

Galactosialidosis: nueva mutación *de novo* en el gen *CTSA* en un paciente afecto de la forma infantil tardía

Galactosialidosis: a new "de novo" mutation in CTSA gene in a patient with late infantile galactosialidosis

Lic. Lara García Hernández,^a Dr. Javier Sierra Sirvent,^a Dra. Laura Gort Mas,^b y Dra. María J. Coll Rosell^b

RESUMEN

La galactosialidosis (OMIM #256540) es una enfermedad metabólica lisosomal causada por mutaciones en el gen *CTSA*, que codifica la proteína protectora cathepsina A. La pérdida de función de dicha proteína causa, secundariamente, un déficit combinado de dos enzimas, beta-galactosidasa y neuraminidasa. Se expone el caso de un paciente que presentó manifestaciones clínicas compatibles con el subtipo infantil tardío de galactosialidosis. El análisis bioquímico mostró déficits de las dos enzimas implicadas, mientras que el estudio molecular reveló dos mutaciones: una nueva mutación nunca antes descrita, p.His475Pro (c.1424 A>C), y una mutación previamente reportada, p.Arg441Cys (c.1321C>T), localizadas en los exones 15 y 14, respectivamente.

Palabras clave: beta-galactosidasa, gen *CTSA*, galactosialidosis, enfermedades por almacenamiento lisosomal, neuraminidasa.

ABSTRACT

Galactosialidosis (OMIM #256540) is an autosomal recessive lysosomal storage disorder caused by mutations in the *CTSA* gene, which encodes the protective protein cathepsin A. The loss of function of this protein causes a secondarily deficiency of beta-galactosidase and N-acetyl- α -neuraminidase enzymes activities. We describe the clinical, biochemical and molecular analysis of a case report with a phenotype compatible with the late infantile form. The biochemical analysis revealed deficiencies of beta-galactosidase and neuraminidase activities in dried blood spot and fibroblasts and the molecular study showed two missense mutations in the *CTSA* gene: a previously reported mutation, p.Arg441Cys (c.1321C>T), and a novel mutation, p.His475Pro (c.1424 A>C), located in exons 14 and 15, respectively.

Key words: beta-galactosidase, *CTSA* gene, galactosialidosis, lysosomal storage disorder, neuraminidase.

<http://dx.doi.org/10.5546/aap.2018.e88>

Cómo citar: García Hernández L, Sierra Sirvent J, Gort Mas L, et al. Galactosialidosis: nueva mutación de novo en el gen *CTSA* en un paciente afecto de la forma infantil tardía. *Arch Argent Pediatr* 2018;116(1):e88-e92.

INTRODUCCIÓN

La galactosialidosis es una enfermedad metabólica lisosomal minoritaria con transmisión autosómica recesiva. Los pacientes afectados comparten las manifestaciones clínicas típicas de enfermedad lisosomal: rasgos faciales toscos, visceromegalia, alteraciones oculares y disostosis. Se reconocen tres formas clínicas: infantil precoz, infantil tardía y juvenil o del adulto.¹

La prevalencia real de galactosialidosis es desconocida y la mayoría de los casos reportados (70%²) pertenecen a la forma juvenil/adulto, mientras que la infantil tardía es la menos prevalente, con 20 casos descritos hasta 2014.³⁻⁷

El gen *CTSA*, localizado en el cromosoma 20q13, codifica la proteína protectora cathepsina A (PPCA). Un déficit primario de PPCA implica, secundariamente, un déficit combinado de las enzimas neuraminidasa y beta-galactosidasa.²

Este artículo describe las principales manifestaciones clínicas, hallazgos bioquímicos y moleculares de un paciente afecto de la forma infantil tardía de galactosialidosis, el subtipo menos prevalente. Además y por primera vez en la literatura, se reporta una nueva mutación responsable de galactosialidosis.

CASO CLÍNICO

Se trata de un varón de padres sanos no consanguíneos de procedencia española (madre) y marroquí (padre) de 5 años de edad. Negaron antecedentes familiares de enfermedades genéticas o discapacidad intelectual. La gestación y el parto se desarrollaron sin incidencias relevantes. En la exploración física al nacer, se destacaba un aspecto macrosómico y rasgos faciales toscos con una antropometría (peso,

- Hospital Clínico Universitario "Lozano Blesa", Departamento de Pediatría, Zaragoza, España.
- Secció Errors Congènits del Metabolisme, Servei de Bioquímica i Genètica Molecular, Hospital Clínic, Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer (IDIBAPS), Centro de Investigación Biomédica en Red (CIBERER), Barcelona, España.

Correspondencia:

Lic. Lara García Hernández: Lg440099@gmail.com

Financiamiento: Ninguno.

Conflicto de intereses: Ninguno que declarar.

Recibido: 22-2-2017

Aceptado: 7-7-2017

longitud y perímetro craneal) con percentiles (P) en torno a P 90, acorde a las tablas de crecimiento españolas 2010.⁸ Presentaba edemas en el dorso de las manos y los pies, palpebral, hidrocele testicular y manchas mongólicas en la región lumbosacra.

A los 36 días de vida, fue hospitalizado por edemas generalizados sin proteinuria ni afectación renal, que se resolvieron espontáneamente. A los 15 meses de edad, durante el trascurso de una exploración física rutinaria, se identificó una hepatoesplenomegalia. Este hallazgo físico, junto con sus rasgos faciales, obligaron a descartar una enfermedad lisosomal. Los resultados bioquímicos urinarios y la baja actividad de las enzimas beta-galactosidasa y neuraminidasa apoyaron el diagnóstico de galactosialidosis.

Sobre la base de la edad de inicio y las principales manifestaciones, fue clasificado como forma infantil tardía de galactosialidosis.

Progresivamente, sus parámetros de crecimiento se han estancado y se han situado, en los últimos controles, en percentiles cercanos al P 70.⁸ Los rasgos faciales toscos se han intensificado: amplio hueso frontal con frente prominente, puente nasal deprimido y aplastamiento de la punta nasal, amplia boca con fino labio superior, dientes parcialmente separados sin hiperplasia gingival, implantación baja de grandes orejas y ojos discretamente exaltados. A nivel abdominal, presentaba abdomen globuloso (*Figura 1.a*) a expensas de una hepatoesplenomegalia de 4 y 2 cm, respectivamente, sin deterioro de la función hepática, así como una hernia umbilical e inguinal derecha, que requirieron corrección quirúrgica a los 19 meses. Las manchas mongólicas

aberrantes se generalizaron hasta la raíz de las extremidades (*Figura 1.b*) y se destacaron, además, engrosamiento de piel y coloración pelirroja del cabello. No se detectó ninguna afectación ecocardiográfica grave ni deterioro renal.

A partir de los 2 años, presentaba una cifoescoliosis progresiva, secundaria a un adelgazamiento del cuerpo vertebral anteroinferior, escaso desarrollo de caras superiores de cuerpos vertebrales y retrolistesis de la segunda vértebra lumbar (*Figura 1.c*).

El desarrollo psicomotor ha sido adecuado para su edad, a excepción del lenguaje, que tuvo un retraso progresivo. En pruebas de neuroimagen, no se han evidenciado lesiones en los centros de los ganglios basales, el tálamo ni los centros semioviales. El examen oftalmológico ha descartado las características manchas rojo cereza maculares y opacidades corneales. A nivel auditivo, se destacaba una hipoacusia de transmisión secundaria a otitis media serosa e hipertrofia adenoidea, que recibieron tratamiento.

Análisis y resultados bioquímicos y moleculares

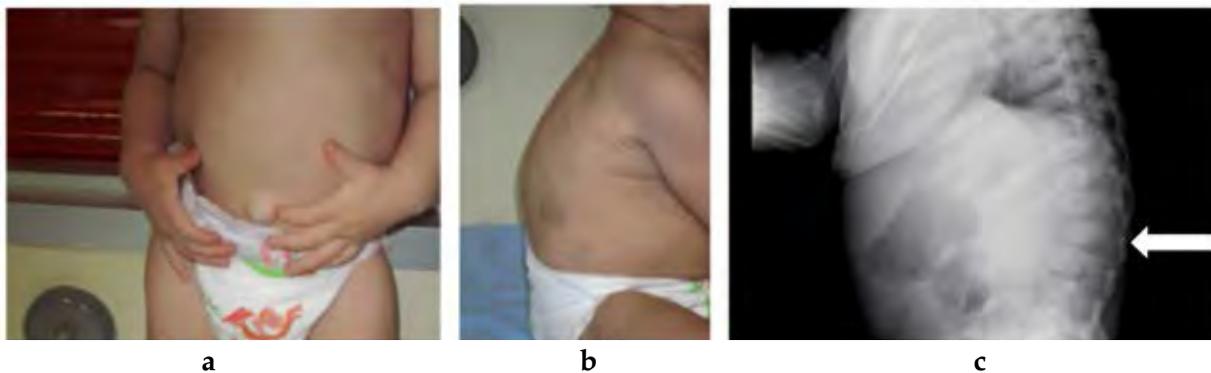
Análisis y resultados bioquímicos

Cribado metabólico en la orina: atendiendo al cuadro clínico, se estudiaron oligosacáridos y glucosaminoglucanos en la orina, los cuales demostraron estar en niveles dentro del rango de referencia. Sin embargo, el resultado del perfil de oligosacáridos estudiados por cromatografía en capa fina (CCF) confirmó que la muestra presentaba un patrón anómalo enriquecido con ácido siálico.

FIGURA 1. Características clínicas de visceromegalia y disostosis en nuestro paciente a la edad de 19 meses.

(a) Abdomen globuloso a expensas de una importante hepatoesplenomegalia; también se visualiza la hernia umbilical.

(b) Manchas mongólicas aberrantes generalizadas, así como una cifoescoliosis lumbar, secundaria a un adelgazamiento del cuerpo vertebral anteroinferior, escaso desarrollo de las caras superiores de cuerpos vertebrales y retrolistesis de la segunda vértebra lumbar (flecha) (c)



Actividades enzimáticas en sangre impregnada en papel y en fibroblastos cultivados: la actividad beta-galactosidasa fue analizada en sangre seca.⁹ Los resultados fueron de 5,6 μmol/L/h, 8% de la actividad media del rango de referencia, claramente deficiente (valor normal -VN-: 29-114). Estos resultados coincidieron con los obtenidos en el cultivo de fibroblastos de la piel, donde se detectó una actividad de beta-galactosidasa de 26 nmol/h/mg (VN: 415-2098) y de neuraminidasa de 2,3 nmol/h/mg (VN: 27-82), actividades inferiores al 10% y 5%, respectivamente, en relación con la media del rango control.

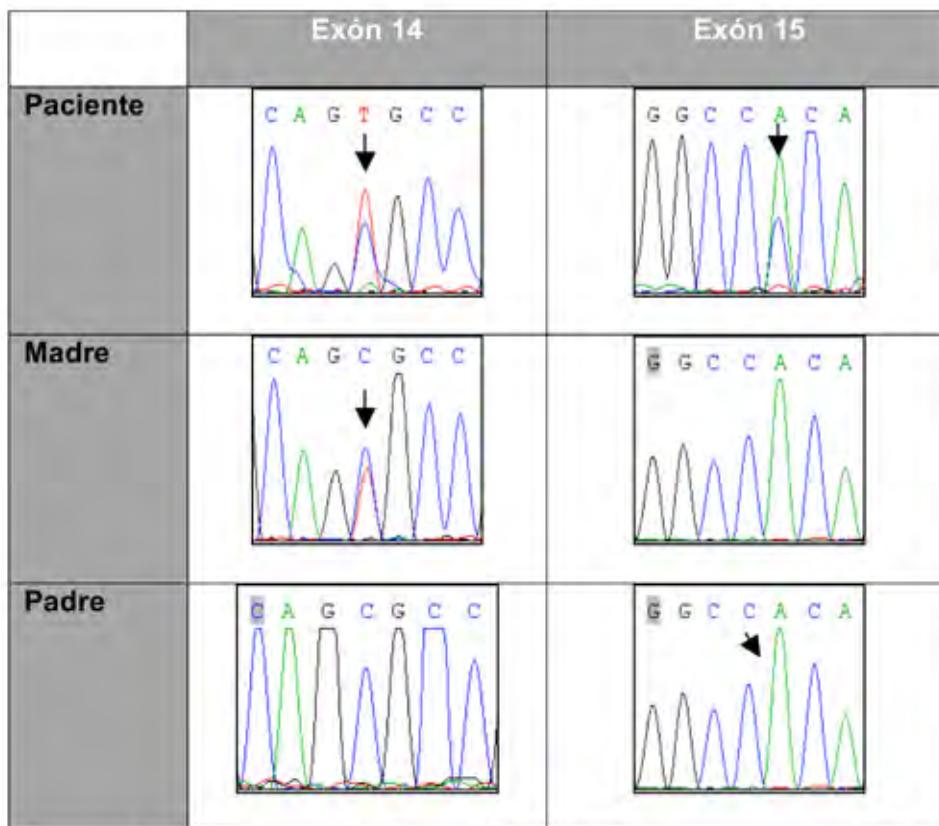
Análisis y resultados moleculares

Se realizó el análisis de secuencia del gen CTSA para encontrar mutaciones causantes de enfermedad (referencia de la secuencia: NM_000308). La secuenciación se realizó por Sanger utilizando el kit "Big Dye Terminator Cycle Sequencing v3.1" (Applied Biosystems, Foster

City, CA). Las reacciones de secuenciación se realizaron en un secuenciador ABI Prism® 3130xl Genetic Analyzer. Tal y como muestra la Figura 2, a través de la secuenciación Sanger del gen CTSA, se reveló que el paciente presentaba dos variantes de cambio de sentido: c.1321C>T (p. Arg441Cys), descrita con anterioridad en la literatura,¹⁰ y c.1424 A>C (p. His475Pro), mutación nunca antes conocida, localizadas en los exones 14 y 15, respectivamente.

En la actualidad, el paciente tiene 5 años de edad; su visceromegalia ha aumentado progresivamente de tamaño (la hepatomegalia atraviesa la línea media y alcanza la cresta ilíaca derecha) y mantiene la ausencia de afectación hepática y renal. Su cifosis lumbar ha mejorado de manera espontánea y el desarrollo cognitivo sigue acorde a su edad, a excepción de cierto retraso en el área del lenguaje. Uno de los nuevos hallazgos encontrados en los últimos controles ecocardiográficos es una leve insuficiencia mitral asintomática en la actualidad.

FIGURA 2. Análisis molecular CTSA: resultados secuenciados de análisis de ADN genómico de ambas mutaciones del paciente y de sus padres sanos, en los que se puede apreciar el trazado anormal de cada uno de ellos (flechas)



DISCUSIÓN

La galactosialidosis es una enfermedad metabólica lisosomal causada por el déficit combinado de las enzimas beta-galactosidasa y neuraminidasa, debido al déficit primario de la PPCA. Sobre la base de la edad de inicio y las principales manifestaciones, se distinguen 3 formas clínicas: infantil precoz, infantil tardía y juvenil/adulto.

La forma de mayor gravedad es la infantil precoz, que se asocia a *hydrops fetalis*, edemas, manchas rojo cereza maculares, visceromegalia, retraso psicomotor, disostosis y muerte precoz. La forma infantil tardía, típicamente, presenta hepatoesplenomegalia y afectación de válvulas cardíacas con mínima afectación neurológica. La forma juvenil/adulto, mayoritariamente de origen japonés,¹ presenta inicio más tardío, mayor gravedad neurológica y larga esperanza de vida y es excepcional la visceromegalia.

En nuestro caso clínico, las principales características clínicas pertenecen a la forma infantil tardía con algunos rasgos del subtipo infantil precoz. En cuanto al análisis genético, se refiere una nueva mutación nunca antes descrita.

Las tres principales manifestaciones son disostosis precoz, visceromegalia y leve retraso psicomotor. Ninguna afectación cardíaca grave ha aparecido, al contrario de lo descrito en el caso publicado por Strisciuglio et al.⁴ Nuestro paciente presenta algún rasgo característico de la forma infantil precoz (edemas generalizados y desarrollo de hernias), similar al caso publicado por Zhou et al;¹¹ sin embargo, en nuestro paciente, no existe afectación neurológica grave.

Las mutaciones en el gen *CTSA* conllevan una PPCA deficiente o, incluso, ausente y, de manera secundaria, la deficiencia de las enzimas relacionadas: beta-galactosidasa y neuraminidasa. Hasta la fecha, han sido descritas 31 mutaciones causantes de enfermedad en el gen *CTSA*.¹²

Los resultados confirmaron que el paciente era portador de dos cambios diferentes; uno de ellos era la primera vez descrito: p.His475Pro. En relación con esta mutación, el *software* predictor de patogenicidad en silicio clasificó este cambio de aminoácido en patógeno. El valor del puntaje demostró 100% de probabilidad de patogenicidad¹³ y mediante PolyPhen® 1.0¹⁴ lo cual significó patológico.

La segregación del alelo podría establecerse en su madre, portadora del cambio p.Arg441Cys, no así en el padre. Sin embargo, la paternidad se confirmó mediante el análisis *chromosome-*

specific DNA sequences polymorphic in length (STR, *short tandem repeats*) de diferentes cromosomas, que sugirió una mutación *de novo* de cambio de sentido en el ácido desoxirribonucleico (ADN) del paciente (datos no mostrados en este artículo).

Al tratarse de una enfermedad genética autosómico recesiva con solo uno de los progenitores portadores de mutación, la probabilidad de tener otro hijo afecto es muy baja; no se puede calcular la probabilidad exacta.

A pesar de que la mayoría de las enfermedades lisosomales no disponen de terapias curativas, en los últimos años, se están desarrollando nuevas líneas de investigación que esperan mejorar el pronóstico y la calidad de vida de estos pacientes.² ■

REFERENCIAS

1. D'Azzo A, Strisciuglio P, Galjaard H. Galactosialidosis. In Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, editors. *The metabolic and molecular basis of inherited diseases*. New York: McGraw-Hill, 1995:3811-26.
2. Hu H, Gomero E, Bonten E, et al. Preclinical dose-finding study with a liver-tropic, recombinant AAV-2/8 vector in the mouse model of galactosialidosis. *Mol Ther* 2012;20(2):267-74.
3. Kleijer WJ, Geilen GC, Janse HC, et al. Cathepsin A deficiency in galactosialidosis: studies of patients and carriers in 16 families. *Pediatr Res* 1996;39(6):1067-71.
4. Strisciuglio P, Sly WS, Dodson WE, et al. Combined deficiency of beta-galactosidase and neuraminidase: natural history of the disease in the first 18 years of an American patient with late infantile onset form. *Am J Med Genet* 1990;37(4):573-7.
5. Prada CE, Gonzaga-Jauregui C, Tannenbaum R, et al. Clinical utility of whole-exome sequencing in rare diseases: Galactosialidosis. *Eur J Med Genet* 2014;57(7):339-44.
6. Kiss A, Zen PR, Bittencourt V, et al. A Brazilian galactosialidosis patient given renal transplantation: a case report. *J Inherit Metab Dis* 2008;31(Suppl 2):S205-8.
7. Takiguchi K, Itoh K, Shimamoto M, et al. Structural and functional study of K453E mutant protective protein/cathepsin A causing the late infantile form of galactosialidosis. *J Hum Genet* 2000;45(4):200-6.
8. Ferrández Longás A, Baguer L, Labarta JL, et al. Estudio longitudinal de niños españoles normales desde el nacimiento hasta la edad adulta. Datos antropométricos, puberales, radiológicos e intelectuales. Zaragoza: Fundación Andrea Prader, 2005.
9. Chamoles NA, Blanco M, Gaggioli D, et al. Tay-Sachs and Sandhoff diseases: enzymatic diagnosis in dried blood spots on filter paper: retrospective diagnoses in newborn-screening cards. *Clin Chim Acta* 2002;318(1-2):133-7.
10. Kostadinov S, Shah BA, Alroy J, et al. A case of galactosialidosis with novel mutations of the protective protein/cathepsin a gene: diagnosis prompted by trophoblast vacuolization on placental examination. *Pediatr Dev Pathol* 2014;17(6):474-7.
11. Zhou XY, van der Spoel A, Rottier R, et al. Molecular and biochemical analysis of protective protein/cathepsin A mutations: correlation with clinical severity in galactosialidosis. *Hum Mol Genet* 1996;5(12):1977-87.

12. Qiagen Bioinformatics. Biobase database. 2017. [Consulta: 12 de julio de 2017]. Disponible en: https://portal.biobase-international.com/hgmd/pro/search_gene.php.
13. J. Craig Venter Institute. SIFT predictor. 2017. [Consulta: 12 de julio de 2017]. Disponible en: <http://sift.jcvi.org>.
14. Harvard University. PolyPhen® 1.0. 2017. [Consulta: 12 de julio de 2017]. Disponible en: <http://genetics.bwh.harvard.edu/pph2/>.