

## Enfermedad de depósito de ésteres de colesterol. Actualización del diagnóstico y el tratamiento

M.R. Mendoza Durán<sup>1</sup>, J. Pastor Rosado<sup>1</sup>, M.T. Fajardo Giménez<sup>2</sup>, I. Vázquez Pigueiras<sup>1</sup>, F.J. Canals Candela<sup>1</sup>, J. Abad Linares<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Servicio de Pediatría. <sup>2</sup>Servicio de Análisis Clínicos. Hospital General Universitario de Elche (Alicante)

### Resumen

La deficiencia parcial de la enzima lipasa ácida lisosomal (LAL) es una patología hereditaria, autosómica recesiva, del metabolismo de los lípidos que causa la enfermedad por depósitos de ésteres de colesterol (CESD, del inglés *cholesteryl ester storage disease*), caracterizada por la acumulación de ésteres de colesterol y triglicéridos en el hígado. El diagnóstico se realiza determinando la actividad de la LAL y/o las mutaciones del gen LAL (LIPA). La enfermedad se caracteriza por la aparición de una esteatosis microvesicular que conduce a la insuficiencia hepática, la aterosclerosis acelerada y una muerte prematura. Los pacientes presentan una elevación de colesterol total, c-LDL, triglicéridos y transaminasas con c-HDL bajo. Hasta ahora el tratamiento se realizaba con estatinas y, en última instancia, se efectuaba un trasplante de hígado. Se presenta el caso clínico de un paciente de 10 años de edad, diagnosticado de CESD mediante la determinación enzimática de la LAL en fibroblastos y el estudio de las mutaciones del gen LIPA. Además, se realiza una revisión actualizada de la literatura con el objetivo de presentar las nuevas técnicas diagnósticas y terapéuticas, como la determinación de la actividad de la LAL en muestra de sangre seca y el tratamiento de reposición enzimática con LAL recombinante humana.

**Palabras clave:** Enfermedad por depósito de ésteres de colesterol, lipasa ácida lisosomal, gen LAL, dislipemia, hepatomegalia.

### Abstract

*Title:* Cholesteryl ester storage disease. Updates in the diagnosis and treatment

The lysosomal acid lipase deficiency (LAL) is a genetic disorder of the lipid metabolism of autosomal recessive inheritance that causes cholesteryl ester storage disease (CESD) resulting of triglyceride and

Fecha de recepción: 17/01/14. Fecha de aceptación: 04/04/14.

**Correspondencia:** M.R. Mendoza Durán. Servicio de Pediatría. Hospital General Universitario de Elche. Camí de L'Almassera, 11. 03203 Elx (Alicante). Correo electrónico: mabelmendoza14@gmail.com

**Cómo citar este artículo:** Mendoza Durán MR, Pastor Rosado J, Fajardo Giménez MT, Vázquez Pigueiras I, Canals Candela FJ, Abad Linares J. Enfermedad de depósito de ésteres de colesterol. Actualización del diagnóstico y el tratamiento. Acta Pediatr Esp. 2015; 73(2): e31-e40.

**Conflicto de intereses:** Los autores participan en el ensayo clínico titulado «Estudio multicéntrico, aleatorizado, controlado por placebo de SBC-102 en pacientes con deficiencia de lipasa ácida lisosomal», con código LAL-CL02, promovido por Synageva BioPharma Corp. (EUDRACT 2011-002750-31).

cholesteryl ester accumulation, specifically in the liver. The diagnosis is carried out by liver biopsy and determining of LAL activity or LAL gene mutations (*LIPA*). The disease is defined by microvesicularsteatosis that provokes liver failure, accelerated atherosclerosis and premature death. The majority of patients has high levels of total serum cholesterol, LDL-cholesterol, triglycerides, and transaminases with low HDL-cholesterol and, until now, the treatment was statin support, and, as a last resort, the liver transplant. We have a clinical case of a 10 years old patient diagnosed of CESD by the determination of LAL activity in fibroblasts and study gene mutations *LIPA*. Was performed an updated review of the literature with the goal to present the new diagnostic and therapeutic techniques, including the determination of LAL activity in a dried blood sample and enzyme replacement therapy with recombinant human lysosomal acid lipase.

**Keywords:** Cholesteryl ester storage disease, lysosomal acid lipase, LAL gene, dyslipidemia, hepatomegaly.

## Introducción

La enfermedad por depósito de ésteres de colesterol (*cholesteryl ester storage disease* [CESD] (Online Mendelian Inheritance in Man [OMIM] 278000) es una enfermedad de depósito lisosomal causada por la deficiencia parcial de la enzima lipasa ácida lisosomal (LAL)<sup>1</sup>. La LAL es una enzima fundamental para el metabolismo lipídico y su deficiencia produce la acumulación de ésteres de colesterol y triglicéridos, especialmente en el hígado y el sistema reticuloendotelial. Fue descrita en 1963, y sus principales manifestaciones clínicas son la hepatomegalia con hipertransaminasemia, que conduce a la fibrosis hepática, y la dislipemia con hiperlipoproteinemia tipo IIb, que predispone a estos pacientes a presentar arterioesclerosis precoz<sup>2,3</sup>. Exponemos el caso de un niño de 10 años de edad, con hepatomegalia e hiperlipoproteinemia tipo IIb, diagnosticado de CESD mediante un estudio enzimático y genético. Además, realizamos una completa revisión de las nuevas posibilidades diagnósticas y terapéuticas de esta enfermedad.

## Caso clínico

Varón de 10 años de edad, remitido a nuestra consulta por presentar hepatomegalia y dislipemia. Los padres no son consanguíneos y no presenta antecedentes personales y familiares de interés. En la somatometría se determinaron los siguientes parámetros: peso 26,2 kg (p3), score Z peso -1,32; talla 128 cm (p <3), score Z talla -2,07; índice de masa corporal (IMC) 15,97 (p15), score Z IMC -0,84. En la exploración física se observaba una buena coloración mucocutánea y una piel seca, sin ictericia. En la palpación abdominal se apreciaba una hepatomegalia de 5 cm y una esplenomegalia de 2 cm. Los genitales externos eran masculinos, con estadio de Tanner G1, P1. En las pruebas complementarias se determinaron los siguientes parámetros: ALT 192 U/L, AST 161 U/L, cociente ALT/AST 1,19, GGT 46 U/L, colesterol total (CT) 405 mg/dL, c-HDL 40 mg/dL, c-LDL 312 mg/dL, triglicéridos 188 mg/dL,

apolipoproteína A1 101 mg/dL, apolipoproteína B 194 mg/dL, cociente apoB/apoA1 1,92. El resto de la bioquímica (hemograma, PCR, TSH, CK, proteínas totales, inmunoglobulinas, metabolismo férrico y del cobre) resultó normal, así como el estudio de la función suprarrenal. Los anticuerpos antitransglutaminasa, ANA, ASMA y LKM resultaron negativos, así como la serología para virus hepatotropos.

Se realizó una ecografía abdominal, en la que se informaba de un hígado homogéneo, con un lóbulo derecho de 12 cm de longitud craneocaudal y de 7 cm en el lóbulo izquierdo, con ecoestructura normal; bazo homogéneo de 10 cm de longitud craneocaudal; suprarrenales sin calcificaciones. Se complementó el estudio con una resonancia magnética (RM), en la que se visualizaba sólo una hepatomegalia uniforme, y una elastografía de transición, en la que no se identificaba fibrosis (F 0) con un valor medio de rigidez de 5,4 kPa.

Con la sospecha de enfermedad por depósito lisosomal, se realizó una biopsia de piel para determinar la actividad enzimática de la lipasa ácida lisosomal (LAL) en fibroblastos (tabla 1), que mostraba una actividad residual de oleato lipasa del 10,1% y de palmitato lipasa del 8,2%, lo que apoyaba el diagnóstico de CESD. Confirmada la deficiencia de LAL, se realizó un estudio genético del gen *LIPA* (OMIM 613497), detectándose 2 variantes patogénicas en heterocigosis: la mutación c.398delC;p.Ser133X y la mutación c.894G>A;p.Gln298Gln;r.spl? (figura 1).

Se inició tratamiento con dieta y resinolectiramina. Ante la persistencia de niveles altos de CT y c-LDL, con mala tolerancia a las resinas, se cambió el tratamiento por atorvastatina, con lo que se obtuvo la normalización del CT y el c-LDL, aunque persistió el c-HDL bajo, con cocientes apoB/apoA1 y ALT/AST elevados (figura 2).

## Discusión

La CESD es un trastorno genético autosómico recesivo, causado por mutaciones en el gen *LIPA*, localizado en el cromosoma 10q23.31. Esta enfermedad se caracteriza por un déficit parcial de la actividad de la LAL, enzima responsable del metabolismo y la degradación de los lípidos en los lisosomas<sup>2</sup>. Según la bibliografía reciente, tiene una incidencia estimada de 1/40.000 casos, aunque se trata de una patología infradiagnosticada<sup>4</sup>.

Cuando la actividad enzimática es nula o menor del 1%, se produce la enfermedad de Wolman (EW). Los pacientes con EW suelen nacer asintomáticos, son de padres consanguíneos, y desarrollan a las pocas semanas de vida una afección sistémica de evolución rápida y letal. Presentan síntomas digestivos, estancamiento ponderal, hepatoesplenomegalia y esteatorrea; además, son características las calcificaciones adrenales<sup>2,5</sup>.

En cambio, la deficiencia parcial de LAL, o CESD, es de comienzo tardío, por lo que puede pasar inadvertida hasta la edad adulta, diagnosticada con frecuencia una vez desarrolladas las complicaciones. Las principales manifestaciones, como en el caso expuesto, son la hepatomegalia debida a una esteatosis por depósito de lípidos intracelulares, presente en el 99% de los casos publicados, que puede progresar a fibrosis, cirrosis e insuficiencia hepática, y la hiperlipemia, descrita en el 95% de los casos, que puede producir arterioesclerosis y enfermedad cardiovascular precoz debido a la hiperlipoproteinemia tipo II b, secundaria a la regulación positiva de la enzima HMG-CoA-reductasa y a la expresión del gen receptor de c-LDL<sup>6</sup>. Ambos procesos son inducidos por los bajos niveles de colesterol libre intracelular, pese al depósito intralisosomal, lo que conlleva un aumento de la síntesis de colesterol y producción de lipoproteínas LDL<sup>7</sup> (figura 3). Otro hallazgo frecuente es la esplenomegalia, descrita en el 74% de los pacientes<sup>6</sup>. Sin embargo, las calcificaciones adrenales, características de la EW, sólo se han comunicado en 9 casos de CESD<sup>6</sup>. En el intestino, los depósitos de lípidos en la mucosa pueden producir un síndrome de malabsorción<sup>8</sup>, con ferropenia y estancamiento ponderal.

Anatomopatológicamente, el hígado presenta una esteatosis microvesicular difusa y cristales de ésteres de colesterol, hallazgo típico en la biopsia hepática<sup>9</sup>. En este caso empleamos la ecografía y la RM para valorar la esteatosis hepática, y la elastografía de transición<sup>10,11</sup> para medir el grado de fibrosis, técnica que permite una valoración completa del hígado. El carácter no invasivo de estas técnicas, su seguridad y la buena aceptación por parte de los pacientes, las convierte en idóneas para el seguimiento y la monitorización de la afectación hepática.

La mortalidad en la EW se produce entre los 3 y los 12 meses en el 90% de los casos; por el contrario, en la CESD la supervivencia es más prolongada, y la causa de la muerte, que puede producirse a partir de la segunda década, suele ser una insuficiencia hepática<sup>6</sup>.

Para evitar el diagnóstico tardío de CESD es necesario incluir esta enfermedad en el diagnóstico diferencial del hígado graso. En todos los niños con hepatomegalia e hiperlipemia (especialmente en la hiperlipoproteinemia tipo IIb), asociada al síndrome metabólico e hígado graso, deberá descartarse un déficit de la LAL. El diagnóstico y el tratamiento precoz puede evitar el desarrollo de algunas complicaciones (enfermedad cardiovascular precoz), retrasar otras (fibrosis hepática) y, a su vez, permitirá ofrecer un asesoramiento genético a la familia.

Al confirmarse el déficit de LAL, debe realizarse el estudio genético del gen *LIPA*, aunque no se ha establecido una correlación genotipo/fenotipo en los pacientes con CESD. Este caso presentaba 2 mutaciones patogénicas en heterocigosis (figura 1): en el exón 4 la mutación c.398delC;p.Ser133X, que produce una proteína truncada no funcional, ya descrita en la EW, y en el exón 8 la mutación c.894G>A;p.Gln298Gln;r.spl?, que produce una enzima con actividad residual, no descrita previamente en las bases de datos públicas disponibles<sup>12,13</sup>. Las mutaciones en el exón 8 (*exon 8 splice-junction*

*mutation*), denominada E8SJM-<sup>1G>A</sup>, se han descrito frecuentemente en pacientes de origen caucásico. La presencia del alelo E8SJM-<sup>1G>A</sup> codifica una enzima con actividad residual que protege a estos pacientes de la EW, independientemente de la gravedad de la otra mutación<sup>6,14</sup>.

Algunos estudios recientes sugieren que los portadores heterocigotos de la mutación causante de CESD son más comunes de lo estimado previamente. El cribado de E8SJM-<sup>1G>A</sup>, que supone el 50-60% de las mutaciones causantes de CESD, presenta una frecuencia de heterocigosis de 1/200 en la población sana centroeuropea, y ha permitido estimar una incidencia de la enfermedad de 1/40.000<sup>3,14</sup>.

Se recomienda realizar un estudio genético de las alteraciones encontradas en los familiares directos de los afectados, y se puede hacer el diagnóstico prenatal del déficit de LAL en células del líquido amniótico entre las semanas 16 y 20 de gestación<sup>15</sup>. Actualmente también se dispone de un ensayo LAL específico, que determina la actividad LAL en una muestra de sangre seca en papel filtro (Dried Blood Spot, Labcorp R), que distingue los individuos sanos de los homocigotos y heterocigotos<sup>16</sup>.

Respecto al tratamiento, hasta ahora los esfuerzos iban dirigidos a disminuir la producción de colesterol y reducir el riesgo de aterosclerosis mediante dieta y administración de colestiramina, estatinas y ezetimiba<sup>17</sup>, pero estos fármacos no corrigen el déficit enzimático ni previenen el depósito de lípidos. El trasplante hepático se reserva para los casos de afectación hepática grave, aunque su indicación deberá ser individualizada<sup>18</sup>, ya que en la CESD el defecto enzimático se produce en todas las células y el trasplante sólo lo corregiría en el hígado.

En el paciente del presente caso iniciamos tratamiento con dieta y resincolestiramina. Ante la falta de respuesta (figura 2), se sustituyó por atorvastatina, que reduce la síntesis de colesterol y la producción de apolipoproteína B, disminuyendo el CT, el c-LDL y los triglicéridos<sup>6</sup>. Sin embargo, este tratamiento no mejora la hipertransaminasemia, la hepatomegalia ni los depósitos de ésteres de colesterol y triglicéridos en los tejidos. Tampoco aumenta los niveles de c-HDL y apolipoproteína A1, que están disminuidos en la CESD por la regulación negativa de la proteína transportadora ABCA1, la cual, en condiciones fisiológicas, es regulada por los oxisteroles que activan los receptores hepáticos LX<sup>19</sup> (figura 3).

Aunque en la actualidad no hay ningún tratamiento aprobado para la CESD, recientemente se ha desarrollado una terapia enzimática sustitutiva, sobre la que se ha publicado un estudio realizado en 9 pacientes adultos, con buena respuesta y sin efectos secundarios graves<sup>20</sup>. Un estudio internacional multicéntrico ha reclutado a 50 pacientes para participar en un ensayo clínico (en fase 3) que evaluará la terapia de reemplazo enzimático con LAL recombinante humana (sebelipasa alfa), en el que se ha incluido el paciente del presente caso. El tratamiento de reposición enzimática podría lograr que se libere colesterol de los lisosomas, lo que produciría un aumento del colesterol libre intracelular, evitaría la regulación positiva de la enzima HMG-CoA-reductasa<sup>7</sup> y también aumentaría la producción de

oxiesteroles, que activarían los receptores hepáticos LX, y éstos la proteína transmembrana ABCA1, elevando los niveles de apoA1 y c-HDL<sup>19</sup>.

En conclusión, la disponibilidad de un test rápido para estudiar la actividad LAL en una muestra de sangre seca permitirá establecer un diagnóstico precoz. El seguimiento de la fibrosis con RM y elastografía de transición podría evitar la realización de una biopsia hepática, y el desarrollo de la terapia de reemplazo con LAL recombinante podría permitir un tratamiento global de la enfermedad, disminuyendo la afectación hepática y consiguiendo una normalización completa del perfil lipídico que no se logra con el tratamiento farmacológico actual.

### **Agradecimientos**

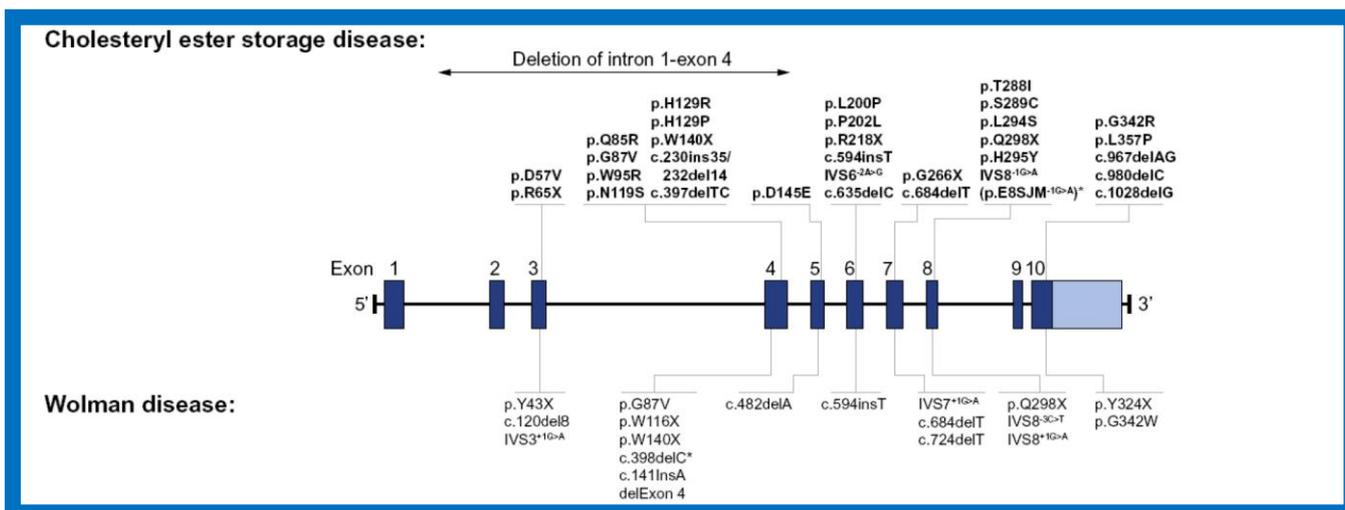
Queremos expresar nuestro agradecimiento a la Dra. Gort Mas, del Institut de Bioquímica Clínica de Barcelona, por la realización de las determinaciones enzimáticas, y a la Dra. García Bautist, del Centro Inmunológico de Alicante, por la realización de las determinaciones genéticas.

### **Bibliografía**

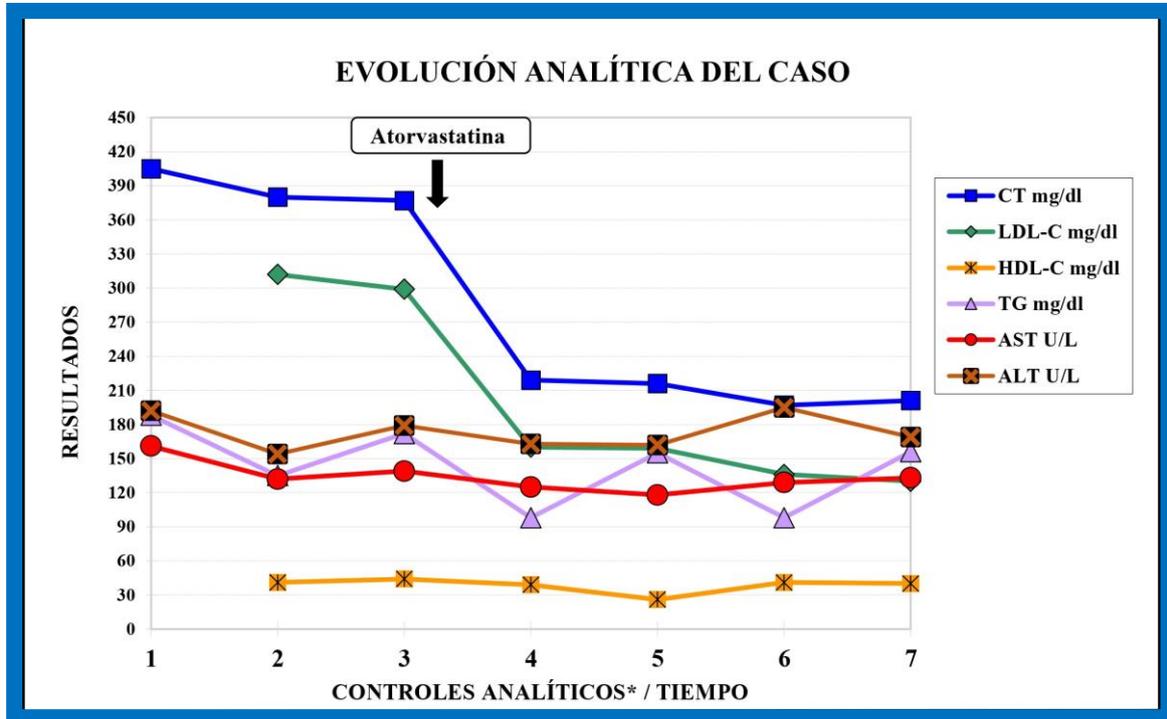
1. Anderson RA, Bryson GM, Parks JS. Lysosomal acid lipase mutations that determine phenotype in woman and cholesterol ester storage disease. *Mol Genet Metab.* 1999; 68: 333-345.
2. Fredrickson DS. Newly recognized disorders of cholesterol metabolism. *Ann Intern Med.* 1963; 58: 718.
3. Grabowski GA, Charnas L, Du H. Lysosomal acid lipase deficiencies: the Wolman disease/cholesteryl ester storage disease spectrum. En: Scriver Valle D, Beaudet AL, Vogelstein B, Kinzler KW, Antonarakis SE, Ballabio A, eds. *The online metabolic and molecular bases of inherited disease (OMMBID)*. Nueva York: McGraw-Hill, 2012. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1036/ommbid.172>
4. Zhang B, Porto AF. Cholesteryl ester storage disease: protean presentations of lysosomal acid lipase deficiency. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2013; 56: 682-685.
5. Silveira Cancela M, Andrés Andrés AG, Rodicio García M, Abadi Abadi A, Rodríguez Sáez MJ. Lactante con escaso aumento ponderal y hepatomegalia. *An Pediatr (Barc).* 2007; 66: 201-202.
6. Bernstein DL, Hülkova H, Bialer MG, Desnick RJ. Cholesteryl ester storage disease: review of the findings in 135 reported patients with an under diagnosed disease. *J Hepatol.* 2013; 58: 1.230-1.243.
7. Cummings MH, Watts GF. Increased hepatic secretion of very-low-density lipoprotein apolipoprotein B-100 in cholesteryl ester storage disease. *Clin Chem.* 1995; 41: 111-114.

8. Fernández Aragón M, Cervantes Bustamante R, De León Bojorge B, Zarate Mondragón F, Mata Rivera N, Montijo Barrios E, et al. Enfermedad por depósitos de ésteres de colesterol. *Rev Gastroenterol Mex.* 2004; 69: 171-175.
9. Hulkova H, Elleder M. Distinctive histopathological features that support a diagnosis of cholesterol ester storage disease in liver biopsy specimens. *Histopathology* 2012; 60: 1.107-1.113.
10. Asensio del Barrio C, Polo de Santos MM, Luengo Matos S, Sánchez Gómez L, Alcázar Alcázar R. Elastografía de transición (FibroScan®) en el diagnóstico de fibrosis hepática: revisión sistemática y metaanálisis. IPE 59/09. Madrid: Agencia de Evaluación de Tecnologías Sanitarias (AETS)-Instituto de Salud Carlos III, Ministerio de Ciencia e Innovación, 2009.
11. Wong GL, Wong VW, Choi PC, Chan AW, Chum RH, Chan HK, et al. Assessment of fibrosis by transient elastography compared with liver biopsy and morphometry in chronic liver diseases. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2008; 6: 1.027-1.035.
12. Lohse P, Maas S, Lohse P, Elleder M, Kirk JM, Besley GT, et al. Compound heterozygosity for a Wolman mutation is frequent among patients with cholesteryl ester storage disease. *J Lipid Res.* 2000; 41: 23-31.
13. Stenson PD, Mort M, Ball EV, Howells K, Phillips AD, Thomas NS, et al. The human gene mutation database: 2008 update. *Genome Med.* 2009; 1: 13.
14. Muntoni S, Wiebusch H, Jansen-Rust M, Rust S, Schulte H, Berger K, et al. Heterozygosity for lysosomal acid lipase E8SJM mutation and serum lipid concentrations. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2013; 23: 732-736.
15. Van Diggelen OP, Von Koskull H, Ammälä P, Vredevelde GT, Janse HC, Kleijer WJ. First trimester diagnosis of Wolman's disease. *Prenat Diagn.* 1988; 8: 661-663.
16. 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: 1.207-1.210.
17. Tadiboya VT, Liu DM, Miskie BA, Wang J, Hegele RA. Treatment of dyslipidemia with lovastatin and ezetimibe in an adolescent with cholesterol ester storage disease. *Lipids Health Dis.* 2005; 4: 26.
18. Leone L, Ippoliti PF, Antonicelli R, Balli F, Gridelli B. Treatment and liver transplantation for cholesterol ester storage disease. *J Pediatr.* 1995; 127: 509-510.
19. Bowden KL, Bilbey NJ, Bilawchuk LM, Boadu E, Sidhu R, Ory DS, et al. Lysosomal acid lipase deficiency impairs regulation of ABCA1 gene and formation of high density lipoproteins in cholesteryl ester storage disease. *J Biol Chem.* 2011; 286: 30.624-30.635.
20. Balwani M, Breen C, Enns GM, Deegan PB, Honzik T, Jones S, et al. Clinical effect and safety profile of recombinant human lysosomal acid lipase in patients with cholesteryl ester storage disease. *Hepatology.* 2013; 58: 950-957.

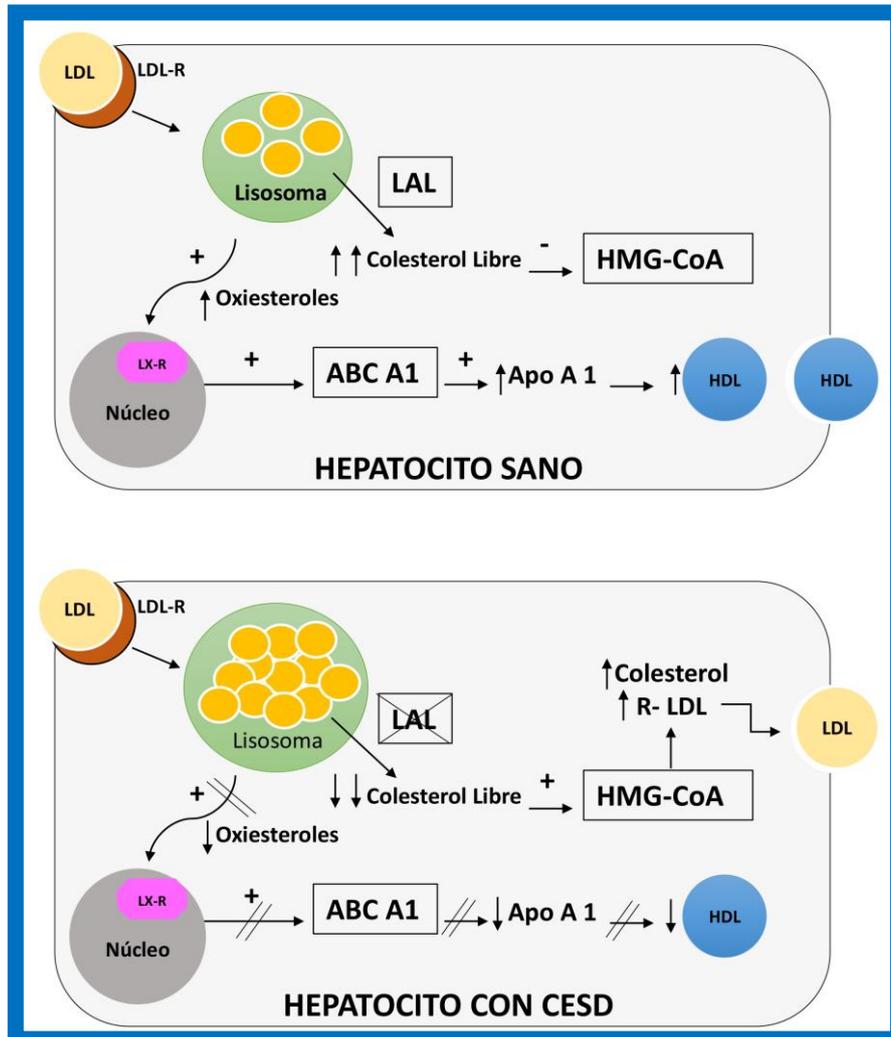
<b>TABLA 1</b> Actividad enzimática lisosomal en fibroblastos mediante determinación espectrofotométrica / fluorimétrica (metil-umbeliferona). Unidades: nmol / (h*mg prot.)			
Enzimas	Resultados	Control 1	Valor de referencia
Oleato lipasa	167,05	644,38	(534-3.226)
Palmitato lipasa	85,87	1.043,37	(320-2.563)



**Figura 1.** Mutaciones del gen LIPA en pacientes con CESD y WD<sup>13</sup>. \*Mutaciones encontradas en nuestro paciente. CESD: enfermedad por depósitos de ésteres de colesterol; WD: enfermedad de Wolman



**Figura 2.** Evolución analítica del caso. Inicialmente se pautó tratamiento con dieta y posteriormente con estatinas (flecha). \*Los controles analíticos se han realizado cada 3-4 meses



**Figura 3.** Mecanismo de acción de la LAL en el metabolismo lipídico. ABCA1: ATP-binding cassette transporter A1 (trifosfato de adenosina de la proteína de membrana A1); Apo A1: apolipoproteína A1; HMG-CoA: enzima hidroxil-3-metil-glutaril coenzima A reductasa; LAL: lipasa ácida lisosomal; LDL-R: receptor de c-LDL; LXR: receptor nuclear hepático X