

## ACTIVIDAD DE LA CHITOTRIOSIDASA PLASMATICA EN PACIENTES ARGENTINOS CON ENFERMEDAD DE GAUCHER, DIVERSAS LISOSOMOPATIAS Y EN OTRAS METABOLOPATIAS GENETICAS

RAQUEL DODELSON de KREMER, ANA PASCHINI de CAPRA, CELIA J. ANGARONI, ALICIA GINER de AYALA

*Centro de Estudios de las Metabolopatías Congénitas, CEMECO, Cátedra de Clínica Pediátrica, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Córdoba; Hospital de Niños, Ministerio de Salud de la Provincia de Córdoba, Córdoba*

**Resumen:** Recientemente, una marcada y aparente específica elevación de la actividad de la chitotriosidasa plasmática (Ch-PI) fue demostrada en pacientes con Enfermedad de Gaucher (EG) Tipo 1 (Mc Kusick 230800); este indicador bioquímico contribuiría además, en la detección de la patología y en la valoración de la terapia de suplementación enzimática (TSE). Datos subsecuentes sugirieron que el incremento de la Ch-PI también era marcador de otras patologías de atesoramiento lisosomal (PAL), aunque las actividades fueron menores que los valores más bajos de la EG Tipo 1. Aquí presentamos nuestra experiencia en la investigación de la actividad de la Ch-PI en una población argentina distribuida en tres grupos: a) 25 controles sanos; b) individuos relacionados con la EG: 3 pacientes con EG Tipo 1, 3 heterocigotas obligadas y 1 paciente con una variante atípica de EG; c) 42 pacientes con precisa definición nosológica de una Enfermedad Metabólica Hereditaria (EMH) y 5 pacientes presumibles de padecer una PAL aunque sin confirmación enzimática. La actividad de la metilumbelliferil tri-N-acetilchitotriosa hidrolasa fue de 600-2000 veces mayor en el plasma de las pacientes con EG Tipo 1 respecto del valor medio normal autóctono (17 nmoles/min/ml; rango de 6-60,4 nmoles/min/ml); en la paciente con EG atípica el incremento de la Ch-PI fue alrededor de 100 veces. El efecto de la TSE en 2 de las pacientes con EG Tipo 1, una de forma moderada y la otra severa, se manifestaron con un descenso del 50% de la actividad de la Ch-PI a los 10 meses de tratamiento a la dosis de 30 U/kg/mes de alglucerasa. En las heterocigotas obligadas de EG Tipo 1 y en la del Tipo 2 como asimismo en el grupo de pacientes con diferentes EMH, la actividad de la Ch-PI resultó normal. Una deficiencia total de la Ch-PI se demostró en el 8% de los controles sanos y un 10,6% en el grupo patológico. La relación entre el incremento de varios cientos de veces de la Ch-PI y la fisiopatología de la EG no está elucidada como tampoco los posibles efectos de la relativamente común deficiencia de la enzima en el ser humano. La demostración del rol de la enzima en la degradación de patógenos contentivos de quitina, la purificación y clonación de cADN de la enzima, abren interesantes aspectos a investigar en este nuevo capítulo de la genética médica.

**Palabras claves:** errores innatos, enfermedad de Gaucher, alglucerasa, lisosomopatías

La Enfermedad de Gaucher (EG) constituye la patología de atesoramiento lisosomal (PAL) de

mayor prevalencia. Los pacientes con EG han sido clasificados en tres fenotipos clínicos: los del Tipo 1 presentan una marcada variación en la hepatoesplenomegalia, anemia, trombocitopenia, osteopatía y en menor expresión, compromiso pulmonar y renal; el sistema nervioso central (SNC) no parece estar involucrado. En los pacien-

-----  
Recibido: 24-IV-97

Aceptado: 11-VI-97

**Dirección postal:** Dra. Raquel D. de Kremer, CEMECO, Hospital de Niños, Corrientes 643, 5000 Córdoba, Argentina.



tes con EG Tipo 2, la hepatoesplenomegalia y el grave compromiso del SNC con muy rápida evolución, entre 1-2 años de edad, constituyen los caracteres salientes. Los pacientes con EG Tipo 3 han sido subclasificados en los Tipos 3a y 3b, con leve o moderada hepatoesplenomegalia, deterioro neurológico lento, convulsiones mioclónicas recurrentes para el primero y hepatomegalia masiva, várices esofágicas y paresia supranuclear horizontal de la mirada, como el mayor signo neurológico para el segundo. Cantidades excesivas del lípido glucocerebrósido (GC) se acumulan en los órganos de los pacientes con EG debido a niveles deficientes de la enzima glucocerebrosidasa (GCasa). En muy pocos casos, el GC se atesora por la falta de la saposina C o SAP-2 (Gaucher activador), una cohidrolasa requerida por la GCasa para el catabolismo del GC<sup>1</sup>. Para la forma fenotípica más común, la crónica no neuropática o Tipo 1, no se ha logrado establecer una correlación estricta entre la actividad residual de la GCasa, la expresión clínica de la enfermedad y los genotipos mutados<sup>2</sup>. Recientemente, la terapia de suplementación enzimática (TSE) ha sido de singular beneficio en pacientes con EG Tipo 1, logrado por la infusión de la GCasa placentaria, purificada y modificada (alglucerasa) para su reconocimiento e incorporación por los macrófagos, células primariamente involucradas en el almacenamiento del GC en los órganos sistémicos<sup>3</sup>. Sin embargo, el empleo de la alglucerasa no ha estado exento de ciertas serias limitaciones que refieren a su muy alto costo, un mejoramiento clínico lento, alrededor de los 3-6 meses, una diferencia notoria de las dosis empleadas y la dificultad de indicación en aquellas formas benignas con dudoso grado de activación<sup>4, 5</sup>.

Un cambio sustancial en la consideración de los aspectos arriba mencionados, fue a partir de la comunicación de Hollak y col.<sup>6</sup> en 1994 de un nuevo marcador de la EG Tipo 1, la chitotriosidasa plasmática, con una elevación de la actividad en estos pacientes mayor de 600 veces del valor medio respecto a la de sus controles sanos. Estudios previos ya habían señalado para esta patología, un incremento secundario de otras enzimas tales como la fosfatasa ácida sérica/plasmática<sup>7, 8</sup>, la lisosima y la enzima convertidora de la angiotensina<sup>9, 10</sup> y de otras enzimas lisosomales<sup>11</sup>, pero el incremento de las actividades

respectivas no superaban los valores normales más que 2-10 veces.

La función de la chitotriosidasa en plasma es desconocida, aunque previamente fue demostrado que era diferente de la lisosima, chitobiosa, hexosaminidasa, hialuronidasa o endoglucosaminidasa neutra<sup>12, 13</sup>. Mientras continúa el debate sobre la preeminencia del reconocimiento del fenómeno de la chitotriosidasa en la EG Tipo 1<sup>14, 6</sup>, avances muy rápidos se han producido en torno a esta enzima, desconocida de tener una relación importante con patologías humanas aun en publicaciones recientes<sup>15</sup>.

En este trabajo investigamos el comportamiento de la actividad de la chitotriosidasa plasmática en pacientes con EG Tipo 1, heterocigotas de EG Tipo 1 y Tipo 2, de una paciente con una variante atípica de EG y en Enfermedades Metabólicas Hereditarias con distintos defectos genéticos; se comparan y amplían los datos de las aun escasas comunicaciones foráneas y se discuten los resultados en función de las posibles implicancias diagnósticas y terapéuticas de los pacientes con EG. Este trabajo representa una primera comunicación sobre el tópico en Argentina.

## Material y métodos

### Sujetos

La serie total de individuos que componen la población de este estudio fueron distribuidos en tres grupos: a. *Controles sanos*, conformados por 25 personas voluntarias de ambos sexos, entre 22-50 años de edad, b. *Individuos relacionados con la EG*, que incluyeron 3 pacientes mujeres no emparentadas, MC, LT y MJ de 27, 29 y 35 años de edad respectivamente, con EG Tipo 1. Estas pacientes fueron clasificadas en igual orden, como formas severa, moderada y leve de acuerdo al SSI (Severity Scoring Index), basado en el tamaño del hígado, bazo, compromiso óseo y severidad de la pancitopenia<sup>16</sup>. Las pacientes MC y LT, cuyo diagnóstico molecular fue ya publicado<sup>17</sup>, se estudiaron previa y durante la terapia con alglucerasa endovenosa (Ceredase, Genzyme Corp., Cambridge USA); dos heterocigotas obligadas del mismo Tipo, madre de MC (JC) y madre de LT (MT); una heterocigota obligada (SP), madre de un lactante con EG Tipo 2 o forma neuropática fallecido a los 2 meses de edad. En este subgrupo se incluyó una paciente (NB) de 45 años de edad, con una forma previamente no conocida de EG cuya naturaleza está bajo investigación: fenotipo clínico, bioquímico y morfológico de EG y con actividad



normal de la GCasa. En adelante, esta paciente se identificará bajo la designación de variante atípica de EG. c. *Individuos relacionados con otras enfermedades metabólicas hereditarias*, 42 de ellos con exacta definición nosológica: 14 Glucogenosis (Tipo I, 8; Tipo III, 2; Tipo VI, 1; Tipo IX, 3); 1 Galactosemia (deficiencia en galactosa-1-fosfato uridil transferasa); 1 Fructosemia (deficiencia en aldolasa B); 4 Fenilcetonuria (forma clásica); 1 Tirosinemia Tipo I; 1 Homocistinuria; 1 Deficiencia de lipoamida dehidrogenasa o E<sub>3</sub>; 2 Gangliosidosis GM<sub>2</sub> Tipo 2 (enfermedad de Sandhoff); 4 Mucopolisacaridosis (Tipo II, 1; Tipo III, 3); 2 Mucopolisacaridosis III; 1 Galactosialidosis; 1 Leucodistrofia Metacromática; 1 Adrenoleucodistrofia; 1 Deficiencia de acetilacetilasa (Enfermedad de Canavan); 1 MELAS; 1 Oftalmoplegia Plus; 1 Síndrome de Barth; 1 Síndrome de Lowe; 1 Enfermedad de Menkes; 1 Condrodistrofia Rizomélica Punctata; 1 Dermatomiomatosis y 5 pacientes con fenotipos compatibles de PAL pero sin confirmación enzimática (Tabla 2). La extracción de las muestras fue posibilitada por el consentimiento informado de los pacientes y en los casos de menores de edad por los padres o tutores.

#### Ensayos enzimáticos

La determinación de la actividad de la chitotriosidasa plasmática fue realizada según la técnica de Hollak y col.<sup>6</sup>: 5 µl de suero o plasma (EDTA o heparina) con 100 µl de 22 µmol/L de 4-methylumbelliferyl-β-D.N, N', N'' triacetylchitotriose (Sigma Chemical Co., St Louis, MO) en buffer citrato/fosfato 0,1/0,2 M pH 5,2, fueron incubados durante 45 min (única modificación del método citado, quien utilizó 15 min para el tiempo de incubación). En los pacientes con EG las muestras fueron diluidas 50x en agua demineralizada. La reacción fue detenida con 2 ml de buffer glicina/ONa 0,3 M pH 10,6. La fluorescencia de la 4-methylumbelliferona liberada fue medida con un fluorómetro Turner Modelo 112 a 445 nm.

Los ensayos de la β-glucocerebrosidasa se realizaron en homogenatos de pella leucocitaria, según el método de Wenger y Williams<sup>18</sup>. La fosfatasa ácida se determinó en suero fresco según Chambers y col.<sup>7</sup> y la β-hexosaminidasa (HEX) Total (HEX A+HEX B) y parcial (HEX B) se realizaron según la técnica de O'Brien y col.<sup>19</sup>.

## Resultados

En la Tabla 1 se muestran los valores obtenidos de la chitotriosidasa plasmática en controles sanos y en los individuos relacionados con EG; nuestro rango normal se ubicó entre 6-60,4 nmol/min/ml con una media de 17 nmol/min/ml, asimismo se señalan las actividades de las otras enzimas lisosomales relacionadas secundaria-

mente con la EG Tipo 1. En dos de las pacientes (MC y LT) con EG Tipo 1 ha sido valorado el efecto terapéutico de 2,5 U de Ceredase por Kg de peso-3 veces por semana sobre los niveles de las actividades enzimáticas ensayadas, tanto de la chitotriosidasa como sobre las otras hidrolasas. El incremento de la chitotriosidasa plasmática pretratamiento fue aproximadamente de 2000, 1500 y 600 veces en relación a nuestro valor medio normal en las pacientes MC, LT y MJ respectivamente; la fosfatasa ácida incrementó alrededor de 6 veces en las pacientes MC y LT. La HEX Total y HEX B se encontraron incrementadas entre 3,5 y 5 veces en las tres pacientes con EG Tipo 1. A los 10 meses de tratamiento, los valores de la chitotriosa plasmática descendieron alrededor de un 50% en ambas pacientes tratadas y en forma similar resultaron los de la fosfatasa ácida, en cambio los de la HEX Total y HEX B se normalizaron. Ninguno de los casos de heterocigosis mostró modificaciones de la actividad de la β-glucosidasa y/o de las otras enzimas ensayadas. En la paciente con EG atípico, con actividad de β-glucosidasa normal, la actividad de la chitotriosidasa plasmática incrementó 100 veces, la fosfatasa ácida alrededor de 2 veces, mostrando niveles normales de la HEX total y HEX B. Una actividad cero de la chitotriosidasa plasmática fue encontrada en dos de nuestros 25 controles normales (8%).

En la Tabla 2, mostramos los valores de la actividad de la chitotriosidasa plasmática en los 42 pacientes con diagnóstico preciso de una Enfermedad Metabólica Hereditaria y 5 pacientes con sospecha de estar afectados por una PAL pero sin confirmación enzimática; en este conjunto de pacientes no se notó en ningún caso, incremento de la actividad de la enzima mencionada. Por el contrario, la actividad fue nula en 5 de ellos (10,6%) correspondiendo a las siguientes patologías con las relaciones numéricas respectivas en función de los pacientes evaluados por entidad: Glucogenosis Tipo I, 1/8; Fructosemia; 1/1; Mucopolisacaridosis III, 1/3; Adrenoleucodistrofia, 1/1 y Enfermedad de Canavan, 1/1.

También fueron valorados 6 pacientes leucémicos: correspondiendo 2 a la forma mielomonocítica, 1 a la mielóide crónica y 3 a la linfática aguda; en estos casos no se demostró modificación en el nivel enzimático de la chitotriosidasa plasmática (datos no mostrados en la Tabla II).



TABLA 1.- Actividad de la chitotriosidasa plasmática y otras enzimas lisosomales relacionadas con la Enfermedad de Gaucher. Efecto de la suplementación enzimática en dos pacientes a los 10 meses de la terapia

	Chitotriosidasa <sup>a</sup>	β-Glucosidasa <sup>b</sup>	Fosfatasa ácida <sup>a</sup>	Hex total <sup>c</sup>	Hex B <sup>c</sup>
Controles normales					
CEMECO					
rango(n=25)	6-60,4	5,1-12	6-30	400-1300	140-400
edad	22-50				
Bibliográficos					
Hollak y col. <sup>6</sup>					
rango(n=50)	4-76				
edad	22-56				
Guo y col <sup>23</sup>					
rango(n=385)	4-195				
edad	0-80				
Gaucher Tipo 1					
Pacientes*					
1 MC	30628/16647	2,3	164/92,3	1846/917	1156/421
2 LT	36628/15960	2,8	170/93,4	1782/864	857/380
3 MJ	9665/-	0,5	-	1679/-	757/-
Heterocigotas					
1 JC	15,9	6,0	17	358	167
2 MT	40,7	7,2	23	688	339
Gaucher Tipo 2					
Heterocigota					
1 SP	25,6	-	-	-	-
Variante atípica de EG**					
Paciente					
1 NB	1833	9,3	57,7	625	168

Actividades enzimáticas expresadas como: a, nmol/min/ml; b, nmol/h/mg proteína; c, nmol/h/ml; n: número de controles; \*/-: actividades enzimáticas pretratamiento/10 meses de tratamiento; -: no determinado; \*\*: estudios inmunoquímicos<sup>20</sup> y de análisis molecular en progresión<sup>21, 22</sup>.

## Discusión

Las manifestaciones clínicas de la EG son muy variadas y si bien la medición de la actividad GCasa mutada es indispensable para la definición diagnóstica, no resulta determinante para predecir la evolución de la enfermedad hacia formas severas, benignas o asintomáticas. La elevación secundaria de las actividades de algunas hidrolasas, han sido de poca o imprecisa utilidad en la práctica asistencial. La reciente disponibilidad de la TSE para la EG Tipo 1, forzó la búsqueda de indicadores del particular estado evolutivo

como la de marcadores bioquímicos precoces de la eficacia terapéutica.

A partir de la comunicación de Hollack y col.<sup>6</sup> de un incremento de la chitotriosidasa plasmática, mayor de 600 veces respecto al valor medio normal en 30 de sus 32 pacientes con EG Tipo 1, esta enzima se transformaría, entre otros aspectos de significación prospectiva, en un marcador de excepcional utilidad para señalar estado evolutivo y eficacia terapéutica en esta patología. Quedó demostrado además, que la chitotriosidasa plasmática y leucocitaria y no la de fibroblastos cultivados, era secretada por macró-



TABLA 2.- Actividad de la chitotriosidasa plasmática en pacientes argentinos con enfermedades metabólicas hereditarias de diagnóstico preciso y otros sin confirmación enzimática

Enfermedad	Número de pacientes	Actividad nmol/h/ml
<b>Glucogenosis y carbohidratos</b>		
Glucogenosis Tipo I	8	0; 7,2-23,5
Glucogenosis Tipo III	2	7,3; 7,9
Glucogenosis Tipo VI	1	6,9
Glucogenosis Tipo IX	3	8,3; 8; 7,9
Galactosemia	1	17,7
Fructosemia	1	0
<b>Aminoacidopatías y aciduria orgánica</b>		
Fenilcetonuria	4	7,9-44,7
Tirosinemia Tipo I	1	8,2
Homocistinuria	1	54
Deficiencia de lipoamida dehidrogenasa	1	12,4
<b>Patologías lisosomales</b>		
Enfermedad de Sandhoff	2	9,9; 15,9
Mucopolisacaridosis II	1	15,3
Mucopolisacaridosis III	3	0; 10,6; 18,9
Mucopolisacaridosis III	2	9,1; 21,1
Galactosialidosis	1	54
<b>Leucodistrofias</b>		
Leucodistrofia metacromática	1	29,8
Adrenoleucodistrofia	1	0
Enfermedad de Canavan	1	0
<b>Mitocondriopatías</b>		
MELAS	1	7,4
Oftalmoplegia Plus	1	7,4
Síndrome de Barth	1	19,9
<b>Otras enfermedades hereditarias</b>		
Síndrome de Lowe	1	8
Enfermedad de Menkes	1	8
Condrodisplasia rizomélica punctata	1	16,3
Dermatomiositis	1	7,5
<b>Lisosomopatías presuntivas</b>	5	6,7-29,8
<b>Total</b>	<b>47</b>	

fagos activados y de naturaleza probablemente idéntica a la antes descrita como chitotriosidasa, una endo  $\beta$ -glucosaminidasa distinta de la lisosima<sup>12</sup>.

Con posterioridad a Hollack y col., sólo dos trabajos de investigación clínica fueron publicados: el de Guo y col.<sup>23</sup> en 1995 y el de Den Thandt y col.<sup>14</sup> en 1996. En estos trabajos se reafirmó la especificidad del aumento de la

chitotriosidasa plasmática en la EG Tipo 1, la alta frecuencia en una deficiencia genética de esta enzima, alrededor de un 6% en la población general sana o afectada de EG Tipo 1 y se extendieron las observaciones a otras enfermedades metabólicas hereditarias, en particular a las patologías de atesoramiento lisosomal por compartir con la EG igual organela esencialmente involucrada.



En esta publicación presentamos los resultados del estudio de la chitotriosidasa plasmática en tres grupos de sujetos argentinos claramente diferenciados: normales para la obtención de valores referenciales autóctonos, de aquellos relacionados con la EG y el tercero perteneciente a un espectro amplio de otras metabolopatías genéticas identificadas y caracterizadas previamente en nuestro Centro.

En las tres pacientes con EG Tipo 1, el incremento de la chitotriosidasa plasmática fue categórico, entre 600-2000 veces respecto a la media normal establecida en nuestro laboratorio; estas magnitudes estuvieron en correlación con la escala de severidad clínica asignada a estas pacientes. Las otras hidrolasas ensayadas, fosfatasa ácida y HEX mostraron discreto incremento, coincidente con lo ya conocido. En el caso de la paciente con EG atípica, el aumento de la chitotriosidasa plasmática fue de unas 100 veces y la de la fosfatasa ácida alrededor de 2 veces. Esta paciente presenta según nuestro conocimiento, una variante de EG previamente no descrita; la actividad normal de la  $\beta$ -glucosidasa descarta cualquiera de las formas conocidas de EG y la deficiencia en la SAP-2, tal como se conoce por las dos únicas descripciones bibliográficas, no parece coincidente con nuestro caso. De manera tal que, aunque la elucidación de esta singular presentación de EG está en progreso, el fenotipo de la enferma justificó su inclusión en este estudio. La actividad de su chitotriosidasa plasmática resultó la más alta después de las formas típicas de EG.

Ninguna de las heterocigotas obligadas, tanto las de la EG Tipo 1 o la del Tipo 2 presentaron modificaciones de la chitotriosidasa plasmática o de las otras enzimas lisosomales analizadas; en consecuencia, esta experiencia resultó como otras bibliográficas, infructuosa para la detección de los portadores de EG por procedimientos diferentes del análisis molecular.

En el grupo de las metabolopatías hereditarias, lisosomales o aquellas debidas a otros variados defectos genéticos, no se demostró elevación en la actividad de la chitotriosidasa plasmática; esta observación fue parcialmente coincidente con la de Guo y col.<sup>23</sup> y la de Den Thandt y col.<sup>14</sup> quienes señalaron incremento de la enzima en algunas lisosomopatías, aunque en ningún caso con elevaciones tan altas como en la EG. La varia-

ble casuística de los autores incluida bajo la denominación genérica de metabolopatías hereditarias, aunado a la bien conocida heterogeneidad fenotípica/genotípica que un mismo error innato puede presentar, no permiten más que una comparación relativamente ajustada en este aspecto.

La acción terapéutica de la alglucerasa se evidenció en las dos pacientes tratadas, por un mejoramiento clínico y de los parámetros hematológicos, acompañados por un descenso de la actividad de la chitotriosidasa plasmática en aproximadamente un 50% a las 40 semanas de comenzada la terapia con alglucerasa a 30 U/Kg/mes, la dosis más baja empleada en la literatura. Si el seguimiento de estas pacientes sigue demostrando efectividad a dicha dosis, el crítico aspecto económico de la TSE se vería aminorado.

La deficiencia genética de la chitotriosidasa también fue encontrada por nosotros con una frecuencia aproximada del 8% en los individuos sanos y de un 10,6% en los sujetos con metabolopatías hereditarias, valores superiores a los registrados en la bibliografía de un común 6% para ambos grupos. Este hallazgo de la deficiencia genética de la enzima, abre nuevas e importantes consideraciones: la primera indicativa de una única limitación a tener en cuenta en el ensayo de la chitotriosidasa plasmática como marcador patognomónico de la EG Tipo 1 y ahora también ya reconocido en la EG Tipo 3<sup>24</sup>; desde un punto de vista prospectivo señala como pregunta primaria la significación funcional de la enzima y las eventuales consecuencias de su ausencia genética.

Hasta aquí, la demostración de que la producción de la chitotriosidasa plasmática está asociada con la presencia de macrófagos específicamente estresados como en la EG, permitirá explorar la utilidad de su monitoreo en la progresión y corrección de un número importante de condiciones patológicas humanas en las cuales estos tipos de células están involucradas. Es probable que los muy recientes aportes, el de la purificación y caracterización de la chitotriosidasa humana como un componente proteico de la familia de la chitinasas, con actividad chitinolítica hacia sustratos artificiales como asimismo hacia la chitina contenida en patógenos humanos<sup>25</sup> y el clonado del cADN de la chitinasa<sup>26</sup> permitirán una expansión insospechada de este nuevo capítulo



de la Genética Médica originado a partir de una observación clínica.

## Summary

*Plasma chitotriosidase activity in Argentinean patients with Gaucher disease, various lysosomal enzymopathies and other inherited metabolic disorders*

The striking and apparent specific elevation of the activity of chitotriosidase found in plasma from patients with Gaucher disease (GD) Type 1 (Mc Kusick 230800) is considered a new diagnostic hallmark of GD and should prove useful in assessing clinical manifestations and monitoring enzyme supplementation therapy. Further data have suggested that the increased levels of chitotriosidase activity in plasma from patients with unexplained diseases may be indicative of a lysosomal storage disorder. We present here an experience of the plasmatic chitotriosidase in an Argentinean population consisting of three groups: a) 25 healthy controls; b) subjects related with GD: 3 patients Type 1, 3 obligated heterozygotes and 1 patient with an atypical variant of GD; c) 42 patients with a precise nosological definition of inherited error of metabolism (IEM) and 5 patients presumably affected by a lysosomal pathology but without enzymatic confirmation. Methylumbelliferyl-tri-N-acetyl chitotrioside hydrolase activity was markedly increased: the mean activity being > 600 times and > 100 times the mean value in plasma of our healthy control (mean 17 nmol/min/ml, range 6-60.4 nmol/min/ml) in the plasma of the patients of Gaucher Type 1 disease and an atypical variant of GD, respectively. In the two more affected patients the elevated levels of chitotriosidase activity ran parallel to the severity of the disease and also as a response to the supplementation enzymatic therapy with a decrease of 50% of its activity at 10 months of therapy at a dose of 30 u/kg/month. Moreover, no increase of chitotriosidase activity was found in the 3 obligated heterozygotes of Gaucher Type 1 and Type 2 disease or in any other of the IEM. Chitotriosidase activity was absent in plasma of 2 control subjects and in 4 patients with exact diagnosis of an IEM. The physiological role of the human chitinase still has to be established and warrants further investigation and the natural consequence of the high frequency of a genetic deficiency in man. Meanwhile, reports on the purification and characterization of human chitotriosidase with chitinolytic

activity toward chitin-containing pathogens and on the cloning of cDNA encoding chitinase will be crucial to obtain a better insight into this new chapter of medical genetics.

## Bibliografía

1. Sandhoff K, Harzer K, Fürst W. Sphingolip activator proteins. In: Scriver CR, et al. (eds). The metabolic and molecular bases of inherited disease. New York: McGraw-Hill, 1995; 2427-41.
2. Beutler E, Grabowski GA. Gaucher disease. In: Scriver CR, et al. (eds). The metabolic and molecular bases of inherited disease. New York: McGraw-Hill, 1995; 2641-70.
3. Barton NW, Brady R, Dambrosia JM, et al. Replacement therapy for inherited enzyme deficiency. Macrophage-targeted glucocerebrosidase for Gaucher's disease. *N Engl J Med* 1991; 324: 1464-70.
4. Hollack CEM, Aerts JMFG, van Gers MHJ. Treatment of Gaucher disease. *N Engl J Med* 1993; 328: 1565-6.
5. NIH Technology Assessment Panel on Gaucher Disease. Gaucher disease. Current issues in diagnosis and treatment. *JAMA* 1996; 275: 548-53.
6. Hollack CEM, van Weeley S, van Gers MHJ, et al. Marked elevation of plasma chitotriosidase activity. A novel hallmark of Gaucher disease. *J Clin Invest* 1994; 93: 1288-92.
7. Chambers JP, Aquino L, Glew RH, Lee RE, McCafferty LR. Determination of serum acid phosphatase in Gaucher's disease using 4-methylumbelliferyl phosphate. *Clin Chim Acta* 1977; 80: 67-77.
8. Robinson BD, Glew RH. Acid phosphatase in Gaucher's disease. *Clin Chem* 1980; 26: 371-82.
9. Silverstein E, Friedland J. Elevated serum and spleen angiotensin converting enzyme and serum lysozyme in Gaucher's disease. *Clin Chim Acta* 1977; 74: 21-5.
10. Lieberman J, Beutler E. Elevation of serum angiotensin-converting enzyme in Gaucher's disease. *N Engl J Med* 1976; 294: 1442-4.
11. Öckerman PA, Köhlin P. Acid hydrolases in plasma in Gaucher's disease. *Clin Chem* 1969; 15: 61-4.
12. Den Tandt WR, Inaba T, Verhamme I, Cverdiijk B, Brouwer J, Prieur D. Non-identity of human lysosome and 4-methylumbelliferyl-tetra-N-acetyl-β-D-chitotetraoside hydrolase. *Int J Biochem* 1988; 20: 713-9.
13. Den Tandt WR, Scharpé S, Overdijk B. Evaluation of the hydrolysis of methylumbelliferyl-tetra-N-acetylchitotetraoside by various glucosidases. A comparative study. *Int J Biochem* 1993; 25: 113-9.
14. Den Tandt WR, van Hooft F. Marked increase of methylumbelliferyl-tetra-N-acetylchitotetraoside hydrolase activity in plasma from Gaucher disease patients. *J Inher Metab Dis* 1996; 19: 344-50.
15. Raghavan N, Freedman DO, Fitzgerald PC, Unnasch TR, Ottesen EA, Nutman TB. Cloning and characterization of a potentially protective chitinase-like recombinant antigen from *Wuchereria bancrofti*. *Infect Immun* 1994; 62: 1901-8.



16. Zimran A, Kay AC, Gelbart T, et al. The natural history of adult type Gaucher disease: clinical, laboratory radiologic and genetic features of 53 patients. *Medicine (Baltimore)* 1992; 71: 337-53.
17. Argaraña CE, Givogri I, Dodelson de Kremer R, Gelbart T, Depetris de Boldini C. Diagnóstico molecular de la enfermedad de Gaucher. *Medicina (Buenos Aires)* 1995; 55: 279-80.
18. Wenger DA, Williams C. Screening for lysosomal disorders. In: Hommes FA (ed). *Techniques in diagnostic human biochemical genetics. A laboratory manual*. New York: Wiley-Liss, 1995; 587-617.
19. O'Brien JS, Okada S, Chen A, Fillerup DL. Tay-Sachs disease. Detection of heterozygotes and homozygotes by serum hexosaminidase assay. *N Engl J Med* 1970; 283: 15-8.
20. Christomanou H, Aignesberger A, Linke RP. Immunohistochemical characterization of two activator proteins stimulating enzymic sphingomyelin degradation in vitro. Absence of one of them in a human Gaucher disease variant. *Biol Chem Hoppe Seyler* 1986; 367: 879-90.
21. Schnabel D, Schröder M, Sandhoff K. Mutation in the sphingolipid activator protein 2 in a patient with a variant of Gaucher disease. *FEBS Lett* 1991; 284: 57-9.
22. Rafi MA, de Gala G, Zhang XL, Wenger DA. Mutational analysis in a patient with a variant form of Gaucher disease caused by SAP-2 deficiency. *Somat Cell Mol Genet* 1993; 19: 1-7.
23. Guo Y, He W, Boer AM, Wevers RA, et al. Elevated plasma chitotriosidase activity in various lysosomal storage disease. *J Inher Metab Dis* 1995; 18: 717-22.
24. Bosman DK, Hollack CEM, Aerts JMFG, Bakker HD. The effect of enzyme therapy in a patient with Gaucher disease type III. *J Inher Metab Dis* 1996; 19: 703-4.
25. Renkema GH, Boot RG, Muijsers AO, Donker-Koopman WE, Aerts JMFG. Purification and characterization of human chitotriosidase, a novel member of the chitinase family of proteins. *J Biol Chem* 1995; 270: 2198-202.
26. Boot RG, Renkema GH, Strijland A, van Zonneveld AJ, Aerts JMFG. Cloning of a cDNA encoding chitotriosidase, a human chitinase produced by macrophages. *J Biol Chem* 1995; 270: 26252-6.

-----

*The purpose of human life is to serve and to show compassion and the will to help others.*

El propósito de la vida humana es servir y demostrar compasión y la voluntad de ayudar al prójimo

Albert Schweitzer (1875-1965)

*The Schweitzer album*