempranamente, desde la época puberal, y que por lo menos otros 3 hermanos varones tenían iguales síntomas. Al examen físico se observaron lesiones semejantes a Petequias elevadas, de apariencia costrosa (Fig. 3) de menos de 0,5 mm de diámetro, localizadas alrededor del ombligo, sobre el abdomen, extendiéndose hacia la región genital, pene (Fig. 4), escroto, región interna de ambos muslos, parte baja de la espalda y nalgas, donde las lesiones se hacían confluentes, dándoles a éstas una coloración rojiza. Estas lesiones no eran pruriginosas, dolorosas, ni desaparecían a la vítreo presión. Fueron identificadas como *angiokeratoma corporis diffusum*.

Es importante hacer notar, que antes de la asociación clínica de las lesiones cutáneas con las manifestaciones dolorosas de este paciente, se sugirió el diagnóstico de neurosis conversiva.

Casos 2 y 3 (III-4 y III-10 en la genealogía). Los hermanos del propósito que acusaron iguales síntomas y signos clínicos; fueron examinados por uno de nosotros. Pudimos comprobar la congruencia de los mismos y de esa forma igualar la sospecha diagnóstica.

Caso 4 (III-11), hermano del propósito de quien éste refiere presentaba iguales signos clínicos. Este individuo murió en un accidente poco antes de que el propósito fuese examinado por nosotros.

ENFERMEDAD DE FABRY

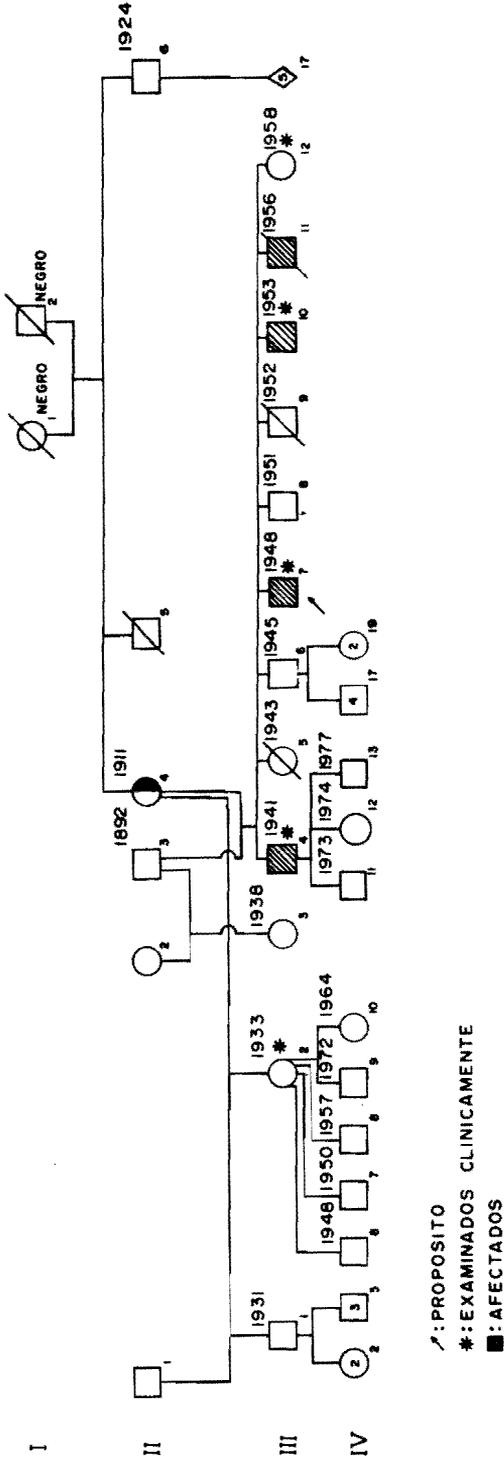


Fig. 1. -- Genealogía.



Fig. 2.— Propósito, III-7 en la genealogía.

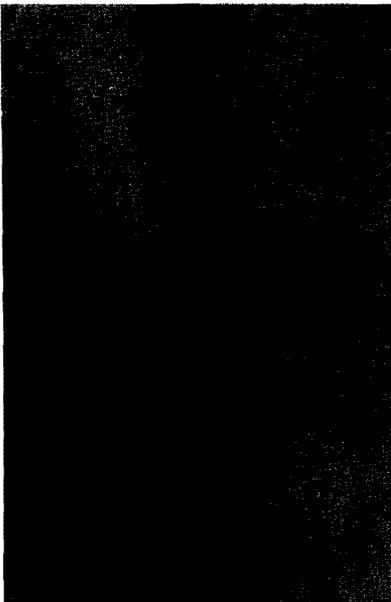


Fig. 3.— Lesiones de angiokeratoma en y alrededor del ombligo.



Fig. 4.— Lesiones de angiokeratoma en la piel prepucial.

Exámenes complementarios.

No se observaron resultados anormales en los exámenes practicados en el propósito ni en dos de sus hermanos disponibles para estudio: hematología, bioquímica sanguínea, exploración radiológica, fondo de ojo, estudio cardiovascular. La distrofia corneal no pudo evidenciarse tampoco en ellos.

Las pruebas de funcionalismo renal, sin embargo, indicaron que el propósito excretaba 120 mg de proteína en orina de 24 horas; su hermano mayor (III-4), presentaba trazas de proteinuria; mientras el menor (III-10), presentó pruebas funcionales normales.

Estudios bioquímico-enzimáticos.

Cromatografía.— La cromatografía de los glicoesfingolípidos de la orina, sobre capa fina (Kodak, Cellulose Plates 13255, Eastman Kodak Co., Rochester, N.Y.), siguiendo la técnica de Philipart y col. (10), demostró niveles aumentados de excreción en el propósito (III-7), y su hermana mayor (III-3) (no se muestran). Estas fueron determinaciones cualitativas y no se han hecho nuevos intentos de medir cuantitativamente la excreción de glicoesfingolípidos urinarios en estos pacientes.

Actividad enzimática.— Ante la fuerte evidencia clínica y de laboratorio, en cuanto a estar en presencia de enfermedad de Fabry, se planificaron estudios en el sentido de determinar los niveles de alfa-galactosidasa en el propósito y sus parientes con riesgo de padecer la enfermedad, así como en los hermanos afectados. El fracaso en la obtención de cultivos de fibroblastos y las dificultades en la obtención de muestras de sangre en los miembros de la familia, nos indujeron a intentar determinar la actividad de alfa-galactosidasa en las lágrimas (7).

Las lágrimas se recogieron en forma líquida, en tubos capilares, previa exposición de la mucosa nasal a un irritante inhalado (anhidrido acético). Algunos detalles de la metodología fueron modificados, basándose en el método descrito por Galjaard y colaboradores (4), para homogenizados celulares. El volumen de reacción de 0,35 ml contenía buffer acetato (0,1 M), pH 4,5; lágrimas como fuente de alfa-galactosidasa, y 4 metilumbelliferil-alfa-D-galactósido (las concentraciones indicadas en las figuras). La reacción se dejó continuar por 120 minutos a 37°C y luego se detuvo agregando 4,15 ml de buffer carbonato pH 11 (0,5 M). Las mediciones se realizaron en un espectrofluorímetro marca Aminco-Bowman con longitud de onda de excitación de 365 nanómetros y emitida de 450 nanómetros. Se hicieron ensayos enzimáticos con lágrimas frescas y

también con lágrimas que habían sido mantenidas a -70°C , durante períodos variables (Figs. 5, 6 y 7).

En la figura 5 se indica la linealidad de la reacción con concentraciones crecientes de enzima [E] (expresada en microlitros de lágrimas), obtenidas de un control de sexo femenino. Esta linealidad persiste hasta por lo menos 30 microlitros.

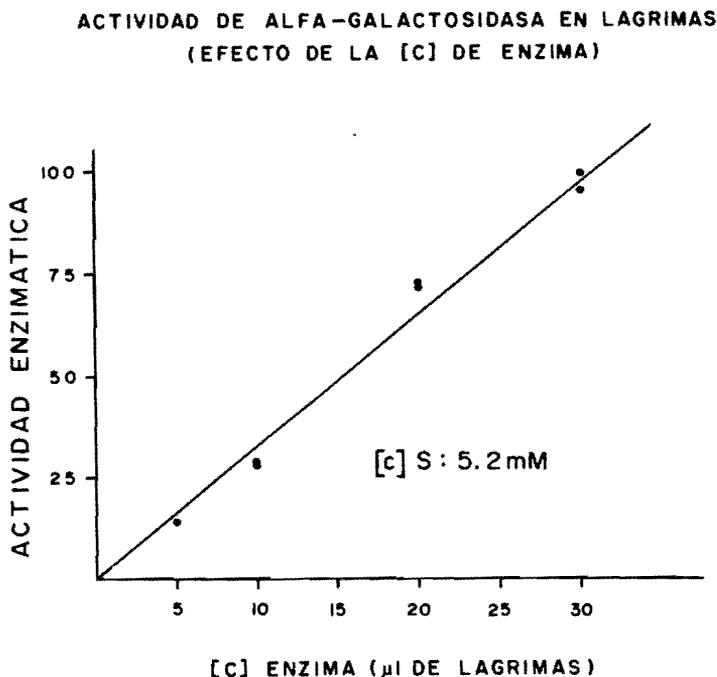


Fig. 5.— Actividad de alfa-galactosidasa en lágrimas del control normal sexo femenino. La actividad enzimática se expresa como porcentaje de fluorescencia emitida a 450 nm después de excitar la mezcla de reacción con longitud de onda de 365 nm.

La actividad es comparable con la de un control de sexo masculino, aún reduciendo la concentración de sustrato en un 50% (Fig. 6). A la concentración de sustrato de 2,6 mM, lágrimas frescas de los tres hermanos afectados presentaron actividades enzimáticas inferiores al 5%, a cualquier concentración de enzima hasta 30 microlitros. La combinación de 10 microlitros de lágrimas frescas de un control con otro volumen igual de lágrimas de cada uno de los varones afectados en esta familia, dieron como resultado actividades enzimáticas comparables a las del

control solo; evidenciando así la ausencia de factores inhibitorios de la actividad enzimática en las lágrimas de los pacientes (Fig. 6).

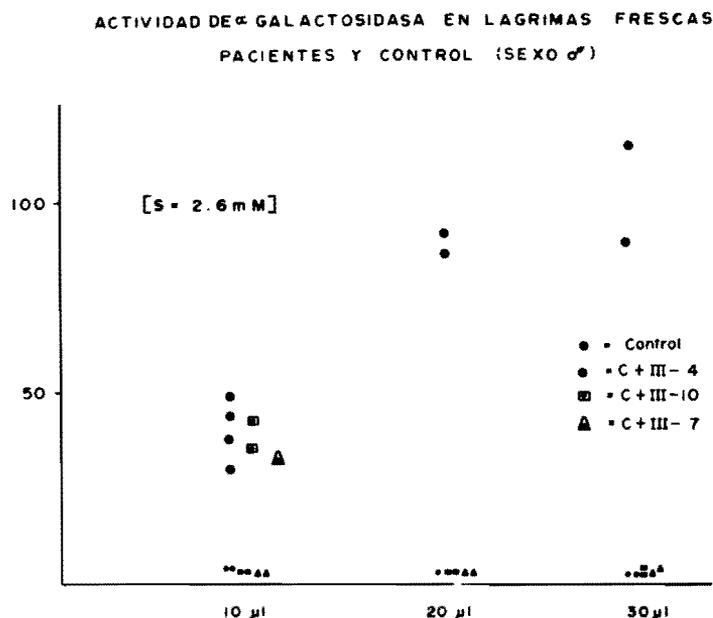


Fig. 6.— Actividad de alfa-gal en lágrimas frescas. Pacientes y control. (Sexo ♂). Evidencia de ausencia de factores inhibitorios en lágrimas de pacientes a [E] 10 μ l. Ausencia de actividad enzimática casi total en lágrimas de los 3 varones afectados hasta por lo menos [E] 30 μ l.

Cuando se comparó la actividad de alfa-galactosidasa de las lágrimas de 6 controles, varones y hembras, las cuales se habían mantenido a -70°C durante 12 días, con la actividad de las lágrimas recién obtenidas de un control de sexo femenino, se observó una diferencia de un 50% en favor de las lágrimas frescas: Controles frescas, 92% (Rango 80 a 108); controles congelados por 12 días, $44 \pm 14,3$ (1 D.S.). Lágrimas del propósito y III-4 mostraron 0% de actividad de α -galactosidasa en estas condiciones. Lágrimas que habían recibido un tratamiento más enérgico, congelándose y descongelándose en 3 ocasiones, alcanzaron solamente una actividad de 6%. La actividad enzimática fue prácticamente nula en las lágrimas del propósito y de III-10, después de 12 días a -70°C (Fig. 7).

ACTIVIDAD DE α GALACTOSIDASA EN LÁGRIMAS (10 μ l)
PACIENTES Y CONTROLES (SEXOS σ y φ)

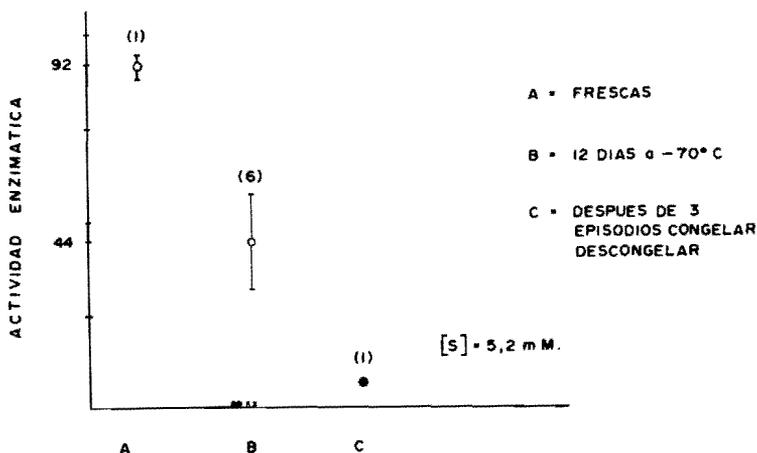


Fig. 7.— Actividad de alfa-galactosidasa en lágrimas (10 μ l). Pacientes y controles (Sexos σ y φ). Lágrimas frescas (A), congeladas durante 12 días a -70°C (B), y luego de 3 episodios seguidos de congelamiento y descongelamiento (C). Obsérvese 0% de actividad enzimática en pacientes III-7 (σ), III-10 (σ).

DISCUSION

Hasta recientemente, la enfermedad de Fabry sólo había sido descrita en personas y familias de origen anglosajón o ario. Recientemente sin embargo, se reportó en una familia de raza negra en los Estados Unidos (14), y se conoce de otra en ese mismo país (Desnick, R.J., comunicación personal).

Este, creemos, sea el primer reporte de la enfermedad de Fabry en la literatura venezolana y probablemente en la Bolivariana. El hecho de que aparezca en una familia de raza negra la hace particularmente interesante en vista de los antecedentes observados en cuanto a la afectación preferencial por la raza blanca de esta enfermedad. Sin embargo, en conocimiento de la gran mezcla de razas ocurrida en nuestro país desde la época de la colonia, se puede restar valor a esta observación. Lo mismo pudiera aplicarse a los casos reportados en los Estados Unidos. No nos fué posible estudiar la genealogía mas allá de la generación materna, previa al propó-

sito, pero no parece haber evidencia de otros afectados en esta familia. Esto sugiere la posibilidad de una mutación del gen correspondiente en uno de los cromosomas X de la madre del propósito, afectando células somáticas y/o germinales.

La actividad de alfa-galactosidasa, tal como habían asegurado anteriormente Johnson y col. (7), se pierde rápidamente con el tiempo, a pesar de condiciones de congelación; y más rápidamente aún después de episodios seguidos de congelamiento y descongelamiento (Fig. 7). Por consiguiente, sería preferible usar lágrimas frescas para los estudios de tipo diagnóstico; las lágrimas de pacientes y controles deben manejarse en la misma forma y bajo iguales condiciones. Si bien el número de controles estudiados en este reporte fue escaso, no se observan diferencias de niveles de actividad entre varones y hembras. De acuerdo con la hipótesis de Lyon, no se esperarían diferencias entre varones y hembras normales.

Dado que es posible determinar la actividad de alfa-galactosidasa a cualquier edad, este método permitirá detectar los varones hemizigóticos en cualquier genealogía; sin embargo, la imposibilidad de brindarles tratamiento haría poco útil tal medida. Pero sería de vital importancia en asesoramiento prenupcial o pre-concepcional en las hembras. En la genealogía presentada parece no existir otro varón con riesgo excepto IV-9, ya que IV-11 y IV-13 no pueden heredar el gen anormal de su padre. III-2, III-12, IV-10 y IV-12, tienen una probabilidad de 0,5 de ser heterocigotas. En ellas están justificados estudios más exhaustivos con fines de asesoramiento genético y diagnóstico prenatal.

El tratamiento actual de la enfermedad de Fabry es paliativo (8). La sustitución enzimática, se ha intentado ya (2). Dos de nuestros pacientes (III-7 y III-10), han respondido bien al tratamiento con Difenilhidantoína (Epamin (R)).

Opitz (9), ha señalado la importancia de buscar ligamiento entre éste y otros genes presentes en el cromosoma X en épocas cuando el defecto enzimático era desconocido. Actualmente esto tiene valor sólo desde el punto de vista académico. En la familia que presentamos no se observó ceguera en los colores en ninguno de los miembros examinados.

Agradecimientos

Agradecemos altamente la valiosa ayuda de los Dres. B. Rodríguez Iturbe y R. García Ramírez de la Unidad de Diálisis del Hospital Universitario de Maracaibo, por los estudios de funcionalismo renal. Al Dr. R.J. Desnick de la Universidad de Minnesota, su disposición a colaborar en la prosecución de los estudios en esta familia. Al Instituto de Investigación Clínica de la Facultad de Medicina de LUZ y su Director el Dr. Américo Negrette, sin cuya abierta colaboración, nuestra labor se hubiera dificultado grandemente.

ABSTRACT

Fabry's disease: four affected members in a black family. *Moreno-Fuenmayor H. (Unidad de Genética Médica, Facultad de Medicina, Universidad del Zulia, Apartado Postal 1154. Maracaibo, Venezuela), Gómez F., Martínez I., Cure J., Zabala J. Invest Clín 18(2): 74-85, 1977.*— A black family in whom four males were affected with Fabry's disease is presented. Absence of alfa-galactosidase activity in tears was demonstrated in three of the four hemizigous affected males. This is probably the first report of Fabry's disease in our country, and perhaps in the Bolivian medical literature and it is particularly interesting to observe it in a black family due to the until recently reported preference of this disease for caucasians.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 1— ANDERSON W: A case of "angio-keratoma". *Brit J Dermatol* 10: 113-117, 1898.
- 2— BRADY RO, TALLMAN JF, JOHNSON WG, GAL AE, LEATHY WR, QUIRK JM, DEKABAN AS: Replacement therapy for inherited enzyme deficiency. Use of purified ceramidetrihexosidase in Fabry's disease. *New Engl J Med* 289: 9-14, 1973.
- 3— CASTELLETTO RH, STOICHEVICH FM: Enfermedad de Fabry. Estudio ultraestructural de la lesión cutánea. *Rev Clin Esp* 132: 269-72, 1974.
- 4— GALJAARD H, NIERMEIJER MF, HAHNEMANN N, MOHR J, SORENSEN SA: An example of rapid prenatal diagnosis of Fabry's disease using microtechniques. *Clin Genetics* 5: 368-377, 1974.
- 5— FABRY J: Zur Klinik und Antilogie der Angiokeratoma. *Arch Derm Syph* 43: 187, 1898.
- 6— GOMEZ O: Systematic classification of angiomatous formations. *Actas Dermosif (Madrid)* 60: 123-152, 1969.
- 7— JOHNSON DL, DEL MONTE MA, COTLIER E, DESNICK RJ: Fabry's Disease: Diagnosis by alfa-galactosidase activities in tears. *Clin Chim Acta* 63: 81-90, 1975.
- 8— LOCKMAN LA, HUNNINGHAKE DB, KRIVIT W, DESNICK RJ: Relief of pain of Fabry's disease by diphenylhydantoin. *Neurology* 23: 871-875, 1973.

- 9- OPITZ JM, STILES FC, WISE D, RACE RR, SANGER R, VON GEMMIGEN GR, KIERLAND RR, CROSS EG, GROOT WP: The genetics of angiokeratoma corporis difusum (Fabry's Disease) and its linkage relation with the Xg locus. *Amer J Hum Genet* 17: 325-342, 1965.
 - 10- PHILIPART M, SARLIEVE L, MANACORDA A: Urinary glycolipids in Fabry's disease. Their examination in the detection of atypical variants and the pre-symptomatic state. *Pediatrics* 43: 201-206, 1969.
 - 11- SOTO J: Circumscribed angiokeratoma corporis of Fabry. *Actas Dermosif (Madrid)* 54: 112-113, 1963.
 - 12- SOTO-MELO J, RODRIGUEZ PUCHOL J, CALDERON A: Familial circumscribed angiokeratoma of Fabry with visceral lesions. *Actas Dermosif (Madrid)* 57: 181-192, 1966.
 - 13- TEXIER AE, CORDERO AA, GENNARO O: Ophthalmological pathology in Fabry's syndrome. *Arch Oftalmol Bs Aires* 46: 203-210, 1971.
 - 14- VOLK BW, SCHNECK L, CLEMMONS JE, NICASTRI AD: Fabry's disease in a black man without skin lesions. *Neurology* 24: 991-1000, 1974.
 - 15- WEINREB NJ, BRADY RO, TOPPEL AL: The lysosomal localization of sphingolipid hydrolases. *Biochem Biophys Acta* 159: 141, 1968.
-