

Libros de **Cátedra**

# Enfermedades Metabólicas Hereditarias

Bases bioquímicas, moleculares, diagnóstico  
y tratamiento

Ana Maria Cortizo (coordinadora)

FACULTAD DE  
CIENCIAS EXACTAS

**e**  
exactas

**Eduulp**  
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 21

## Osteopatias hereditarias. Hipofosfatasa - osteogenesis imperfecta

*Juan Manuel Fernández y Ana M Cortizo*

### Hipofosfatasa

#### Introducción al tejido óseo

El esqueleto está formado por huesos, cartílagos, ligamentos y tendones; mientras que los huesos constituyen la parte mineralizada, el resto dan origen a tejidos no mineralizados.

El esqueleto cumple varias funciones,

- ✓ Sirve de soporte estructural para el resto del cuerpo
- ✓ Protege órganos y estructuras vitales internas; tales como la caja torácica, cráneo o por ejemplo, las vertebrae, las cuales protegen a la medula espinal
- ✓ Constituyen una base mecánica para el movimiento: en los distintos huesos se insertan los músculos para que los mismos puedan ejercer palanca al contraerse.
- ✓ Mantienen la homeostasis mineral, a través del depósito de distintos iones y el equilibrio ácido base.
- ✓ Proveen un microambiente para la hematopoyesis: en la medula ósea se encuentran las células madre hematopoyéticas de las cuales derivan todas las células sanguíneas.

El esqueleto está formado por 206 huesos los cuales podrían clasificarse según su forma en largos, planos, irregulares y cortos. También se los clasifica según su estructura en: huesos trabecular (también llamado esponjoso) y cortical (o compacto). Ambos están formados por la misma matriz extracelular; la diferencia entre ellos radica en que el hueso trabecular está formado por estructuras llamadas trabéculas, mientras que el cortical forma una estructura más densa (Fig 21.1). Además, el sistema trabecular se encuentra en el interior de los huesos mientras que el hueso cortical se encuentra en la superficie.

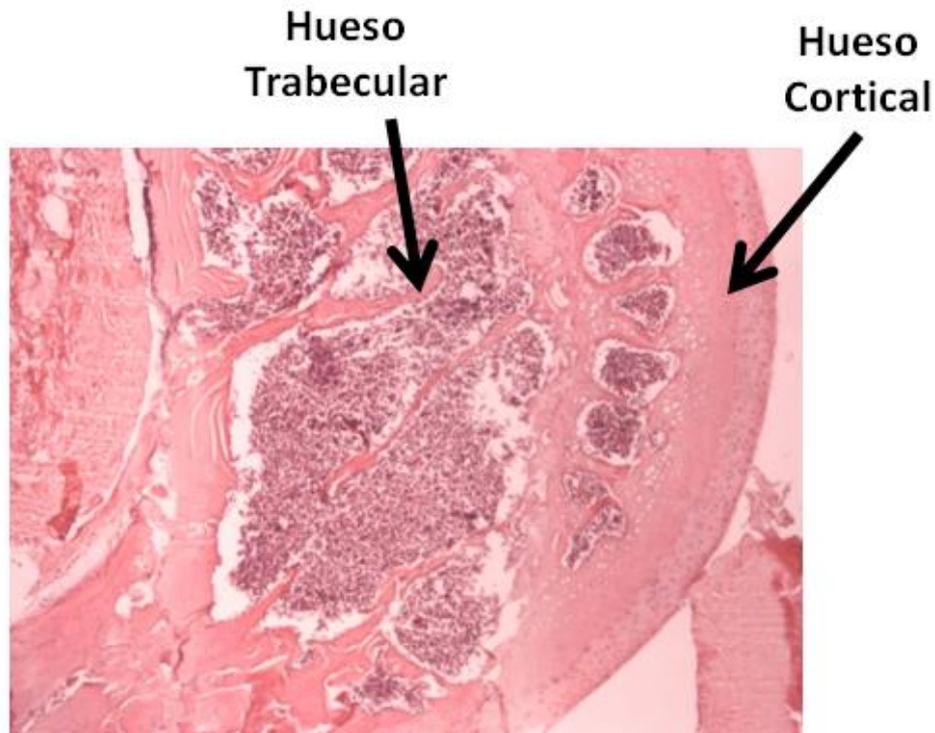


Figura 21.1. Corte de cabeza de fémur de rata teñido con Hematoxilina y Eosina donde puede verse el hueso cortical y trabecular.

Más allá del hueso observado, todos poseen ambos tipos de hueso pero en diferentes proporciones. Por ejemplo, los cuerpos vertebrales poseen un alto contenido de hueso trabéculas, mientras que en el caso de un hueso largo, el porcentaje de trabéculas o hueso cortical dependerá de que sección se observe.

El tejido óseo se define como un tejido conectivo mineralizado el cual posee una matriz extracelular proteica, básicamente colágeno tipo 1 con cristales de minerales análogos a la hidroxiapatita mineral.

Varios tipos celulares intervienen en el metabolismo óseo. Una de ellas son los osteoblastos, los cuales provienen de las células madres mesenquimáticas. Estas se diferencian a osteoblastos para producir en una primera instancia una matriz extracelular rica en colágeno tipo 1 no mineralizada, llamada osteoide y luego los cristales de hidroxiapatita los cuales serán depositados sobre la matriz colagenosa (Fig 21.2).

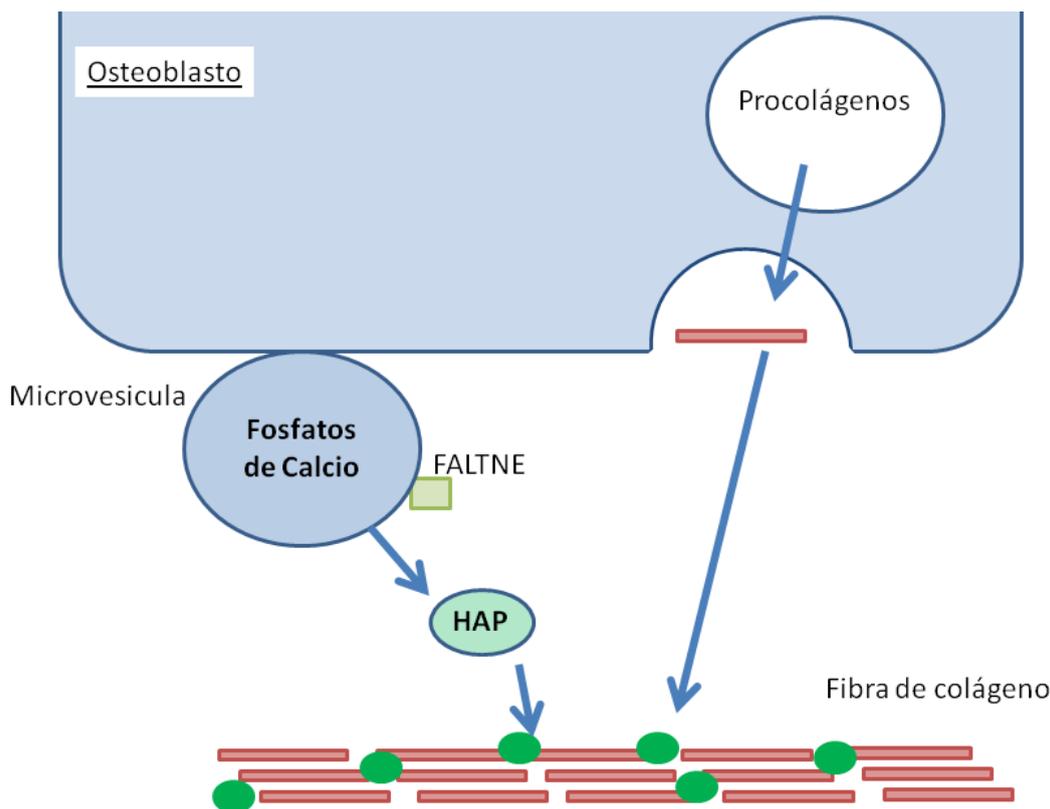


Figura 21.2. El osteoblasto genera la fibra de colágeno para luego mineralizarla a través de la síntesis de hidroxipatita (HAP). HAP se produce luego de la maduración de la síntesis de distintas sales de fosfato de calcio producida dentro de microvesículas formadas en la superficie de las células. Estas microvesículas viajan hasta la matriz extracelular rompiéndose y liberando la HAP sobre las fibras de colágeno. FALTNE, fosfatasa alcalina tejida no específica.

Una enzima involucrada en la producción de cristales de hidroxipatita, el cual es el componente mineral de la matriz extracelular del hueso y dientes, es la enzima Fosfatasa Alcalina Tejido no específico. Mutaciones en esta enzima produce una enfermedad llamada Hipofosfatasa, la cual veremos a continuación.

## Fosfatasa Alcalina tejido no específico

Las fosfatasa alcalinas constituyen un conjunto de enzimas que hidrolizan fosfoesteres. Estas enzimas provienen de un gen ancestral común (Fig. 21.3) el cual se cree que evolucionó dando origen a 4 genes distintos que codifican para cuatro fosfatasa alcalinas: Fosfatasa Alcalina Germinal, Fosfatasa Alcalina Intestinal, Fosfatasa Alcalina Intestinal y Fosfatasa Alcalina tejido no específico. Estas cuatro enzimas resultan ser isoenzima, es decir, productos de distintos genes, con diferentes secuencias de aminoácidos que pueden catalizar la misma reacción, en este caso, la hidrolisis de fosfoesteres con un pH óptimo alcalino. En cuanto a la Fosfatasa Alcalina tejido no específico (FALTNE), solo mutación en este gen (y no en las otras fosfatasa alcalina) produce Hipofosfatasa. Una característica del gen de la FALTNE es que a partir de los transcritos podemos tener diferentes isoformas. Estas se definen como productos del mismo

gen pero que sufren modificaciones pos traduccionales. En el caso de la FATNE, estas modificaciones consisten en procesos de glicosilación. Estas glicosilaciones son específica de cada tejido, así, la FATNE ósea (proveniente de los osteoblastos) tiene una secuencia de glicosilación característica a tejido óseo, pero distinta a la FATNE hepática, la cual a su vez posee una secuencia característica pero distinta a la renal, etc. De esta forma, la FATNE es una familia de enzimas con la misma secuencia de aminoácidos, debido a que proviene del mismo gen, que se expresa en todos los órganos pero que posee una secuencia de glicosilación característica y específica de cada tejido.

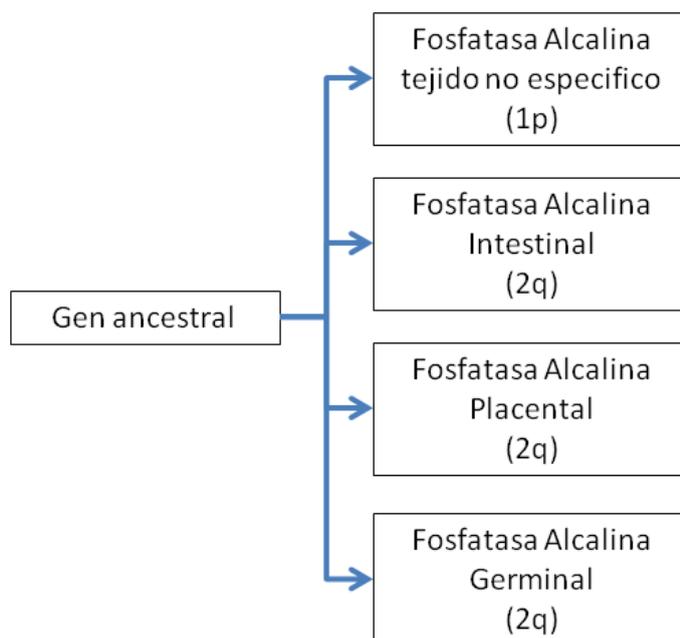


Figura 21.3. Las cuatro isoenzimas de la fosfatasa alcalina provienen de 4 genes distintos. El gen de la Fosfatasa Alcalina Tejido No Especifico se encuentra ubicado en el brazo largo del cromosoma 1 mientras que los genes de la Fosfatasa Alcalina Intestinal, Germinal y Placentar se encuentran en el brazo corto del cromosoma 2 con una alta homología entre ellos 3.

La FATNE es una ectoenzima, es decir es una enzima anclada a la membrana plasmática, con un sitio activo extracelular (Fig 21.4A). Se encuentra unida a la membrana por un sistema de fosfatidilinositolglicano y forma tetrámeros y dímeros, pero son los primeros los que constituyen la estructura biológicamente activa o funcional. El sitio activo de esta enzima posee dos átomos de  $Zn^{+2}$  que le ayuda a estabilizar la estructura y un átomo de  $Mg^{+2}$  que actúa como un cofactor.

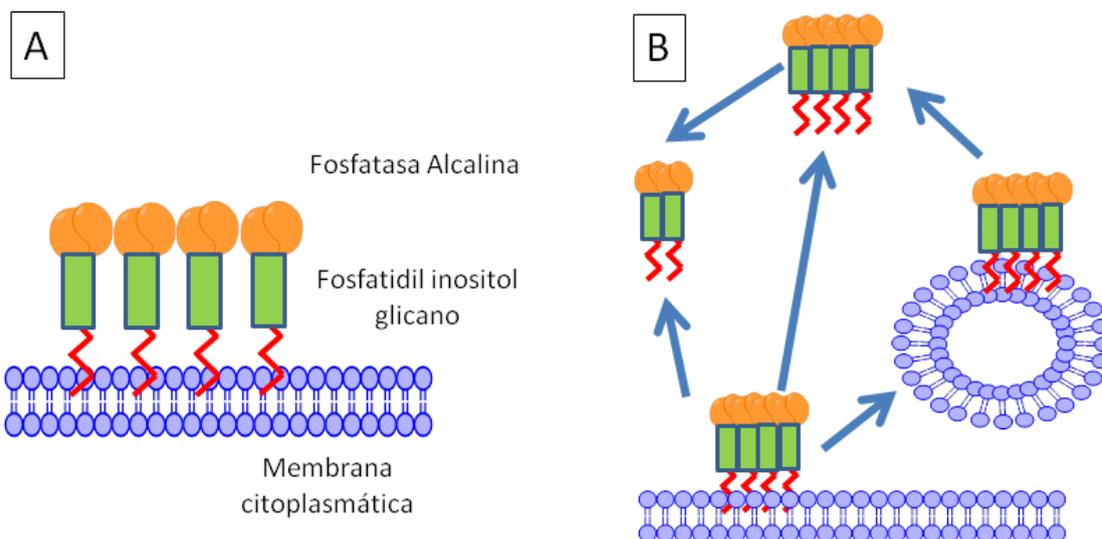


Figura 21.4. La enzima Fosfatasa Alcalina se encuentra anclada en la membrana citoplasmática en el espacio extracelular mediante el sistema fosfatidilinositol glicano (A). Sin embargo, algunas formas de la enzima pueden encontrarse en circulación (B). (Imagen adaptada de Van Hoof 1994)

No obstante, en circulación se pueda hallar en varias formas (Fig 21.4B), por ejemplo la forma de tetrámero o de dímeros con su sistema de anclaje o en vesículas. Sin embargo, estas formas circulantes no poseen actividad in vivo. A pesar de ello, en el laboratorio es posible medir la actividad de la fosfatasa alcalina circulante, aunque solo representan alrededor del 5% del total de FATNE. Para ello, se han diseñado varios métodos, tales como métodos electroforético, isoelectroenfoque, cromatografía líquida o HPLC, métodos inmunoquímicos. Es también posible medir la actividad enzimática mediante la formación del sustrato degradado a través de una medida espectrofotométrica. Estos métodos no solo nos permiten evaluar la actividad de la fosfatasa alcalina, sino que también es posible conocer la composición en sangre de las distintas isoformas e isoenzimas que componen la actividad total. La tabla 21.1 muestra la composición típica de la enzima fosfatasa alcalina total en sangre en individuos adultos y en niños en diferentes estados de crecimiento.

Tabla 21.1

Estado	Origen		
	Hígado	Hueso	Intestino
Adulto	45%	45%	10%
En crecimiento	20%	75%	5%

En la tabla anterior se puede observar como del total de la actividad de FAL en sangre, el 90% corresponde a la isoenzima FATNE y el restante porcentaje corresponde a la isoenzima intestinal. Del total de actividad de FATNE, aproximadamente la mitad corresponde a la isoforma hepática y la otra mitad a la isoforma ósea y un bajo componente de la intestinal. Sin embargo,

durante la etapa de crecimiento, el esqueleto del acompaña el crecimiento, la actividad osteoblástica aumenta y eso hace que aumente la actividad de la enzima FATNE ósea. Esto se refleja en altos valores de FAL total en sangre, con mayor proporción en la isoenzima ósea.

## Hipofosfatasa. Clasificación y características clínicas

La hipofosfatasa se define como una enfermedad hereditaria, rara, caracterizada por defectos en la mineralización del esqueleto y/o dentición, debida a un defecto en la Fosfatasa Alcalina Tejido No específica.

Recorriendo un poco la historia de esta enfermedad, la enzima fue descrita por primera vez por Robert Robison en 1923, el cual observó actividad de fosfatasa en cartílago y hueso durante el proceso de osificación de ratas y conejos jóvenes. Rápidamente, observó el importante rol de esta enzima en la mineralización esquelética, hidrolizando esteres fosfóricos. Utilizando ensayos in vitro demostró que esta enzima posee un pH óptimo alcalino y además pudo encontrarla presente en otros tejidos que no mineralizan la matriz extracelular. En 1948 J.C. Rathbun acuñó el término hipofosfatasa cuando describió un niño que desarrolló y murió de un cuadro de raquitismo grave, con pérdida de peso y convulsiones, pero con bajos niveles de actividad de fosfatasa alcalina en suero, huesos y otros tejidos. En 1955 se describió un aumento en los niveles de fosfoetanolamina (PEA) en pacientes con esta patología, demostrando que PEA sería uno de los sustratos naturales de la FATNE. En el año 1957, se estimó que la incidencia de la hipofosfatasa sería de 1 en 100.000 nacidos vivos, sin embargo la incidencia actual no se conoce. Entre los años 1965 y 1971 se describe un aumento en los niveles en sangre y orina de pirofosfato inorgánico (PPi) en los pacientes con hipofosfatasa y en 1985, se descubre que se encuentran elevados los niveles de piridoxal 5'fosfato (PLP) en sangre. Hasta ahora, se ha demostrado que estos tres sustratos (PEA, PPi, PLP) serían los sustratos naturales de la enzima (Fig. 21.5), acumulándose en el organismo cuando hay deficiencia enzimática. En 1988 y en 1990 se logra secuenciar el gen y se descubre el primer defecto molecular.

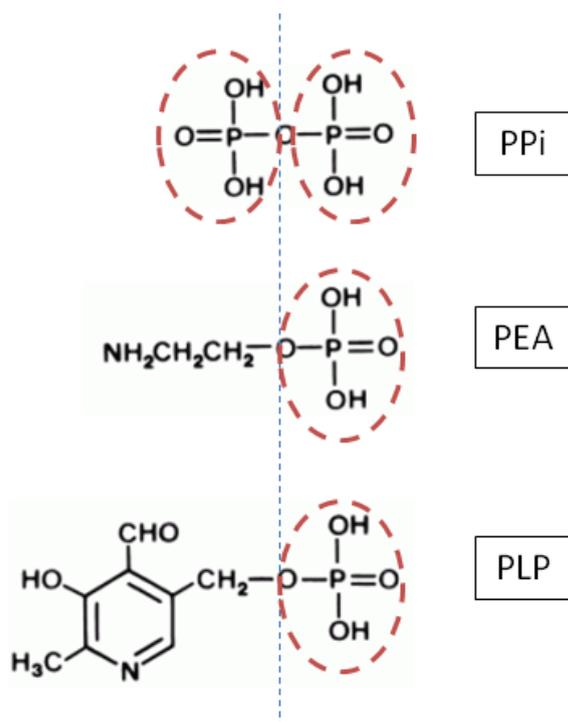


Figura 21.5. Sustratos de la enzima FALSTNE. Estos fosfoésteres son clivados (línea azul) por la enzima liberando los grupos fosfóricos.

Actualmente, se han detectado más de 350 mutaciones del gen de la enzima FALSTNE, alrededor del 80% son mutaciones del tipo missense. Estas mutaciones producen hipofosfatasa siendo la mayoría de los casos asociados a formas clínicas graves. La actividad de las otras fosfatasa alcalinas (intestinal, germinal y placentar) se encuentran dentro de rangos normales debido a que son codificadas por otros genes (Fig 25.3).

Si bien, la FALSTNE se halla en todos los tejidos, mutaciones en esta enzima solo produce alteraciones en el tejido óseo y/o dental, produciendo manifestaciones clínicas altamente variables. En base a la edad de expresión la hipofosfatasa se puede clasificar en: Perinatal, Infantil, de la niñez, Adulta, Odontohipofosfatasa y Pseudohipofosfatasa. A pesar de esta clasificación, cabe mencionar que las manifestaciones clínicas son un continuo y dependen de la actividad residual de la enzima.

En cuanto a la herencia, las formas severas resultan ser autosómicas recesivas mientras que las formas moderadas y leves son autosómicas recesivas o dominantes.

**Hipofosfatasa Perinatal.** Es la forma más grave de las manifestaciones, con expresión en útero y letal, la gran mayoría de estos pacientes fallecen antes de nacer. Durante el embarazo, la complicación más frecuente es hidramnios. Cursa con falta de osificación ósea a nivel de los huesos del cráneo, vertebras y costillas. En caso de nacer, sobreviven muy poco tiempo. Nacen con huesos cortos, deformados y con torax raquíctico. Se observa compromiso respiratorio debido a alteraciones en la caja torácica. Suelen poseer pulmones hipoplásicos debido a la falta de surfactantes, por lo que se ha postulado la necesidad de la enzima para poder generarlos. Hay

dificultad en ganar peso, apnea periodica con cianosis, bradicardia y hemorragia intracraneal debido a malformaciones en los huesos del cráneo.

**Hipofosfatasa Infantil.** En este caso, la mortalidad en útero es menor a la forma perinatal, de hecho, la tasa de mortalidad es del 50%. Aquellos que logran nacer, los primeros signos clínicos suelen aparecer alrededor de los 6 meses de vida. Presentan dificultad en la alimentación y ganancia de peso, craneosinostosis funcional, suturas craneanas ensanchadas y braquicefalia, lo cual llevara a que posean un aumento de la presión intracraneal. Presentan además alteraciones en la fontanela anterior, hipertelorismo óptico y escleras azules. Debido a que no presentan una correcta mineralización del hueso, se observa hipercalcemia e hipercalciuria lo que producirá nefrocalcinosis, llevando a compromiso renal. En estos pacientes se detecta una caja torácica pobremente desarrollada, de apariencia raquíctica, lo que los hace susceptibles a fracturas de costillas, llevando a un fenómeno llamado “flail chest” o respiración paradójica, asociado a una mala circulación de aire, que a su vez se asocia con neumonías. En cuanto a estudios de imágenes, como radiografías, se puede observar que la diáfisis de los huesos largos es normal, pero las metástasis se encuentran pobremente mineralizadas. Aquellos pacientes que logran sobrevivir, pueden presentar una mejora espontanea de los huesos, con remisión clínica a excepción de la craneosinostosis y la braquicefalia. Los pacientes presentan baja estatura y pérdida temprana de los dientes de leche.

**Hipofosfatasa de la niñez.** Esta forma de hipofosfatasa puede ser confundida con raquitismo, presentando una manifestación clínica muy variable. Poseen pérdida de los dientes deciduos en forma prematura antes de los 4 años por aplasia, hipoplasia o displasia del cemento dental, además, pueden tener repetidas infecciones dentales producida por destrucción parcial del cemento dental. En cuanto a los dientes permanentes, suelen tener mejor pronóstico. Debido a la falta de desarrollo esquelético, los pacientes presentan baja estatura, retardo en el comienzo a caminar y las piernas combadas hacia fuera o hacia adentro de tal forma que pueden incluso tocarse las rodillas. Pueden presentar ensanchamientos de las suturas craneales, braquicefalia y craneosinostosis. Suelen tener alargamiento de las muñecas, rodillas y/o tobillos y episodios de dolor en las articulaciones debido a la formación de cristales de pirofosfato de calcio. El incorrecto desarrollo óseo, hace que los músculos no puedan insertarse en los huesos en forma correcta haciendo que haya dolor y debilidad muscular. En cuanto a las radiografías, se pueden observar en los huesos largos unas lenguas radioluscentes que son proyectadas desde el plato de crecimiento hacia la metafisis.

**Hipofosfatasa de la adultez.** En este caso, los síntomas suelen aparecer a una edad aproximada de 40 años. Examinando la historia clínica de estos pacientes, solo padecieron signos de raquitismo y/o pérdida temprana de los dientes deciduos, luego, siempre tuvieron buena salud. En la edad adulta se puede confundir la sintomatología como osteomalacia. Estos pacientes suelen tener pobre reparación de los metatarsos fracturados por stress durante el apoyo de los

pies, pudiendo tener varios tarsos fracturados y mal reparados al mismo tiempo. Suelen tener dolor y disconformidad, debido a pseudofracturas. Además, pueden presentar degradación de los cartílagos y artropatías debido a la formación de cristales de pirofosfato de calcio. Debido a los metatarsos fracturados, a las pseudofracturas y a la degradación de los cartílagos, estos pacientes suelen jubilarse antes de término por discapacidad. Puede diagnosticarse osteopenia y pérdida temprana de los dientes permanentes. Si se realizara un screening familiar a estos pacientes, existen altas chances de que se encuentre parientes con algunas de las manifestaciones clínicas descriptas.

**Odontohipofosfatasa.** En este caso, los pacientes solo manifiestan alteraciones dentales, sin manifestaciones en el esqueleto, sin signos ni de raquitismo ni de osteomalacia. Se caracteriza por la pérdida temprana de los dientes debido a una prematura exfoliación y/o caries severas. En cuanto a los marcadores bioquímicos, son indistinguibles de las forma leves.

**Pseudohipofosfatasa.** Es una forma muy rara de hipofosfatasa. La clínica y los estudios radiográficos son indistinguibles de la forma infantil observando en el laboratorio los niveles de los fosfocompuestos (PEA; PLP y PPI) elevados, pero a diferencia de los anteriores, al analizar la actividad de la fosfatasa alcalina, esta presenta una actividad dentro del rango control. Esto se debe a que existen algunas mutaciones que hacen que en condiciones fisiológicas, la enzima no tenga actividad, pero en condiciones in vitro del ensayo de laboratorio (pH alcalino, concentración de sustrato saturante y sustrato por el cual la enzima poseen mayor afinidad que por los naturales) pueda medirse la actividad de la enzima dentro de rangos normales.

## Diagnostico

El diagnóstico se basa en la clínica, estudios radiográficos y laboratorio. En el laboratorio de análisis clínicos se puede evaluar la actividad de la enzima fosfatasa alcalina total y su composición (distintas isoformas e isoenzimas). En los pacientes con hipofosfatasa se encuentran disminuidos los niveles de fosfatasa alcalina en sangre, sin embargo, debido a que los niveles totales de FAL depende del la edad de los individuos, existen dos rangos de referencias: para niños y para adultos (Fig 21.6). En cuanto a la muestra, se debe utilizar suero o plasma con heparina ya que el uso de EDTA o citrato como anticoagulante puede resultar en falsos negativos debido a sus propiedades quelantes de cationes divalentes. La determinación de la actividad de FAL en sangre puede servir de diagnóstico diferencial de hipofosfatasa y raquitismo u osteomalacia, en estas dos últimas situaciones, los niveles de FAL se encuentran dentro del rango normal. En los casos de las formas perinatal o infantil, se puede determinar la actividad enzimática a partir de muestras de sangre el cordón umbilical.

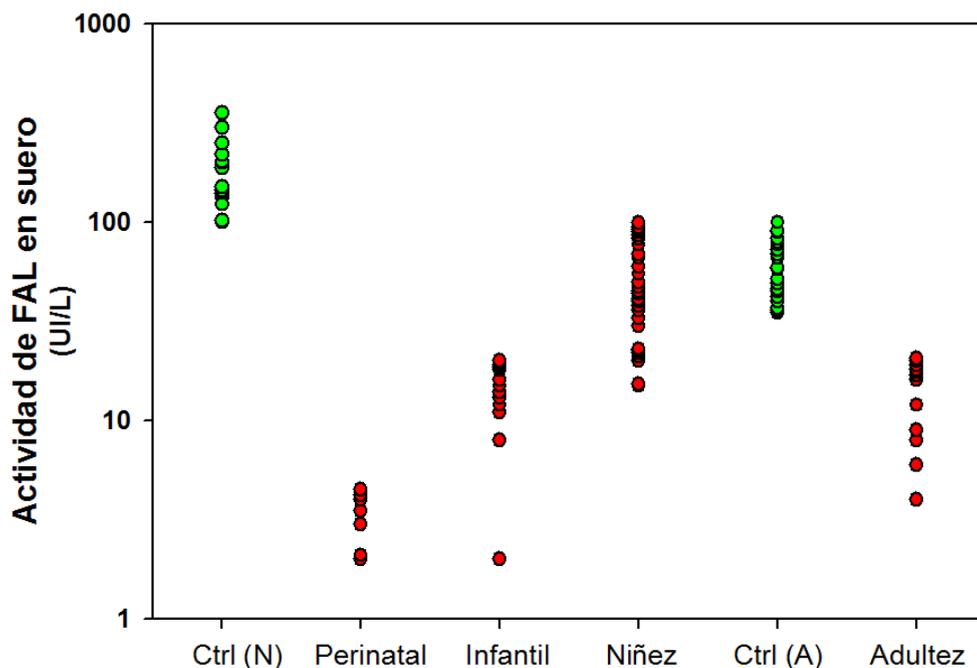


Figura 21.6. Niveles de actividad de FAL total en sangre en las distintas hipofosfatias y los dos controles, (N) de la niñez y (A) de la adultez). (Imagen adaptada de Scriver 2001)

Se pueden medir los niveles de calcio, tanto en sangre como en orina, los cuales estarán aumentados en caso de hipofosfatias, debido a que hay poca captación de calcio por el esqueleto que crece poco y mal.

Los estudios bioquímicos de rutina muestran que las funciones renales y hepáticas no están alteradas. Además, se pueden dosar los fosfocompuestos, es decir los sustratos, en sangre u orina. Los niveles de fosfoetanolamina (PEA) en orina, ayudan al diagnóstico de la enfermedad, pero los niveles aumentados no son patognómicos debido a que puede estar aumentado en otras patologías óseas. Se analiza los niveles de PEA en orina de 24 hs pero es necesario normalizarlo con la creatina. Sin embargo, los niveles de PEA están condicionados a la edad del paciente, al ritmo circadiano y sobre todo se han descrito algunos pacientes altamente afectados con niveles normales de PEA.

Los niveles de Piridoxal fosfato (PLP) en sangre resulta ser el sustrato más sensible para diagnosticar hipofosfatias (incluso para odontohipofosfatias). Sin embargo, administración de vitaminas hasta una semana antes de la prueba puede generar falsos positivos (Fig 21.7)

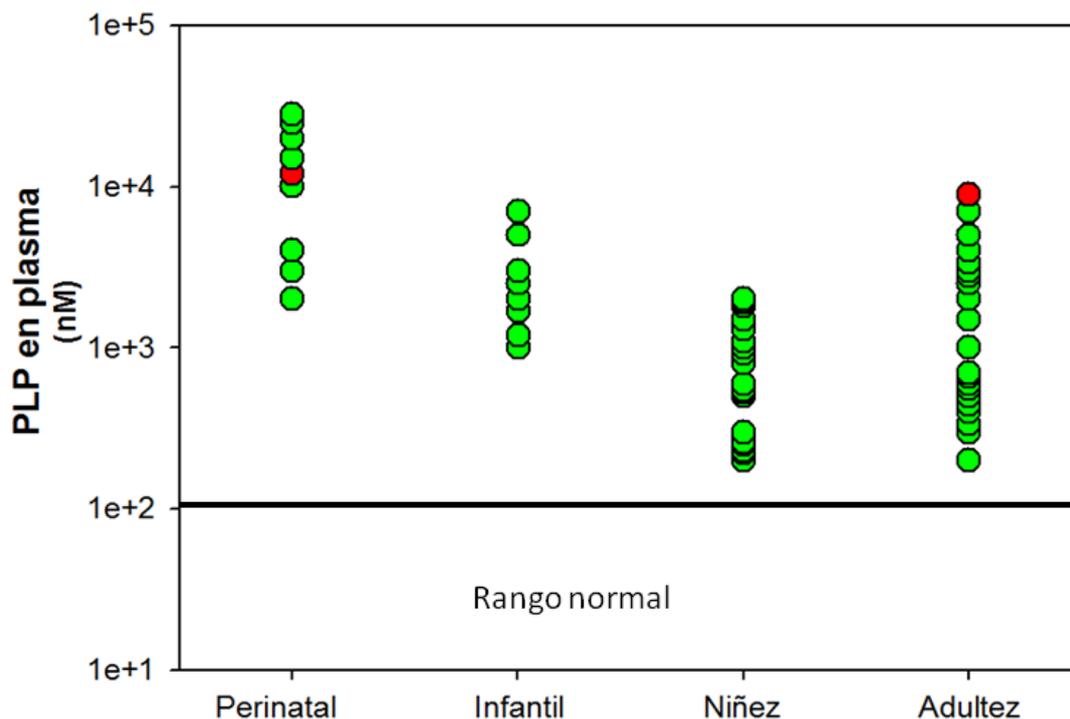


Figura 21.7. Niveles de PLP en sangre. En rojo se muestran dos niveles aumentados de PLP en sangre de pacientes bajo suplemento vitamínico. (Imagen adaptada de Scriver 2001)

En cuanto al tercer y último sustrato, los niveles de pirofosfato inorgánico (PPI) en orina pueden dar elevado en la mayoría de los casos aunque pueden no mostrar aumentos en los casos leves; además, aun se encuentran en desarrollo técnicas confiables para poder medirlos.

En cuanto a los estudios radiográficos, se pueden utilizar como diagnóstico para los casos perinatal e infantil. Excepto para los casos de odontohipofosfatasa, siempre pueden encontrarse alguna manifestación en el esqueleto. Las radiografías dentales ayudan al diagnóstico de odontohipofosfatasa.

En cuanto al diagnóstico prenatal de parejas con casos previos de esta enfermedad, es necesario tener en cuenta varias situaciones. La actividad de FAL en fluido amniótico no es útil ya que a las semanas 14 a 16 de gestación, la mayor parte de FAL es de origen intestinal excretada por el feto. La medida de alfa-fetoproteína se utiliza para hacer el diagnóstico diferencial entre la forma perinatal y anencefalia, en este último caso, los niveles de esta proteína se encuentran elevados. La forma perinatal puede ser diagnosticada en utero a partir de la determinación de FAL en muestras de vellosidades coriales, utilizando anticuerpos o por RFLP durante el primer trimestre de embarazo y durante el segundo trimestre a partir de sonografía o radiografía fetal. Las formas moderadas o leves, no pueden ser diagnosticadas en el útero debido a que las primeras manifestaciones se dan luego de la etapa de la niñez.

No es recomendable realizar el consejo genético debido a varias razones:

- ✓ El tipo de herencia no es clara. Las formas severas suelen ser heredadas en forma autosómicas recesivas, mientras que las formas moderadas o leves pueden ser autosómicas recesivas o autosómicas dominantes.

- ✓ La expresión clínica de la hipofosfatasa es muy variable y existen muchos casos que se superponen en las tradicionales clasificaciones.
- ✓ Existe polimorfismo del gen de la FALTNE, casos en los que algunas mutaciones no se asocian con patologías.
- ✓ Algunos autores postulan que la expresión del gen FALTNE puede estar modulado por otros genes.

Todos estos factores hacen que sea difícil dar un consejo genético confiable a las parejas que ya han tenido hijos o embarazos con hipofosfatasa.

## Tratamiento

Aunque se han estudiado posibles tratamientos, aun no hay una estrategia adecuada establecida para esta patología.

Los niveles de vitamina D deben ser bien regulados. Si existe un aumento en los niveles de vitamina D, aumentará la absorción intestinal de calcio provocando o agravando la hipercalcemia y la hipercalciuria. Sin embargo, un defecto en los niveles de la vitamina D o una disminución en la exposición a la luz solar, provocará un aumento en la reabsorción de calcio del esqueleto agravando la condición de los huesos.

El tratamiento de reemplazo enzimático se ha intentado a través del uso de infusiones intravenosas en individuos con distintos grados de afectación. Se probaron diferentes fuentes de FAL habiendo mejorías en algunos de los pacientes a los niveles de los fosfocompuestos, pero sin una mejora clínica reproducible y o mantenimiento en el tiempo de las afectaciones esqueléticas. Estos resultados apoyan la teoría que al menos para la mineralización del esqueleto y de los dientes, la FALTNE no es funcional en forma soluble y si cuando se encuentra en la superficie celular.

Algunos ensayos de trasplante de médula ósea con ratones KO para el gen de la FALTNE y en pacientes con hipofosfatasa infantil arrojaron resultados prometedores. Esto podría deberse a que durante el trasplante de médula ósea se está administrando al paciente células madre mesenquimales (Fig 21.8), las cuales son precursoras de los osteoblastos, aportando así una fuente adecuada de FAL necesaria para la mineralización del esqueleto.

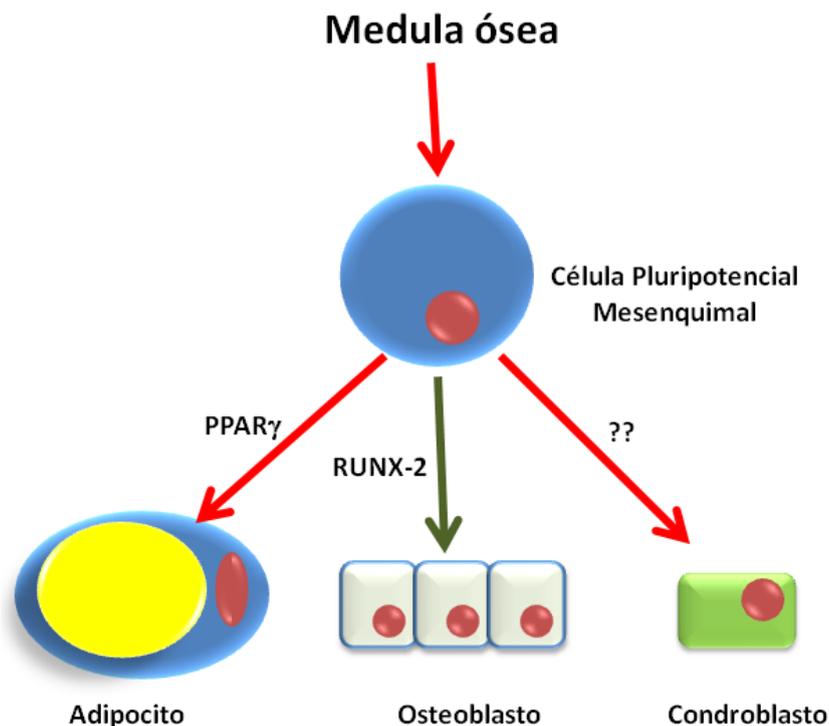


Figura 21.8. Las células pluripotenciales mesenquimales, provenientes del trasplante de médula ósea, puede diferenciarse en varios fenotipos entre los cuales se encuentra el osteoblasto, según el factor de transcripción que se exprese.

En cuanto al tratamiento de soporte, el mismo depende de las manifestaciones clínicas de cada paciente. Para aquellos que tengan aumento de la presión intracraneal esta se logra controlar con la instalación de una válvula. Las reparaciones de las fracturas óseas se deben monitorear con frecuencia a fin de poder verificar la correcta reparación. Se debe prestar atención a las pseudofracturas ya que las mismas pueden servir de punto de iniciación para futuras fracturas. En cuanto al estrés metatarsiano, se pueden utilizar plantillas u órtesis a fin de evitar las fracturas de los tarsos. Los problemas dentales deben ser atendidos por odontólogos con experiencia en odontohipofosfatasa.

### Origen de los sustratos

Aunque el origen de fosfoetanolamina (PEA) es incierto, se cree que proviene de la degradación del sistema de anclaje fosfatidilinositolglicano, el cual sirve de anclaje de varias proteínas (entre ellas, la misma FAL) a la membrana plasmática de las células. El piridoxal fosfato (PLP) proviene de la dieta de la cual se puede encontrar una piridoxine, piridoxal, y piridoxamina. Una vez absorbidas estas formas de vitamina B<sub>6</sub>, son convertidas en PLP en el hígado y enviadas a circulación para ser tomadas por las células que lo necesiten (Fig 21.9). Para que el PLP pueda entrar a la célula, este compuesto debe ser defosforilado por la enzima FALNE. Una vez dentro de la célula, el piridoxal es fosforilado nuevamente para formar PLP para ser utilizado como co-factor. Cuando ya no es requerido, la célula lo degrada a ácido 4 piridóxico (4-PA) y así puede ser eliminado vía renal.

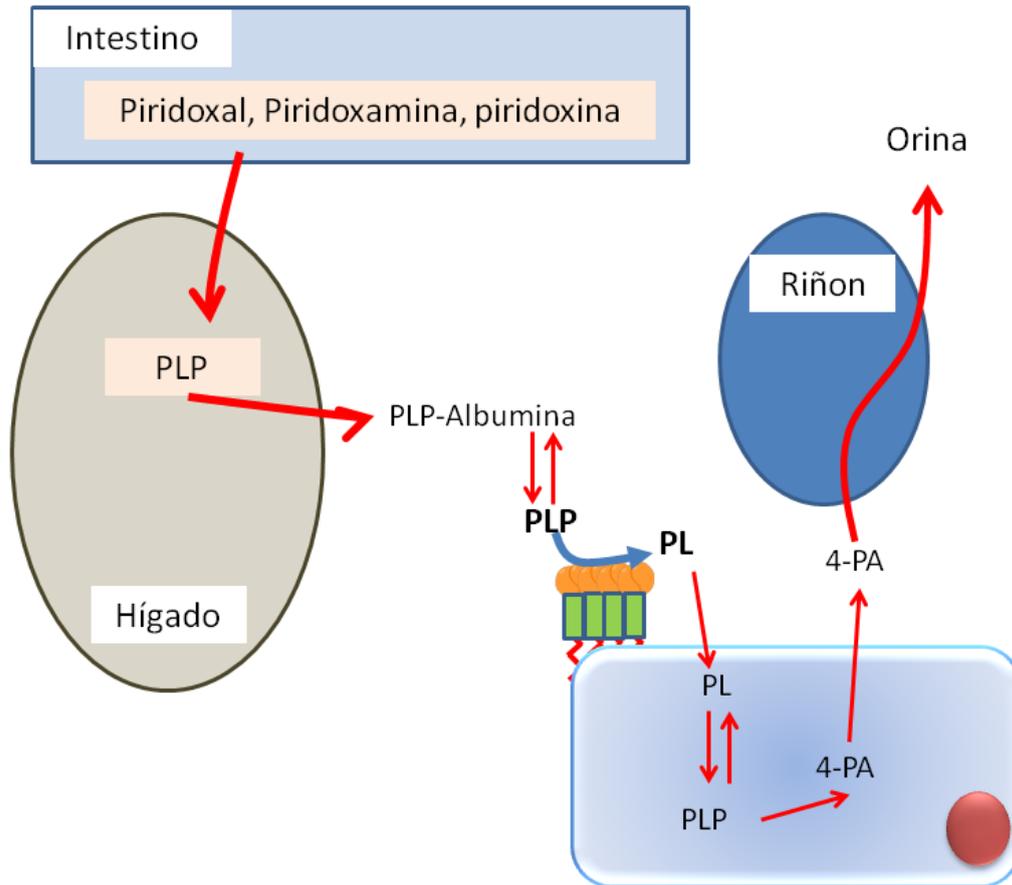


Figura 21.9. Absorción, metabolismo y eliminación del piridoxal fosfato (PLP). PL, piridoxal; 4-PA, ácido 4 piridóxico. (Imagen adaptada de Scriver 2001)

Cuando los niveles de FALNE son elevados debido a otras patologías, los niveles sanguíneos de PLP disminuyen. Los niveles aumentados de PLP en hipofosfatasa demuestran la necesidad de la enzima en el metabolismo de PLP. Sin embargo, pacientes con hipofosfatasa no poseen síntomas de hipovitaminosis B<sub>6</sub> además de poseer niveles normales de PLP intracelular y de su metabolito en orina. Actualmente, hay dos hipótesis que pueden explicar este hecho.

- ✓ Si bien los pacientes con hipofosfatasa presentan una disminución en la actividad de la enzima, en todos los casos podría quedar cierta actividad remanente necesaria para desfosforilar el PLP y así permitir la entrar a las células, pero que esta actividad remanente no sería suficiente para permitir la mineralizar la matriz extracelular.
- ✓ Podría existir otra fosfatasa aun no identificada que pueda desfosforilar el PLP.

El Pirofosfato inorgánico (PPI) proviene de la degradación de los trifosfonucleotidos por medio de la enzima Nucleotido Triposfato Pirofosfatasa (NTP-PPI-asa). En la Fig. 21.10 se presenta el origen de los sustratos de FAL.

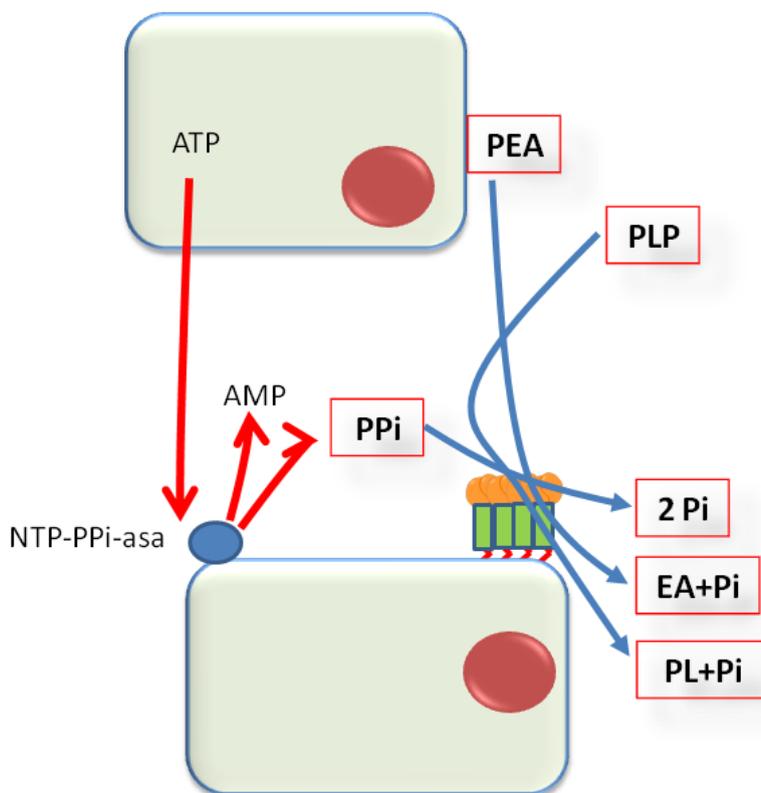


Figura 21.10. Origen de los sustratos de la enzima Fosfatasa Alcalina Tejido no específico. (Imagen adaptada de Scriver 2001)

A partir de la degradación de los sistemas de anclajes fosfatidilinositolglicano se libera fosfoetanolamina, de la degradación de los trifosfonucleótidos, por medio de la enzima Trifosfonucleotido Pirofosfatasa se produce pirofosfato inorgánico (Pi) y a partir del metabolismo de la vitamina B<sub>6</sub> se produce piridoxal fosfato. Estos tres fosfocompuestos son sustratos de la enzima FALTNE. Cuando hay deficiencia de esta enzima, estos sustratos se acumulan.

De los tres sustratos, se observó que solo el aumento de PPI tiene relación directa con los signos y síntomas de los pacientes con hipofosfatasa. A baja concentración de PPI, se forma cristales de pirofosfato de calcio dihidratado. Estos cristales producen daños en las articulaciones de los huesos pudiendo producir artropatía por pirofosfato, pseudogota y condrocalcinosis. A altas concentraciones, el PPI se absorbe al fosfato de calcio evitando la formación y maduración de los cristales de hidroxapatita, constituyentes minerales de los huesos y dientes. De esta forma, la función de la enzima FALTNE de los osteoblastos sobre la mineralización de la matriz extracelular tiene una función dual. La primera es degradar todos los fosfocompuestos necesarios para que los fosfatos libres, junto al calcio produzcan sales de fosfato de calcio que madurarán hacia hidroxapatita; la segunda función es hidrolizar el PPI, un inhibidor de la maduración de la hidroxapatita. Así, cuando existe una deficiencia de la FALTNE, la falta de mineralización se debe tanto a que no hay fosfato necesarios para mineralizar la matriz, como a un entrono celular donde se acumula PPI.

## Osteogénesis Imperfecta

La Osteogénesis Imperfecta (OI) es una enfermedad del tejido conectivo, hereditaria, clínica y genéticamente heterogénea, caracterizada por fragilidad ósea y susceptibilidad a las fracturas de bajo trauma. OI es una de las formas más comunes de enfermedades óseas por fragilidad hereditarias (1: 15-20.000 nacidos vivos). El 85-90% de los casos se deben a mutaciones en los genes del colágeno (*COL1A1* y *COL1A2*) que afectan su estructura o su cantidad y se manifiestan como formas dominantes, aunque actualmente se considera que la OI es un desorden relacionado con el metabolismo del colágeno. Se han descrito formas AR (10% de los casos de OI) que afectan genes que codifican para proteínas que interaccionan con el colágeno en su plegado o que intervienen en modificaciones pos-traduccionales. Otros defectos descritos afectan la mineralización y disminuyen la producción de colágeno y hay otros que afectan la diferenciación de los osteoblastos.

La clasificación de la OI evolucionó con los nuevos descubrimientos genéticos. En 1979, Sillence clasificó la OI en cuatro tipos, en base a las características clínicas y radiográficas de los pacientes:

**Tipo I** deficiencia cuantitativa del colágeno estructuralmente normal.

Forma más común de OI, pacientes en general con estatura normal y sin deformaciones óseas. Fragilidad ósea y escleróticas azules, la mitad de los casos con pérdida de audición. Pueden presentar Dentinogénesis imperfecta (DI).

**Tipo II** forma letal perinatal. Múltiples fracturas óseas al nacimiento. Esqueleto osteoporótico, huesos largos muy deformados, aplastamiento vertebral, escasa mineralización de la calota craneana y afectación de curvatura de las rodillas.

**Tipo III** forma severa. Deformante progresiva. Deformaciones óseas desde el nacimiento, escleróticas azules, DI, pérdida de audición y corta estatura. Múltiples fracturas, escoliosis progresiva, deformaciones torácicas

**Tipo IV** forma moderada. Deformante moderada y escleróticas normales. Deformaciones óseas, talla pequeña y pérdida de audición. Pueden o no presentar DI.

Las formas II-IV se deben a mutaciones que afectan la estructura normal del colágeno. Actualmente se ha propuesto una clasificación basada en la vía metabólica intra- y extracelular afectada. Se han descrito 18 tipos de OI, divididos en grupos funcionales, que dan cuenta de todos los casos descritos (Tabla 21.X)

**Tabla 21.2. Nosología de la OI**

Tipo de OI	Herenc.	Gen defect	Proteína
<b>Defectos en síntesis y estructura Col</b> Tipo I, II, III, IV	AD	<i>COL1A1</i> o <i>COL1A2</i>	Collageno 1(I) o 2(I)
<b>Defectos en mineralización ósea</b> Tipo V Tipo VI	AD AR	<i>IFITM5</i> <i>SERPINF1</i>	BRIL PEDF

<b>Defectos en modificaciones del Col</b>			
Tipo VII	AR	<i>CRTAP</i>	CRTAP
Tipo VIII	AR	<i>LEPRE1</i>	P3H1
Tipo IX	AR	<i>PPIB</i>	PPIB (CyPB)
<b>Defectos en procesam./croslinkin</b>			
Tipo X	AR	<i>SERPINH1</i>	HSP47
Tipo XI	AR	<i>FKBP10</i>	FKBP65
No clasificado	AR	<i>PLOD2</i>	LH2
Tipo XII	AR	<i>BMP1</i>	BMP1
<b>Defectos en diferenciación - función Ob</b>			
Tipo XIII	AR	<i>SP7</i>	SP7 osterix
Tipo XIV	AR	<i>TMEM38B</i>	TRIC-B
Tipo XV	AR / AD	<i>WNT1</i>	WNT1
Tipo XVI	AR	<i>CREB3L1</i>	OASIS
Tipo XVII	AR	<i>SPARC</i>	SPARC *
Tipo XVIII	XR	<i>MBTPS2</i>	S2P

AD, autosómica dominante; AR autosómica recesiva; XR recesiva ligada al X \*, Osteonectina

## Patofisiología en OI. Biogénesis de las fibrillas de colágeno

Las fibrillas de colágenos se depositan en la matriz extracelular del tejido conectivo, lo que le permite resistir a fuerzas tensiles. Se encuentran arregladas en una estructura tridimensional y son sintetizadas y secretadas por fibroblastos, osteoblastos etc. Se han identificado 27 tipos diferentes de colágenos, pero en el hueso el principal es el colágeno tipo I.

El colágeno fibrilar tipo I está compuesto por moléculas triméricas de dos cadenas  $\alpha 1(I)$  y una  $\alpha 2(I)$ . El dominio helicoidal de cada cadena consiste de tripletes repetidos Gly-X-Y, donde X e Y pueden ser cualquier residuo pero usualmente son Pro e hidroxipro respectivamente. La presencia de Gly, con su pequeño grupo lateral (-H) permite a la cadena de procolágeno monomérica formar una hélice de mano izquierda, que luego puede formar la triple hélice de mano derecha con otras dos cadenas. La triple hélice se encuentra flanqueada por dominios globulares terminales (N- y C-propeptidos) (Fig. 21.11). Una vez que estos extremos se clivan, la triple hélice con telopeptidos cortos se pueden ensamblar en estructuras altamente ordenadas como cuerdas, las fibrillas.

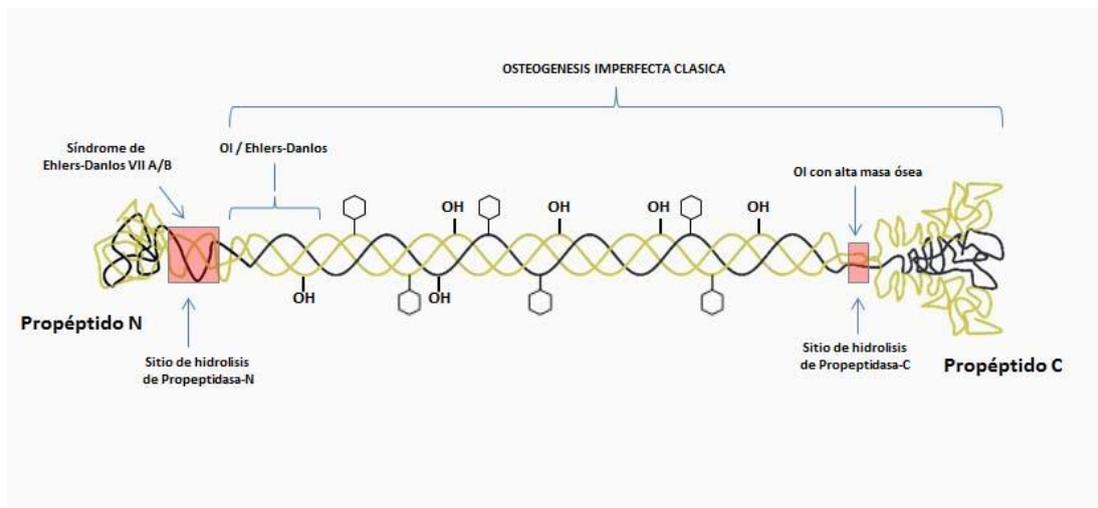


Figura 21.11. Estructura del colágeno tipo I y distintos fenotipos clínicos asociados con mutaciones en sitios específicos. Los hexágonos representan moléculas de azúcares unidas al residuo hidroxilo de Lys; OH-, representa el grupo hidroxilo unido a resto de Pro o Lys. Adaptado de Forlino & Mariani, 2016.

El ensamble de las cadenas desde el Ct continúa hacia el extremo del Nt. Las cadenas desenrolladas sufren varias modificaciones pos-traduccionales en el retículo endoplasmático (RER) y el Golgi (Fig. 21.12). Los restos de Pro y Lys son hidroxilados por acción de las enzimas *prolil-4-hidroxilasa* (P4H) y *lisil hidroxilasa 1* (LH1), los restos de hidroxil-Lys puede luego ser glicosilados. Por otro lado, la enzima *prolil-3-hidroxilasa* (P3H1) actúa como parte de un complejo asociada con la *proteína asociada a cartilago* (CRTAP) y *ciclofilina B* (CyPB), hidroxilando el carbono de la posición 3 de ciertos restos de Pro (986 en  $\alpha 1(I)$  y 707 en  $\alpha 2(I)$ ). La CyPB es una conocida peptidil-prolil *cis-trans* isomerasa. Es necesaria la isomerización de las uniones prolil-peptidil para el correcto plegado del colágeno, lo que es catalizado por la enzima *prolil-cis-trans isómeras* (PPIasa).

Otra inmunofilina de RER es crucial para la síntesis normal del colágeno. La PPIasa FKBP65 que es codificada por el gen *FKBP10*. Se ha demostrado que FKBP65 se asocia con *lisil hidroxilasa 2* (LH2), enzima codificada en el gen *PLOD2*, que hidroxila restos de Lys en el telopéptido del colágeno. En el hueso, esta hidroxilación es necesaria para generar un cross-link entre las moléculas de colágeno, estabilizándolas y dando la fuerza tensil a las fibrillas. También en el RER se encuentra HSP47, una molécula chaperona codificada en el gen *SERPINH1*. HSP47 posee un sitio de reconocimiento RDEL (Arg-Asp-Glu-Leu), que permite el movimiento de la proteína entre el RER y el Golgi y su unión solamente a la triple hélice de colágeno. Funciona estabilizando el colágeno plegado y como un marcador para su transferencia al Golgi-*cis*. Así, el procolágeno plegado en la triple hélice es transportado a través de una vía secretoria desde el RER al Golgi, donde se transportan a través de las cisternas desde el Golgi-*cis* al *trans* y de allí a la membrana plasmática de la célula para ser secretadas al espacio extracelular.

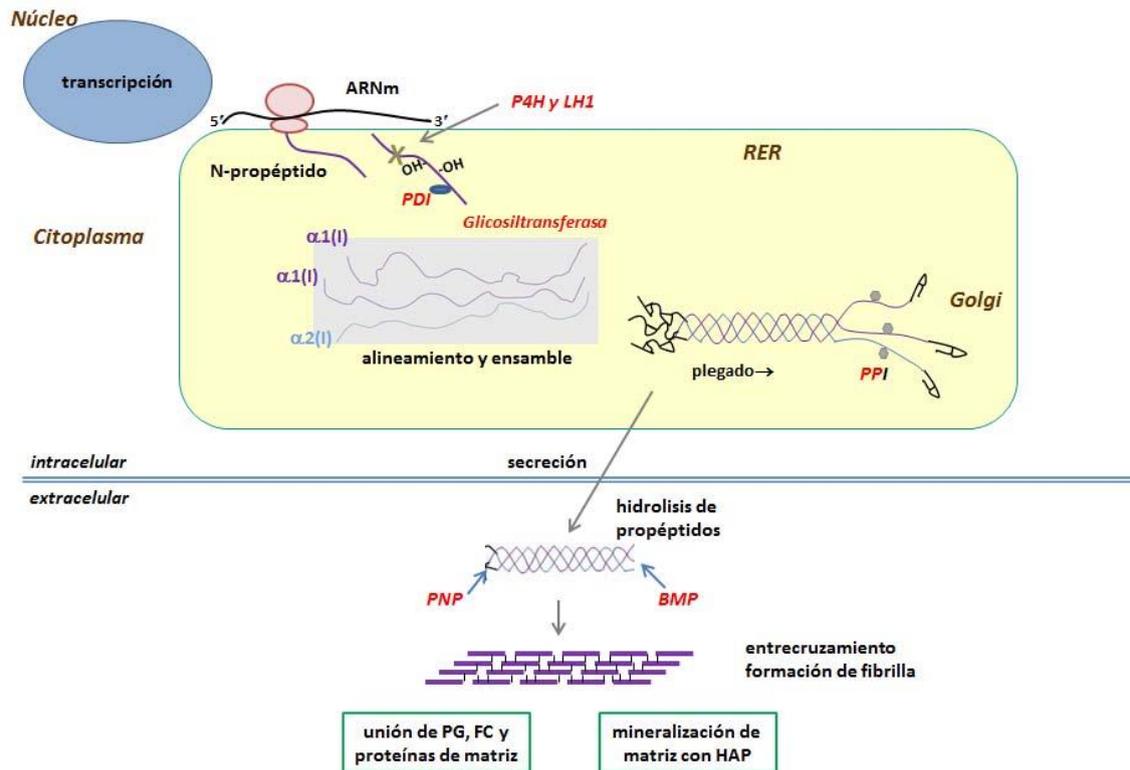


Figura 21.12. Biosíntesis de colágeno. Adaptado de Morello, 2018.

Después de la secreción, las moléculas sufren un proceso de maduración en el que los extremos N-propéptido y C-propéptido son removidos por proteasas específicas. Luego de esto, las hélices de colágeno se pueden ensamblar espontáneamente en fibrillas en el tejido, a través de procesos de *cross-link* (entrecruzamiento). El sitio de clivaje Nt se encuentra codificado en el exón 6 de ambas cadenas de colágeno, es removido por acción de la metaloenzima ADAMTS-2, que requiere una estructura helicoidal. El procesamiento del C-propéptido es más complejo, requiere 4 C-proteasas diferentes y la modulación de una proteína “*enhancer*” o potenciadora. El clivaje se realiza por la familia de metaloproteinasas de Zn (BMP-1, proteína morfogenética de hueso-1; mTLD, proteína toloide de mamíferos; TLL-1, proteína similar toloide-1) y una N-proteína de la familia ADAMTs.

La principal fuente de deposición de colágeno en el hueso son los osteoblastos, estas células proliferan, se diferencian y mineralizan la matriz colagenosa. Estos procesos son regulados a través de múltiples mecanismos y se conocen los genes y proteínas involucrados en los mismos. Varios de estos factores son importantes en el contexto de la OI.

Una de las vías cruciales en la regulación de la diferenciación osteoblástica es la Wnt. WNT es un ligando que se une a un sistema de receptores de membrana compuesto por Frizzled y dos correceptores, LRP5 y 6, proteínas relacionadas al receptor de LDL. A su vez, la señal de WNT regula la vía de  $\beta$ -catenina, que localizada en el núcleo activa genes “*blanco*” que estimulan la diferenciación; aunque que WNT también activa una vía independiente de  $\beta$ -catenina en el hueso. La proteína Sp7/Osx (Osx) es un factor de transcripción que contiene dedos de Zn, esen-

cial para la diferenciación osteoblástica. Otro gen que funciona mayormente a nivel de los osteoblastos es el *CREB3L1*, que codifica para una sustancia inducida específicamente por astrocitos viejos (OASIS, *old astocyte specifically induced substance*), un transductor del estrés del RE. Después de la proteólisis, el dominio Nt de OASIS se transloca al núcleo y activa el promotor del gen *COL1A1*. Un tercer gen con potencial mecanismo de acción sobre los osteoblastos es *SP7*, que codifica para osterix y es un gen “blanco” de la vía Wnt.

Otra proteína importante es PEDF (factor derivado de epitelio pigmentario, codificada en el gen *SERPINF1*, una glicoproteína secretada y conocida originalmente por sus propiedades neurotrópicas y antiangiogénicas. La expresan varias células, incluyendo condrocitos, en el plato de crecimiento, osteoblastos y células madre mesenquimales. En el hueso PEDF regula la homeostasis ósea y la mineralización del osteoide, afecta el desarrollo de los osteoblastos favoreciendo la expresión de genes osteogénicos y la deposición del mineral. Se cree que esta proteína funciona en conexión con IFITM5, (proteína transmembrana inducida por interferón, también conocida como BRIL (proteína similar IFITM restringida al hueso). BRIL tiene un dominio transmembrana simple, con un Ct extracelular; del lado citoplasmático BRIL está anclada a la membrana por dos restos de palmítico. BRIL se expresa exclusivamente en osteoblastos, no se detecta en condrocitos u osteocitos y muy poco en fibroblastos; puede regular la unión a Ca a través del Ct, lo que podría afectar la mineralización. Se ha postulado que BRIL podría regular la expresión de PEDF.

**Defectos en el Colágeno:** La causa más frecuente de OI es una mutación en un resto de Gly en la región helicoidal que puede afectar el ensamble de la hélice. Si ocurre en la cadena  $\alpha 1(I)$ , llevan a una forma letal de OI, mientras que en la cadena  $\alpha 2(I)$ , las sustituciones suelen ser no letales. Menos del 5% de las mutaciones que causan OI clásica ocurren en el propéptido-C, alterando la asociación o plegado de las cadenas. La presencia de una mutación nula en el gen *COL1A1* heterogénea lleva a una menor síntesis (aproximadamente 50%) en un colágeno normal y eso se asocia con una forma moderada de OI. Por otro lado, mutaciones nulas en el gen para la cadena  $\alpha 2(I)$  producen síntomas variables, con cuadros de OI severa a una forma moderada de síndrome de Ehlers-Danlos.

**Defectos en las modificaciones postraduccionales:** mutaciones nulas para CRTAP causan OI tipo VII, mientras que en el gen *LEPRE1*, que codifica para P3H1, causa OI tipo VIII, ambas pueden ser severas a letales. Ambas mutaciones causan una importante reducción en la 3-hidroxilación de la Pro986, esto lleva a pérdida de arrollamiento del colágeno, sobre-modificación de las cadenas por hidroxilación y posterior glicosilación en restos de Lys. Por otro lado, mutaciones en *PIIB* causan formas raras de OI con fenotipos moderados a letales (tipo IX).

Deficiencia en *FKBP65* causa diversas afecciones, pero puede manifestarse en una forma recesiva de OI (tipo XI), progresiva deformante, con fracturas de huesos largos y escoliosis hasta una forma moderada, con estatura corta y ambulatoria, con escleróticas y dentición normales. Mutaciones en el gen *SERPINH1*, se describieron en un niño con OI recesiva severa (tipo X), con escleróticas azules, DI y características atípicas como bultos en la piel, estenosis pilórica,

cálculos renales. Su colágeno mostro aumento en la sensibilidad a proteasas, siguiendo a un plegado imperfecto.

Existen mutaciones que afectan los sitios de clivaje de los propéptidos y causan diferentes variantes de OI. Una causa de defectos en el procesamiento del Nt es el denominado “*skipping*” o salto del exon6 a nivel del ARNm, que elimina el sitio de clivaje, en alguna de las cadenas del Col(I). Este defecto se asocia con síndrome de Ehlers-Danlos, tipo VII, que presenta hiperextensibilidad tisular, hipermovilidad severa de articulaciones, dislocación de cadera bilateral congénita, escoliosis cauda por la hiperlaxitud de ligamentos y dislocación articular. También involucra OI, lo que resulta en fracturas en estos pacientes. Otra causa de defectos en el procesamiento del Nt implica mutaciones dominante en los primeros 85 residuos de la región helicoidal del colágeno  $\alpha 1(I)$  o  $\alpha 2(I)$ , lo que despliega el sitio de clivaje del Nt, causando un síndrome combinado de Ehlers-Danlos y OI. Un tercer tipo de defecto en el procesamiento del Nt, es una mutación que afecta la actividad de ADAMTS-2, induciendo un defecto mucho más severo que los anteriores. Se asocia con defectos en el colágeno tipo I y tipo II, caracterizados por fragilidad extrema de la piel, facies características, laxitud articular, piel caída, hernia umbilical y escleróticas azules.

De la misma manera, se han descripto formas dominantes y recesivas asociadas a alteraciones en el procesamiento del Ct del colágeno. Estos defectos llevan a una forma de OI llamada de alta masa ósea. Pueden ocurrir mutaciones dominantes en los residuos Ala-Asp del sitio de clivaje en COL1A1 y COL1A2, lo que lleva a la incorporación de un pC colágeno (un procolágeno que no contiene el Nt pero si el Ct que no se pudo procesar) en la matriz extracelular. Los niños prepuberales con estas mutaciones presentan OI moderada con pocas características, estatura normal, escleróticas blancas, dientes normales y DMO que puede ser normal o aumentada. El tejido óseo de estos niños muestra un aumento en la mineralización. Se cree que la alta masa ósea sería causada por la localización del pC-procolágeno en la superficie de las fibrillas, que serviría como un factor de nucleación para la mineralización. Mutaciones en las enzimas involucradas (BMP1/mTLD), en el procesamiento del Ct resultan en una forma de OI más severa, dado que estas enzimas también procesan otros colágenos y activan *lisil oxidasa*, el iniciador del entrecruzamiento.

**Defectos en la osificación y mineralización:** se han descripto casos de OI asociadas con defectos en la osificación ósea endocondral o la mineralización. La forma tipo V de herencia AD y la forma tipo VI, AR. En el caso de la OI tipo V, se demostró la presencia de mutaciones en el gen *IFITM5*, caracterizada por aumentada osificación ectópica; y en el caso de la OI tipo VI, defectos en el gen *SERPINF1* que codifica para PEDF, asociada a normal o disminuida mineralización ósea y aumento en el volumen de osteoide no mineralizado. También se han reportado mutaciones homocigotas para SP7, asociadas con OI severa.

**Defectos en el desarrollo osteoblástico:** las mutaciones asociadas con estos defectos se expresan como formas de OI AR, son raras y se han descripto para SP7 (tipo XII), WNT1 (tipo XV) y CREB3L1 (tipo XVI).

## Diagnostico

Inicialmente se basa en las características clínicas y radiológicas. La característica diagnóstica clave de la OI es la naturaleza generalizada de defectos en el tejidos conectivo.

- Fracturas de bajo trauma
- Hueso largos deformes (curvados)
- Dolor óseo
- Déficit de crecimiento
- Macrocefalia
- Facies triangular y plana
- Dentinogénesis imperfecta (falla en el desarrollo de la dentición)
- Deformaciones de la caja torácica (pecho en barril)
- Escoliosis o kifosis (curvatura convexa y excesiva de la columna)
- Radiografías: Osteopenia generalizada, huesos largo curvados, baja tabulación, costillas aplanadas, compresión vertebral
- Alteraciones no esqueléticas: escleróticas azules, pérdida de audición, disminuida función pulmonar, regurgitación en válvula cardíaca (solo en las formas AD)

Las formas de OI moderadas deben ser diferenciadas de casos de osteoporosis de expresión temprana en el adulto y de casos de abuso físico en niños. En estos casos, la densitometría ósea (DXA) ayuda en el diagnóstico diferencial. Pruebas (invasivas) basadas en **estudios histomorfométricos** muestran una disminución en el volumen óseo y bajo número de trabéculas, con alta velocidad de recambio óseo. Esta pruebas se han reemplazado por **estudios moleculares** para todos los tipos de OI y la determinación sérica del factor derivado de epitelio pigmentario (PEDF) en el caso de la OI tipo VI. Para el caso de familias con un individuo afectado, se recomienda investigar las mutaciones en el gen del COL1, y en caso de dar negativo, se recomienda investigar otros genes de OI. El diagnóstico molecular es muy útil en el consejo sobre el pronóstico, recurrencia, la herencia y para la respuesta a diferentes tratamientos farmacológicos.

Los **datos de laboratorios** son normales en los casos de OI, aunque la ALP suele estar elevada después de una fractura. Los valores de las hormonas del eje de crecimiento también son normales.

## Tratamiento

La mejor forma de tratamiento para estos pacientes es una intervención por un equipo multidisciplinario, a fin de que puedan mantener sus habilidades motoras, considerando que en esta enfermedad se combinan la fragilidad ósea, debilidad muscular y ciclos de fractura y desuso. Para esto se desarrollan programas de fisioterapia e hidroterapia. Por otro lado, las alteraciones de la función pulmonar son la causa más importante de morbilidad y mortalidad en OI. Esto se

asocia con escoliosis de más de 60°, deformación de la caja torácica que altera la función respiratoria, contribuyendo a infecciones e insuficiencia respiratoria. También debe controlarse la pérdida de audición, que comienza en la 1era o segunda década de vida.

Los **tratamientos farmacológicos** se basan primariamente en el uso de drogas antiresortivas, como los bisfosfonatos (BP), análogos sintéticos del pirofosfato. Los BP se unen a la matriz de hidroxapatita en formación y son tomados por precursores osteoclastos u osteoclastos maduros, induciendo su muerte por apoptosis. Así, se contrabalancea el alto recambio óseo incrementando la formación ósea a través de la acción de los osteoblastos. Aunque los pacientes tendrán un colágeno alterado (en la mayoría de los casos), se cree que el tratamiento con BP que aumenta el volumen de hueso sería beneficioso para la fortaleza ósea. Varios trabajos han demostrado que estos tratamientos son efectivos, más aun en las formas leves a moderadas de OI.

Actualmente se están investigando el uso de drogas con acción anabólica sobre la formación del hueso. Estas son anticuerpos anti *esclerotina*, un regulador negativo de la formación del hueso que actúa a través de la vía Wnt y otro es un anticuerpo contra TGF $\beta$  (factor de crecimiento transformante).

## Referencias

- Ciancaglini P, et. al. Kinetic Analysis of Substrate Utilization by Native and TNAP-, NPP1-, or PHOSPHO1-Deficient Matrix Vesicles. *Journal of Bone and Mineral Research* 2010 (25) 716.
- Mornet E. Hypophosphatasia. *Orphanet Journal of Rare* 2007 (2) 40.
- Forlino A, Marini JC. Osteogenesis imperfect. *Lancet* 2016; 387, 1657-1671.
- Morello R. Osteogenesis Imperfecta and Therapeutics. *Matrix Biol* 2018; 71-72, 294-312.
- Mornet E. Hypophosphatasia. *Best Practice & Research Clinical Rheumatology* 2008 (22) 113.
- Primer on the metabolic bone diseases and disorders of mineral metabolism. 9<sup>th</sup> Edition. John P Bilezikian (Ed in chief). Wiley Blackwell-2019 American Society for Bone and Mineral Research.
- 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*. McGraw-Hill Medical Publishing Division; 8th edition (2001).
- Simon-Bouy B, et. al. Hypophosphatasia: molecular testing of 19 prenatal cases and discussion about genetic counseling. *Prenat Diagn* 2008 (28) 993.
- Stevenson D, et. al. Autosomal Recessive Hypophosphatasia Manifesting in Utero with Long Bone Deformity but Showing Spontaneous Postnatal Improvement. *J Clin Endocrinol Metab* 2008 (93) 3443.
- Van Hoof, VO; de Broe, ME. Interpretation and clinical significance of alkalines phosphatase isoenzyme patterns. *Critical Reviews in Clinical Laboratory Science* 31, 1994; 19-293.

- Whyte M. Hypophosphatasia. *Genetics of Bone Biology and Skeletal Disease* 2013, capítulo 22 337-360.
- Whyte M. Physiological role of alkaline phosphatase explored in hypophosphatasia. *Ann. N.Y. Acad. Sci* 2010 (1192) 190.
- Zhou X, et. al. Phosphate/Pyrophosphate and MV-related Proteins in Mineralisation: Discoveries from Mouse Models. *International Journal of Biological Sciences* 2012 (8) 778.