

J.M. Ramos Fernández<sup>1</sup>, G. Lorenzo<sup>2</sup>,  
J.M. Aparicio Meix<sup>2</sup>, P. Briones<sup>3</sup>,  
J. Fernández Toral<sup>4</sup>, M. Martínez-Pardo<sup>1</sup>

*An Esp Pediatr* 1998;49:85-88.

### Introducción

La enfermedad descrita por Menkes hace más de tres décadas<sup>(1)</sup>, es uno de los más infrecuentes de los errores congénitos del metabolismo (1:254.000 RN vivos)<sup>(2)</sup>. Es la consecuencia de la deficiencia de una P-ATPasa de la membrana, transportadora del cobre, cuyo gen se encuentra en el cromosoma Xq13.3<sup>(3-5)</sup>. Esta enzima presenta enormes homologías con las P-ATPasas de algunas células procariontas<sup>(6)</sup> (*Enterococcus hirae*, por ejemplo) a las que confiere resistencia bacteriana por su capacidad de extrusión de cationes, entre ellos el cobre (Cu). La deficiencia de esta enzima de transporte conduce a la alteración en el funcionamiento de metaloenzimas Cu-dependientes como la lisil oxidasa, la monoamino oxidasa, la tirosinasa, la superóxido dismutasa, la dopamina-β-hidroxilasa y la citocromo c oxidasa (COX), no siempre con la misma intensidad en cada una de ellas, lo cual explica la heterogeneidad en el fenotipo clínico y en el grado de afectación de los pacientes con enfermedad de Menkes. Se desconoce la situación celular exacta de la P-ATPasa del Cu y la patogenia de la diferente afectación en diversos tejidos, pero se sabe que el defecto produce una deficiencia de Cu en hepatocitos y neuronas, y un acúmulo importante en mucosa digestiva, endotelio capilar y riñón (glomérulo y túbulo contorneado proximal, fundamentalmente<sup>(7)</sup>). En caso de acúmulo del Cu, las metalotioneínas, cuyos genes (cromosoma 16) se activan por el exceso de Cu, captan este metal<sup>(8)</sup>. En la enfermedad de Menkes la absorción digestiva neta de Cu está muy disminuida pero su aclaramiento sanguíneo tras administración parenteral parece normal. Se conoce también que el hígado en condiciones normales no expresa el mRNA correspondiente al gen del Xq13.3 y que los fibroblastos siempre lo expresan<sup>(3)</sup> y son la base del diagnóstico prenatal tanto bioquímico como genético<sup>(9)</sup>.

Presentamos un paciente con enfermedad de Menkes de evolución subaguda, donde la actividad COX y el resto de la cadena respiratoria, así como la capacidad de oxidación de sustratos por los fibroblastos cultivados del paciente eran normales.

### Enfermedad de Menkes con citocromo oxidasa normal en fibroblastos: Presentación de un caso y puesta al día

Tampoco existían in vivo parámetros analíticos sugestivos de afectación mitocondrial. En la histología no se apreciaban fibras rojo rasgadas ni acúmulo de glucógeno en músculo. La ultraestructura celular mostraba mitocondrias normales, sin balonización ni pérdida de criptas.

### Caso clínico

Se trata de un niño de 2 años y 3 meses, primer hijo de padres sanos y no consanguíneos (madre 29 años y padre 31 años) nacido tras embarazo marcado por elevación de la α-fetoproteína con cariotipo fetal 46 XY, por amniocentesis. Cesárea por sufrimiento fetal agudo con aspiración meconial y test de Apgar de 7/9. Somatometría neonatal con peso de 3.240 g (P50), talla de 52 cm (P50-75), PC 34,2 cm (P50). Permaneció ingresado por taquipnea durante 15 días, tras lo cual fue dado de alta aparentemente asintomático. A los 4 meses fue intervenido de hernia inguinal. A los 5 meses comenzó con espasmos en flexión y extensión en salvas que fueron tratados con antiepilépticos en ingreso hospitalario y dado de alta, tras control de la crisis, con fenobarbital, valproato y clonacepam. En la TAC se objetivó una atrofia córtico-subcortical y el EEG presentaba evidentes anomalías con lentificación del trazado de base y descargas de punta-onda y polipunta-onda bilaterales con predominio izquierdo. A los 6,5 meses (peso 8.200 g P50, talla 69,5 cm P50-75 y PC 44 cm P50) comenzó de nuevo con crisis y se reajustó la medicación a valproato y vigabatrina. Aunque se consigue un control inicial de 3 meses, posteriormente prosiguió con ellas de modo refractario. Hasta los 15 meses parecía existir una discreta mejoría, aun cuando el contacto con el medio era cuestionable y no sostenía la cabeza. Comenzaron a notarse anomalías en espesor y tacto del pelo. Desde los 15 meses hasta la fecha en que nos es remitido realizó rehabilitación Vojta con escasos progresos.

A la exploración presentaba aspecto macrosómico con peso 15 kg (P90), talla 95 cm (P90) y PC 51 (P75). Fenotipo global armónico aunque con una facies peculiar, de amplias mejillas, nariz pequeña de orificios antevertidos, boca de labios finos en acento circunflejo, filtrum largo, hipertrofia gingival y dientes pequeños. Cabello áspero y quebradizo. Tórax y abdomen sin hallazgos reseñables. Circtorquidia bilateral con micropene. No contactaba con el entorno y no fijaba la mirada. Franca hipotonía axial sin sostén cefálico y espasticidad de miembros con reflejos osteotendinosos exaltados, clonus aquileo bilateral prolongado y reflejo plantar en extensión. Pares oculomotores nor-

<sup>1</sup>Unidad de Enfermedades Metabólicas, <sup>2</sup>Unidad de Neuropediatría, Servicio de Pediatría, Hospital Ramón y Cajal, Madrid. <sup>3</sup>Institut de Bioquímica Clínica, Cerdanyola del Vallés, Barcelona. <sup>4</sup>Servicio de Genética, Hospital Central de Asturias.

Correspondencia: José Miguel Ramos Fernández. E-Mail: juramos@nexo.es  
C/ Rafael Bergamín 18, 6º C. 28043 Madrid.

Recibido: Noviembre 1997

Aceptado: Febrero 1998

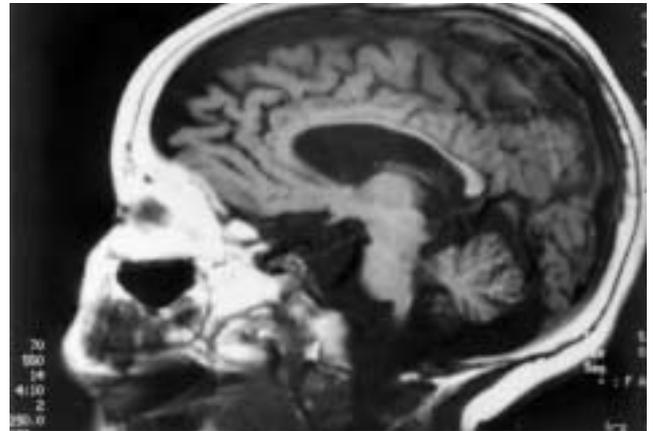


**Figura 1.** Radiografías de ambas rodillas donde se aprecia el bizarro ensanchamiento irregular de las metafisis junto a espiculación y punteado de epífisis femorales.

males. Llanto simétrico. Pupilas isocóricas con reacción lenta y débil a la luz. Reflejo cócleo-palpebral ausente. Fondo de ojo con pupila atrófica de bordes nítidos y vasos de calibre normal. No presentaba mancha rojo-cereza.

En las exploraciones complementarias llevadas a cabo se encontró lo siguiente:

**Determinaciones en sangre.** Hemograma y hemostasia normales. Velocidad de eritrosedimentación de 90 a la hora, frotis hematológico normal y sin inclusiones leucocitarias patológicas. GOT (ASAT) y GPT (ALAT) normales, GGT 61 (7-50 U/l). Creatinina, urea, ácido úrico, calcio y fósforo normales. Triglicéridos y colesterol normales. CPK y aldolasa normales. Ácido láctico 1,6 Mm (0,5-2,2) (con ácido láctico en líquido cefalorraquídeo de 1,1 mM). Cupremia 16 y 14 mcg/dl (70-150) en dos determinaciones, ceruloplasminemia 9 y 7 mg/dl (18-45) a la vez que el Cu. Aminoácidos normales. Actividad de dihidropteridín reductasa normal. Actividad de biotinidasa normal. Ácidos orgánicos y ácidos grasos de cadena muy larga normales (por cromatografía de gases), ácido fitánico no detectable. Amonio 43 µg/dl, carnitina libre 27 mM (> 22). Niveles de Cu



**Figura 2.** Imagen de resonancia magnética craneal, corte sagital potenciado en T-1 donde se aprecia marcado aumento de los espacios subaracnoideos de predominio frontal por intensa atrofia cortical y subcortical que afecta a cerebro y cerebelo junto a delgadez extrema del cuerpo calloso.

y ceruloplasmina en el padre 83 y 40 respectivamente; y en la madre 73 y 31 asimismo.

**Determinaciones en orina.** Aminoácidos, ácidos orgánicos, pterinas, glucosaminoglicanos y oligosacáridos normales.

EEG. Actividad indicativa de sufrimiento cortical difuso, marcada por lentificación global del trazado sobre el que aparecían descargas generalizadas sincronas de punta-onda y poli-punta-onda que en ocasiones se acompañaban de repercusión clínica, así como brotes de supresión. La estimulación luminosa intermitente no desencadenaba paroxismos. Durante el sueño predominaban los potenciales más lentos sobre el hemisferio derecho. PEV sin respuesta evocada visual en ambos ojos. PEAT con respuesta asimétrica, desestructurada, de baja amplitud y sin ondas III y V en el oído izquierdo. EMG normal (cuádriceps izquierdo). Velocidad de conducción nerviosa normal (nervio mediano izquierdo). Radiografía de esqueleto que mostraba una generalizada osteoporosis y vértebras cuboideas con hendidura transversa, costillas cortas, metafisis anchas con epífisis irregulares (Fig. 1), calcificaciones punteadas en epífisis distal del fémur y cráneo con silla turca pequeña e hipercalcificación de la bóveda sin sesamoideos. La imagen cerebral por resonancia magnética (Fig. 2) mostraba una intensa atrofia córtico-subcortical, sin aparente alteración en núcleos de la base y sin muestras de leucodistrofia. El estudio al microscopio de barrido del cabello evidenció tres alteraciones coexistentes: el clásico «pili torti» junto a «tricornis nudosa» (Fig. 3) y pelo acanalado (Fig. 4). Biopsia de piel: En el estudio óptico no se apreciaban depósitos citoplasmáticos de Cu. En el estudio ultraestructural se valoraron glándulas ecrinas, folículos pilosos, fibroblastos, células musculares, endoteliales y de Schwann, en ninguna de las cuales se observaron depósitos anómalos intracelulares, ni otras alteraciones ultraestructurales.

Las actividades enzimáticas del metabolismo energético en fibroblastos cultivados expuestos en la tabla I evidenciaron la normalidad oxidativa mitocondrial.

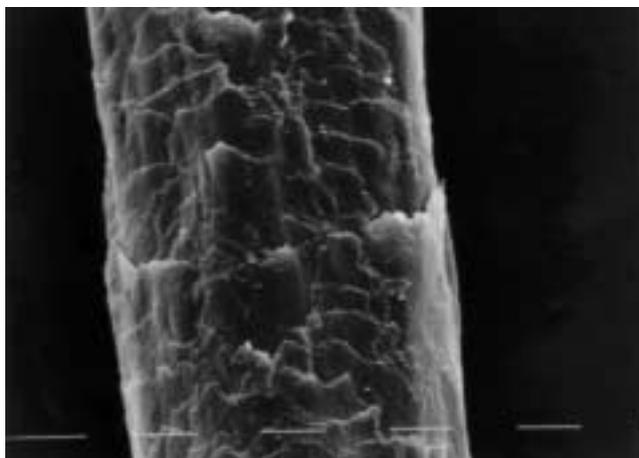


Figura 3. Microscopio de barrido. Tricorrexis nudosa.

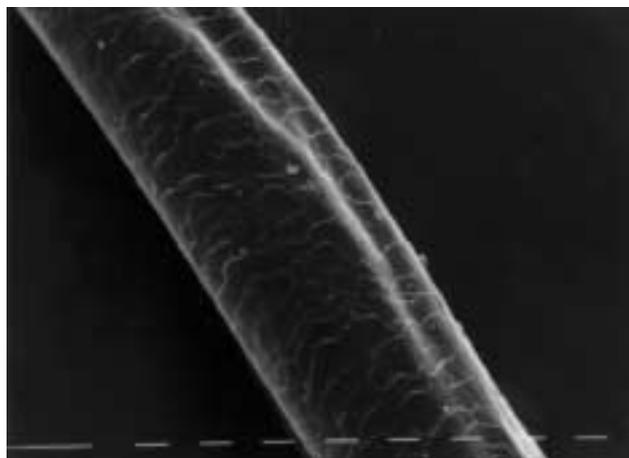


Figura 4. Microscopio de barrido. Pelo acanalado.

Tabla I Metabolismo energético oxidativo mitocondrial en fibroblastos cultivados del paciente

<i>Actividades enzimáticas (nmol/min/mg prot)</i>		
	<i>Paciente</i>	<i>Controles</i>
Citocromo C oxidasa (COX)	16,6	10-51
Citrato sintasa (CS)	28,9	15-44
COX/CS	0,57	0,46-1,12
<i>Oxidación de sustratos (nmol/h/mg prot)</i>		
2- <sup>14</sup> C-Piruvato	16,8	3,1-15,2
1- <sup>14</sup> C-Glutamato	15,2	3,4-21,9
2,3- <sup>14</sup> C-Succinato	0,41	0,06-0,26

La captación de <sup>64</sup>Cu en fibroblastos cultivados estaba notablemente incrementada, en el rango de la enfermedad de Menkes (tabla II).

## Discusión

Tres etapas han presidido el conocimiento de la enfermedad de Menkes. La primera iniciada en 1962 en que se describió clínicamente y se comprobó su herencia ligada al sexo<sup>(1)</sup>. La segunda con el descubrimiento de la implicación del metabolismo del cobre<sup>(10)</sup> en 1972, y la tercera en 1993 con la clonación de su gen (gen denominado actualmente ATP7A) y la caracterización de la proteína que codifica<sup>(3-5)</sup>. No obstante aún no se conoce con exactitud qué distribución por tejidos tiene esta ATPasa transportadora del Cu, si bien trabajos recientes revelan que es en el aparato de Golgi<sup>(11)</sup> (red trans-Golgi) donde la inmunocitoquímica localiza a la proteína ATP7A. Es manifiesto el desigual comportamiento de los diferentes tejidos en cuanto a la dinámica y depósito del Cu, tal y como se ha indicado en la introducción. Es llamativo el deficiente depósito de Cu en el hígado de

Tabla II Captación del Cu por los fibroblastos cultivados del paciente

<i>Ensayo de captación de <sup>64</sup>Cu (ng <sup>64</sup>Cu/mg prot/20 h)</i>	
Paciente	77,2
Control (N = 1)	17,3
Menkes (N = 1)	123,4
<i>Valores de referencia*</i>	
Control varones (N = 21)	9,0-33,3
Control mujeres (N = 21)	11,1-26,7
Enfermedad de Menkes (N = 105)	34,3-135,1
<i>*del «John Fitzgerald Kennedy Institute» de Dinamarca (Dr. Tonne Tomnesen).</i>	

estos enfermos, obvio ya a la 20 semana de gestación<sup>(12)</sup>, cuando es precisamente este órgano el regulador de la homeostasis interna y el que suple desde el nacimiento las necesidades corporales de Cu de los primeros meses.

La deficiencia de distintas enzimas que requieren Cu para su síntesis es al parecer la causa última de la diversidad y ubicuidad en la afectación del niño con enfermedad de Menkes. Así, la deficiencia en la superóxido dismutasa conduce a una menor capacidad para la detoxificación de los radicales libres de oxígeno y a una peroxidación lipídica de las membranas celulares con la consiguiente degeneración celular precoz. La deficiencia en la lisil oxidasa afecta al sobrecruzamiento del colágeno y la elastina y conduce a dilataciones tortuosas y aberrantes de las grandes y medianas arterias, divertículos vesicales, hernias, laxitud articular y cutánea y defectos óseos pseudoescorbúticos. El déficit de tirosinasa impide la formación de melanina y conduce a la hipopigmentación característica de estos pacientes. El defecto de la dopamina-β-hidroxilasa impide la adecuada síntesis de catecolaminas y es en gran medida responsable de la afectación neurológica.

El defecto de la COX produce un fallo en la vía energética, que ha sido referido tanto en músculo<sup>(13)</sup> como en fibroblastos<sup>(14)</sup> y conduce a la clínica de una enfermedad mitocondrial, con fibras rojo rasgadas<sup>(13,15)</sup>, acúmulo de glucógeno citoplasmático y elevación del lactato tanto en sangre como en líquido cefalorraquídeo.

A tenor de lo que se conoce respecto de la distribución del Cu en el citoplasma de afectos de la enfermedad de Menkes, parece que existe una incapacidad para su utilización por las organelas como la mitocondria<sup>(16)</sup>, a pesar de que tanto in vivo como en cultivo, el Cu se acumula en el citoplasma de músculo y fibroblastos al doble o al triple de su valor respecto de células no enfermas<sup>(17)</sup>. Existe quien ha descrito actividad COX decrecida in vivo y normal in vitro<sup>(17)</sup> para el mismo paciente. Otros autores encuentran actividad normal in vitro de la COX, si bien con afectación del complejo I de la cadena respiratoria<sup>(18)</sup>. Hay que llamar la atención sobre la heterogeneidad de métodos para la determinación de las actividades de cadena respiratoria que pueden estar distorsionando las comprobaciones de todos los autores e incluso hay que admitir que en base a nuestro conocimiento actual no sea posible reproducir exactamente el medio interno celular de un afecto de la enfermedad de Menkes para determinar fiablemente qué ocurre en la célula enferma. Dicho de otra forma, puede que in vitro los fibroblastos estén «curados» respecto del funcionamiento mitocondrial, aunque obviamente no lo están respecto de la extrema avidez por Cu que presentan, con el consiguiente acúmulo.

Para concluir queremos incidir en el aspecto particular de la indemnidad de la COX en fibroblastos, al menos para las técnicas habituales de estudio de enfermedades mitocondriales, en un paciente con la enfermedad de Menkes comprobada mediante análisis bioquímico, con un curso subagudo y sin otras evidencias indirectas de clínica mitocondrial.

## Agradecimientos

Al Dr. Tonne Tonnesen por su ayuda en el estudio de captación de Cu por los fibroblastos de este paciente.

## Bibliografía

- Menkes JH, Alter M, Steigleder GK, Keakley DR, Sung A. Sex-linked recessive disorder with retardation of growth, peculiar hair, and focal cerebral and cerebellar degeneration. *Pediatrics* 1962; **29**:764-779.
- Tonnensen T, Kleijer WJ, Horn N. Incidence of Menkes disease. *Hum Genet* 1991; **86**:408-410.
- Vulpe C, Levinson B, Whitney S, Packman S, Gitschier J. Isolation of a candidate gene for Menkes disease and evidence that it encodes a copper transporting ATPase. *Nat Genet* 1993; **3**:7-13.
- Mercer JF, Livingston J, Hall B, Paynter JA, Begy C, Chandrasekharappa S, Lockhart P, Grimes A, Bhavne M, Siemiak D y cols. Isolation of a partial candidate gene for Menkes disease by positional cloning. *Nat Genet* 1993; **3**:20-25.
- Chelly J, Tumer Z, Tonnensen T, Peterson A, Ishikawa-Brush Y, Tommerup N, Horn N, Monaco AP. Isolation of a candidate gene for Menkes disease that encodes a potential heavy metal binding protein. *Nat Genet* 1993; **3**:14-19.
- Soloz M, Odermatt A, Krapf R. Copper pumping ATPases: common concepts in bacteria and man. *FEBS letters* 1994; **346**:44-47.
- Yoshimura N. Histochemical localization of copper in various organs of brindled mice. *Pathol Int* 1994; **44**:14-19.
- Herzberg NH, Wolterman RA, Van-der-berg GJ, Barth PG, Bolhuis PA. Metallothionein in Menkes' disease: induction in cultured muscle cells. *J Neurol Sci*, 100:50-56.
- Tumer Z, Tonnesen T, Böhm J, Marg W, Horn N. First trimester prenatal diagnosis of Menkes disease by DNA analysis. *J Med Genet* 1994; **31**:615-617.
- Danks MD, Campbell PE, Stevens BJ, Mayne V, Cartwright E. Menkes kinky hair disease: an inherited defect in copper absorption with widespread effects. *Pediatrics* 1972; **50**:188-201.
- Dierick HA, Adam AN, Escara-Wilke JF, Glover TW. Immunocytochemical localization of the Menkes copper transport protein (ATP7A) to the trans-Golgi network. *Hum Mol Genet* 1997; **6**:409-416.
- Heydorn K, Damsgaard E, Horn N, Mikkelsen M, Tygstrup I, Vestermark S, Weber J. Extra-hepatic storage of copper. A male foetus suspected of Menkes' disease. *Humangenetik* 1975; **29**:171-173.
- Morgello S, Peterson HD, Kahn LJ, Laufer H. Menkes kinky hair disease with «raged red» fibers. *Dev Med Child Neurol* 1988; **30**:812-816.
- Kodama H, Okabe I, Yanagisawa M, Kodama Y. Copper deficiency in the mitochondria of cultured skin fibroblasts from patients with Menkes syndrome. *J Inherited Metab Dis* 1989; **12**:386-389.
- Martínez Granero MA, Hardisson D, Martínez Bermejo A, Morales C, Gutiérrez Molina M, Arcas Martínez J, Pascual Castroviejo I. Enfermedad de Menkes: presentación anatomoclínica de un caso. *Rev Neurol* 1997; **25**:465-470.
- Kodama H. Recent developments in Menkes disease. *J Inherited Metab Dis* 1993; **16**:791-799.
- Van-der-berg GJ, Kroon JJ, Wijburg FA, Sinjorgo KM, Herzberg NH, Bolhuis PA. Muscle cell cultures in Menkes' disease: copper accumulation in myotubes. *J Inherited Metab Dis* 1990; **13**:207-211.
- Inagaki M, Hashimoto K, Yoshino K, Ohtan K, Nonaka I, Arima M, Kobayashi M, Sugiyama N. Atypical form of Menkes kinky hair disease with mitochondrial NADH-CoQ reductase deficiency.