

Proyecto FIND. Resultados del primer año de trabajo en la detección precoz de las mucopolisacaridosis

C. Colón Mejeras, J.V. Álvarez González, M.L. Couce Pico

Unidade de Diagnóstico e Tratamento das Enfermidades Conxénitas do Metabolismo. Xerencia de Xestión Integrada de Santiago de Compostela. IDIS. Santiago de Compostela (A Coruña)

Resumen

En el verano de 2014, en colaboración con la Asociación MPS España, iniciamos el proyecto FIND, para la realización de un cribado basado en la detección de síntomas de mucopolisacaridosis (MPS) en la población infantil.

El cribado se efectúa determinando los niveles de glicosaminoglicanos (GAG) en una muestra de orina impregnada en papel analítico. Gracias a la participación de los pediatras españoles, hemos recibido muestras de 71 pacientes y hemos logrado identificar 4 casos de MPS correspondientes a los tipos I, II, III y VI.

La determinación de GAG en una muestra de orina impregnada en papel es un método de cribado de MPS rápido, simple y fiable.

©2015 Ediciones Mayo, S.A. Todos los derechos reservados.

Palabras clave

Cribado, mucopolisacaridosis (MPS), glicosaminoglicanos (GAG), orina

Abstract

Title: The FIND project, first year's results for mucopolysaccharidosis early detection

Since summer 2014, we start the FIND project. This project is result of collaboration with the Asociación MPS España to perform a screening based on symptoms in children.

The screening is currently underway determining the glycosaminoglycans (GAG) levels in a urine sample impregnated on paper. Through participation of Spanish pediatricians, we have received 71 samples and we have been identified 4 cases of mucopolysaccharidosis (MPS): one for each of following types I, II, III and VI.

The GAG's determination using urine-impregnated filter paper seems a fast, simple and reliable MPS screening.

©2015 Ediciones Mayo, S.A. All rights reserved.

Keywords

Screening, mucopolysaccharidosis (MPS), glycosaminoglycans (GAG), urine

Introducción y objetivos

Las mucopolisacaridosis (MPS) son enfermedades multisistémicas, crónicas y progresivas, que representan un grupo heterogéneo de afecciones dentro del gran grupo de enfermedades raras (poco frecuentes) y, por ello, de difícil diagnóstico debido a que no suelen estar presentes en la mente de los pediatras, médicos de familia o internistas como primeras opciones. Los retrasos en su diagnóstico son muy frecuentes¹, sobre todo por el hecho de ser percibidas desde los consultorios como signos y síntomas independientes tratados de forma aislada. Debemos tener presente que en la mayoría de las MPS, además de unas formas severas, puede haber unas formas más atenuadas de presentación más tardía en las que los síntomas se hacen más confusos con otras enfermedades y el diagnóstico resulta más difícil. Por ello, es importante desarrollar propuestas clínicas como algoritmos diagnósticos que incluyan pruebas para ayudar a los diferentes especialistas que están en contacto con estos pacientes a considerar una posible MPS específica².

En el verano de 2014 iniciamos en la Unidad de Diagnóstico y Tratamiento de Enfermedades Metabólicas Congénitas del Complejo Hospitalario Universitario de Santiago un proyecto con la colaboración de la Asociación MPS España y el aval de la Federación Española de Enfermedades Raras (FEDER), para detectar posibles casos de MPS y evaluar su prevalencia en nuestro medio, además de colaborar para establecer un diagnóstico precoz³.

Este proyecto de cribado se está realizando sobre población pediátrica de riesgo, basándose en criterios clínicos para llegar hasta la prueba confirmatoria diagnóstica adecuada. Esto es, aquellos casos en que los pediatras observen signos y/o síntomas clínicos compatibles con una MPS.

El pediatra tiene la iniciativa y, tras una solicitud de los *kit* diagnósticos, se le entrega todo el material necesario para la recogida de muestras biológicas de orina y sangre (si así lo desea), el modelo de consentimiento informado que debe recabar y conservar, así como una pequeña guía clínica de los sig-

TABLA 1

Valores normales de GAG en orina según el grupo de edad

Edad (años)	GAG/creatinina (mg/mmol)
<1	<52
1-3	<30
3-5	<21
5-7	<14
7-14	<12
>14	<7

GAG: glicosaminoglicanos.

TABLA 2

GAG en orina elevados según el tipo de MPS

MPS	GAG en orina
I y II	<ul style="list-style-type: none"> • Dermatán sulfato • Heparán sulfato
IIIA, IIIB, IIIC y IIID	<ul style="list-style-type: none"> • Heparán sulfato
IVA	<ul style="list-style-type: none"> • Keratán sulfato • Condroitín 6-sulfato
IVB	<ul style="list-style-type: none"> • Keratán sulfato
VI	<ul style="list-style-type: none"> • Dermatán sulfato
VII	<ul style="list-style-type: none"> • Dermatán sulfato • Heparán sulfato • Condroitín 4-, 6-sulfato

GAG: glicosaminoglicanos; MPS: mucopolisacaridosis.

nos y síntomas de alerta a tener en consideración. El material de recogida de muestra consiste en papel analítico Whatman® 903 para toma de muestras de sangre y orina, que se remite a nuestro centro por correo ordinario.

Se trata de una herramienta puesta a disposición de los pediatras como cribado selectivo para ayudar a poder identificar posibles casos de MPS.

Método

La prueba de cribado se realiza sobre una muestra de orina impregnada en papel analítico Whatman® 903. Mediante una técnica colorimétrica se cuantifican los glicosaminoglicanos (GAG), en concreto con la reacción con azul de dimetileno (DMB), que ha demostrado ser un método rápido, económico, simple y fiable⁴.

Para ajustar los niveles absolutos de GAG a la concentración de la orina se procede a determinar simultáneamente la creatinina urinaria. La cuantificación de la creatinina se realiza mediante otro test colorimétrico clásico, la reacción de Jaffé⁵, o reacción del ácido pírico.

TABLA 3

Diagnóstico de MPS a través del cribado selectivo

Edad (años)	GAG/creatinina (mg/mmol)	Resultado
1	50	MPS-VI
1	116	MPS-I
9	24	MPS-IIIACD
10	33	MPS-II

GAG: glicosaminoglicanos; MPS: mucopolisacaridosis.

Todas las muestras que habían presentado un valor de creatinina <20 mg/dL se consideraron orinas diluidas, y todas aquellas con un valor >200 mg/dL se consideraron orinas concentradas. En ambos casos la concentración final de GAG se indicó como poco precisa.

De esta manera los niveles de GAG se refieren a los valores de creatinina. Los valores de referencia varían según la edad del niño. Tras analizar 145 muestras de orina de diferentes niños, hemos establecido como valores de referencia de nuestra población los que se muestran en la tabla 1.

Ante unos GAG elevados, se solicita nueva muestra de orina, esta vez líquida para la confirmación e identificación de los GAG presentes mediante electroforesis. El esquema de aproximación diagnóstica se muestra en la tabla 2.

Ante la sospecha de una MPS específica dentro del proyecto, se realiza sobre la muestra de sangre impregnada en papel la determinación de las actividades enzimáticas de las siguientes MPS: tipo I (alfaiduronidasa), tipo II (iduronato sulfatasa), tipo IIIB (N-acetil-glucosaminidasa), tipo IVA (galactosa-6-sulfato sulfatasa), tipo IVB (betagalactosidasa), tipo VI (arilsulfatasa-B) y tipo VII (betaglucuronidasa).

La metodología analítica es fluorométrica, añadiendo un sustrato marcado con 4-metil-umbeliferona, siguiendo las técnicas de Néstor Chamoles⁶.

Resultados

Se envió un total de 235 kits, correspondientes a otras tantas solicitudes procedentes de toda España: 120 desde el ámbito hospitalario, 99 desde centros de atención primaria y 16 desde consultorios privados.

Se recibieron muestras de 71 pacientes procedentes de 23 provincias diferentes. En todas ellas se les determinaron los niveles de creatinina y GAG.

El rango de edad se estableció entre 0 y 19 años. La distribución por edades se muestra en la figura 1.

Con 1 año de evolución del estudio, se encontraron niveles normales de GAG para la edad en 58 casos. En 13 casos se encontraron niveles que superaban el punto de corte para la edad, de los que 7 se consideraron no valorables por tener

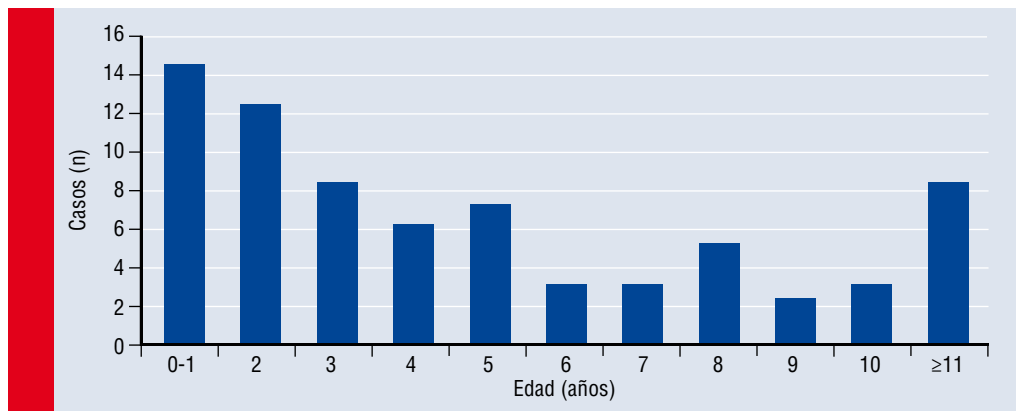


Figura 1. Edades de los pacientes del estudio

unos niveles de creatinina fuera de los límites aceptables: 6 por estar muy diluida y en 1 caso por estar muy concentrada; 2 casos aún están en proceso de estudio.

Se han logrado identificar 4 casos de MPS, correspondientes a los tipos I, II, III y VI, respectivamente (tabla 3). Todos ellos, salvo el caso de MPS-III, presentaron actividades enzimáticas por debajo del valor de referencia. El caso de síndrome de Sanfilippo está todavía pendiente de confirmación debido a que en la electroforesis de orina sólo se identifica dermatán, lo que orienta a esta patología. Sin embargo, mediante determinación enzimática sólo se ha podido descartar la MPS-IIIB al presentar valores normales de N-acetil-glucosaminidasa.

Conclusiones

La determinación de GAG en una muestra de orina impregnada en papel se muestra como un cribado rápido, simple y fiable, y muchísimo más económico que el realizado con otras técnicas que, aunque son más precisas⁷, cuando se emplean como cribado^{8,9} tienen un coste más elevado.

La identificación de 2 casos de MPS a la edad de 1 año hace que el cribado selectivo basado en síntomas parezca válido para adelantar el diagnóstico de las MPS. El diagnóstico más tardío de otros 2 casos a los 9 y 10 años de edad nos lleva a pensar que la eficacia de este tipo de cribados se vería muy mejorada con la adecuada información y concienciación de los pediatras para poder participar en él. ■

Bibliografía

1. Krawiec P, Pac-Kożuchowska E, Mełges B, Mroczkowska-Juchkiewicz A, Skomra S, Pawłowska-Kamieniak A, et al. From hypertransaminasemia to mucopolysaccharidosis IIIA. *Ital J Pediatr*. 2014; 40: 97.
2. Delgado V, O'Callaghan MM, Gort L, Coll MJ, Pineda M. Natural history of Sanfilippo syndrome in Spain. *Orphanet J Rare Dis*. 2013; 8: 189.
3. Colón Mejeras C. Proyecto FIND: La importancia de un diagnóstico precoz. *Acta Pediatr Esp*. 2015; 73(3): 56-59.
4. Afyoncu E, Yilmaz G, Yilmaz FM, Yücel D. Performance of different screening methods for the determination of urinary glycosaminoglycans. *Clin Chem Lab Med*. 2013; 51(2): 347-350.
5. Jaffé M. Ueber den Niederschlag, welchen Pikrinsäure im normalen Harn erzeugt, und über eine neue Reaction des Kreatinins. *Zeitschrift für Physiologische Chemie*. 1886; 10: 391-400.
6. Chamoles NA, Blanco MB, Gaggioli D, Casentini C. Hurler-like phenotype: enzymatic diagnosis in dried blood spots on filter paper. *Clin Chem*. 2001; 47(12): 2.098-2.102.
7. Tomatsu S, Shimada T, Mason RW, Kelly J, LaMarr WA, Yasuda E, et al. Assay for glycosaminoglycans by tandem mass spectrometry and its applications. *J Anal Bioanal Tech*. 2014; 2014(Supl 2): 006.
8. Tomatsu S, Fujii T, Fukushi M, Oguma T, Shimada T, Maeda M, et al. Newborn screening and diagnosis of mucopolysaccharidoses. *Mol Genet Metab*. 2013; 110(1-2): 42-53.
9. Langereis EJ, Wagemans T, Kulik W, Lefeber DJ, Van Lenthe H, Oussoren E, et al. A multiplex assay for the diagnosis of mucopolysaccharidoses and mucopolipidoses. *PLoS One*. 2015; 10(9): e0138622.