

Nueva variante asociada a enfermedad de Niemann-Pick tipo C: manifestaciones neurológicas y caracterización bioquímica, molecular y celular



New variant associated with Niemann-Pick disease type C: Neurological manifestations and biochemical, molecular, and cellular characterisation

Sr. Editor:

La enfermedad de Niemann-Pick tipo C (NPC; MIM#257220 y MIM#607625) se debe a un error innato del metabolismo, de herencia autosómica recesiva, caracterizado por una alteración del tráfico intracelular de colesterol, lo que provoca una acumulación de múltiples metabolitos en el lisosoma y/o endosoma tardío^{1,2}. Los genes responsables son *NPC1* (MIM*607623) y *NPC2* (MIM*607625). *NPC1* engloba el 95% de los casos publicados, mientras que *NPC2* es el responsable de un 4%³.

El diagnóstico de la enfermedad de NPC es complejo dado la gran heterogeneidad clínica que presenta y la dificultad de las pruebas de laboratorio. La sintomatología se clasifica en 3 grandes bloques: visceral, neurológica y psiquiátrica, siendo las características más frecuentes la esplenomegalia, la parálisis de la mirada vertical y la cataplejía³. Basándose en las manifestaciones clínicas y con la finalidad de ayudar a orientar el diagnóstico se ha creado una herramienta de cribado que asigna una puntuación en función del riesgo de ser afecto de NPC (NPC índice de sospecha [NPC-SI]), y que sugiere la idoneidad de realizar más estudios para esclarecer el diagnóstico^{4,5}.

Presentamos el caso de una mujer de 26 años de etnia bereber con antecedentes de retraso mental y trastorno psicótico en tratamiento con olanzapina 5 mg que es remitida por movimientos anormales y alteración de la marcha desarrollados en el último año. En la exploración neurológica

destacaba disartria, hipomimia facial, parálisis de la mirada vertical, bradicinesia global con mioclonias aisladas distales y marcha ligeramente atáxica sin braceo. La RM cerebral y DaTSCAN® no mostraron alteraciones relevantes. El estudio oftalmológico reveló una mancha rojo cereza en la mácula de ambos ojos. Una ecografía abdominal mostró esplenomegalia de 13,8 cm. El test de cribado NPC-SI puntuaba 104 (percentil 64).

Para confirmar el diagnóstico de NPC se analizó la actividad plasmática de la quitotriosidasa⁶ y la concentración de la quimioquina CCL18/PARC⁷ y 7-cetocolésterol⁸⁻¹⁰ (7-CC) mediante métodos previamente descritos, obteniendo valores por encima del rango de referencia intralaboratorio (RRI) para los 3 biomarcadores.

La secuenciación de los genes *NPC1* y *NPC2* se realizó mediante el método de Sanger con pequeñas modificaciones respecto al protocolo publicado previamente por Zech et al., identificando 2 variantes en *NPC1*: p.Ile1061Thr previamente descrita por Yamamoto et al.¹¹, y p.Val856Ala, no descrita previamente.

El acúmulo de colesterol en fibroblastos del paciente fue analizado mediante tinción citoquímica por Filipin III¹² (Sigma-Aldrich, ES), observándose una positividad del 70% (fig. 1).

Para descartar otras enfermedades lisosomales de la misma ruta metabólica se analizó en lisado leucocitario[®] citario, la actividad de la lipasa ácida lisosomal¹³ y de la esfingomielinasa¹⁴ obteniendo valores dentro del RRI.

Como la variante p.Val856Ala no está descrita y se localiza en un bucle rico en cisteínas que acumula aproximadamente un tercio de las variantes patogénicas descritas¹ se realizó un análisis bioinformático para la misma. Mediante Clustal Omega se realizó un análisis de conservación de la secuencia, comparándola con 30 especies, y se observó que se trataba de una región altamente conservada. Simultáneamente se utilizó la estructura de *NPC1* publicada por Gong et al. en 2016 en el Protein Data Bank (Cryo-EM structure of the full-length human *NPC1* at 4.4 angstrom; número de acceso PDB: 3JD8) y se modeló la variante patogénica con el programario libre Swiss-PdbViewer, observándose una

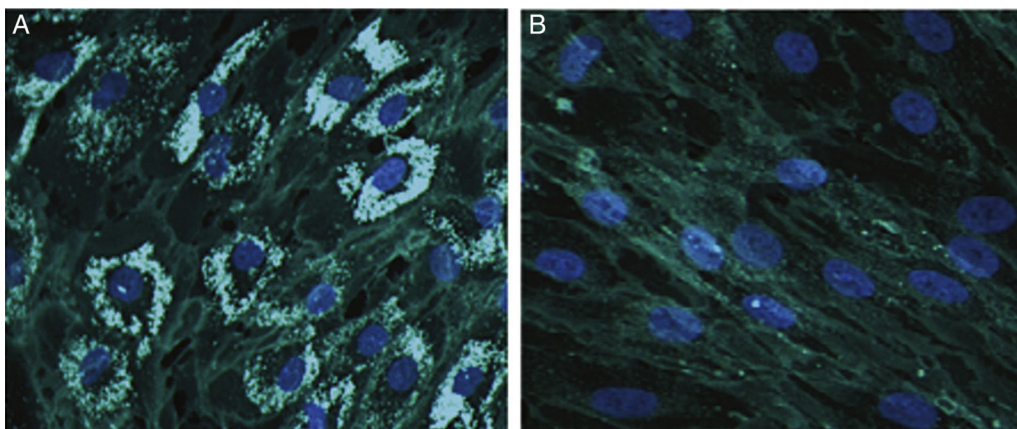


Figura 1 Tinción con Filipin III. Figuras representativas de la tinción del colesterol mediante Filipin III en fibroblastos de nuestro paciente (A) y de un control (B). Las células se cultivan en cubreobjetos y se mantienen durante 72 h en un medio libre de lipoproteínas antes de cambiarlas a un medio rico en lipoproteínas de baja densidad durante 24 h. Posteriormente se fijan y tiñen con el colorante Filipin III. Ampliación a $\times 200$

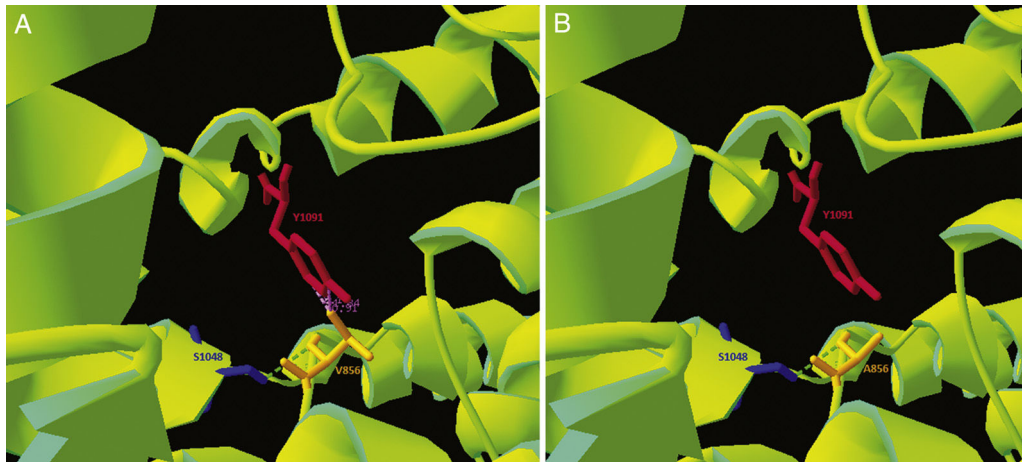


Figura 2 Alteraciones estructurales en la proteína NPC1. Interacciones entre los aminoácidos Ser1048, Tyr1091 y Val856 (A) o Ala856 (B). Figura realizada a partir de la secuencia 3JD8 (PDB) mediante el programa Swiss PdbViewer.

disminución de las interacciones electroestáticas en la forma variante (fig. 2). Mediante el predictor de estabilidad DUET se observó una disminución en la estabilidad de la proteína que contenía la variante p.Val856Ala ($\Delta\Delta G$: -1.457 vs. $\Delta\Delta G$:0 kcal/mol). Según las guías del Colegio Americano de Genética Médica¹⁵, esta variante pasaría a catalogarse como altamente probable de ser patogénica.

Con las evidencias presentadas en este trabajo, tanto a nivel clínico como bioquímico, molecular y celular, consideramos que se trata de un paciente de NPC por heterocigosis compuesta de la variante p.Ile1061Thr y una nueva variante asociada a patogénica, no descrita hasta ahora, p.Val856Ala.

Agradecimientos

Los autores quieren agradecer su colaboración en este trabajo a María Teresa Sagrario Fustero, Clementina del Canto Pérez y Adolfo Mínguez-Castellanos por su ayuda en el diagnóstico clínico del paciente, a Jorge J. Cebolla, Pilar Irún y Carmen Domínguez por su inestimable colaboración en las pruebas de laboratorio.

Bibliografía

- Vanier MT, Gissen P, Bauer P, Coll MJ, Burlina A, Hendriksz CJ, et al. Diagnostic tests for Niemann-Pick disease type C (NP-C): A critical review. *Mol Genet Metab.* 2016;118:244–5254, <http://dx.doi.org/10.1016/j.ymgme.2016.06.004>
- Lloyd-Evans E, Platt FM. Lipids on trial: The search for the offending metabolite in Niemann-Pick type C disease. *Traffic.* 2010;2:419–28, <http://dx.doi.org/10.1111/j.1600-0854.2010.01032.x>
- Vanier MT. Niemann-Pick disease type C. *Orphanet J Rare Dis.* 2010;5:16.
- Hendriksz CJ, Pineda M, Fahey M, Walterfang M, Stampfer M, Runz H, et al. The Niemann-Pick Disease Type C Suspicion Index: Development of a New Tool to Aid Diagnosis. *J Rare Disord Diagnosis Ther.* 2015;1:1.
- Pineda M, Mengel E, Jahnová H, Héron B, Imrie J, Lourenço CM, et al. A Suspicion Index to aid screening of early-onset Niemann-Pick disease Type C (NP-C). *BMC Pediatr.* 2016;16:107, <http://dx.doi.org/10.1186/s12887-016-0641-7>
- Hollak CEM, van Weely S, van Oers MHJ, Aerts JMFG. Marked elevation of plasma chitotriosidase activity. A novel hallmark of Gaucher disease. *J Clin Invest.* 1994;93:1288–92.
- Boot RG, Verhoek M, Fost MDe, Hollak CEM, Maas M, Bleijlevens B, et al. Marked elevation of the chemokine CCL18/PARC in Gaucher disease: A novel surrogate marker for assessing therapeutic intervention. *Blood.* 2004;103:33–40, <http://dx.doi.org/10.1182/blood-2003-05-1612.Reprints>
- Lin N, Zhang H, Qiu W, Ye J, Han L, Wang Y, et al. Determination of 7-ketocholesterol in plasma by LC-MS for rapid diagnosis of acid SMase-deficient Niemann-Pick disease. *J Lipid Res.* 2014;55:338–43, <http://dx.doi.org/10.1194/jlr.D044024>
- Baila-Rueda L, Cenarro A, Barcelo-Batlloiri S, Pocióvi M, Ros E, Civeira F, et al. Simultaneous determination of oxysterols, phytosterols and cholesterol precursors by high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry in human serum. *Anal methods.* 2013;5:2249–57, <http://dx.doi.org/10.1039/C3AY26395A>
- Cebolla J, de Castro-Orós I, Irún P, Alfonso P, López de Frutos L, Andrade-Campos M, et al. Experience with 7-ketocholesterol and ccl18/parc as surrogated biomarkers in a series of Spanish Niemann-Pick disease type C patients. *Mol Genet Metab.* 2015;114:S29.
- Yamamoto T, Ninomiya H, Matsumoto M, Ohta Y, Nanba E, Tsutsumi Y, et al. Genotype-phenotype relationship of NPC: A possible correlation between clinical onset and levels of NPC1 protein in isolated skin fibroblasts. *J Med Genet.* 2000;37:707–11.
- Vanier MT, Latour P. Laboratory diagnosis of Niemann-Pick disease type C: The filipin staining test. *Methods Cell Biol.* 2015;126:357–75.
- Hamilton J, Jones I, Srivastava R, Galloway P. A new method for the measurement of lysosomal acid lipase in dried blood spots using the inhibitor Lalistat 2. *Clin Chim Acta.* 2012;413:1207–10, <http://dx.doi.org/10.1016/j.cca.2012.03.019>
- Van Diggelen OP, Voznyi YV, Keulemans JLM, Schoonderwoerd K, Ledvinova J, Mengel E, et al. A new fluorimetric enzyme assay for the diagnosis of Niemann-Pick A/B, with specificity of natural sphingomyelinase substrate. *J*

Inherit Metab Dis. 2005;28:733–41, <http://dx.doi.org/10.1007/s10545-005-0105-y>

15. Richards S, Aziz N, Bale S, Bick D, Das S, Gastier-Foster J, et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: A joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med*. 2015;17:405–24, <http://dx.doi.org/10.1038/gim.2015.30>

L. López de Frutos^{a,*}, J. Romero-Imbroda^b,
V. Rodríguez-Sureda^c
y P. Giraldo^d

^a Instituto de Investigación Sanitaria Aragón (IIS Aragón),
Unidad de Investigación Traslacional, Hospital
Universitario Miguel Servet, Zaragoza, España

^b Servicio de Neurología, Hospital Comarcal de Melilla,
Melilla, España

^c Centro de Investigación Biomédica en Red en
Enfermedades Raras (CIBERER), Centro de Investigaciones
en Bioquímica y Biología Molecular-Nanomedicina, Institut
de Recerca Hospital Vall d'Hebrón, Barcelona, España
^d Centro de Investigación Biomédica en Red en
Enfermedades Raras (CIBERER), Unidad de Investigación
Traslacional, Hospital Universitario Miguel Servet,
Zaragoza, España

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: llopezdefrutos.uit@gmail.com
(L. López de Frutos).

<https://doi.org/10.1016/j.nrl.2017.07.010>
0213-4853/

© 2017 Sociedad Española de Neurología. Publicado por Elsevier
España, S.L.U. Este es un artículo Open Access bajo la licencia CC
BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Tratamiento endovascular del ictus isquémico arterial en edad pediátrica: a propósito de un caso[☆]



Endovascular treatment of arterial ischaemic stroke in paediatric patients: A case-report

Sr. Editor:

El ictus isquémico de origen arterial en edad pediátrica es una entidad poco frecuente¹. No obstante, se considera una importante causa de discapacidad y mortalidad en este grupo de edad². La etiología en niños es, en general, diferente a la del ictus del adulto³. Las cardiopatías congénitas adquiridas son uno de los principales factores de riesgo asociados al ictus isquémico pediátrico⁴.

Por diversas razones se asocia a un importante retraso diagnóstico⁵, lo que junto a su baja prevalencia complica la realización de estudios randomizados de tratamiento en fase aguda.

Presentamos el caso de una niña de 13 años con antecedente de canal auriculoventricular completo diagnosticado al nacer que había requerido varias intervenciones quirúrgicas durante su infancia. Como resultado de estas operaciones era portadora de una válvula mitral protésica por lo que tomaba tratamiento anticoagulante con acenocumarol y había sido incluida, recientemente, en un programa de autocontrol de INR.

La paciente acudió a nuestro centro con una clínica de 45 min de evolución de síndrome hemisférico derecho completo. En una primera valoración en urgencias se constató una puntuación total en la escala National Institute of Health Stroke Scale (NIHSS) de 18, electrocardiograma en ritmo

sinusal y se realizó una determinación de INR mediante CoaguChek[®] con un resultado de 1,3.

A los 15 min de su llegada a urgencias se realizó una TC craneal basal con ASPECTS 9 y una angio-TC en el que se evidenció una oclusión en tándem en la arteria carótida interna proximal y porción M1 de la arteria cerebral media derecha.

Dada la edad pediátrica de la paciente y la evidencia de oclusión de gran vaso de poco tiempo de evolución se optó por tratamiento endovascular primario. Se realizó tromboctomía primaria con un tiempo puerta-punción femoral de 97 min. Tras el segundo pase de *stent retriever* se consiguió repermeabilización completa con flujo final TIC12b (fig. 1).

Cuatro horas después de la intervención se realizó una TC craneal en el que se evidenció una leve sufusión de contraste en ganglios basales y cisura de Silvio derecha. Al cabo de 3 meses del evento isquémico la paciente presentaba una leve paresia de la mano izquierda con modified Rankin Scale (mRs) de 1.

El tratamiento del ictus agudo en edad pediátrica es un tema controvertido en los últimos años.

En el 2015 se hizo pública la noticia del final del estudio TIPS, sobre trombólisis en ictus pediátrico, por falta de reclutamiento de pacientes dejándonos huérfanos de resultados indicativos sobre la eficacia y la seguridad de este tratamiento⁶.

Por otra parte, en el mismo año se publicó una revisión de las guías de la American Heart Association/American Stroke Association sobre el tratamiento en fase aguda del ictus isquémico en relación con el tratamiento endovascular, donde ya se contemplaba como razonable realizar tratamiento endovascular en pacientes menores de 18 años siempre y cuando presentaran una clínica de menos de 6 h de evolución y se demostrara una oclusión de gran vaso (Nivel de recomendación IIb y nivel de evidencia C)⁷.

Hasta hace poco, la única evidencia que soportaba el tratamiento endovascular en la edad pediátrica se basaba en casos clínicos y revisiones bibliográficas con el importante sesgo de publicación que conlleva⁸. Sin embargo, recientemente se ha publicado en la revista *Pediatric Neurology* el primer estudio retrospectivo poblacional en Estados

[☆] Trabajo presentado como póster el pasado 04/05/2017 en la
XXI Reunión de la Societat Catalana de Neurologia.