

Libros de **Cátedra**

Enfermedades Metabólicas Hereditarias

Bases bioquímicas, moleculares, diagnóstico
y tratamiento

Ana Maria Cortizo (coordinadora)

FACULTAD DE
CIENCIAS EXACTAS

e
exactas


EDITORIAL DE LA UNLP



UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE LA PLATA

ENFERMEDADES METABÓLICAS HEREDITARIAS

BASES BIOQUÍMICAS, MOLECULARES, DIAGNÓSTICO
Y TRATAMIENTO

Ana Maria Cortizo

(coordinadora)

Facultad de Ciencias Exactas



UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE LA PLATA


EDITORIAL DE LA UNLP

Este libro está dedicado a nuestros alumnos, que con entusiasmo intentan comprender las bases de las enfermedades metabólicas hereditarias.

Agradecimientos

A los autores de este libro, docentes de Bioquímica Patológica, Ana Laura, Sara y Juan Manuel; a los colaboradores-docentes, Walter y Antony, por su tiempo y dedicación, que hicieron posible concretar este proyecto.

A Gabriel Giagante, por su colaboración en varias de las figuras de este texto.

A mis Profesores de Bioquímica Patológica, quienes me transmitieron el interés por diferentes aspectos de las Patologías hereditarias.

A la Facultad de Ciencias Exactas, por darnos el espacio de desarrollo para la docencia, investigación y extensión en el Área Bioquímica Clínica.

A la UNLP por crear este espacio de publicaciones para las Cátedras.

"Dejamos de temer aquello que se ha aprendido a entender".

Marie Curie. (Nacida Marie Sklodowska). Científica francesa nacida en Polonia

Índice

PRIMERA PARTE

Introducción - Generalidades

Capítulo 1

Introducción. Bases genéticas, bioquímicas y moleculares de enfermedades metabólicas hereditarias _____ 10

Ana María Cortizo

Capítulo 2

Epigenética de Enfermedades humanas _____ 17

Ana María Cortizo

SEGUNDA PARTE

Cromosomopatías

Capítulo 3

Citogenética. Mecanismos de alteraciones cromosómicas _____ 24

Walter Bozzo

Capítulo 4

Síndrome de Down _____ 61

Ana Laura Di Virgilio

Capítulo 5

Síndrome de X-Frágil _____ 78

Sara Rocío Chuguransky

TERCERA PARTE

Alteraciones del metabolismo de Carbohidratos

Capítulo 6

Diabetes mellitus _____ 90

Ana María Cortizo y Antonio Desmond McCarthy

Capítulo 7

Síndrome metabólico _____ 132

Antonio Desmond McCarthy

Capítulo 8

Galactosemias _____ 140

Sara Rocío Chuguransky

Capítulo 9

Glucogenosis _____ 149

Juan Manuel Fernández

CUARTA PARTE

Alteraciones del metabolismo de Lípidos

Capítulo 10

Metabolismo de lipoproteínas y clasificación de Hiperlipoproteinemias.

Aterosclerosis _____ 165

Ana María Cortizo

Capítulo 11

Hiperquilomicronemias _____ 180

Ana María Cortizo

Capítulo 12

Hipercolesterolemia Familiar _____ 195

Ana María Cortizo

Capítulo 13

Enfermedades de almacenamiento lisosomal _____ 211

Ana María Cortizo

QUINTA PARTE

Alteraciones del metabolismo de Metales, Hemo y otras vías

Capítulo 14

Metabolismo de Fe - Hemocromatosis hereditaria _____ 236

Juan Manuel Fernández

Capítulo 15

Metabolismo del Hemo - Porfirias _____ 255

Sara Rocío Chuguransky y Juan Manuel Fernández

Capítulo 16

Alteraciones del metabolismo de la bilirrubina _____ 274

Juan Manuel Fernández

Capítulo 17

Alteraciones en el metabolismo de purinas _____ 289

Ana María Cortizo

Capítulo 18

Distrofias musculares _____ 307

Ana Laura Di Virgilio

Capítulo 19

Hiperfenilalaninemias – Fenilcetonuria _____ 327

Ana María Cortizo

Capítulo 20

Fibrosis Quística _____ 336

Ana María Cortizo

Capítulo 21

Osteopatías Hereditarias. Hipofosfatasa - Ontogénesis Imperfecta _____ 367

Juan Manuel Fernández - Ana María Cortizo

Capítulo 22

Enfermedades Neurodegenerativas. Alzheimer - Parkinson _____ 391

Juan Manuel Fernández

Los autores _____ 406

CAPÍTULO 16

Alteraciones del metabolismo de la bilirrubina

Juan Manuel Fernández

Metabolismo de la bilirrubina

La bilirrubina (Bb) es un pigmento tóxico e hidrofóbico derivado exclusivamente de la degradación del grupo hemo de las proteínas hémicas. Su toxicidad, disminuye gracias a su unión en circulación a la albumina. Cuando una proteína hémica debe ser degradada por algún motivo, la porción peptídica se degrada a aminoácidos mientras que el grupo hemo es liberado para ser transformado en bilirrubina.

En humanos, se forman diariamente alrededor de 300 mg de bilirrubina a partir de la degradación de distintas fuentes hémicas, como por ejemplo, hemoglobina, catalasas y hemo libre. En 1971, Schwartz y colaboradores inyectaron en ratas y en humanos, precursores de la síntesis del grupo hemo como glicina marcado con ^{14}C o ácido delta aminolevulinico marcado con ^3H y observaron cómo se elimina esa marca en las sales biliares, en relación al tiempo transcurrido post-inyección. Observaron que las marcas de radioactividad aparecen en dos picos a distintos tiempos (Fig. 16.1). El primero de los picos aparece dentro de los primeros 3 días luego de la inyección, cuyos componentes iniciales (se demostró posteriormente) derivan mayormente de distintas hemoproteínas hepáticas, tales como los citocromos, catalasa, peroxidasa y triptófano pirrolasa y en una menor medida de fuentes eritroides especialmente de hematopoyesis inefectivas producida en la médula ósea y que contiene aproximadamente el 15% de la marca inyectada.

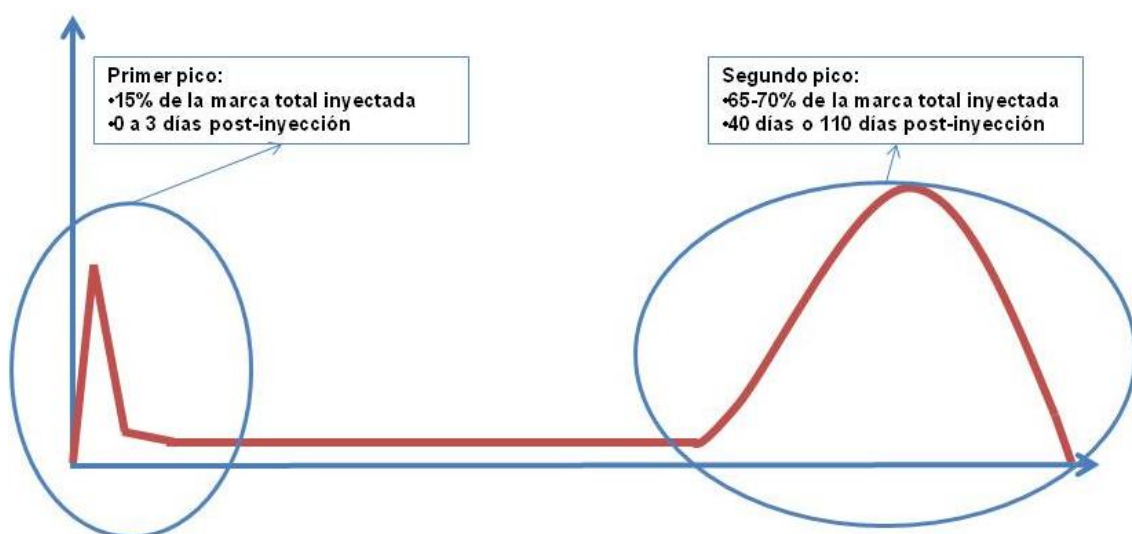


Figura 16.1. Seguimiento de la marca radioactiva en sales biliares durante el tiempo. (Imagen adaptada de Scriver 2001)

El segundo pico contiene la mayoría de la marca inyectada y aparece a tiempos de 50 o 110 días, dependiendo si la inyección fue en ratas o en humanos, respectivamente y corresponde a la degradación de la hemoglobina de los glóbulos rojos envejecidos.

Con este experimento y otros adicionales, demostraron luego que la mayoría de la bilirrubina es producida en el sistema retículo endotelial luego de secuestrar los glóbulos rojos envejecidos y degradar su hemoglobina. Una vez separado el grupo hemo de las globinas se produce la apertura del anillo de la ferroprotoporfina IX. (Fig. 16.2). La apertura del anillo del grupo hemo se lleva a cabo a través de tres reacciones, siendo dos de ellas mediadas enzimáticamente y una reacción no enzimática.

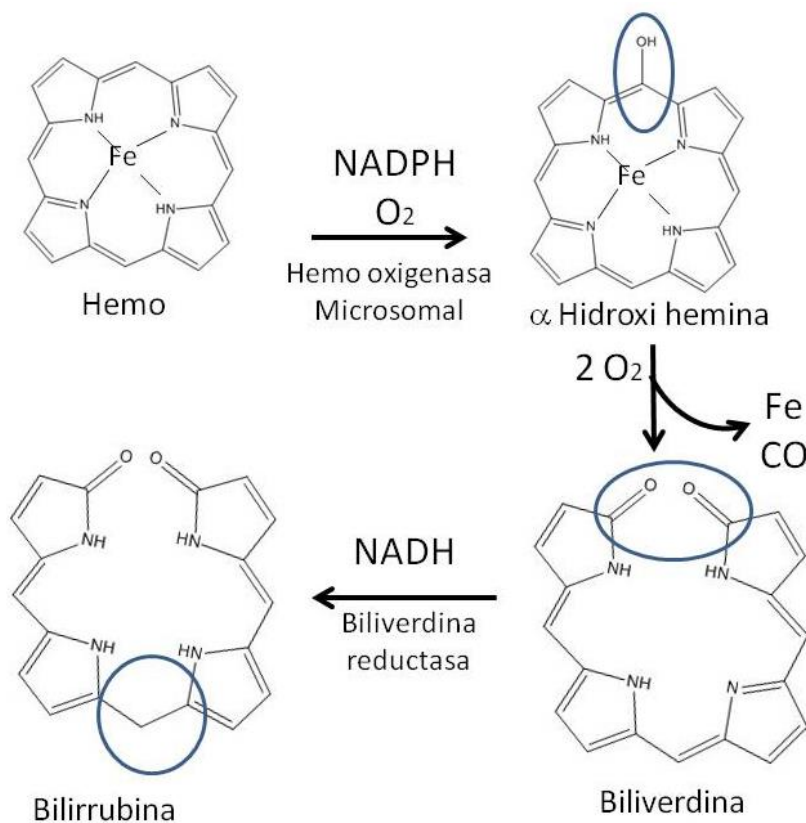


Figura 16.2. Secuencia de reacción para la apertura del anillo tetrapirrólico y producción de bilirrubina. (Imagen adaptada de Scriver 2001)

El primer paso es la oxidación del puente meteno transformando al grupo hemo en α -hidroxi-hemina. Esta reacción está catalizada por la enzima Hemo Oxigenasa Microsomal, la cual requiere O_2 y NADPH . Esta enzima posee alta actividad en el bazo y aumenta su expresión en estados hemolíticos a fin de poder degradar la hemoglobina de los glóbulos rojos envejecidos y secuestrados. Además, ciertas protoporfirinas que se encuentran quelando otros metales (por ejemplo, quelando estaño) se unen fuertemente a la Hemo Oxigenasa Microsomal sin poder ser degradadas, sirviendo estos hemo como inhibidores de la enzima. El segundo paso es la oxidación de los carbonos vecinos del puente meteno utilizando dos moléculas de O_2 y liberando CO y Fe . Esta reacción es no enzimática y el producto final es la biliverdina el cual es un tetrapirrol hidrofílico. El último paso es la conversión de la biliverdina a bilirrubina, reacción que es catalizada

por la enzima Biliverdina Reductasa, la cual requiere de NADPH o NADH. La reducción del puente α meteno por parte de esta última enzima logra convertir una sustancia hidrofílica (la biliverdina) en un compuesto totalmente hidrofóbico (la bilirrubina). Ambas moléculas poseen grupos polares (dos grupos carboxílicos, 4 grupos amina y dos carbonilos) que pueden formar puentes de hidrógeno con el agua y de esta forma la biliverdina resulta en un compuesto hidrosoluble; sin embargo, al reducir el carbono del puente α meteno, éste pasa de ser un carbono insaturado (sp^2) a uno saturado (sp^3), permitiendo la libre rotación de sus enlaces (Fig. 16.3). De esta forma, los grupos polares que podrían formar puentes de hidrógeno con el agua, están involucrados en la formación de puentes de hidrógenos intramoleculares impidiendo su solubilización en solventes acuosos.

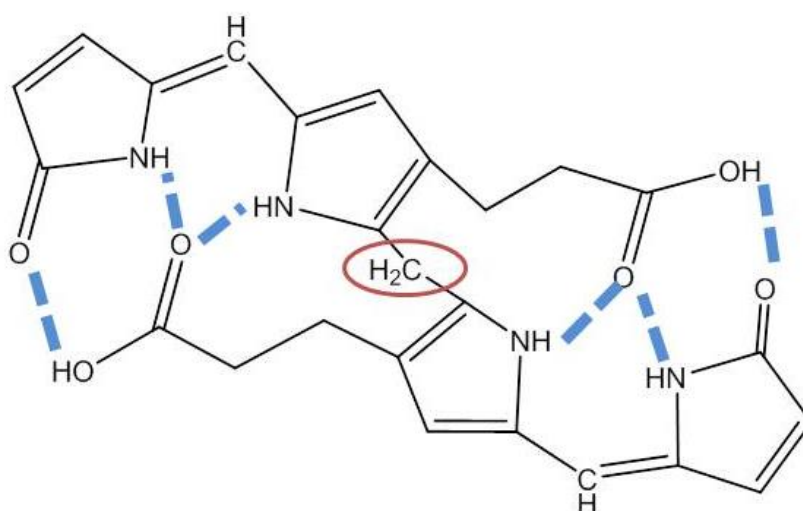


Figura 16.3 Formación de puentes de hidrógeno intramoleculares. El círculo señala el carbono reducido del puente α meteno, lo que permite girar los grupos pirroles para formar los puentes de hidrógenos intramoleculares (en azul). (Imagen adaptada de Scriver 2001)

La formación de estos puentes de hidrógenos intramoleculares se pueden revertir por distintos métodos, por ejemplo el hepatocito los conjuga para poder eliminar la bilirrubina (ver más adelante en este capítulo). Otra forma de romper estos puentes de hidrógenos es mediante la luz UV. Longitudes de onda de alrededor de 450 nm producen ruptura de estos puentes y a su vez pueden girar los distintos anillos pirroles evitando la formación de los puentes de hidrógeno intramoleculares, formando así isómeros hidrosolubles de la bilirrubina, siendo este el fundamento de la fototerapia. En algunas situaciones, por ejemplo, luego de una hemorragia, grupos hemo y hemoglobinas pueden encontrarse en circulación, pudiendo ambos causar daño renal. Para evitar que circulen libre, el hígado produce y libera a circulación dos proteínas llamadas Hemopexina y Haptoglobina, las cuales se unen al hemo y hemoglobina respectivamente formando complejos que luego son absorbidos por el sistema retículo endotelial con el fin de degradarlos y evitar así el daño renal.

La bilirrubina produce sus efectos tóxicos a partir de varios mecanismos. Por ejemplo, se ha demostrado que puede inhibir la síntesis de ADN, ARN o proteínas de varios tipos celulares, desacoplar la fosforilación oxidativa en las mitocondrias, reduciendo la producción de

ATP, puede inhibir enzimas hidrolíticas, deshidrogenasa, transporte de electrones, e inhibir la actividad de las enzimas proteína quinasa C y de la proteína quinasa dependiente de AMP cíclico. Estos efectos tóxicos por parte de la bilirrubina pueden ser prevenidos gracias a su unión a la albumina, la cual además de ser el medio de transporte desde el sitio de productor (mayormente sistema reticuloendotelial) al hígado, funciona como un sistema de protección del organismo previniendo de los efectos tóxicos de la bilirrubina. La bilirrubina se une fuerte pero reversiblemente a un sitio de unión a la albumina, sin embargo, puede unirse a un segundo, tercer y cuarto sitio aunque estas uniones sean mucho más débiles. La unión de otros ligandos a la albumina pueden afectar la unión de la bilirrubina. Por ejemplo, pueden unirse al mismo lugar en que se une la bilirrubina, resultando así en una inhibición competitiva, o no competitiva si se unen a otro sitio. Por lo tanto, un aumento en las concentraciones plasmáticas de estos inhibidores conllevará a una disminución en la unión bilirrubina-albumina aumentando la posibilidad de que se produzcan efectos tóxicos por un aumento en la concentración de bilirrubina libre.

Cuando los niveles de bilirrubina son superiores a 20 mg% en bebés (valores de referencia: entre 0 y 2 mg%), aumenta el riesgo de una encefalopatía llamada **Kernicterus**, los primeros síntomas suelen aparecer dentro de la semana de vida, siendo una mala alimentación, débil reflejo de succión, problemas en el tono muscular asociado con hiper o hipotonía, convulsiones, problemas en la regulación térmica con hipo o hipertermia, lo cual llevando con el tiempo a letargo, atonía y muerte.

Una vez que los grupos hemo son convertidos a bilirrubina, estos son transportados al hepatocito para ser eliminados. Su metabolismo en el hígado puede ser dividido en tres etapas: entrada, conjugación y secreción (Fig. 16.4). El primer paso, la entrada al hepatocito, no se encuentra del todo esclarecida existiendo varias hipótesis descriptas. Como la unión de la bilirrubina a la albúmina es reversible, una pequeña cantidad de bilirrubina puede disociarse de la albumina en el espacio de Disse, siendo absorbida por el hepatocito, bajando así la concentración de bilirrubina libre y provocando de esta forma la disociación. Otro mecanismo posible se basa en que el complejo de albúmina-bilirrubina se puede unir a algún receptor de membrana plasmática y de esta forma se impulsa la liberación de bilirrubina para ingresar a la célula. Una vez separadas, la bilirrubina entra al hepatocito mediante un sistema transportador saturable y competitivo con otras sustancias tales como la bromosulfoftaleína, mientras que la albumina permanece en el espacio extracelular sin entrar a la célula.

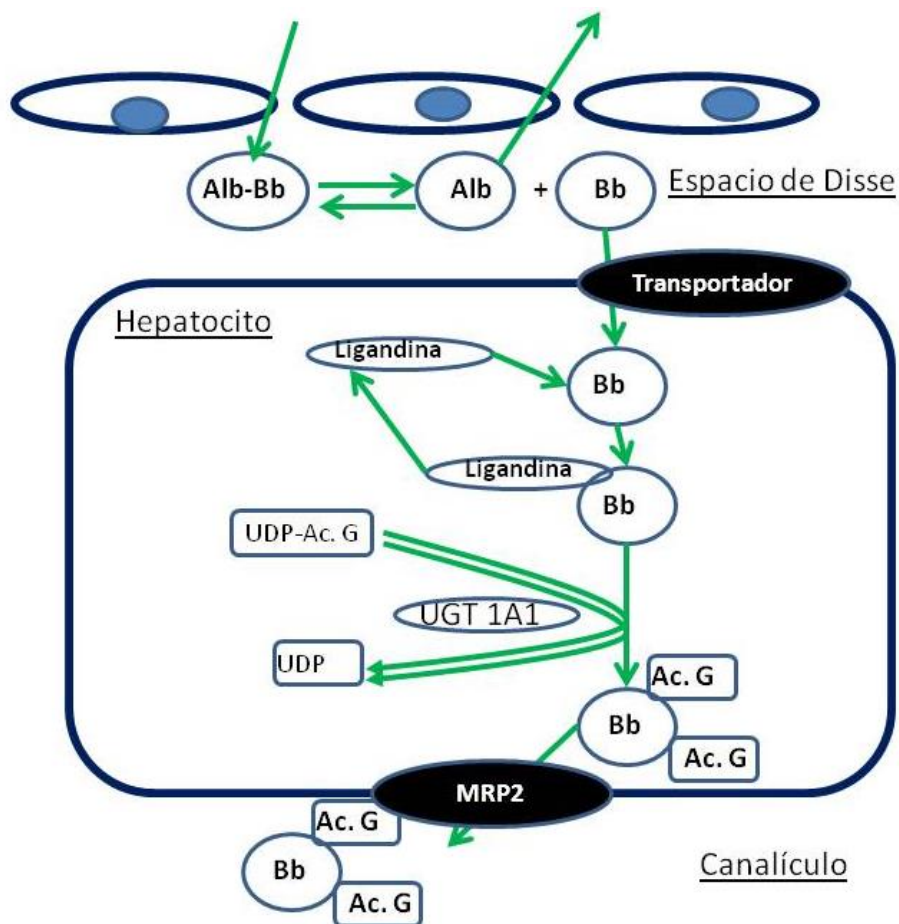


Figura 16.4. Esquema del metabolismo de la bilirrubina dentro del hepatocito donde se observa la entrada, almacenamiento, conjugación y excreción de la bilirrubina. Alb: Albumina; Bb: Bilirrubina; UGT 1A1: UDP glucuronosil transferasa 1A1 UDP-Ac.G: UDP-Acido Glucurónico; Ac. G: Acido Glucurónico; UDP: Uridina difosfato; MRP2: Multidrug Resistance-Associates Protein 2. (Imagen adaptada de Scriver 2001)

Luego de entrar a la célula, la bilirrubina se une a dos proteínas llamadas proteína Z y proteína Y (también llamada Ligandina). En condiciones normales, la bilirrubina se une mayoritariamente a la Ligandina cuya función es similar a la albumina en sangre, es decir, evitar los efectos tóxicos de la bilirrubina y transportarla al sistema retículo endoplasmático liso donde será conjugada. Se ha descrito que no hay correlación entre la concentración de Ligandina y la velocidad de entrada de bilirrubina a la célula, sin embargo, se ha demostrado que la concentración de Ligandina correlaciona inversamente con la vuelta de la bilirrubina a circulación. La falta de Ligandina, junto con una baja actividad de la UDP-glucuronosiltransferasa por falta de madurez hepática, es una de las causas que puede llevar a los recién nacidos a una ictericia neonatal transitoria no hemolítica.

Una vez dentro de la célula, la bilirrubina cambia su polaridad desde un compuesto hidrofóbico a un compuesto hidrosoluble. Esto se logra gracias a la adición de dos azúcares en los grupos carboxílicos de los grupos propiónicos. Estas adiciones se logran gracias a la enzima Uridina difosfoglucuronato glucuronosiltransferasa (UDP glucuronosil transferasa o UGT). Esta es una familia de enzimas (inducibles por fenobarbital) que se localizan en el retículo endoplasmático de los hepatocitos, poseen distintas especificidades de sustratos, pero todas presentan la función

de llevar a cabo la conjugación con ácidos glucurónicos (obtenidos a partir de UDP ácido glucurónico) de sustratos específicos y convertirlos así en sustancias hidrosolubles para poder luego ser eliminadas. El gen de UGT se encuentra en el brazo largo del cromosoma 2, consta de una gran cantidad de exones (Fig. 16.5), aunque sus cDNA siempre poseen 5 exones, siendo el exón 1 variable mientras que los exones 2, 3, 4 y 5 son constantes. Hacia la región 5' de cada exón 1, se encuentra el promotor del gen.

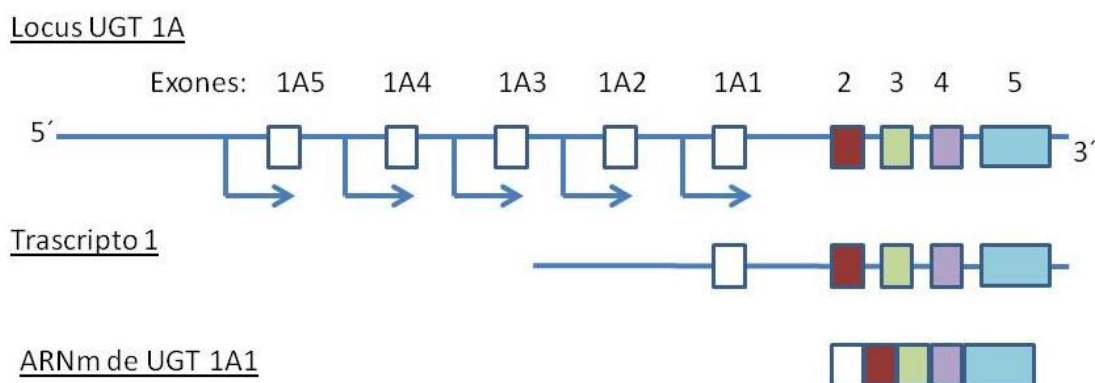


Figura 16.5. Gen de la enzima UGT1A. El gen consta de mas de una decena de exones 1 con su secuencia regulatoria el cual al ser activado formara un ARNm con cinco exones. Los exones del 2 al 5 son exones constantes mientras que el exón 1 es variable y depende el promotor que se haya activado (Adaptado de Scriver 2001).

De esta forma se expresan una familia de enzimas en donde cada isoenzima conjuga una sustancia o grupo de sustancias dependiendo de cual exón 1 se exprese. Por ejemplo, si se expresa el exón 1A1, el cual es constitutivo, la enzima conjugará a la bilirrubina mientras que si se expresa el exón 1A6, la enzima conjugará fenoles.

Luego que la bilirrubina es mono o di conjugada (mayormente es diconjugada), puede ser eliminada por los hepatocitos hacia los canalículos biliares. Esto se logra gracias a un transportador unidireccional llamado MRP2 (del ingles: *Multidrug Resistance-Associates Protein 2*), antiguamente llamado cMOAT (del ingles: *canaliculas Multispecific Organic Anion Transportes1*). MRP2 utiliza ATP como fuente de energía para transportar aniones de ácidos orgánicos desde el interior del hepatocito hacia la bilis.

Una vez conjugada y eliminada la bilirrubina, esta es excretada hacia al intestino gracias a las bilis que la transporta a través de las vías biliares (tanto intrahepatica como extrahepatica). A lo largo del intestino, la bilirrubina conjugada sufre distintas modificaciones, tales como la desconjugación, transformándose en bilirrubina no conjugada, la cual puede ser reabsorbida por el intestino y llegar nuevamente al hígado gracias al sistema venoso portal, para volver a ser eliminada (Fig. 16.6). Otra porción de la bilirrubina conjugada se transforma gracias a las distintas bacterias que se encuentran en la flora intestinal en urobilinógeno, el cual una porción puede ser reabsorbido por el colon, llegando también al hígado para ser luego eliminado también por la bilis o ser eliminado por orina. Una fracción es transformada a estercobilinógeno, el cual también puede ser reabsorbido y volver a ser eliminado por bilis vías circulación enterohepatica. Tanto el

urobilinógeno como el coprobilinógeno pueden ser oxidados a urobilina y coprobilina respectivamente, dándoles el color normal a heces y orina.

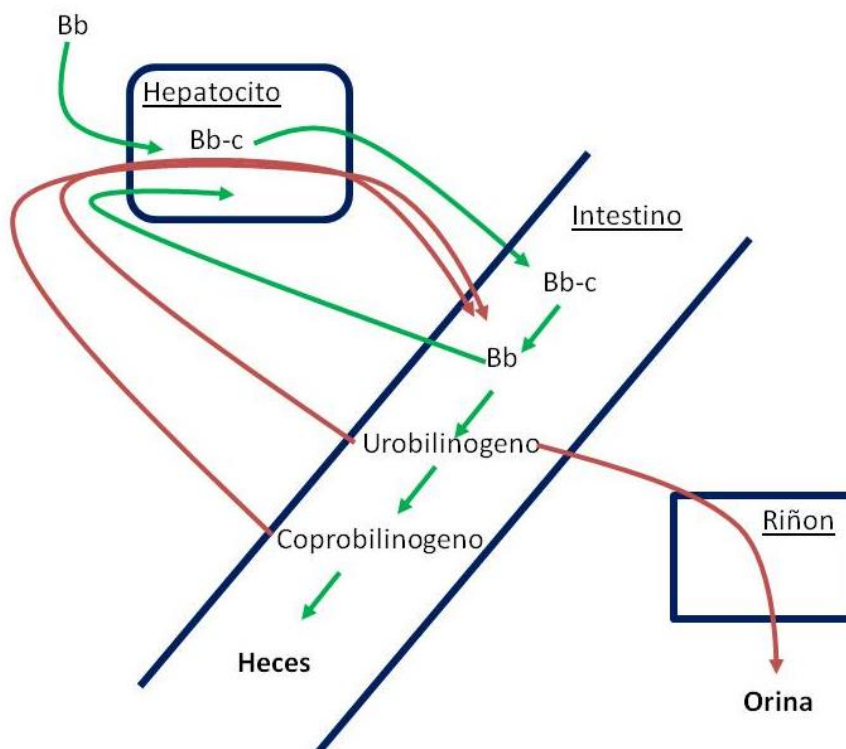


Figura 16.6. Circulación enterohepática de la bilirrubina y distintos productos. En el intestino, la bilirrubina luego de ser desconjugada es absorbida nuevamente para entrar al hepatocito y volver a ser conjugada y secretada. Bb: bilirrubina; Bb-c: bilirrubina conjugada.

Hiperbilirrubinemias

Las hiperbilirrubinemias son un conjunto de trastornos hereditarios que llevan a un aumento de bilirrubina en sangre. Como se puede observar en la figura 16.4, la eliminación de la bilirrubina se puede dividir en cuatro fases distintas: la captación de la bilirrubina desde circulación, el almacenamiento intrahepático mediante su unión a la Ligandina, la conjugación con el ácido glucurónico y por último, la excreción biliar. Cualquier anomalía en algunos de estos pasos producirá una disminución de la eliminación y por ende un aumento de la concentración de bilirrubina en sangre, resultando en una hiperbilirrubinemia. Según la bilirrubina que se acumule, los síndromes ocasionados se los agrupa en:

- 1- Hiperbilirrubinemia con predominio de bilirrubina no conjugada: Síndrome de Crigler Najjar tipo 1, Síndrome de Crigle Najjar tipo 2 (o también llamados Síndrome de Arias) y Síndrome de Gilbert.
- 2- Hiperbilirrubinemia con predominio de bilirrubina conjugada: Síndrome de Dubin Johnson, Síndrome de Rotor.

Existen dos pruebas, las cuales ya no llevan a cabo debido a su toxicidad pero han ayudado a esclarecer las distintas hiperbilirrubinemias, ellas son la administración de Fenobarbital y el aclaramiento de Bromosulfotaleina. La primera de ellas, administración de Fenobarbital, se fundamenta en que esta droga es un inductor de la expresión de varias proteínas y enzimas, entre las cuales se encuentra la UGT1A1. Esta prueba consiste en realizar una administración de fenobarbital y evaluar si disminuyen o no los niveles de bilirrubina en sangre. La segunda prueba se fundamenta en que la Bromosulfotaleina compite con la bilirrubina para ser tomada y ser excretada por el hepatocito. Este anión, al igual que la bilirrubina, debe entrar al hígado, conjugarse (mediante la unión a glutatión, es decir que no compite con la bilirrubina en el paso de conjugación) y luego ser eliminada por el transportador MRP2. Esta prueba consiste en administrar Bromosulfotaleina y evaluar como aclara esta droga en sangre durante a lo largo del tiempo.

Hiperbilirrubinemia con predominio de bilirrubina no conjugada

Síndrome de Crigler Najjar tipo 1

Es una forma de ictericia familiar, con transmisión autosómica recesiva. Se caracteriza por una elevada concentración de bilirrubina no conjugada en sangre que puede superar ampliamente los 20 mg%, se manifiesta en el periodo neonatal persistiendo durante toda la vida. Los análisis demuestran que las funciones hepáticas son normales, es decir, no hay aumento de transaminasas ni de fosfatasa alcalina, ni tampoco se encuentran alteraciones en biopsias hepáticas. Este síndrome se debe a un defecto congénito de la enzima UGT con actividad enzimática nula. Estudios genéticos han demostrado que el gen de la enzima UGT puede presentar diversas pero severas mutaciones, tales como deleciones, inserciones, o la aparición de un codón de stop en cualquiera de los 5 exones o incluso en intrones. Sin el tratamiento adecuado, los pacientes pueden presentar kernicterus y morir dentro de los dos años de vida. Los grandes niveles de bilirrubina no conjugada en sangre con una función hepática normal es diagnóstico de Crigler Najjar tipo 1. El tratamiento está dirigido a tratar de disminuir los niveles de bilirrubina por debajo de 20 mg% y evitar así la encefalopatía y la muerte. Para ello se utiliza la fototerapia con el fin de obtener isómeros hidrofílicos de la bilirrubina gracias a la ruptura de los puentes de hidrógeno. La exposición a una lámpara de luz UV se hace durante 12 horas, produciéndose distintos daños adversos, tales como daños en el ADN de las células de la piel. Además, con el tiempo, este tratamiento pierde eficacia debido a que la piel se engrosa y se pigmenta, disminuyendo así la penetrancia de los rayos UV. Por otro lado, a medida que el bebe crece, disminuye la relación superficie/volumen, disminuyendo la eficacia del tratamiento. Como opción terapéutica también se utiliza la plasmaferesis. Sin embargo, actualmente, el único tratamiento efectivo es el trasplante hepático el cual es utilizado para evitar el riesgo de kernicterus, ya que una vez esta situación se instaura, los daños

neuronales son irreversibles. Actualmente, como alternativa del trasplante hepático, se encuentra en estudio el trasplante de hepatocitos.

Síndrome de Crigler Najjar tipo 2

A diferencia del tipo 1, Crigler Najjar tipo 2 (o también llamado síndrome de Arias), es una patología más benigna. Este es causado también por una deficiencia de la enzima UGT, aunque con actividad enzimática residual, lo que permite que los niveles de bilirrubina total en sangre sean menores a 20 mg%. Sin embargo, la ictericia puede aparecer a partir de la tercera década de vida. Normalmente, la mayor parte de la bilirrubina detectada en bilis es la bilirrubina diconjugada, aunque en este síndrome, la bilirrubina conjugada mayoritaria es la monoconjugada. Clínicamente, los pacientes son normales aunque bajo algunas circunstancias, los niveles de bilirrubina pueden alcanzar (e incluso superar) los 20 mg%. En algunos casos se ha descrito afectaciones neurológicas en pacientes adultos.

Síndrome de Gilbert

Es el síndrome más común, que se presenta con una frecuencia del 2 al 5% de la población. Mayormente, se diagnostica en la edad adulta con una hiperbilirrubinemia levemente aumentada con predominio de no conjugada. Si bien los niveles de bilirrubina en sangre son fluctuantes, generalmente ronda en los 3 mg%. Las evaluaciones a través del laboratorio clínico y los cortes histológicos no demuestran alteraciones hepáticas. Al igual que el síndrome anterior, la bilirrubina mono conjugada es la bilirrubina que se encuentra en mayor proporción en bilis. El genotipo más común en este síndrome es una mutación en el promotor del gen UGT1A1, el cual presenta una inserción de una secuencia TA, lo que lleva a una disminución de la expresión de los niveles de la enzima. Debido a que es un síndrome benigno, una vez realizado el diagnóstico, no hay necesidad alguna de tratamiento. Por otro lado, en algunos grupos de pacientes se ha observado que además de presentar una baja actividad de la enzima UGT1A1 debido a su disminuida expresión, hay una disminución en la captación (y por tanto aclaramiento) del bromosulfotaleína, aunque aún no se ha podido explicar esta asociación.

Administración de Fenobarbital

El fenobarbital es un inductor, entre tantos otros genes, de la enzima UGT1A1. La capacidad de disminuir los niveles de bilirrubina luego de su administración, varía según el síndrome. Por ejemplo, en el caso del Síndrome de Crigler Najjar tipo 1, los niveles de bilirrubina continúan elevados, mientras que en los casos de los Síndromes de Crigler Najjar tipo 2 y Síndrome de Gilbert, la concentración de bilirrubina desciende inclusive a valores normales luego de su administración (Fig. 16.7 A y B)

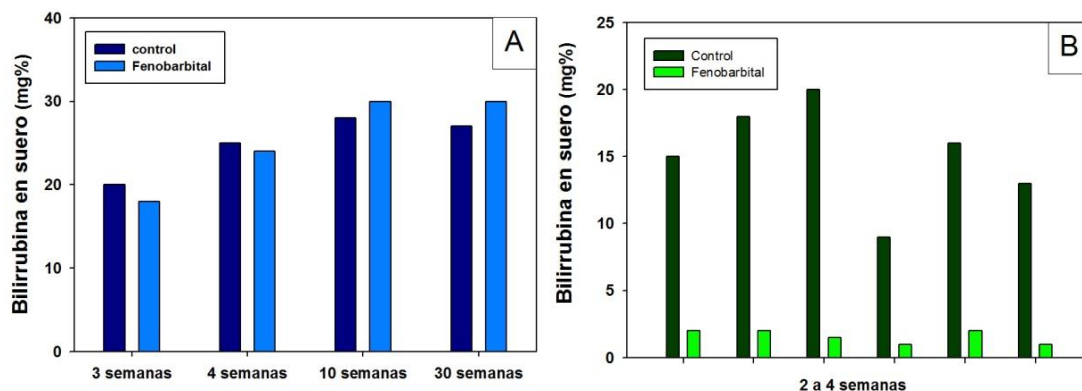


Figura 16.7. Figura A: Grupo de pacientes que no muestran un descenso en los niveles de Bilirrubina en sangre luego de la administración de fenobarbital durante distintos periodos de tiempo. Figura B: Pacientes que luego de la administración durante 2 a 4 semanas de fenobarbital, la concentración de bilirrubina descendió a valores normales. (Imagen adaptada de Scriver 2001)

En la figura 16.8 se puede observar que en los pacientes con Síndrome de Crieler Najjar tipo 2, los valores de bilirrubina total en sangre disminuye rápidamente hasta llegar a valores normales una vez comenzado el tratamiento con fenobarbital; sin embargo, este efecto solo continua mientras continúe la administración de este inductor y una vez que se discontinua el tratamiento, los valores de bilirrubinemia vuelve a elevarse tan rápido como han disminuido hasta alcanzar los valores propios del paciente.

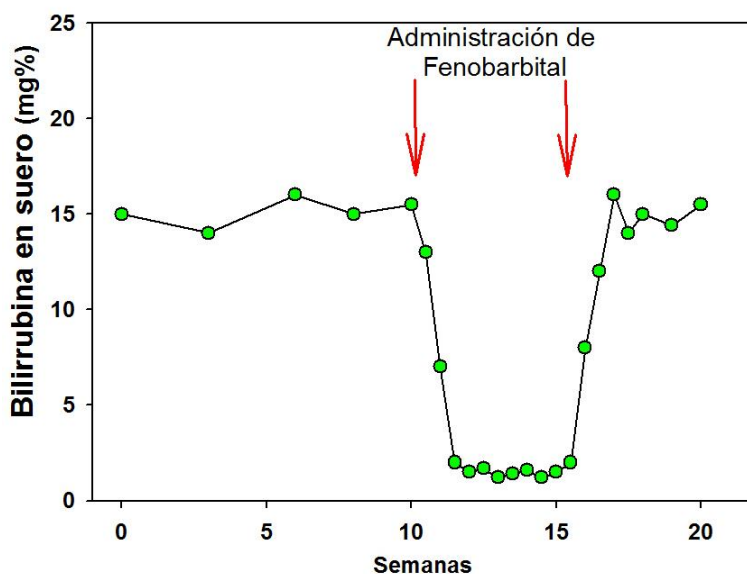


Figura 16.8. Se puede observar como el inicio del tratamiento con fenobarbital (semana 10) produce una disminución en los niveles de bilirrubina en sangre hasta el momento en que se finaliza el tratamiento (semana 15). (Imagen adaptada de Scriver 2001)

Las diferentes respuestas a fenobarbital observadas en pacientes con el síndrome de Crigler Najjar tipo 1 o 2, se explican a través de los diferentes tipos de mutaciones que puede sufrir el gen de la enzima (Fig 16.9). Mutaciones del tipo sustitución, aparición de codón de stop, cambio en el marco de lectura o incluso mutaciones en sitio de splicing conllevan a una actividad enzimática nula para poder realizar la conjugación de la bilirrubina y por lo tanto, el paciente expresará la clínica del Síndrome de Crigler Najjar tipo1. En estos casos, la inducción con fenobarbital producirá el aumento

de la expresión de una enzima sin actividad o con un codón de stop y sin expresión de la enzima, por lo que no será posible disminuir los niveles de bilirrubina. En cambio, pueden existir otro tipo de mutación, tales como sustitución, en donde se expresa una enzima con la actividad residual, necesaria para que los valores de bilirrubina en sangre no se eleven por arriba de 20 mg%; estas mutaciones llevaran a pacientes con una forma de expresión y diagnóstico de Crigler Najjar tipo 2. En estos pacientes, la administración de fenobarbital producirá un aumento de la expresión de una enzima con cierta actividad, la cual logrará disminuir los niveles de bilirrubina plasmáticos.

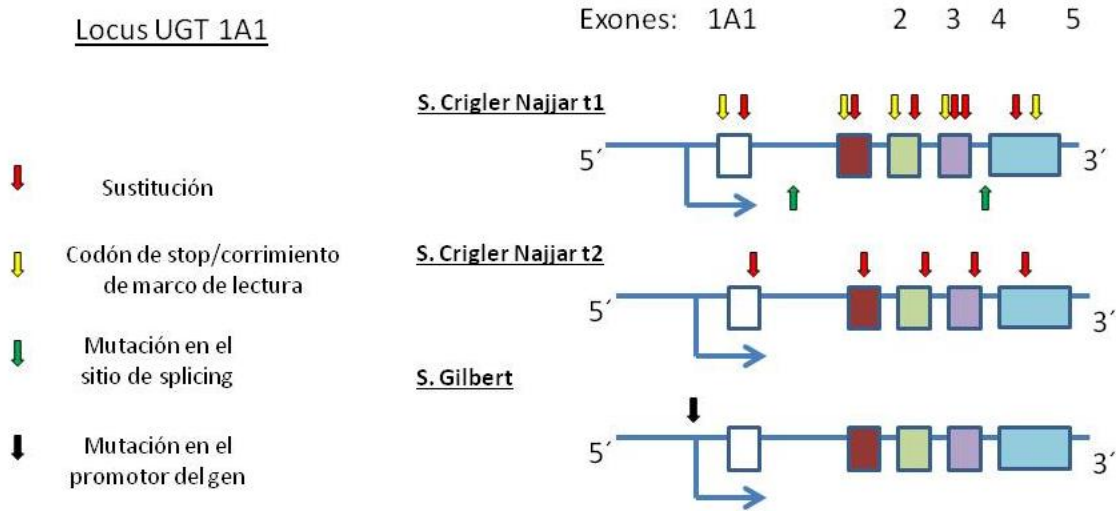


Figura 16.9. Tipos de mutaciones que se pueden presentar en el locus de la enzima UGT1A. (Imagen adaptada de Keularts 2008)

En el caso del Síndrome de Gilbert, la mutación se encuentra en la región del promotor del gen, en este caso la secuencia A(TA)₆TAA cambia a una secuencia A(TA)₇TAA. Esta mutación hace que se produzca una disminución de la expresión (y por lo tanto concentración) de la enzima.

De esta forma, se puede hacer un diagrama (Fig. 16.10) donde se observa la relación entre la actividad enzimática, los niveles de bilirrubina en sangre y la severidad en la expresión clínica para cada uno de los síndromes.

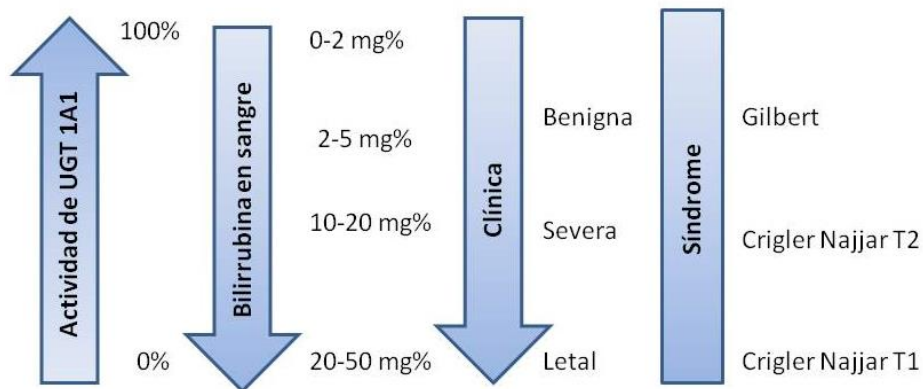


Figura 16.10. Esquema que relaciona la actividad de la enzima UGT1A1 con los niveles de bilirrubina en sangre, clínica y diagnóstico.

Hiperbilirrubinemia con predominio de bilirrubina conjugada

Síndrome de Dubin-Johnson

Este síndrome se presenta con bilirrubina total en sangre elevada con predominio del tipo conjugada. Se expresa como un rasgo autosómico dominante con niveles de bilirrubina en sangre que fluctúa alrededor de 4-5 mg%, aunque en ciertas condiciones, estos niveles pueden aumentar. Con frecuencia, los pacientes pueden referir la presencia de dolores abdominales. Las funciones hepáticas son normales, pero ante un corte histológico de biopsia de hígado puede observarse un órgano negro debido a la presencia de inclusiones intracelulares (aparentemente dentro de lisosomas) que podrían estar formados por polímeros (u oligómeros) provenientes del metabolismo de la adrenalina. El pronóstico es bueno y no requiere tratamiento. En sangre se puede encontrar \square bilirrubina que consta de la unión de la bilirrubina conjugada con la albúmina, aunque también puede unirse a otras proteínas plasmáticas. El parámetro T_{max} (la capacidad secretora de bilirrubina máxima) se encuentra notablemente disminuida, mostrando que este síndrome se debe a una mutación de transportador MRP2. La prueba de aclaramiento de bromosulfaleína demuestran un aclaramiento inicial normal, pero luego de 30 minutos la concentración de este anión se ve aumentada en sangre (Fig. 16.11)

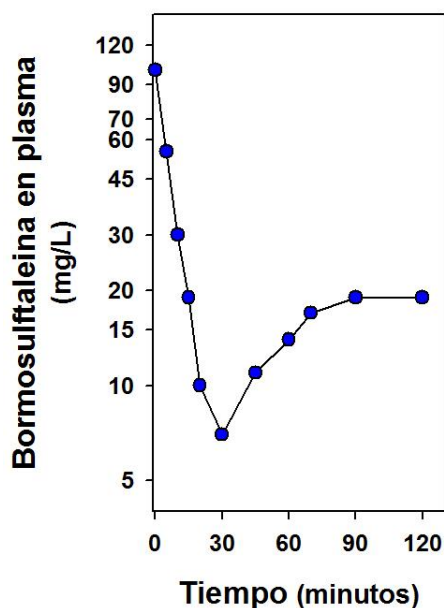


Figura 16.11. Aclaramiento de bromosulfaleína total en sangre.
(Imagen adaptada de Scriver 2001)

Este comportamiento se debe a que hay un reflujo de bromosulfaleína conjugada hacia sangre debido a que no puede ser eliminado al sistema biliar debido a una extremada baja actividad del transportador MRP2. Este comportamiento, si bien es típico de este síndrome, no es utilizado para realizar el diagnóstico debido a que otras patologías pueden manifestar una conducta similar. Para el diagnóstico se utiliza la relación coproporfirina I y III en orina. En personas sin este síndrome, la relación de estas coproporfirinas es de 1/4, es decir que

de las coproporfirinas totales en orina, el 75 % corresponden a coproporfirina III. En pacientes que presentan este síndrome, la relación de coproporfirinas I y III cambia radicalmente, siendo 5/1 con niveles normales de coproporfirina total en orina. Esto significa que ahora la relación se invierte, pasando a ser el isómero I el componente mayoritario (80 %) de las coproporfirinas en orina. Si bien la causa de este cambio no se conoce, se cree que se encuentra afectada la enzima uroporfirinogeno III cosintasa.

Síndrome de Rotor

Este síndrome, al igual que el anterior, cursa con un fenotipo benigno con una concentración de bilirrubina total entre 2 - 5% que en algunas circunstancias puede alcanzar los 20 mg%. Los análisis de laboratorio no muestra disfunción hepática ni tampoco se observan alteraciones en el hígado en muestras histológicas. En cuanto al comportamiento de la administración de bromosulfaleína (Fig 16.12), este muestra un aclaramiento disminuido, aunque sin aparición de un pico luego de 45 minutos de su administración, ni tampoco de este anión conjugado en sangre.

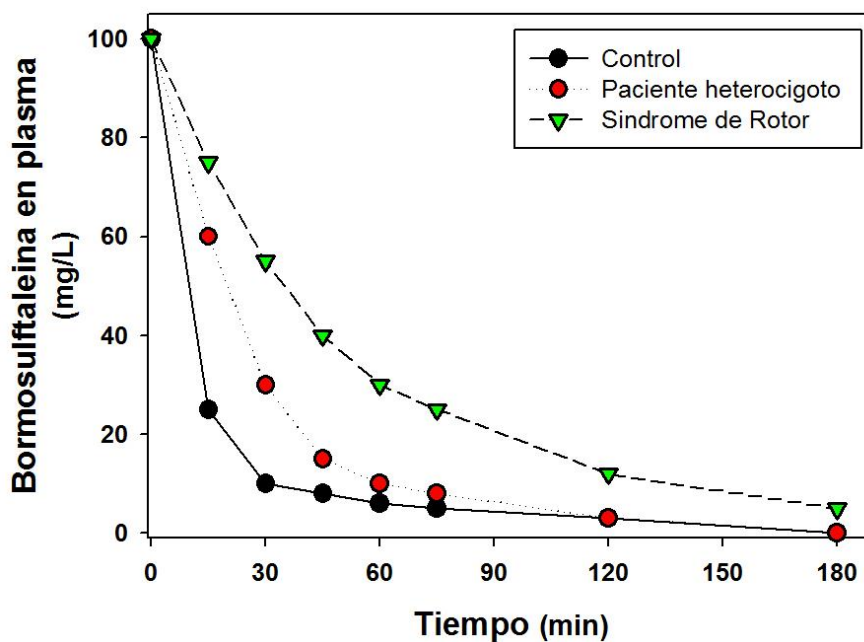


Figura 16.12. Aclaramiento del anión bromosulfaleína total en sangre en pacientes con síndrome de Rotor, pacientes heterocigotos y grupo control. (Imagen adaptada de Scriver 2001)

En este síndrome también se encuentra afectado el transportador MRP2, sin embargo, el grado de afectación deja una actividad residual (por ejemplo: $T_{max} = 50\%$), lo cual es suficiente para permitir la eliminación de la bilirrubina conjugada aunque con menor velocidad.

Al igual que el Síndrome de Dubin-Johnson se diagnostica mediante de la evaluación de la relación de coproporfirina III/I en orina que es inversa a la normal; pero a diferencia del síndrome anterior, en este caso se observa un aumento en los niveles totales en orina (Fig 16.13 A y B). Por otro lado, en pacientes con Síndrome de Rotor se ha observado una disminución en los niveles de Ligandina.

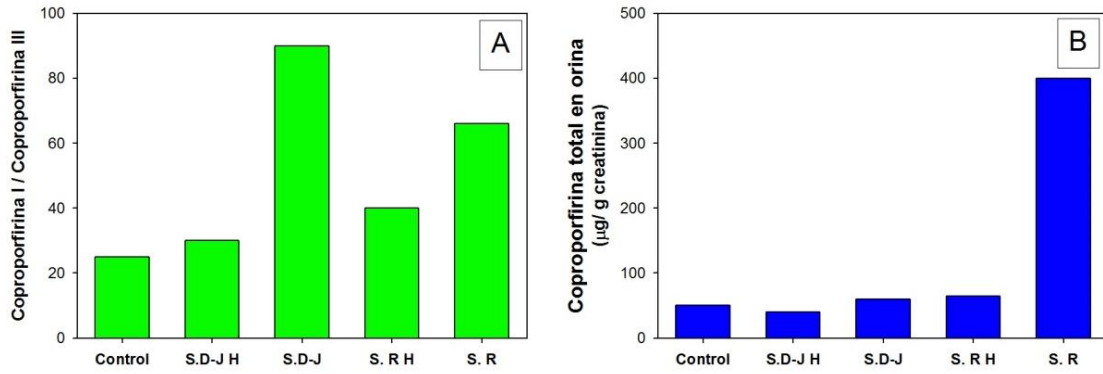


Figura 16.13. A: Relación de coproporfirinas I a III en orina. B: excreción de coproporfirinas totales en orina. S.D-J H: síndrome de Dubin-Johnson heterocigoto, S.D-J: síndrome de Dubin-Johnson; S.R H: Síndrome de Rotor Heterocigoto; S.R: Síndrome de Rotor. (Imagen adaptada de Scriver 2001)

La figura 16.14 muestra un esquema de las distintas fallas de las hiperbilirrubinemias. La figura 16.14 A representa el metabolismo normal en donde parte de la bilirrubina entra al hepatocito, se conjuga y luego es eliminada a través de las vías biliares. En cambio, en la figura B se observa una disminución de la conjugación y eliminación de la bilirrubina, como serian los casos de Síndrome de Clieger Najjar tipo 2 y Gilbert. En la figura C se esquematiza el caso en que hay una ausencia total de conjugación de la bilirrubina, como pasaría en el síndrome de Crigler Najjar tipo1. En el cado D y E, hay una conjugación exitosa de la blirrubina, pero en el caso de esquema D, la eliminación a bilis de la bilirrubina es muy escaza, habiendo reflujo aumentado a sangre (como sucede en el Síndrome de Dubin-Johnson). Por otro lado, en el caso presentado en la figura E, la actividad residual del transportador permite poder eliminar mayor cantidad de bilirrubina conjugada, como sería en los pacientes con Síndrome de Rotor.

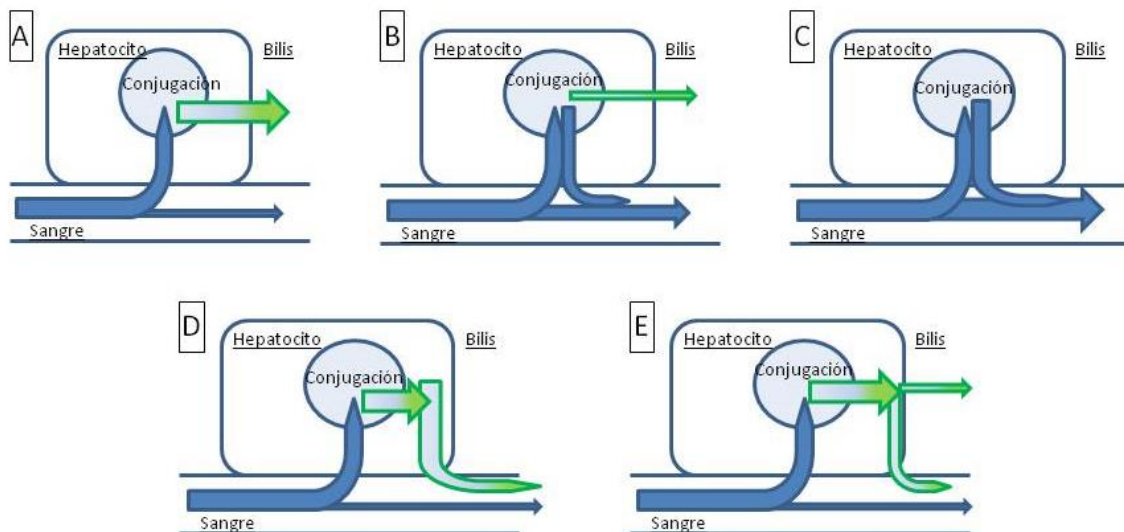


Figura 16.14. Esquema donde se muestra la circulación de la bilirrubina no conjugada (Azul) y bilirrubina conjugada (verde) en sangre, hepatocito y bilis en distintos síndromes.

Ictericia neonatal

La ictericia neonatal es debida a un aumento de la lisis de los glóbulos rojos luego del nacimiento, con una falta de la madurez hepática. Suele ser transitoria y se normaliza con el tiempo. Varias razones puede desencadenar esta ictericia. Una disminución de la captación y conjugación de la bilirrubina, la cual puede producirse debido a que los niveles de Ligandina y UGT1a1 son bajos. A medida que el bebe crece, los niveles de estas dos proteínas aumentan hasta alcanzar los niveles de un individuo adulto. Otro factor a considerar es el aumento de la absorción de la bilirrubina no conjugada en el intestino debido a la flora bacteriana. Además, se ha descrito que la leche materna posee una enzima llamada β glucuronidasa la cual desconjuga a la bilirrubina favoreciendo su posterior absorción. Cuando el bebe a nacido en forma prematura, existe una mayor predisposición a que sufra de una ictericia neonatal.

Referencias

- Agati G, et. al. Bilirubin photoisomerization products in serum and urine from a Crigler-Najjar type I patient treated by phototherapy. *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.* 1998 (47) 181.
- Aono S, et. al. Analysis of genes for bilirubin UDP-glucuronosyltransferase in Gilbert's syndrome. *Lancet* 1995 (345) 958.
- Iyanagi T, et. al. Biochemical and molecular aspects of genetic disorders of bilirubin metabolism. *Biochimica et Biophysica Acta* 1998 (1407) 173.
- Keularts, IMLW; van der Meijden, BB; Wielders, JPM. Genotypische bevestiging van syndroom van Gilbert: een geruststelling van de patient. *Ned Tijdschr Klim Chem Ladgennesk*, 2008, 33:43-47.
- Scriver, C. R; Beaudet, A. L; Sly, W. S; Valle, D.; Childs, B.; Kinzler, K. W.; Vogelstein, B. *The Metabolic and Molecular base of inherited disease*. Vol. III, Chapter 125. McGraw-Hill Medical Publishing Division; 8th edition (2001).
- Shan Huang C, et. al. Crigler-Najjar Syndrome Type 2. *J Formos Med Assoc* 2006 (105) 95.
- Torres M, et. al. Síndrome de Crigler-Najjar. *Gastroenterol Hepatol.* 2005 (28) 637.