

CURSO "ON LINE" DE CRIBADO NEONATAL

1ª edición



SOCIEDAD ESPAÑOLA DE BIOQUÍMICA CLÍNICA
Y PATOLOGÍA MOLECULAR

MODULO III

TEMA 7: Deficiencia de Biotinidasa

Daisy E. Castiñeiras Ramos
Laboratorio de Metabolopatías
Unidad de Diagnóstico y Tratamiento de
Enfermedades Metabólicas Congénitas
Hospital Clínico Universitario
Santiago de Compostela

1. INTRODUCCIÓN

La deficiencia en Biotinidasa (BTD) (MIM# 253260) es un desorden autosómico recesivo que frecuentemente se manifiesta en la infancia, cuyo hecho fisiopatológico central radica en una alteración del metabolismo de la biotina que origina una deficiencia múltiple en carboxilasas. Sus consecuencias metabólicas características son debidas al papel que las carboxilasas juegan en la gluconeogénesis, síntesis de ácidos grasos y catabolismo de aminoácidos. Su espectro clínico es amplio e inespecífico, predominando los signos dermatológicos y neurológicos. El diagnóstico se realiza midiendo la actividad de la biotinidasa (E.C.3.5.1.12). (1,2).

La deficiencia en biotinidasa reúne la mayoría de los criterios para incluirla en cribado neonatal: a) el niño afectado no exhibe síntomas al nacer, b) la enfermedad produce severos daños neurológicos c) el tratamiento de estos pacientes consiste en la administración oral de dosis farmacológicas de biotina, lo cual evita la aparición de los síntomas y el desarrollo normal del paciente d) un ensayo simple y de bajo coste e) la incidencia es de 1:60.000 recién nacidos vivos. (3,4).

2. FISIOPATOLOGÍA

2.1. Alteración metabólica: Dentro del ciclo de la biotina se han descrito dos defectos genéticos: Deficiencia de Holocarboxilasa Sintetasa (HLCS) y Deficiencia de Biotinidasa (BTD) y ambos provocan una deficiencia múltiple de carboxilasas (DMC). Las 5 carboxilasas dependientes de biotina son: la piruvato carboxilasa (PC), propionil-CoA carboxilasa (PCC), 3-metilcrotonil CoA carboxilasa (MCC) y acetil CoA carboxilasa (isoformas ACC-1 y ACC-2). Todas son enzimas mitocondriales excepto la ACC-2, que es citosólica. Las carboxilasas son degradadas por acción de las proteasas hasta pequeños biotinilpéptidos y biocitina (biotinil-lisina), sobre los que actúa la biotinidasa, liberándose lisina, lisilpéptidos y biotina, que puede ser reutilizada (fig.1) (4). La biotinidasa también actúa en el procesamiento de la biotina unida a proteínas de la dieta, incorporándose ésta al reservorio de biotina libre. La biotina está presente en muchos alimentos (carne, yema de huevo, hígado, etc.) y también existe una producción

endógena (flora intestinal). La absorción de esta vitamina se produce en el intestino delgado y es transportada por la sangre hasta la célula (5).

En los últimos años, numerosas investigaciones realizadas sugieren que la biotina es necesaria para el control de la expresión génica de varias enzimas implicadas en la glucólisis, gluconeogénesis, transporte de vitaminas, factores de transcripción y el metabolismo de la propia biotina (6). Por ello, el papel de la biotina no sólo como cofactor de carboxilasas sino también como reguladora de la expresión génica de numerosas enzimas, le confieren una especial importancia en los procesos biológicos relacionados con el desarrollo, homeostasis celular y regulación.

Las carboxilasas están implicadas en los procesos de gluconeogénesis, lipogénesis, síntesis de neurotransmisores y secreción de insulina (PC), síntesis y oxidación de ácidos grasos de cadena larga (ACC-1 y ACC-2), oxidación de ácidos grasos de cadena impar (PCC) y catabolismo de varios aminoácidos (MCC, PCC). Por ello, su deficiencia da lugar a importantes alteraciones metabólicas, síntomas neurológicos y dermatológicos así como un perfil característico y diagnóstico de ácidos orgánicos urinarios (7). Las deficiencias múltiples de carboxilasas se clasificaron inicialmente en función de la edad de inicio de la presentación clínica como, presentación *temprana o neonatal* y presentación *tardía o juvenil*, aunque hay solapamiento en la edad de comienzo de las dos entidades. La mayoría de los pacientes con la forma temprana son deficientes en HLCS, mientras que la mayoría de los casos con la forma tardía, el defecto primario es la BTB.

La biotinidasa actúa sobre los pequeños biotinilpéptidos y la biocitina (biotinil-lisina) que se producen en la degradación de las carboxilasas, liberándose biotina, vitamina hidrosoluble del grupo B, cofactor de las cuatro carboxilasas dependientes de biotina (fig.1). En 1983, Wolf y cols. (8) demostraron que la deficiencia en biotinidasa era el defecto primario en los pacientes con la denominada forma tardía o juvenil de la deficiencia múltiple en carboxilasa.

La deficiencia en biotinidasa se clasifica en deficiencia total (para pacientes con actividad enzimática hidrolítica inferior al 10%) y en deficiencia parcial (10-30% de actividad).

2.2. Esquema de la ruta metabólica implicada

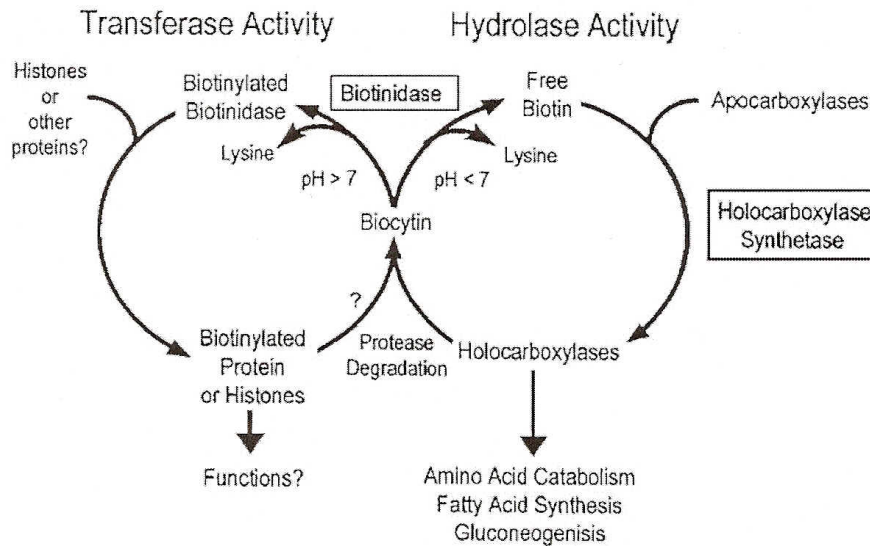


Figura 1: El biciclo de la biotina (*B. Wolf Journal of Nutritional Biochemistry* 16, 2005)

2.3. Patrón de herencia: El gen *BTD* que codifica el enzima contiene 4 exones, tiene un tamaño de 21 Kb y mapea en el cromosoma 3p25 (7). Hasta la fecha se han descrito más de 100 mutaciones en el gen *BTD* que causan deficiencia profunda (<10%) o parcial (10-30%) de actividad biotinidasa. No parece existir correlación fenotipo-genotipo entre pacientes con la deficiencia profunda, pero se han descrito frecuencias diferentes de determinadas mutaciones entre las de los niños sintomáticos y las de los asintomáticos detectados en los programas de cribado (9,10).

3. CLINICA

Estos pacientes muestran una gran variabilidad tanto en la edad de presentación como en la expresión clínica de enfermedad. La mayoría manifiestan la enfermedad entre el segundo y quinto mes de vida, aunque hay casos muy precoces (11). La edad promedio de presentación de los síntomas es de 5.5 meses. Se han descrito casos de deficiencia en adultos asintomáticos, identificados durante estudios en familias de niños con la enfermedad que han sido diagnosticados a partir de programas de cribado neonatal. En general, los síntomas neurológicos iniciales más comunes son

convulsiones mioclónicas rebeldes al tratamiento e hipotonía en combinación con dermatitis seborreica o atópica, alopecia parcial o total y conjuntivitis (12). Otros síntomas sugestivos de esta enfermedad son problemas respiratorios como estridor laríngeo, hiperventilación ó apnea, neuropatía óptica, sordera neurosensible (12,13), retraso mental y ataxia. Los pacientes en crisis pueden tener también micosis debido a una alteración de la respuesta inmunológica.

4. DIAGNOSTICO

4.1. Bioquímico: Ácidos láctico, 3-hidroxiisovalérico, 3-hidroxiisovalérico y metilcitrato y 3-metilpropionilglicina y propionilglicina. Niveles de biotina en suero normales o deficientes.

4.2. Enzimático: Actividad de biotinidasa deficiente o nula, actividad de carboxilasa en linfocitos deficiente antes de administración de biotina y normales tras la administración de biotina.

Para el diagnóstico de deficiencia de biotinidasa varios tipos de ensayos y sustratos han sido utilizados. Entre ellos se incluyen mediciones enzimáticas, radiométricas, colorimétricas y fluorimétricas. El método más utilizado es el que emplea el ácido biotinil- p- aminobenzoico como sustrato, el cual se utiliza tanto para el cribado neonatal de la enfermedad como para el diagnóstico de niños con síntomas clínicos. Es un método colorimétrico que se basa en la determinación de los niveles de ácido p-aminobenzoico liberados, producto de la acción hidrolítica de la enzima (1,8) y empleando modificaciones de este método ha podido determinarse cualitativa y cuantitativamente la actividad de la enzima en cultivos celulares, sueros y sangre seca impregnada en papel. Otro método muy empleado es el que se basa en la medición fluorimétrica de 6-aminoquinolina, obtenido de la hidrólisis del sustrato biotinil-6-aminoquinolina (15, 16).

4.3. Genético: Gen *BTD*, localización cromosómica: 3p25. Entre los pacientes diagnosticados por presentar sintomatología clínica se han detectados dos mutaciones prevalentes que corresponde al 52% de los alelos estudiados, c.98del7ins3 y p.R538C.

Entre los pacientes asintomáticos con deficiencia profunda detectados en los programas de cribado neonatal las mutaciones más frecuentemente detectadas son el p.Q456H y la doble mutación p.D444H+p.A171T sobre el mismo cromosoma. En las deficiencias parciales la presencia de la mutación p.D444H en uno de los alelos en combinación con una mutación de deficiencia profunda en el otro es la causa más frecuente (17,18).

4.3. Clínico. Los pacientes pueden presentar síntomas clínicos inespecíficos, como vómitos, hipotonía, convulsiones... Otros síntomas más específicos son alopecia, dermatitis, infecciones por *Cándida*, sordera sensoneuronal, atrofia óptica, problemas respiratorios y ataxia. La rápida respuesta clínica y bioquímica a dosis farmacológicas de biotina, con desaparición prácticamente total de los metabolitos alterados en plasma y orina, ayuda al diagnóstico diferencial con los defectos aislados de carboxilasas, sobre todo con la deficiencia de 3-metilcrotonil CoA carboxilasa (MCC), ya que el ácido 3-hidroxiisovalérico es el metabolito mayoritario en estos defectos (10,16).

5. TRATAMIENTO

5 -10 mg/día de biotina parece ser suficiente para prevenir o resolver las alteraciones bioquímicas y clínicas de los pacientes. En algún caso aislado se han necesitados mayores dosis para curar lesiones graves de piel.

6. CONSEJO GENÉTICO Y DIAGNOSTICO PRENATAL

Al tratarse de una enfermedad autosómica recesiva, la pareja portadora de las mutaciones tiene un 25% de probabilidad de tener un hijo afecto, un 50% de que el hijo sea portador de unas de las mutaciones pero sano y un 25% de probabilidad que no porte ninguna de la mutaciones.

El diagnóstico de portadores es posible, bien por análisis mutacional o por determinación enzimática en suero ya que presentan una actividad intermedia. Se ha descrito diagnóstico prenatal mediante la cuantificación de la actividad de biotinidasa en

amniocitos cultivados y el análisis de mutaciones en las familias genotipadas previamente.

7. CASO PRÁCTICO

Segundo hijo varón de padres sanos sin antecedentes de consanguinidad ni patología familiar reseñable. Embarazo controlado y bien tolerado. Nace por parto vaginal espontáneo, con buena vitalidad y adaptación espontánea (Apgar 9-10), pesando 3.500 gramos y no revelando anomalías reseñables en la exploración física. En muestra tomada a los cinco días de vida en las pruebas de detección precoz de metabolopatías en sangre seca en papel, se sospecha ausencia de actividad en biotinidasa. Dicho resultado se confirmó de nuevo en sangre seca en papel y además en muestra plasmática, donde no se detectó actividad alguna de dicha enzima, estableciéndose, por tanto, el diagnóstico de déficit completo de biotinidasa. Se realizó cuantificación de carboxilasas en linfocitos de sangre periférica, observándose una ligera disminución de la actividad piruvato-carboxilasa (51% de la media de los controles), y estando las demás actividades carboxilasas dentro del rango de normalidad. El resto de exploraciones complementarias llevadas a cabo, incluyendo estudio de ácidos orgánicos en orina, equilibrio ácido-base y cuerpos cetónicos en sangre y orina, fueron normales. El niño seguía presentando una exploración física y neurológica normal. A los veintidós días de vida se instaura tratamiento con biotina oral (20 mg/día). Actualmente el niño tiene 2 años y medio, continúa recibiendo suplemento oral con biotina (10 mg/día), y en ningún momento ha presentado descompensación metabólica alguna. El estudio familiar evidenció actividad intermedia de biotinidasa en los padres y hermana. Desde el punto de vista genético-molecular se encontró que nuestro paciente era homocigoto para una doble mutación: G511>A y G1330>C, que originan A171T y D444H respectivamente. Además se encontró un polimorfismo en C444>A, aunque sin cambios en el correspondiente aminoácido (10).

7. BIBLIOGRAFIA

- 1.-** Heard GS, McVoy JRS, Wolf B. A Screening Method for biotinidase deficiency in newborns. Clin Chem 1984; 30: 125- 7.
- 2.-** B. Worldwide survey of neonatal screening for biotinidase deficiency. J Inherit Metab Dis 1991;14(6):923-7.
- 3.-** Weber P, Scholl S, Baumgartner ER. Outcome in patients with profound biotinidase deficiency: relevance of newborn screening. Dev Med Child Neurol 2004; 46(7):481-4.
- 4.-** Wolf B. Clinical issues and frequent questions about biotinidase deficiency. Molecular Genetics and Metabolism 2010;100(1):6-13.
- 5.-** Wolf B. Biotinidase: its role in biotinidase deficiency and biotin metabolism. J Nutr Biochem 2005; 16(7):441-5.
- 6.-** C. Pérez-Cerdá Silvestre, B. Merinero Cortés. Alteraciones del metabolismo de la biotina. En "Diagnóstico y tratamiento de las Enfermedades Metabólicas Hereditarias", 2ª edición, P Sanjurjo y A Baldellou Eds., Ed. Ergon, Madrid 2009, pag. 1061-9.
- 7.-** León-Del Rio A. Biotin-dependent regulation of gene expression in human gene cells. J Nutr Biochem 2005; 16(7):432-4.
- 8.-** Wolf B, Grier RE, Allen RJ, Goodman SI, Kien CL. Biotinidase deficiency: the enzymatic defect in late-onset multiple carboxylase deficiency. Clin Chim Acta 1983; 131(3): 273-81.
- 9.-** Moslinger D, Muhl A, Suormala T, Baumgartner R, Stockler-Ipsiroglu S. Molecular characterization and neuropsychological outcome of 21 patients with profound biotinidase deficiency detected by newborn screening and family studies. Eur J Pediatr 2003;162, Suppl 1:S46-9.
- 10.-** Pomponio RJ, Hymes J, Reynolds TR, et al. Mutations in the human biotinidase gene that cause profound biotinidase deficiency in symptomatic children: molecular, biochemical, and clinical analysis. Pediatr Res 1997;42(6):840-8.
- 11.-** Haagerup A, Andersen JB, Blichfeldt S, Cristensen MJ, Biotinidase deficiency: two cases of very early presentation. Dev Med Child Neurol 1997;39(12):832-5.
- 12.-** Couce ML, Martínón-Torres F, Castiñeiras DE, Alonso JR, Fraga JM. Deficiencia de biotinidasa: Importancia de su diagnóstico neonatal y tratamiento precoz. An Esp Pediatr 1999; 50(5): 304-6.

- 13.-** Heller AJ, Stanley C, Shaia WT, Sismanis A, Spencer RF, Wolf B. Localization of biotinidase in the brain: implications for its role in hearing loss in biotinidase deficiency. *Hear Res* 2002;173(1-2):62-8.
- 14.-** Wolf B, Spencer R, Gleason T. Hearing loss is a common feature of symptomatic children with profound biotinidase deficiency. *J Pediatr* 2002;140(2):242-6.
- 15.-** Wastell H, Dale G, Bartlett. A Sensitive fluorimetric rate assay for biotinidase using a new derivate of biotin, biotinyl-6-aminoquinoline. *Anal Biochem* 1984; 140(1): 69-73.
- 16.-** Hymes J, Fleischhaver K, Wolf B. Determination of biotinidase activity with biotinyl -6 aminoquinoline as substrate. *Methods Enzymol* 1997; 279:442-51.
- 17.-** Couce ML, Pérez-Cerdá C, García Silva MT, García Cazorla A, Martín-Hernández E, Castiñeiras D, Pineda M, Navarrete R, Campistol J, Fraga JM, Pérez B, Ugarte M. Hallazgos clínicos y genéticos en pacientes con deficiencia de biotinidasa detectados en cribado neonatal o selectivo de sordera o de enfermedades hereditarias. *Med Clin* 2011 Oct 22;137(11):500-3.
- 18.-** Wolf B, Jensen K, Hüner G, Demirkol M, Baykal T, Divry P et al. Seventeen novel mutations that cause profound biotinidase deficiency. *Mol Genet Metab* 2002; 177(1-2):108-11.