

Revisión

## Peroxisomas y síndrome de Zellweger. Revisión sistemática de las terapias vigentes

### Peroxisomes and Zellweger syndrome. Systematic review of current therapies

Bendala-Tufanisco E<sup>1\*</sup>, López-Ruiz MA<sup>1</sup>, Grisolia S<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad CEU Cardenal Herrera. 46115 Alfara del Patriarca. Valencia. España

<sup>2</sup>Premio Príncipe de Asturias de Investigación Científica y Técnica de 1990

\*Correspondencia: elena.bendala@uchceu.es

Recibido: 24.06.20; aceptado: 28.06.20

**Resumen:** El síndrome de Zellweger causa degeneración hepática, renal y del sistema nervioso central, por alteración de algunas de las vías de los peroxisomas, debido a la mutación en genes que codifican peroxinas. La Dra. Martínez descubrió la relevancia del ácido docosahexaenoico en el síndrome de Zellweger y desarrolló un tratamiento por suplementación. Objetivos: revisar el tratamiento en trastornos del espectro Zellweger y evaluar los avances del manejo clínico debido a los recientes descubrimientos de la biología de los peroxisomas y su función. Método de búsqueda: revisión sistemática usando bases de datos para recopilar artículos sobre tratamientos de trastornos del espectro Zellweger en la última década. Inclusión de los ensayos clínicos con los diferentes tratamientos en humanos diagnosticados de cualquier forma de síndrome de Zellweger en la última década. Los dos artículos encontrados fueron revisados por todos los autores que extrajeron independientemente los datos. Principales resultados: se analizaron ambos artículos en profundidad. Murieron muchos participantes durante los ensayos, como cabía esperar por la gravedad de los casos. En ambos ensayos la administración de los lípidos deficitarios mejoró ligeramente el peso y talla y algunos de los síntomas, sin mejora de la visión o la calidad de vida de los pacientes. Conclusiones: se necesita un diagnóstico precoz de los pacientes para iniciar el tratamiento antes del comienzo de la neurodegeneración. La terapia génica en estos pacientes debe considerarse en cuanto se logre un protocolo seguro. Las evidencias son insuficientes para determinar la efectividad de la suplementación de los deficitarios en pacientes con PBD, aunque queda demostrada su seguridad.

**Abstract:** Zellweger syndrome produces a progressive degeneration of liver, kidneys and central nervous system due to disruption in some of the pathways of peroxisomes, produced as a mutation in the peroxins' genes. Dr. Martínez, discovered the relevance of the docosahexaenoic acid in the Zellweger syndrome and developed a supplementation treatment. Objectives: review of the treatment of Zellweger syndrome and evaluation of the advances in the clinical management due to the last discoveries in the peroxisomes biology and function. Search method: systematic review, using data bases to retrieved articles about treatment of Zellweger syndrome in the last 10 years. Inclusion of the clinical trials with different treatments in patients diagnosed of Zellweger Spectrum Disorder the last decade. Two articles found were read for the authors who extracted outcome data independently. Main results: the two articles were deeply analyzed. The number of participants who died during the trials was high, as expected given the gravity of the cases. In both trials the administration of the lost lipids was slightly improving the weight and height and some of the symptoms but was not affecting the vision or the quality of life of the patient. Conclusions: it is necessary a logarithm of early diagnosis of the patients, in order to initiate

the treatment before the neurodegeneration will start. Gene therapy in these patients should be considered if a safety protocol could be achieved. We found insufficient evidence to determine the effectiveness of deficient lipids supplementation in PBD patients even though safety is demonstrated.

**Palabras clave:** Desórdenes de la biogénesis de peroxisomas, síndrome de Zellweger: genes PEX, peroxinas, terapia génica, tratamiento suplementario de los lípidos deficitarios. **Keywords:** Peroxisome biogenesis disorders, Zellweger' síndrome, PEX genes, peroxin, gene therapy, deficient lipids' supplementation treatment.

**Abreviaturas:** PBD, peroxisome biogenesis disorder. ZSD, Zellweguer Spectrum disorder. PEX#p, peroxin proteins. ROS, reactive oxygen species. DHA, Ácido docosahexanoico. AA, Ácido Araquidónico. VLCFA, Very long chain fatty acids (ácidos grasos de cadena muy larga). RBC, Red blood cells (eritrocitos). AST, Aspartato transferasa. ALT, Alanina transferasa. Thesaurus MeSH, The Medical Subjects Headings thesaurus.

---

## 1. Introducción

Aunque en 1954 un doctorando del Instituto Karolinska describió por primera vez la presencia de unos corpúsculos vesiculares en las células eucariotas [1], fue de Duve quien los denominó peroxisomas por la presencia de enzimas productoras de peróxido de hidrógeno [2-4]. Son estructuras recubiertas por una doble membrana lipídica que contiene más de 50 proteínas, si bien algunas de las catálisis pueden también establecerse en el citoplasma celular u otras estructuras, y no exclusivamente en los peroxisomas [5].

Los peroxisomas son estructuras muy fluidas y ampliamente implicadas en rutas metabólicas, cuya biogénesis se originan por dos vías: la principal es el crecimiento y la división de los peroxisomas existentes [6], y otra de novo, por la formación de nuevas vesículas a partir del retículo endoplásmico [7]. Este dinamismo en la biogénesis [8] y degradación o pexofagia [9] de los peroxisomas es una respuesta a factores externos, como niveles de electrolitos [10] y otras sustancias, regulada a través de algunas de las proteínas que contienen, las peroxinas. Algunas peroxinas y lípidos del peroxisoma, han sido implicadas en una cascada para la biogénesis de peroxisomas a demanda, propuesta por Honsho et al. [11].

Gran parte del interés que han despertado estos orgánulos en medicina se debe a su relación con un amplio cuadro metabólico incluido entre las enfermedades raras, que comenzaron con la descripción realizada en 1964 por Hans

Zellweger de un cuadro autosómico recesivo de múltiples defectos congénitos, que incluían afectación del sistema nervioso central [12]. Años más tarde se le dio su apellido al síndrome, porque este suizo que había pasado unos años en África con el Premio Nobel de la Paz Albert Schweitzer, resultaba mucho más adecuado para ser homenajeado que el Dr. Lindenberg, jefe del laboratorio firmante del trabajo; uno de los científicos nazis llevados a Estados Unidos durante la "Operación Paperclip".

El síndrome congénito multiorgánico que describieron da una amplia variedad de cuadros clínicos que, dependiendo de las enzimas afectas, oscila entre leve, medio y muy grave. Son cuadros que aparecen en la infancia, muchas veces desde el nacimiento, y que se agrupan en los llamados desórdenes del Espectro Zellweger. En España, según los criterios de FEDER, la frecuencia de la enfermedad oscila entre 1/25.000 y 1/100.000 nacidos vivos e incluye alteraciones neurológicas graves y dimorfismo craneofacial [13]. Además, el descriptor Thesaurus MeSH, junto a las alteraciones hepáticas, renales, la degeneración del sistema nervioso central, la hipotonía muscular y las malformaciones craneofaciales, incluye una sordera progresiva, una creciente degeneración retiniana, que provoca la pérdida visual que puede originar ceguera y la aparición de convulsiones tónico-clónicas, probablemente debidas a la ausencia de una adecuada mielinización neuronal.

La relación entre el síndrome de Zellweger (o cerebro hepato renal) y la ausencia de peroxisomas en los niños afectados, no se produjo

hasta 1973, cuando se describió la carencia de dichos orgánulos en células hepáticas y renales de los enfermos [14]. En un principio, se distinguieron 3 cuadros diferentes debidos a las alteraciones en la función de los peroxisomas: el síndrome de Zellweger, la enfermedad de Refsum infantil y la adreno-leukodistrofia neonatal, cuyo tratamiento con el aceite de Lorenzo [15] inició la terapia sustitutoria en estos pacientes.

Se conocen al menos 50 proteínas presentes en los peroxisomas y que tienen relación con muy diversas vías metabólicas que pueden sintetizarse en seis, tal como hacen Waterham et al. [16]:

1. Alfa-oxidación de ácidos grasos, proceso catabólico
2. Beta-oxidación de ácidos grasos, proceso catabólico
3. Detoxificación de glioxilato, proceso catabólico
4. Biosíntesis de éter fosfolípidos, proceso anabólico
5. Metabolismo redox celular, las productoras de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, procesos del metabolismo del oxígeno, la inactivación de diversos radicales libres (ROS) y de especies reactivas de nitrógeno, parcialmente acopladas a las otras vías, se incluyen en esta ruta.
6. Síntesis de ácidos biliares y ácido docosahexaenoico (DHA), proceso anabólico.

La Dra. Manuela Martínez Regúlez, experta en la química de los lípidos y su papel en la formación de mielina, descubrió que el cerebro humano es más vulnerable a las agresiones nutricionales [17], que la mielina pura de neonatos y lactantes humanos son muy similares a la mielina adulta [18] y, que el síndrome de Zellweger se asocia a un déficit severo de ácido docosahexaenoico que dificulta la síntesis normal de mielina [19]. Por ello, comenzó a tratar al pequeño grupo de niños afectados de este síndrome con suplementos de ácido docosahexaenoico ralentizando la progresión de los síntomas neurológicos y mejorando la mielinización [20-22].

A finales de la década de los 90 del siglo pasado, surgen los primeros datos de la relación de

mutaciones de algunas peroxinas, y lo que, para entonces, empezó a llamarse desórdenes de la biogénesis de los peroxisomas (PBDs). A la más de una veintena de genes que codifican peroxinas se les llamó genes PEX seguidos de un número. Hoy se sabe que algunos de esos genes codifican diferentes peroxinas en función del "splicing" o ensamblado alternativo de sus exones.

Pronto se asociaron mutaciones de al menos 14 de esos genes en los PBDs. En más de la mitad de los casos se encontró la mutación de la llamada PEX1, una ATPasa necesaria para la incorporación de proteínas en la matriz mitocondrial. De hecho, Reuber et al., incluso identificaron un alelo responsable del 50% de los sujetos afectados por cualquier forma de desorden de la biogénesis de los peroxisomas [23]. Más tarde se descubrió que el complejo formado por PEX1/PEX6, dos ATPasas que trabajan conjuntamente en la incorporación de proteínas en el peroxisoma es responsable, cuando sufren alteraciones, de más del 60% de los síndromes [24 - 26]; además de que regulan la actividad de PEX5 [27]. Hoy, las peroxinas presentes en los peroxisomas se dividen en 3 grupos, según el trabajo de revisión de Fujiki [28]:

1. las responsables de la biogénesis de los peroxisomas, un grupo de genes, que incluyen las proteínas PEX 3p, PEX 16p y PEX 19p, las cuales intervienen en dos vías metabólicas distintas en los peroxisomas y se han implicado en los cuadros más severos de síndromes de Zellweger y otras PBD en humanos [29], PEX 3p también está implicada, junto con el peróxido de hidrógeno y otras vías en la degradación de los peroxisomas en mamíferos;
2. las implicadas en la división de los peroxisomas, que incluyen algunas formas de PEX11p, y cuyas mutaciones, extremadamente raras, parecen ser letales en un breve plazo; y, por último,
3. las peroxinas implicadas en la importación al interior de la matriz del peroxisoma de otras alteraciones, como las ya mencionadas PEX1/PEX6. En cualquier caso, en la revisión de Fujiki [28] se recogen 13 peroxinas implicadas en la aparición del Síndrome de Zellweger de distinta intensidad.

Recientemente se han asociado mutaciones en PEX1, PEX6, PEX 10, PEX 12 o PEX 26 como causa del 90% de los casos de PBDs estudiados [30].

Martínez Regúlez recibió el Premio Rey Jaime I en 2001 por su “estudio del desarrollo cerebral y los desórdenes metabólicos de los niños”, y siguió investigando el efecto del DHA en estos enfermos hasta su muerte [31]. En el décimo aniversario de su fallecimiento procedimos a revisar los tratamientos actuales de los enfermos de PBDs.

Con la existencia de rápidas y selectivas formas de cribado analítico de genes por secuenciación de alto rendimiento, o por los nuevos microarrays, que permiten una identificación de la mutación, y, dada la existencia de novedosas y satisfactorias terapias génicas en enfermedades monogénicas, buscamos los posibles tratamientos con terapia génica en estos niños, a los que pensábamos realizar una revisión sistemática con el método PRISMA.

## 2. Objetivos

Objetivo principal: analizar la evolución del tratamiento de los desórdenes de la biogénesis de los peroxisomas en los últimos diez años.

Objetivos secundarios:

1. Comprobar los métodos de terapia génica usados para el tratamiento de estos pacientes
2. Comparar la implantación de la terapia génica frente a los tratamientos tradicionales de reposición de sustancias deficitarias como consecuencia de la inhibición de vías metabólicas en los peroxisomas [32], tales como ácido docosahexaenoico, aceite de Lorenzo, ácido cólico, precursores de plasmalógeno o citrato (administrado para prevenir la formación de cálculos renales

de oxalato cálcico en pacientes que posean niveles elevados de oxalato en plasma) [33].

La pregunta PICO fue: Cuáles son los tratamientos actuales para enfermos de desórdenes de la biogénesis de los peroxisomas y mejoras que aportan frente a los tratamientos de reposición de sustancias deficitarias.

## 3. Material y método

Se realizó una búsqueda sistemática de artículos en las bases de datos Medline a través del motor de búsqueda de libre acceso Pubmed. Se buscaron análisis clínicos en niños afectados de desórdenes de la biogénesis de los peroxisomas o síndrome de Zellweger y tratamientos aplicados con las palabras claves localizadas en MESH peroxins, Zellweger Syndrome, drug treatment, peroxins, gene therapy y los operadores booleanos “and” y “or” El tiempo fueron 10 años, y se seleccionaron artículos en inglés.

De Pubmed se obtuvieron 6.945 resultados.

Se decidió acotar la búsqueda a *Zellweger Syndrome treatment* y se fue también a Cochrane. En ambos casos, sólo se obtuvieron los dos artículos que se analizan.

En la base Scielo no aparecieron artículos con los citados criterios de búsqueda.

Se procedió a buscar *peroxins and gene therapy*, y el único artículo encontrado en Pubmed no tenía relación con el tema. No hubo resultados en Cochrane.

Con *peroxisomes and gene therapy* reclutamos un estudio más en Cochrane en que se administraba aceite de pescado, que descartamos por no disponer de publicaciones accesibles.

Finalmente, realizamos una última búsqueda en Pubmed de PEX genes, con el que se obtuvieron dos artículos que serán utilizados en la discusión.

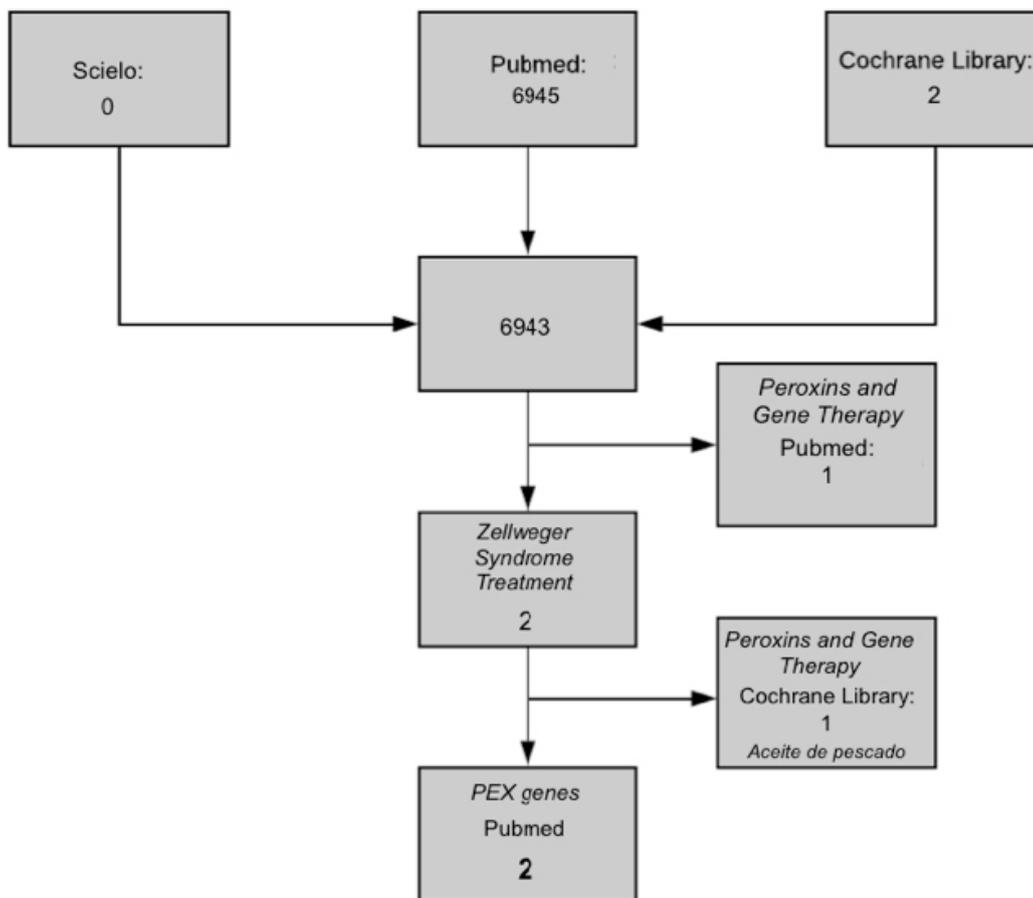


Figura 1. Diagrama de flujo sobre el procedimiento de selección de las publicaciones.

#### Evaluación del sesgo de los datos

Aun siendo conscientes de la dificultad de disponer de pacientes con PBDs, no esperábamos tan reducido número de ensayos en 10 años, lo que descarta completamente la duplicación de resultados e imposibilita la realización de un gráfico en embudo. En cuanto a los datos no aportados, consideramos de especial relevancia la ausencia de tipificación de la mutación existente en cada paciente, lo que dificulta evaluar la oportunidad del tratamiento y los resultados obtenidos.

#### 4. Resultados

Los artículos hallados fueron publicados en 2010 (Paker et al.) [34] y 2017 (Heubi et al.) [35] respectivamente.

La comparación entre ambos estudios aparece en la tabla 1. Cabe destacar que el estudio más reciente es un ensayo abierto de brazo único en

fase 3 longitudinal de carácter compasivo, y no un estudio randomizado a doble ciego, como sí lo es el de Paker, lo que dificulta la evaluación de los resultados.

También son diferentes los suplementos lipídicos administrados, y parece probable que la conjunción de DHA y ácido cólico de manera conjunta pueda ser beneficiosa en algunos casos, pero ello requiere una identificación individualizada de la mutación de cada paciente y las vías metabólicas afectas.

Es destacable el elevado número de pacientes con ZSD incluidos en el estudio de Paker, 50, dado lo infrecuente de la enfermedad y lo difícil que resulta reclutar pacientes en un solo centro, probable causa de la ausencia de más ensayos clínicos y de que la mayoría de las publicaciones refieran casos clínicos aislados. De hecho, en 18 años, el estudio de Heubi sólo obtuvo 20 pacientes con ZSD.

**Tabla 1.** Comparación entre los estudios de Paker AM et al. y Heubi JE et al.

	<b>Paker AM et al.</b>	<b>Heubi JE et al.</b>	
<b>Tipo de estudio</b>	Randomizado doble ciego Casos y controles	Brazo abierto de brazo único (Fase 3) Longitudinal	
<b>Duración</b>	1 año	18 años	
<b>Tratamiento</b>	Grupo experimental: 100mg/kg/día DHA (47%) y AA, V.O. (polvo microencapsulado) Grupo placebo: 100mg/kg/día Aceite Soja, V.O. (polvo microencapsulado)	10 - 15 mg/kg/día ácido cólico, V.O.	
<b>Participantes</b>	50 pacientes: 25 grupo experimental y 25 grupo placebo	85 pacientes	
<b>Pacientes que finalizaron el estudio (%)</b>	Grupo experimental: 65%	70 pacientes	
<b>Defunciones</b>	Grupo placebo: 76% Grupo experimental: 22% Grupo placebo: 16%	Casos SED: 14% Casos: ZSD: 28%	
<b>Edad participantes (al comienzo del estudio)</b>	1 mes - 144 meses (12 años)	0 - 16 años	
<b>Efectos Adversos</b>	No se describen	16% EAM Severos 10% progresión enfermedad 3% diarrea 3% ITU 3% deshidratación	Casos ZSD 59% EAM 22% EAM severos No muerte
<b>Grado Evidencia</b>	Clase II Esperado: normalización niveles VLCFA y RBC	Clase I Sólo efectivo en pacientes sin grave deterioro	
<b>V.O: vía oral EAM: Efectos adversos medicamentosos ITU: Infección del tracto urinario</b>			
<b>Análisis datos</b>	Niveles plasmáticos de VLCFA, DHA y plasmalógenos en RBC (cada 3 meses)	Niveles séricos ALT, AST y Bilirrubina sérica	
	Percentiles: estatura y peso (inicio y fin tratamiento)	Ácido biliar en orina (espectrometría)	
	Electrorretinograma (inicio y fin tratamiento)	Peso y estatura Biopsia hepática (inicio tratamiento y control: mes-10 meses)	
<b>Resultados</b>	Grupo experimental: No mejoría visión ni crecimiento No modificaciones: niveles VLCFA, plasmalógenos RBC Grupo placebo: No mejoría visión ni crecimiento No modificaciones: niveles VLCFA, plasmalógenos RBC	Reducción: ALT y Bilirrubina Solo bilirrubina directa * Reducción AST en ZSD pero marcado en SED Peso* y estatura: aumento Biopsia hepática 4 SED: Al compararse: descenso número células gigantes, menor necrosis y colestasis 0 ZSD	

\*Resultados estadísticamente significativos

El elevado porcentaje de defunciones en ambos estudios habla de la ineficacia de los tratamientos suplementarios como único procedimiento, y demuestra la necesidad de encontrar un tratamiento más efectivo, siempre que sea posible, restableciendo la función de las vías metabólicas afectas. Ello sería especialmente urgente en los casos más graves, para evitar las lesiones neurodegenerativas y los fracasos renal y hepático.

Dado la gravedad de los cuadros, la mayoría de los pacientes mueren en edades tempranas, lo que coincide con los resultados de ambos trabajos.

Evaluados los efectos adversos en los pacientes, destaca que el 10% de los presentados en el trabajo de Heubi fueron severos, aunque sólo dos son considerados relacionados con la administración de ácido cólico: un único paciente tuvo malestar e ictericia y otro una lesión cutánea.

Aunque relacionados con la evolución de la enfermedad, y no con el tratamiento con ácido cólico, 13% de los pacientes sufrieron efectos adversos severos que, en 4 de ellos (6%), obligaron a dejar el estudio.

De los 28 efectos adversos severos encontrados, en el 10% de los casos, estuvieron relacionados con la progresión de la enfermedad, 3% se debieron a diarrea, 3% a infección del tracto urinario y 3% a deshidratación.

Centrados en los casos de ZSD, 59% sufrieron efectos adversos durante el tratamiento, más relacionados con la progresión de la enfermedad y 22% fueron severos aunque en ningún caso causaron la muerte.

Paker y cols. no mencionan efectos adversos, debidos a la ingesta de la asociación DHA-AA, si bien algunos de los pacientes fallecieron por complicaciones relacionadas con la enfermedad.

En cuanto al grado de evidencia de los resultados obtenidos, el estudio randomizado a doble ciego indica evidencias de Clase II, es decir, que las opiniones resultaron contradictorias respecto a los efectos del DHA sobre la mejora de la función visual y el crecimiento de los niños durante el año de tratamiento.

Los autores también esperaban la normalización de los niveles plasmáticos de VLCFA y de los

niveles de plasmalógeno en eritrocitos (RBC), lo que no se observó.

Heubi y cols. en su ensayo de brazo único en fase 3 consideran que obtuvieron evidencias de Clase I, luego el tratamiento era beneficioso y bien tolerado por los pacientes. Aunque sólo resultó efectivo en pacientes que no presentaban un grave deterioro general por la progresión de la enfermedad.

En cuanto a las medidas de control de datos, Paker y cols. optaron por:

- Medición de niveles plasmáticos de VLCFA, DHA y de plasmalógenos en RBC por metodología standard de laboratorio al inicio y otras 4 determinaciones durante el tratamiento.
- Crecimiento físico por el número estándar de desviaciones (Z score) de los percentiles de estatura y peso al inicio del tratamiento y al año.
- Función visual se midió por electroretinograma al inicio del tratamiento (dividiéndolos en 4 grupos: extinto, muy bajo, bajo y moderado) y al año, cuando se compararon y se clasificaron como empeora, estable o mejora.

Y Heubi y cols. midieron:

- Valores séricos de alanina y aspartato aminotransferasa, y bilirrubina sérica, se con métodos estándar a intervalos regulares durante el tratamiento
- Concentración de ácido biliar en orina con espectrometría de masas de ionización por bombardeo con átomos rápidos.
- Variaciones de peso y estatura a intervalos regulares.
- Biopsia hepática, se realizaron cuando, especialmente en los pacientes con ZSD, no aumentaban el riesgo de empeoramiento del estado general. En los casos en que fue posible se hizo una biopsia antes de iniciar el tratamiento y otra entre el mes y los diez meses de tratamiento. En ambos casos se buscó la presencia de inflamación, fibrosis, necrosis, presencia de células gigantes y colestasis. Finalmente se compararon las dos biopsias en los pacientes en que pudieron realizarse para analizar si hubo mejoría del cuadro.

Con todo, los resultados de los trabajos difieren de los publicados en la década anterior.

Paker y cols. no observaron mejora estadísticamente significativa ni de la visión de los niños, ni de su crecimiento, a diferencia de los datos de los estudios de Martínez, ya que tanto la visión como el crecimiento mejoraron también en el grupo placebo, afirmación que resulta sorprendente.

No hubo modificaciones en los niveles plasmáticos de VLCFA ni de plasmalógenos en RBC entre ambos grupos.

Heubi y cols. indican que todos los pacientes mostraron una reducción de los valores séricos de alanina transferasa (ALT) y en todos los tipos de bilirrubina, que sólo fue estadísticamente significativa para la bilirrubina directa. El descenso de la aspartato transferasa (AST) en los ZSD fue menos marcado que en los SED.

El peso y la altura aumentaron en todos los pacientes, aunque sólo el peso mostró un incremento estadísticamente significativo.

La biopsia hepática sólo tuvo dos muestras en cuatro de los pacientes SED y en ninguno de los ZSD. En los casos en que pudo compararse, el tratamiento redujo o, al menos, mantuvo los niveles de inflamación con un descenso del número de células gigantes, menor necrosis y colestasis.

Con todos estos resultados, podemos concluir que los tratamientos de administración de algunos de los lípidos que debieran ser sintetizados en los peroxisomas no revierten la progresión de la enfermedad ni recuperan la función visual una vez deteriorada. Probablemente, los resultados publicados por la Dra. Martínez se debieron a un diagnóstico más temprano de la deficiencia y un inicio del tratamiento precoz, capaz de mielinizar las neuronas cuando todavía tenían capacidad de regeneración.

En el estudio de Paker no figura la edad de los pacientes a la detección del síndrome, pero en el de Heubi sólo el 27% de los pacientes fueron diagnosticados en los primeros 3 meses de vida y un 35% cuando tenían más de un año, momento en el que probablemente muchas de las lesiones en sistema nervioso central son difícilmente recuperables.

## 5. Discusión

La diversidad de ZSD se debe a las diversas mutaciones asociadas a 14 de los genes PEX conocidos, pese a lo cual el diagnóstico en un elevado número de casos se realiza por fenotipo, pues los desórdenes de los peroxisomas no se incluyen en los tests de cribado al nacimiento, aunque algunos países sí incluyen los trastornos de los ácidos grasos mitocondriales. Debieran incluirse análisis de los niveles de VLCFA, DHA, plasmalógenos y microarrays para los genes PEX1 y PEX6 de rutina en neonatos con dimorfismos, disfunciones hepáticas y neurológicas o hipotonía, para detectar en torno al 60% de los casos. Empieza a utilizarse la secuenciación como método diagnóstico [36], todo lo cual permitiría la implantación precoz de las terapias de sustitución de los productos ausentes. Las mutaciones no se reducen a cambios puntuales de un aminoácido, si no que incluyen muy variadas posibilidades de distinta extensión y gran amplitud de consecuencias, que deben ser estudiadas.

En España hubo en la primera década de este siglo un movimiento de atención al diagnóstico precoz de estos casos [37] que podría justificar el éxito de las terapias aplicadas y del que han cesado las publicaciones.

Otra ventaja de la secuenciación es la correcta adscripción de trastornos visuales, que ahora se catalogan de amaurosis congénita de Leber, una de las cegueras más beneficiadas por la terapia génica [38]. Evidencias indican que se trataría de ZSDs leves mal diagnosticados [39]. Estudios en células en cultivo, han demostrado que la terapia con transcritos nonsense, es capaz de mejorar tanto el anabolismo como el catabolismo de los lípidos peroximales aportando una nueva posibilidad terapéutica [40].

El verdadero reto al que se enfrenta la terapia génica en estos pacientes es el compromiso del sistema inmune asociado a varios de los ZSDs [41] y el frecuente estado de malnutrición de los bebés, lo que dificulta la administración de un vector viral que causara la menor respuesta inmunológica. Cada vez está más clara la importancia del peróxido de hidrógeno como molécula reguladora del estado redox en procesos inflamatorios y de envejecimiento, y muy probablemente la oxidación de grupos SH en proteínas sea un

mecanismo de señalización controlado por H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> generado por los peroxisomas. Por ello, la adecuada elección del virus vector de los genes a los tejidos constituirá uno de los peldaños fundamentales en la obtención de un tratamiento seguro a la vez que eficaz.

## 6. Conclusiones de los autores

Se requiere un logaritmo de diagnóstico precoz de los pacientes para iniciar el tratamiento en las primeras semanas de vida, a fin de prevenir la neurodegeneración y deterioro de las funciones hepática y renal de los casos más graves. Si se consigue un protocolo seguro de terapia, debe implantarse en mutaciones puntuales.

Los ensayos analizados no muestran evidencias suficientes de la efectividad de la suplementación con los lípidos deficitarios en los pacientes PBD, si bien sí evidencian la seguridad de su administración en los niños.

Como respuesta decepcionante a los objetivos marcados, podemos afirmar que no hay evidencias publicadas de un intento de tratamiento de los casos de PBDs con terapia génica, una de las más prometedoras terapias de la medicina personalizada.

Claramente hay una necesidad de: -1. una identificación completa del sitio en que la mutación se produce y las implicaciones en la función de la proteína peroxina afecta en cada paciente; -2. desarrollar terapias efectivas o mejores tratamientos paliativos que mejoren la calidad de vida de los bebés afectados.

## 7. Implicaciones clínicas

Es perentorio disponer de un diagnóstico lo más temprano posible de estos cuadros, que deben ser sospechados por la exploración clínica inicial. Los métodos de diagnóstico incluso

intraútero tanto de imagen como por análisis del genoma de las vellosidades coriónicas, deben explorarse como una alternativa. Sin este paso, la calidad de vida de los pacientes y sus familias será siempre insatisfactoria. Los desarrollos en terapias génicas para otros cuadros generan expectativas en un futuro a medio plazo que deben asociarse a los actuales de terapias de sustitución que tan pobres resultados demuestran.

La realización de ensayos clínicos multicéntricos, bien diseñados, que permitan evaluar la efectividad de los tratamientos, pasa necesariamente por el diagnóstico precoz y la identificación exacta de la mutación de cada paciente. Conocemos la enorme limitación de tener grupos homogéneos extensos, pero la afectación de la función de las peroxinas con el envejecimiento puede ampliar el número de pacientes en el estudio y la obtención de resultados con beneficios reales a amplios sectores de la población.

## 8. Implicaciones en investigación

La existencia de una medicina traslacional, ahora tan cara, pero que probablemente sea el mejor camino para hacer sostenible la sanidad en el futuro, pasa por una apuesta decidida por la investigación básica, incluidas las numerosas vías metabólicas anabólicas y catabólicas de los peroxisomas y su relación con las mitocondrias y el retículo endoplásmico. En estos momentos de pandemia, es ilusorio pedir un aumento de la financiación de líneas de investigación para enfermedades minoritarias. Pero el estudio de los orgánulos celulares a nivel bioquímico sigue siendo uno de los pilares del avance terapéutico.

### Conflicto de interés

Los autores declaran no tener conflicto de intereses.

## Referencias bibliográficas

1. Rhodin J. Correlation of ultrastructural organization and function in normal and experimentally changed proximal tubule cells of the mouse kidney [Tesis Doctoral]. Estocolmo: Instituto Karolinska; 1954.
2. de Duve C, Baudhuin P. Peroxisomes (microbodies and related particles). *Physiol Rev.* 1966 Abr;46(2):323-57. doi: 10.1152/physrev.1966.46.2.323

3. de Duve C. Biochemical studies on the occurrence, biogenesis and life history of mammalian peroxisomes. *J Histochem Cytochem.* 1973;21(11):941-8. doi: 10.1177/21.11.941
4. de Duve C. The peroxisome in retrospect. *Ann N Y Acad Sci.* 1996;804:1-10. doi: 10.1111/j.1749-6632.1996.tb18603.x.
5. Wanders RJ, Waterham HR. Biochemistry of mammalian peroxisomes revisited. *Annu Rev Biochem.* 2006;75:295-332. doi: 10.1146/annurev.biochem.74.082803.133329
6. Schrader M, Bonekamp NA, Islinger M. Fission and proliferation of peroxisomes. *Biochim Biophys Acta.* 2012;1822(9):1343-57. doi:10.1016/j.bbadis.2011.12.014
7. Hettema EH, Erdmann R, van der Klei I, Veenhuis M. Evolving models for peroxisome biogenesis. *Curr Opin Cell Biol.* 2014;29(100):25-30. doi:10.1016/j.ceb.2014.02.002
8. Wolf J, Schliebs W, Erdmann R. Peroxisomes as dynamic organelles: Peroxisomal matrix protein import. *FEBS J.* 2010;277(16):3268-78. doi:10.1111/j.1742-4658.2010.07739.x.
9. Oku M, Sakai I. Peroxisomes as dynamic organelles: autophagic degradation. *FEBS J.* 2010;277(16):3289- 94. doi: 10.1111/j.1742-4658.2010. 07741.x.
10. Calero-Muñoz N, Expósito-Rodríguez M, Collado-Arenal AM, Rodríguez-Serrano M, Laureano-Marín AM, Santamaría ME, Gotor C, Díaz I, Mullineaux PM, Romero-Puertas MC, Olmedilla A, Sandalio LM. Cadmium induces ROS-dependent pexophagy in Arabidopsis leaves. *Plant Cell & Environment.* 2019;42(9):2696-714. doi: 10.1111/pce. 13597
11. Honscho M, Yamashita SI, Fujiki Y. Peroxisome homeostasis: mechanisms of division and selective degradation of peroxisomes in mammals. *Biochim Biophys Acta.* 2016;1863(5):984-91. doi:10.1016/j.bbamcr.2015.09.032
12. Bowen P, Lee CS, Zellweger H, Lindenberg R. A familial syndrome of multiple congenital defects. *Bull John Hopkins Hosp.* 1964;114:402-14.
13. Federación Española de Enfermedades Raras; [consultado jun 2020]. Disponible en: <https://enfermedades-raras.org/>
14. Goldfischer S, Moore CL, Johnson AB, Spiro AJ, Valsamis MP, Wisniewski HK, Ritch RH, Norton WT, Rapin I, Gartner LM. Peroxisomal and mitochondrial defects in the cerebro-hepato-renal syndrome. *Science.* 1973;182(4107):62-4. doi: 10.1126/science.182.4107.62
15. Zellweger H, Maertens P, Superneau D, Wertelecki W. History of the cerebrohepatorenal syndrome of Zellweger and other peroxisomal disorders. *South Med J.* 1988;81(3):357-64. doi:10.1097/00007611-198803000-00017.
16. Waterham HR, Ferdinandusse S, Wanders RJ. Human disorders of peroxisome metabolism and biogenesis. *Biochim Biophys Acta.* 2016;1863(5):922-33. doi: 10.1016/j.bbamcr.2015.11.015.
17. Martínez M. Myelin lipids in the developing cerebrum, cerebellum, and brain stem of normal and undernourished children. *J Neurochem.* 1982;39:1684-92. doi: 10.1111/j.1471-4159.1982.tb08003.x.
18. Martínez M. Myelin in the developing human cerebrum. *Brain Res.* 1986;364(2):220-32. doi: 10.1016/0006-8993(86)90834-6.
19. Martínez M. Severe deficiency of docosahexaenoic acid in peroxisomal disorders. A defect of delta 4-desaturation? *Neurology.* 1990;40(8):1292-8. doi: 10.1212/wnl.40.8.1292.
20. Martínez M, Vázquez E, García-Silva MT, Manzanares J, Bertran JM, Castelló F, Mougán I. Therapeutic effects of docosahexaenoic acid ethyl ester in patients with generalized peroxisomal disorders. *Am J Clin Nutr.* 2000;71(1Suppl):376S- 85S. doi: 10.1093/ajcn/71.1.376s.
21. Martínez M, Vázquez E. MRI evidence that docosahexaenoic acid ethyl ester improves myelination in generalized peroxisomal disorders. *Neurology.* 1998;51(1):26-32. doi: 10.1212/wnl.51.1.26.
22. Martínez M. Restoring the DHA levels in the brains of Zellweger patients. *J Mol Neurosci.* 2001;16(2-3):309-16. doi: 10.1385/JMN:16:2-3:309.

23. Reuber B, Germain-Lee E, Collins C, Morrell JC, Ameritunga R, Moser HW, Valle D, Gould SJ. Mutations in PEX1 are the most common cause of peroxisome biogenesis disorders. *Nat Genet.* 1997;17(4):445-8. doi: 10.1038/ng1297-445
24. Geisbrecht BV, Collins CS, Reuber BE, Gould SJ. Disruption of a PEX1-PEX6 interaction is the most common cause of the neurologic disorders Zellweger syndrome, neonatal adrenoleukodystrophy, and infantile Refsum disease. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1998;95(15):8630-5. doi: 10.1073/pnas.95.15.8630.
25. Ciniawsky S, Grimm I, Saffian D, Girzalsky W, Erdmann R, Wendler P. Molecular snapshots of the PEX1/6 AAA+ complex in action. *Nat Commun.* 2015;6:7331. doi: 10.1038/ncomms8331.
26. Falkenberg KD, Braveman NE, Moser AB, Steinberg SJ, Klouwer FC, Schlüter A, Ruiz M, Pujol A, Engvall M, Naess K, van Spronsen F, Körver-Keularts I, Rubio-Gozalbo E, Ferdinandusse S, Wanders RJA, Waterham HR. Allelic expression imbalance promoting a mutant PEX6 allele causes Zellweger spectrum disorder. *Am J Hum Genet.* 2017;101(6):965-75. doi: 10.1016/j.ajhg.2017.11.007.
27. Miyata N, Fujiki Y. Shuttling mechanism of peroxisome targeting signal type 1 receptor PEX5: ATP independent Import and ATP dependent Export. *Mol Cell Biol.* 2005;25(24):10822-32. doi: 10.1128/MCB.25.24.10822-10832.2005.
28. Fujiki Y. Peroxisome biogenesis and human peroxisome-deficiency disorders. *Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci.* 2016;92(10):463-77. doi: 10.2183/pjab.92.463.
29. Fujiky Y, Yagita Y, Matsuzaki T. Peroxisome biogenesis disorders: molecular basis for impaired peroxisomal membrane assembly - In metabolic functions and biogenesis de peroxisomes in health and diseases. *Biochim Biophys Acta.* 2012;1822(9):1337-42. doi: 10.1016/j.bbadis.2012.06.004.
30. Yik WY, Steinberg SJ, Moser AB, Moser HW, Hacia JG. Identification of novel mutations and sequence variation in the Zellweger syndrome spectrum of peroxisome biogenesis disorders. *Hum Mutat.* 2009;30(3):E467- E80. doi: 10.1002/humu.20932.
31. Noguer MT, Martínez M. Visual follow-up in peroxisomal disorder patients treated with docosahexaenoic acid ethyl ester. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2010;51(4):2277-85. doi: 10.1167/iovs.09-4020.
32. Klouwer FC, Berendse K, Ferdinandusse S, Wanders RJA, Engelen M, Poll-The BT. Zellweger spectrum disorders: clinical overview and management approach. *Orphanet J Rare Dis.* 2015;10:151. doi: 10.1186/s13023-015-0368-9.
33. van Woerden CS, Groothoff JW, Wijburg FA, Duran M, Wanders RJ, Barth PG, Poll-The BT. High incidence of hyperoxaluria in generalized peroxisomal disorders. *Mol Genet Metab.* 2006;88(4):346-50. doi: 10.1016/j.ymgme.2006.03.004.
34. Paker AM, Sunnes JS, Brereton NH, Speedi LJ, Albanna L, Dharmaraj S, Moser AB, Jones RO, Raymond GV. Docosahexaenoic acid therapy in peroxisomal diseases: Results of a double-blind, randomized trial. *Neurology.* 2010;75(9):826-30. doi: 10.1212/WNL.0b013e3181f07061.
35. Heubi JE, Bove KE, Setchell KDR. Oral cholic acid is efficacious and well tolerated in patients with bile acid synthesis and Zellweger Spectrum Disorders. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2017;65(3):321-6. doi:10.1097/PMG.0000000000001657.
36. Ventura MJ, Wheaton D, Xu M, Birch D, Bowne SJ, Sullivan LS, Daiger SP, Whitney AE, Jones RO, Moser AB, Chen R, Wangler MF. Diagnosis of a mild peroxisomal phenotype with next-generation sequencing. *Mol Genet Metab Rep.* 2016;9:75-8. doi: 10.1016/j.ymgme.2016.10.006. eCollection 2016 Dec.
37. López-Pisón J, Pérez-Delgado R, García-Oguiza A, Lafuente-Hidalgo M, García-Jiménez M, Calvo-Ruata ML, Peña-Segura JL, Rabage V, Girós-Blasco M, Coll MJ, Balldellou-Vázquez A. Nuestra experiencia diagnóstica en enfermedades peroxisomales con alteración del perfil de ácidos grasos. *Rev Neurol.* 2008;47(1):1-5. doi: <https://doi.org/10.33588/rn.4701.2008033>.
38. Kumaran N, Michaelides M, Smith AJ, Ali RR, Bainbridge JWB. Retinal gene therapy. *Br Med Bull.* 2018;126(1):13-25. doi: 10.1093/bmb/ldy005.

39. Argyriou C, Polosa A, Cecyre B, Hsieh M, Di Pietro E, Cui W, Bouchard JF, Lachapelle P, Braverman N. A longitudinal study of retinopathy in the PEX1-Gly844Asp mouse model for mild Zellweger Spectrum disorder. *Exp Eye Res.* 2019;186:107713. doi:10.1016/j.exer.2019.107713.
40. Dranchak PK, di Pietro E, Snowdenn A, Oesch N, Braverman NE, Steinberg SJ, Hacia JG. Nonsense suppressor therapies rescue peroxisome lipid metabolism and assembly in cells from patients with specific PEX genes mutations. *J Cell Biochem.* 2011;112(5):1250–8. doi:10.1002/jcb.22979.
41. Crane DI. Revisiting the neuropathogenesis of Zellweger syndrome. *Neurochem Int.* 2014;69:1-8. doi:10.1016/j.neuint.2014.02.007.

MesH terms: Peroxins, Zellweger syndrome, Lorenzo's Oil, Genetic Therapy, docosahexaenoic acids, peroxisomal disorders.

Este trabajo debe ser citado como:

Bendala-Tufanisco E, López-Ruiz MA, Grisolia S. Peroxisomas y síndrome de Zellweger. Revisión sistemática de las terapéuticas vigentes. *Rev Esp Cien Farm.* 2020;1(1):1-12.