

**UNIVERSIDAD ALCALÁ DE HENARES
FACULTAD DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE MEDICINA**



XANTOMATOSIS CEREBROTENDINOSA EN ESPAÑA: MUTACIONES, ASPECTOS CLÍNICOS Y TERAPÉUTICOS

TESIS DOCTORAL

**AUTOR:
BELÉN PILO DE LA FUENTE**

**DIRECTORES:
ADRIANO JIMÉNEZ ESCRIG
MARIA JESUS SOBRIDO GÓMEZ**

ALCALÁ DE HENARES, MAYO DE 2009

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Jiménez Escrig, por su paciencia, su confianza y continuo apoyo. Sin él, este proyecto nunca se hubiera iniciado. Sin su continuo estímulo, nunca se hubiera concluido. Ha sido un maestro para mí en este complejo mundo de la neurología gracias a su enorme vocación y a su sólida base científica.

A la Dra. Sobrido por toda su aportación clínica y genética. Nos ha permitido transformar un proyecto local en un registro prácticamente nacional.

A Julio, mi mejor compañero de viaje, con quien he recorrido la geografía española recolectando pacientes.

A mis padres y hermanos, que me han dado todo lo que soy.

A mis compañeros de trabajo, por su continuo estímulo.

A los pacientes, que dan sentido a nuestra profesión y a nuestro afán de investigación.

Al Dr. Ezpeleta, por su desinteresada colaboración.

A todos los compañeros neurólogos que gracias a su continuo estímulo por aprender, en el silencio y en su rutina diaria, han sabido diagnosticar esta rara enfermedad y nos han permitido revisar sus historias y visitar a sus pacientes. En especial a la Dra. Navarro (Hospital Xeral de Vigo), a la Dra. Lustres (CHOU; Orense), al Dr. Barrero (Hospital Clínico; Granada), al Dr. Moya (Hospital de la Línea de la Concepción, Cádiz), al Dr. Ares (Hospital de León), al Dr. Grandas (Hospital Gregorio Marañón; Madrid), al Dr. Macarrón (Hospital General Yagüe; Burgos), al Dr. Pardo (CHUS, Santiago de Compostela), al Dr. Duarte (Hospital General de Segovia), a la Dra. García Castañón (Hospital San Pedro Alcántara; Cáceres), al Dr. Arias (CHUS, Santiago de Compostela), al Dr. Olivares (Hospital de Torrecárdenas; Almería), al Dr. Lorenzo (POVISA; Vigo), al Dr. Gutiérrez (Hospital Clínico; Granada), al Dr. Molina (Hospital 12 de Octubre; Madrid), al Dr. López de Munaín (Hospital de Donosti; San Sebastián) y al Dr. Díaz (Hospital de Cabueñes; Gijón).

INDICE

1. INTRODUCCIÓN.....	p. 8
2. OBJETIVOS.....	p. 11
3. ANTECEDENTES Y ESTADO ACTUAL DEL TEMA	
3.1 REVISIÓN HISTÓRICA.....	p. 12
3.2 ETIOPATOGENIA	
3.2.1 Generalidades.....	p. 13
3.2.2 Principales ácidos biliares.....	p. 18
3.2.3 Principales alcoholes biliares.....	p. 19
3.2.4 Esteroles vegetales.....	p. 20
3.2.5 Precursores del colesterol.....	p. 21
3.2.6 Síntesis de ácidos biliares.....	p. 23
3.2.7 Síntesis de colestanol.....	p. 25
3.2.8 Etiopatogenia del daño neurológico.....	p. 26
3.2.9 Etiopatogenia de los xantomas tendinosos.....	p. 27
3.2.10 Etiopatogenia de la arteriosclerosis en la XCT.....	p. 28
3.2.11 Receptores implicados.....	p. 30
3.2.12 Metabolismo en la infancia.....	p. 32
3.2.13 Investigación sobre ratones.....	p. 33
3.2.14 Proteómica.....	p. 34
3.3 GENÉTICA.....	p. 35
3.4 MUTACIONES	
3.4.1. Generalidades.....	p. 40
3.4.2. Exón 1.....	p. 41
3.4.3. Intrón 1.....	p. 41
3.4.4. Exón 2.....	p. 41
3.4.5. Intrón 2.....	p. 42
3.4.6. Exón 3.....	p. 43
3.4.7. Intrón 3.....	p. 43
3.4.8. Exón 4.....	p. 43
3.4.9. Intrón 4.....	p. 43
3.4.10. Exón 5.....	p. 44
3.4.11. Intrón 5.....	p. 44
3.4.12. Exón 6.....	p. 44
3.4.13. Intrón 6.....	p. 45
3.4.14. Exón 7.....	p. 47
3.4.15. Intrón 7.....	p. 47
3.4.16. Exón 8.....	p. 47
3.4.17. Intrón 8.....	p. 48
3.4.18. Exón 9.....	p. 48
3.5 EPIDEMIOLOGÍA.....	p. 48
3.6 CLÍNICA	
3.6.1. Generalidades.....	p. 50
3.6.2. Diarrea crónica.....	p. 50
3.6.3. Cataratas y afectación ocular.....	p. 51
3.6.4. Xantomas tendinosos.....	p. 52
3.6.5. Síntomas neurológicos.....	p. 52
3.6.6. Afectación cardio-vascular.....	p. 56
3.6.7. Afectación hepática.....	p. 56

3.6.8. Otras alteraciones.....	p. 57
3.6.9. Correlación genotipo-fenotipo.....	p. 57
3.7 ESTUDIOS DIAGNÓSTICOS COMPLEMENTARIOS	
3.7.1 Determinaciones analíticas.....	p. 58
3.7.2 Pruebas de imagen.....	p. 61
3.7.3 Neurofisiología.....	p. 65
3.7.4 Estudio genético.....	p. 66
3.7.5 Medicina nuclear.....	p. 67
3.8 ANATOMÍA PATOLÓGICA	
3.8.1 Anatomía patológica de biopsias.....	p. 67
3.8.2 Estudio necrópsico.....	p. 69
3.9 DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL.....	p. 73
3.10 TRATAMIENTO	
3.10.1. Ácido quenodeoxicólico.....	p. 77
3.10.2. Inhibidores de HMG-CoA reductasa.....	p. 80
3.10.3. Asociación AQDC e inhibidores HMG-CoA reductasa.....	p. 81
3.10.4. Ácido ursodeoxicólico.....	p. 82
3.10.5. LDL-aféresis.....	p. 83
3.10.6. Rehabilitación.....	p. 84
3.10.7. Otros tratamientos.....	p. 84
4. PACIENTES Y MÉTODOS	
4.1. Selección de pacientes.....	p. 87
4.2. Recogida de datos.....	p. 87
4.3. Análisis estadístico.....	p. 88
4.4. Análisis de <i>cluster</i>	p. 88
4.5. Árboles genealógicos.....	p. 88
4.6. Estudio genético.....	p. 89
4.7. Extracción de ADN.....	p. 90
4.8. Determinación de la concentración del ADN.....	p. 91
4.9. Reacción en cadena de la polimerasa (PCR).....	p. 92
4.10. Análisis electroforético del producto de PCR.....	p. 93
4.11. Secuenciación de los fragmentos de ADN purificados.....	p. 94
4.12. Denominación de las alteraciones encontradas.....	p. 96
4.13. Búsqueda en bases de datos.....	p. 96
4.14. Análisis de población control.....	p. 96
4.15. Construcción de una base de datos de mutaciones.....	p. 97
5. RESULTADOS	
5.1. Datos epidemiológicos.....	p. 98
5.2. Árboles genealógicos.....	p. 100
5.3. Datos clínicos.....	p. 105
5.4. Pruebas complementarias.....	p. 109
5.5. Estudio necrópsico.....	p. 115
5.6. Mutaciones encontradas.....	p. 117
5.7. Tratamiento y evolución.....	p. 121
6. DISCUSIÓN	
6.1. Datos epidemiológicos.....	p. 122
6.2. Datos clínicos.....	p. 124
6.3. Pruebas complementarias.....	p. 129
6.4. Estudio necrópsico.....	p. 138
6.5. Hallazgos genético-moleculares.....	p. 139

6.6. Consejo genético.....	p. 142
6.7. Tratamiento y evolución.....	p. 142
7. CONCLUSIONES.....	p. 145
8. CEREBROTENDINOUS XANTHOMATOSIS IN SPAIN: MUTATIONS, CLINICAL AND THERAPEUTICAL ASPECTS.....	p. 147
9. BIBLIOGRAFÍA.....	p. 156
10. APÉNDICES.....	p. 169

ABREVIATURAS

ABP 280	<i>actin-binding protein 280</i>
ACAT	acil-CoA:colesterol acil transferasa
ADN	ácido desoxirribonucleico
ADNc	ADN complementario
AQDC	ácido quenodeoxicólico
ARN	ácido ácido
ARNm	ARN mensajero
CMC	conducción motora central
CMV	citomegalovirus
CPP32	<i>32-kDa putative cysteine protease</i>
CETP	<i>cholesteryl ester transfer protein</i>
EDSS	<i>Expanded Disability Status Scale</i>
FXR	<i>farnesoid X receptor</i> (receptor activado de farnesoide X)
HMG-CoA	β -hidroxi- β -metilglutaril Coenzima A
HNF-4 α	<i>hepatocyte nuclear factor 4α</i>
ICE	<i>interleukin converting enzyme</i> (enzima convertidora de interleucina 1 β)
JNK	c-Jun N-terminal kinasa
LCR	líquido cefalorraquídeo
LDL	<i>low density lipoprotein</i>
LXR α	<i>liver X receptor α</i>
MMSS	miembros superiores
NAD	<i>nicotinamide adenine dinucleotide</i>
NADPH	<i>nicotinamide adenine dinucleotide phosphate</i>

NTCP	<i>Na taurocholate cotransporting polypeptide</i> (polipéptido cotransportador de Na-taurocolato)
PCR	<i>polymerase chain reaction</i>
PEAT	potenciales evocados auditivos de tronco
PESS	potenciales evocados somato-sensoriales
PET	<i>positron emission tomography</i>
PEV	potenciales evocados visuales
PGC-1 α	<i>peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1</i>
PXR	<i>pregnane X receptor</i>
RM	resonancia magnética
RXR	<i>retinoid X receptor</i>
SHP	<i>small heterodimer partner</i>
SSLO	síndrome de Smith-Lemli-Opitz
SNC	sistema nervioso central
snRNA	<i>small nuclear RNA</i> (ARN nuclear pequeño)
SPECT	<i>single photon emission computed tomography</i>
StAR	<i>steroidogenic acute regulatory protein</i>
TAE	tris-ácido acético-EDTA
TC	tomografía computerizada
TCF	tasa catabólica fraccional
THCA	ácido trihidroxicolestanoico
TP	tasa de producción
XCT	xantomatosis cerebrotendinosa
VLDL	<i>very low density lipoprotein</i>

1. INTRODUCCIÓN

La xantomatosis cerebrotendinosa (XCT) es una enfermedad autosómica recesiva, producida por un déficit en la enzima mitocondrial esterol 27-hidroxilasa (CYP27)¹. Fue descrita por primera vez por van Bogaert y colaboradores² en 1937 y desde entonces se han comunicado al menos 300 casos en la literatura, con más de 400 publicaciones al respecto. La 27-hidroxilasa es un miembro de la familia del citocromo P450 mitocondrial, que cataliza la oxidación inicial de la cadena lateral de los esteroides intermediarios en la posición C₂₇ en la síntesis hepática de ácidos biliares, así como de la vitamina D₃ (colecalfiferol) en la posición C₁ y C₂₅³. El déficit de esta enzima produce una síntesis reducida de ácidos biliares, especialmente de ácido quenodeoxicólico (AQDC) y un aumento en la formación de intermediarios, como el colestanol y los alcoholes biliares C₂₇⁴. Como consecuencia de la producción excesiva de colesterol y de colestanol, estos esteroides se acumulan en todos los tejidos, especialmente en el cerebro, los pulmones, los cristalinos y los tendones⁴.

En 1989, Andersson y colaboradores⁵ caracterizaron el ADNc que codifica el CYP27 mitocondrial del conejo. Dos años más tarde, se aisló el ADNc del *CYP27A1* humano (citocromo P450, familia 27, subfamilia A, polipéptido 1) y se localizó su gen en la porción distal del brazo largo del cromosoma 2⁶. Así mismo, se describieron las primeras mutaciones del gen *CYP27*⁶. En el 2006, Gallus y colaboradores⁷ realizaron una revisión de la literatura, encontrando 49 mutaciones en más de 300 pacientes con XCT, distribuidas entre los exones 1 y 8 del gen *CYP27A1*, que hacen que la enzima no sea funcional. De estas mutaciones, 22 (45%) eran *missense*, 10 (20%) *nonsense*, 9 (18%) *splicing*, 7 (14%) deleciones y 1 (2%) inserción⁷. Algunas de estas mutaciones tienen una frecuencia relativamente elevada entre algunos grupos étnicos, como p.T339M en pacientes holandeses, p.R474(Q/W) en japoneses y p.A216P en italianos⁷. También se ha descrito una mayor frecuencia de XCT en druzos israelíes⁸ y judíos marroquíes⁹ probablemente debido a una mayor homocigosidad por el alto grado de consanguinidad. Fuera de descripciones de casos aislados⁸, no se ha hecho anteriormente una revisión amplia de esta enfermedad en nuestro país que tengamos constancia, carencia que ha sido el origen del presente estudio, en el que se ha intentado además averiguar si en la población española existen algunas mutaciones con mayor prevalencia, dentro de un proyecto de colaboración entre la Unidad de Neurogenética del Hospital Ramón y Cajal de Madrid (HRC) y la Fundación Pública Galega de Medicina Xenómica (FPGMX) de Santiago de Compostela, ambos centros de referencia a nivel nacional para la realización del estudio genético de esta enfermedad.

Los pacientes con XCT suelen presentar una historia de diarrea crónica durante la infancia⁴. En la tercera década de la vida cursan con cataratas bilaterales y xantomas tendinosos. Posteriormente aparecen los síntomas neurológicos (deterioro cognitivo, trastornos psiquiátricos, parkinsonismo, polineuropatía, ataxia, etc.). Aunque los xantomas tendinosos dan nombre a la enfermedad, su ausencia no excluye el diagnóstico¹⁰. La arteriosclerosis y la patología cardiovascular son un problema importante en estos pacientes⁴. Finalmente, algunos pacientes asocian xantomas tuberosos, xantelasmas, pies cavos, osteoporosis y fracturas óseas⁴. En este trabajo, se ha estudiado la frecuencia de los diferentes síntomas tanto sistémicos, como neurológicos encontrados en los pacientes con XCT diagnosticados en nuestro país a través de la FPGMX y del HRC. Finalmente se ha intentado establecer una correlación entre la clínica y las diferentes mutaciones halladas.

El principal hallazgo en el laboratorio es la concentración elevada de colestanol y de alcoholes biliares en el plasma y en los órganos afectados, la excreción urinaria de alcoholes biliares y la concentración biliar de ácido cólico y de ácido quenodeoxicólico disminuida⁴. No obstante esta elevación de esteroides también puede verse en la cirrosis biliar primaria y en casos de colestasis¹¹. Curiosamente, los niveles de colesterol en el plasma y el perfil de lipoproteínas suele estar normal o por debajo del rango (el perfil de lipoproteínas suele ser “antiaterogénico”)⁴. La TC craneal suele mostrar una hipodensidad en ambos hemisferios cerebelosos¹². Los hallazgos de la RM craneal incluyen típicamente una hiperintensidad en T₂ bilateral y simétrica en los hemisferios cerebelosos, sustancia blanca periventricular, ganglios de la base, núcleos dentados y tronco del encéfalo, así como una atrofia cortico-subcortical generalizada¹³. Estos hallazgos se corresponden con depósitos de cristales lipídicos, macrófagos perivasculares, pérdida neuronal, desmielinización, fibrosis y astrocitosis reactiva en la microscopía óptica¹⁴. La RM de médula espinal muestra una hiperintensidad en los cordones laterales y dorsales en T₂¹⁴. La RM de los tendones visualiza un engrosamiento difuso del tendón con múltiples áreas de hiperseñal en T₁ y T₂ en relación con los depósitos de lípidos, intercaladas con zonas de isoseñal que corresponden a áreas de inflamación reactiva secundaria al acúmulo de colesterol y de colestanol¹². También se han examinado los hallazgos de estas pruebas complementarias en los pacientes estudiados. En uno de los pacientes, se completó el estudio con los hallazgos anatómopatológicos encontrados en la necropsia.

El tratamiento con ácido quenodeoxicólico (AQDC), que inhibe la síntesis anómala de ácidos biliares es eficaz a la hora de corregir las alteraciones bioquímicas¹⁵ y según algunos autores enlentece la progresión de la enfermedad⁴. Se suelen asociar inhibidores de la hidroximetilglutaril-Coenzima A (HMG-CoA) reductasa⁴. Kuriyama y colaboradores¹⁶

investigaron en 1994 la respuesta al tratamiento con AQDC, con pravastatina y con la asociación de ambos. Concluyeron que la asociación de AQDC y de pravastatina era el mejor tratamiento, basándose en la reducción de los niveles de colestanol y de esteroides vegetales, en la mejoría del metabolismo de lipoproteínas en suero y en la supresión de la síntesis de colesterol¹⁶. Desde el punto de vista clínico, encontraron un enlentecimiento en la progresión de la enfermedad, aunque no objetivaron ninguna mejoría clínica, ni en el tamaño de los xantomas, ni en los estudios neurofisiológicos¹⁶. En este trabajo se ha estudiado el retraso medio entre los primeros síntomas y el diagnóstico de la enfermedad, y la respuesta al tratamiento, estableciendo el tiempo medio entre el diagnóstico y el fallecimiento de los pacientes.

En el 2005, Lorincz y colaboradores¹⁷ publicaron que la XCT podía tener una prevalencia mayor de la anteriormente descrita. Resulta crucial el diagnóstico precoz, antes de que se instaure el deterioro neurológico, puesto que algunos autores han postulado que el tratamiento puede prevenir la progresión de la enfermedad¹¹.

En resumen, este estudio pretende identificar el mayor número posible de pacientes diagnosticados en nuestro país y llevar a cabo un análisis comparativo de los mismos, tanto desde el punto de vista clínico, como de las pruebas complementarias realizadas. Por otro lado, tras la realización del estudio genético, se describen las mutaciones halladas y se intentan correlacionar con el fenotipo clínico y con el estudio necrópsico. Finalmente se evalúa la evolución clínica espontánea y tras la instauración de los diferentes tratamientos, estableciendo la supervivencia media tras el diagnóstico y por lo tanto el pronóstico de la enfermedad.

2. OBJETIVOS

Los objetivos de este estudio son:

1. Describir de manera detallada y comparada el fenotipo de la xantomatosis cerebrotendinosa a través de la revisión retrospectiva de los casos diagnosticados en España.
2. Conocer las mutaciones causantes de XCT en la población española y su prevalencia.
3. Correlacionar los hallazgos clínicos con las mutaciones encontradas.
4. Correlacionar las manifestaciones clínicas y la evolución de la enfermedad con los hallazgos anatómo-patológicos encontrados a través de un estudio necrópsico.
5. Identificar factores pronósticos.

3. ANTECEDENTES Y ESTADO ACTUAL DEL TEMA

3.1. REVISION HISTORICA

En 1936, Schneider¹⁸ encontró lesiones xantomatosas en el sistema nervioso central (SNC) de un paciente con retraso mental que falleció a los 36 años. Un año más tarde, en 1937, van Bogaert y colaboradores², publicaron el caso de un paciente con demencia, ataxia, cataratas y xantomas en el SNC y en los tendones (figura 1). En 1968 Menkes y colaboradores^{19,20} describieron un acúmulo de colestanol y colesterol en el cerebro y en el cerebelo de estos pacientes.

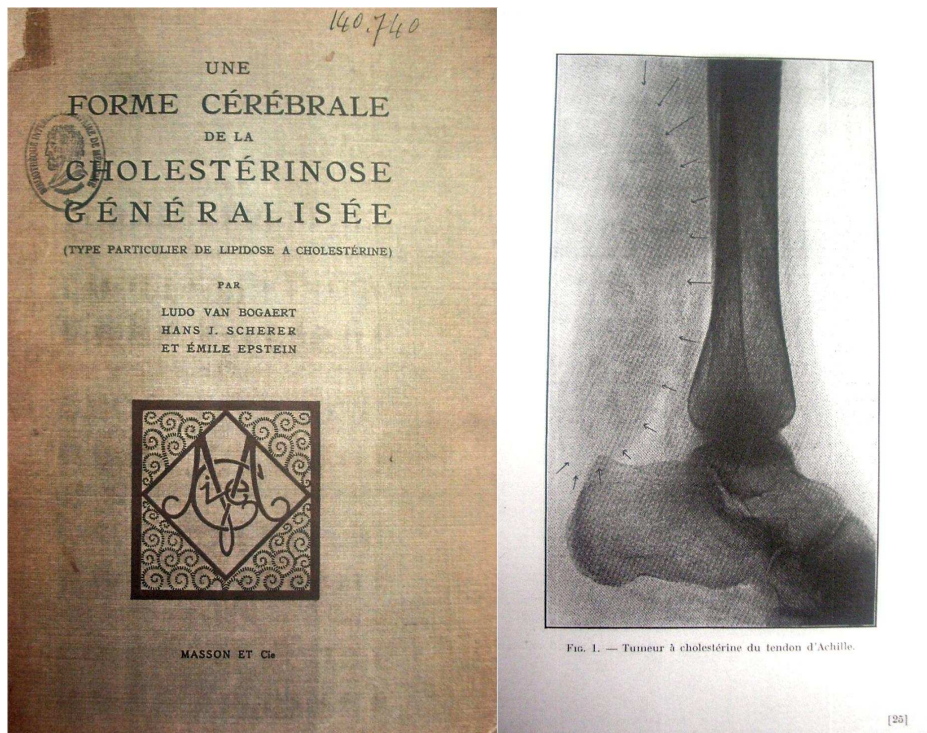


Figura 1. Descripción inicial de la XCT por Van Bogaert y cols². Cortesía de la Bibliothèque Interuniversitaire de Médecine (BIUM), Paris.

En 1971, Salen y colaboradores²¹ observaron que el patrón de ácidos biliares en la bilis es anómalo en estos pacientes, con una reducción del AQDC. En 1974, Setoguchi y colaboradores²² describieron un bloqueo en la síntesis de ácidos biliares, con una oxidación incompleta de la cadena lateral del colesterol, formándose ácido carboxílico y produciéndose un aumento de la excreción de alcoholes biliares en la bilis, en las heces y en la orina. Posteriormente, Oftebro y colaboradores²³ publicaron el resultado de la biopsia hepática de un caso de XCT y plantearon que el defecto bioquímico primario podría afectar a la esterol 27-hidroxilasa mitocondrial. Por su parte, Berginer y colaboradores¹⁵ observaron que el tratamiento a largo plazo con AQDC permitía inhibir la síntesis anómala de ácidos biliares, disminuir la concentración de colestanol plasmática y prevenir la progresión de la enfermedad.

En 1989, Andersson y colaboradores⁵ caracterizaron el ADNc que codifica el enzima CYP27 mitocondrial en el conejo, que pertenece a la familia del citocromo P450 mitocondrial. Dos años más tarde, Cali y Russel⁶ clonaron el ADNc de la esterol 27-hidroxilasa humana y realizaron el mapa del gen *CYP27A1* en el cromosoma 2. Posteriormente se comenzaron a describir las primeras mutaciones⁶. En 1993, Leitersdorf y colaboradores⁹ describieron la estructura genómica del gen *CYP27*. Éste contiene nueve exones y ocho intrones y tiene un peso de 18,6 kb de ADN. Por su parte, Reiss y colaboradores²⁴ descubrieron que se expresa en el SNC, hígado, pulmón, duodeno y células endoteliales.

Desde entonces y hasta el 2009, se han descrito más de 200 pacientes con XCT y más de 49 diferentes mutaciones⁴. El primer caso de XCT publicado en España del que se tiene constancia es el descrito por Pardo y colaboradores¹² en 1993 en la revista *Neurología*. Ya con posterioridad al descubrimiento de la base genética, Verrips y colaboradores¹ describieron las primeras mutaciones en pacientes españoles.

3.2. ETIOPATOGENIA

3.2.1. Generalidades

En el proceso de biosíntesis de los derivados del colesterol tienen lugar varios pasos fundamentales de hidroxilación en las posiciones C7, C24 y C27. En un mamífero adulto, una cuarta parte del colesterol total se localiza en el SNC, donde es el principal constituyente de la mielina. Por ello, la 27-hidroxilasa juega un papel importante en el SNC: facilita el transporte y la redistribución de esteroides en el tejido y mantiene la homeostasis de los esteroides. Para hidroxilar los esteroides en la posición C27, necesita 2 cofactores: la adrenodoxina y la adrenodoxin reductasa. Los esteroides a su vez también cumplen una función fundamental en el SNC, como demuestra el hecho de que las mutaciones en otras enzimas que también participan en el metabolismo de los esteroides pueden producir manifestaciones neurológicas⁶.

La XCT (OMIM 213700) está causada por una deficiencia de la 27-hidroxilasa mitocondrial. La 27-hidroxilasa es un miembro de la familia del citocromo P450⁷ que cataliza la oxidación inicial de la cadena lateral de los intermediarios de esterol en la síntesis de ácidos biliares hepáticos. En 1991, se logró aislar el ADNc del *CYP27A1* humano (citocromo P450, familia 27, subfamiliaA, polipéptido 1) mediante hibridación del ADNc de conejo y se localizó su gen en el brazo largo del cromosoma 2⁶. Las consecuencias de un déficit de 27-hidroxilasa se clarifican al comprender mejor su participación y la de otras enzimas en el metabolismo del colesterol y la biosíntesis de ácidos biliares (figura 2).

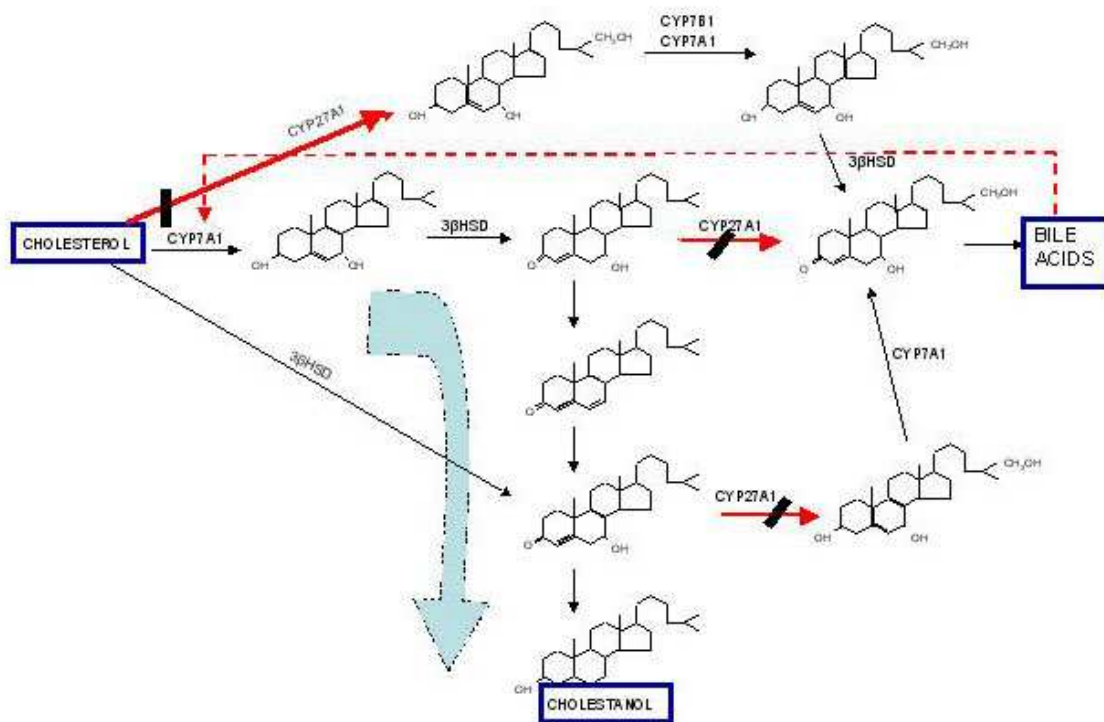


Figura 2. Vía metabólica de los ácidos biliares en la XCT. Como consecuencia de la deficiencia de CYP27A1 se induce la formación de colestanol. La ausencia de feedback negativo sobre el CYP7A1 induce a su vez un aumento de la formación de colestanol.

Como consecuencia de la deficiencia de 27 α -hidroxilasa, se bloquea la vía de formación de ácidos biliares (ácido cólico y ácido quenodeoxicólico) y por el contrario se induce la formación de colestanol. Por otro lado, la ausencia del *feedback* negativo que ejercen el ácido cólico y el AQDC sobre la 7 α -hidroxilasa induce un aumento de la síntesis de colestanol.

Por su papel clave en los procesos subyacentes en la XCT, conviene revisar más detalladamente las actividades 27-hidroxilasa y 7-hidroxilasa, así como el metabolito intermedio 26-hidroxicolesterol.

- 27-hidroxilasa

La 27-hidroxilasa corresponde a la 26-hidroxilasa, a la vitamina D₃ 25-hidroxilasa y al CYP27A1. Son sustratos suyos el colesterol, el 5 β -colestanol y la vitamina D²⁵. La 27-hidroxilasa cataliza la hidroxilación en la bioactivación de la vitamina D, en la síntesis de ácidos biliares y en la 27-hidroxilación de diferentes C27 esteroides y oxisteroides²⁶.

La enzima P450 mitocondrial participa en la 27-hidroxilación del 5 β -colestan-3 α ,7 α -diol y del 5 β -colestan-3 α ,7 α ,12 α -triol y en la 25-hidroxilación de la vitamina D. Se localiza en la membrana interna mitocondrial (su actividad microsomal es mucho menor). Se activa mediante

una radiación de 450 nm y se inactiva con monóxido de carbono²⁷. No está aclarada la diferencia entre el P450 mitocondrial y el P450 microsomal²⁷. Con respecto al metabolismo de la vitamina D₃, ésta sufre una hidroxilación en C25 en el hígado, que la transforma en 25-hidroxivitamina-D₃, que a su vez es 1 α -hidroxilada en el riñón, formando 1 α ,25-dihidroxivitamina-D₃²⁷.

La esteroil 27-hidroxilasa se expresa en diferentes tejidos, como el SNC, hígado, pulmón, duodeno y células endoteliales. El enzima maduro contiene el sitio de unión a la adrenodoxina (residuos 351-365) y el sitio de unión al hemo (residuos 435-464). Estas regiones son la región conservada del gen e interaccionan con dos cofactores proteicos, la adrenodoxina y la adrenodoxin reductasa^{3,9,28}. La esteroil 27-hidroxilasa cataliza los pasos iniciales en la oxidación de la cadena lateral del colesterol y también hidroxila un espectro de sustratos de esteroil que incluyen la vitamina D₃²⁹.

- 7 α -hidroxilasa

La 7 α -hidroxilasa es la 27-hidroxicolesterol 7 α -hidroxilasa. Actúa fundamentalmente en la síntesis de ácido cólico y de AQDC 7 α -hidroxilado. Es el primer paso y el paso limitante de la síntesis de ácidos biliares. Existen a su vez dos subtipos: el CYP7A1 sólo se expresa en el hígado y es específico de la 7 α -hidroxilación del colesterol; el CYP7B1 es de mayor tamaño, se expresa en muchos tejidos y tiene especificidad por varios esteroides²⁵.

Los ácidos biliares monohidroxi con un grupo hidroxilo en C3 derivado del colesterol sólo se generan a través de la vía de la 27-hidroxilación del colesterol. La presencia de ácido 3 β -hidroxi-5-colenico en el líquido amniótico, en la orina neonatal y en el meconio indican que la vía 27-hidroxilasa existe en la vida fetal. El factor que determina la proporción entre AQDC y ácido cólico es la actividad de la 7 α -hidroxilasa²⁵. Se han descrito casos de colestasis persistente que progresan a cirrosis en relación con la ausencia de CYP7B1. Por el contrario no se han descrito casos humanos con ausencia de CYP7A1, aunque se cree que es un factor protector frente a colelitiasis, al tener la bilis gran proporción de AQDC.

- Relación entre 7 α -hidroxilasa y 27 α -hidroxilasa

Existe una importante diferencia entre la 7 α -hidroxilasa y la 27-hidroxilasa: la 7 α -hidroxilasa sólo se expresa en el hígado, donde los hepatocitos se degradan lentamente y la apoptosis genera poco colesterol; la 27-hidroxilasa por el contrario se expresa en varios tejidos. Algunos tejidos se degradan más rápidamente que los hepatocitos, lo que requiere la presencia de colesterol celular. En las células endoteliales de los vasos y en los macrófagos, que son células

que están expuestas a las lipoproteínas de la dieta, la 27-hidroxisilasa permite metabolizar el colesterol que si no se acumularía. Por eso, la ausencia de 27-hidroxisilasa hace que se acumule colesterol en los tejidos²⁵.

En los hepatocitos, la 27-hidroxisilasa mitocondrial inicia la oxidación de la cadena lateral de los intermediarios generados por la 7 α -hidroxisilasa que se expresa en el retículo endoplásmico. La liberación de colesterol a la membrana interna mitocondrial donde se encuentra la enzima está controlada por la proteína StAR (*steroidogenic acute regulatory protein*). Esta proteína no se expresa en el hígado. Por ello, la mayoría del colesterol metabolizado a ácidos biliares a través de la vía metabólica de la 27-hidroxisilación se deriva de tejidos extrahepáticos²⁵. El 27-hidroxicolesterol sufre una oxidación en la mitocondria, transformándose en ácido 3 β -hidroxi-5-colestenoico. Posteriormente en el peroxisoma se transforma en ácido 3 β -hidroxi-5-colenico y finalmente en AQDC. La 27-hidroxisilasa también se expresa en el endotelio vascular y en los macrófagos.

Existe otra vía: la de la 7 α -hidroxisilasa. El AQDC es un potente ligando del receptor activado de farnesoide X (FXRs) que a su vez modula la actividad de la 7 α -hidroxisilasa. La tasa de síntesis de colesterol en el hígado, mayor que en el resto de tejidos, se relaciona con la producción de ácidos biliares. La síntesis de ácidos biliares C27 -ácido 3 β -hidroxi-5-colestenoico- es exclusiva de la vía de la 27-hidroxisilasa, así como la síntesis de ácidos biliares C24 -ácido 3 β -hidroxi-5-colenico- (el paso de C27 a C24 se produce en el hígado, en los peroxisomas). Posteriormente se produce la 7 α -hidroxisilación, formándose el ácido 3 β ,7 α -dihidroxi-5-colenico y posteriormente el AQDC.

En el feto y en el neonato se ha encontrado ácido deoxicólico en el meconio, que probablemente proviene del intercambio materno-fetal. Los ácidos biliares monohidroxi inducen la 27-hidroxisilación existente. El hígado fetal contiene oxisterol 7 α -hidroxisilasa, pero no colesterol 7 α -hidroxisilasa³⁰. Los ácidos biliares postnatales son necesarios para la excreción de metabolitos endógenos y para mantener en solución una concentración elevada de colesterol, característica de la bilis humana. También participan en la absorción de vitamina E y de otras vitaminas liposolubles. Finalmente regulan la reabsorción de agua en el colon ascendente³⁰.

- 26-hidroxicolesterol

El 25(R) equivale al 27-hidroxicolesterol y al 26-hidroxicolesterol²⁵. Fue descrito por Fredrickson por primera vez en 1956³⁰. En 1991 se cambió la denominación de 26-hidroxicolesterol por la de 27-hidroxicolesterol.

Mientras que en los sujetos normales la concentración de 26-hidroxicolesterol es de 4,3-13 $\mu\text{g}/100\text{ml}$, en los pacientes con XCT, ésta es de 0-0,6 $\mu\text{g}/100\text{ml}$. Existe una 26-hidroxilasa microsomal y una 26-hidroxilasa mitocondrial, aunque tan sólo la forma mitocondrial puede oxidar la cadena lateral del colesterol para producir 26-hidroxicolesterol. Por lo tanto, la tasa de producción de 26-hidroxicolesterol depende de esta enzima, y la actividad de esta enzima está muy reducida en la XCT. Dado que no existe 25-hidroxicolesterol en el suero de pacientes con XCT, se puede descartar que la disminución de la 26-hidroxilasa se deba a otro mecanismo que no sea enzimático (si se debiera a una auto-oxidación, debería haber más 25-hidroxicolesterol que 26-hidroxicolesterol)³¹.

La 26-hidroxilasa hidroxila el grupo metilo terminal de los esteroides C27 intermediarios en la síntesis de ácidos biliares. La tasa de hidroxilación de 5β -colestano- $3\alpha,7\alpha$ -diol y de 5β -colestano- $3\alpha,7\alpha,12$ -triol es mucho mayor que la de colesterol. Esto hablaría a favor de que el principal papel de la enzima sea iniciar la degradación de la cadena lateral de los intermediarios 7α -hidroxilados en la síntesis de ácidos biliares. La 26-hidroxilasa requiere la presencia de ferredoxina, ferredoxina reductasa y NADPH para que se produzca la hidroxilación³².

El 26-hidroxicolesterol y los ácidos biliares C27 que circulan por el plasma también pueden derivarse de una fuente extrahepática. Los oxisteroides, como el 25-hidroxicolesterol, tienen afinidad por receptores proteicos citosólicos específicos, que en combinación con los esteroides disminuyen la síntesis de HMG-CoA reductasa (esta síntesis también depende de la 26-hidroxilación). Se ha propuesto que el 25-hidroxicolesterol induce la síntesis de una proteína nuclear que se une a la región del elemento regulador de esteroides del gen promotor que regula la síntesis de HMG-CoA reductasa. El 25-hidroxicolesterol reduce la síntesis de colesterol mediante un aumento de la concentración de proteína de unión nuclear y mediante un aumento de la concentración de ARNm que codifica la síntesis de la proteína de unión nuclear³².

El 26-hidroxicolesterol disminuye el número de sitios de unión a LDL, pero no su afinidad. El ácido 3β -hidroxi-5-coleonoico y el ácido 3β -hidroxi-5-colestenoico se derivan exclusivamente del 26-hidroxicolesterol. La actividad de la 7α -hidroxilasa se ve inducida por la colestiramina y por el drenaje externo biliar. Es posible que la 7α -hidroxilación del 26-hidroxicolesterol esté regulada de modo independiente (y no de modo común a todos los esteroides C27). El 26-hidroxicolesterol inhibe la síntesis de colesterol. En los hepatocitos, la inhibición de la síntesis de colesterol favorece la utilización de colesterol que proviene de lipoproteínas para la síntesis de ácidos biliares, induciéndose la actividad del receptor de LDL (figura 3). Los hepatocitos

metabolizan el 26-hidroxicolesterol en ácidos biliares. Al mantenerse la concentración intracelular baja, no se produce la supresión de actividad de los receptores de LDL³².

Se ha demostrado la presencia de hidroxicoolesterol en el meconio y de ácido 3β-hidroxi-5-colenoico en el líquido amniótico (éste representa el 38% de los ácidos biliares durante el tercer trimestre del embarazo)³².

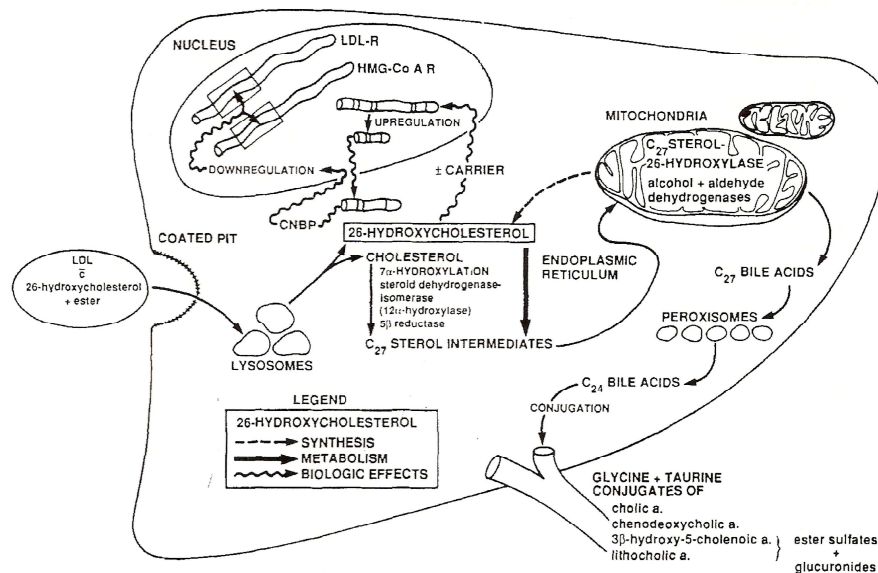


Figura 3.- Papel del 26-hidroxicolesterol en el metabolismo del colesterol y de los ácidos biliares (según Javitt y cols.³²).

3.2.2. Principales ácidos biliares

Los principales ácidos biliares en humanos son el ácido cólico, el ácido deoxicólico y el ácido quenodeoxicólico (figura 4). Existen otros ácidos biliares, aunque suponen menos del 1%, como el ácido ursodeoxicólico, que es el 7β-epímero del AQDC. Salen y colaboradores³³ analizaron en 1974 la composición total de ácidos biliares antes y después del tratamiento con AQDC durante 4 meses. En el paciente con XCT el porcentaje de ácido cólico pasó del 85% al 3% y el AQDC del 7% al 80% tras el tratamiento; el resto (3% de ácido deoxicólico, 3% de ácido allocólico y 2% no identificado) pasaron fundamentalmente a ser ácido ursodeoxicólico que alcanzaba un 17% a los 4 meses de tratamiento. En el paciente con coleditiasis, el ácido cólico pasó del 45% al 3%, y el AQDC del 43% al 80%; el resto (11% de ácido deoxicólico y 1% de ácido litocólico) también pasaron a un 17% de ácido ursodeoxicólico. Los autores interpretaron la disminución del ácido cólico tras el tratamiento con AQDC como una ausencia del ácido cólico de la circulación enterohepática³³.



Figura 4.- Estructura de los principales ácidos biliares.

En la orina de los pacientes con XCT, Kuramoto y colaboradores³⁴ encontraron en 1990 tres principales ácidos biliares (ácido 7-epicólico, ácido norcólico y ácido cólico)³⁴. Plantearon que la presencia de ácidos biliares C22 y C23 en la orina de pacientes con XCT sugería que los alcoholes biliares que tienen un grupo hidroxilo en C22 y C23 de la cadena lateral eran degradados a estos ácidos biliares. Los ácidos biliares C22 y C23 están presentes en su forma no conjugada, y en menor cantidad en su forma glucuronoconjugada. La hidroxilación en posición 1β ó 2β de los ácidos biliares produce unos metabolitos más polares con mayor capacidad para su excreción por vía urinaria. La formación de estos ácidos biliares tetrahidroxi C22 y C23 puede reflejar un mecanismo de compensación frente al acúmulo de ácido bisnorcólico y ácido norcólico no conjugados en pacientes con XCT³⁴.

3.2.3. Principales alcoholes biliares

Los alcoholes biliares son un grupo de alcoholes polihidroxilados derivados del colestanol. Shefer y colaboradores³⁵ estudiaron en 1975 los alcoholes biliares presentes en la XCT (figura 5). Identificaron dos alcoholes biliares tetrahidroxi (5β-colestan-3α,7α,12α,25-tetrol y 5β-colestan-3α,7α,12α,23ξ-tetrol) y dos alcoholes biliares pentahidroxi (5β-colestan-3α,7α,12α,23ξ,25-pentol que supone el 80% y 5β-colestan-3α,7α,12α,24α,25-pentol que supone el 20%)³⁵.

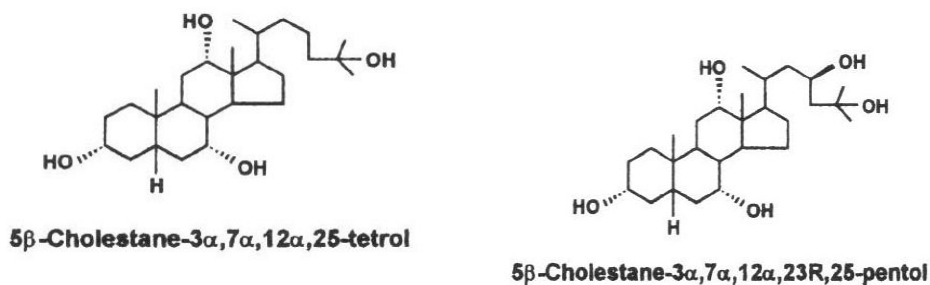


Figura 5.- Principales alcoholes biliares (según Batta y cols.³⁶).

Hoshita y colaboradores³⁷ estudiaron en 1980 la presencia de alcoholes biliares glucurónidos en la bilis de pacientes con XCT. No objetivaron la presencia de alcoholes biliares no conjugados, siendo el principal alcohol biliar que encontraron el 5 β -coleston-3 α ,7 α ,12 α ,25-tetrol glucurónido. Los alcoholes biliares glucurónidos son mucho más polares y más solubles que los no conjugados y se eliminan con la bilis en el intestino³⁷.

En la orina de los pacientes con XCT, Kihira y colaboradores³⁸ aislaron en 1991 (23S)5 β -coleston-3 α ,7 α ,12 α ,23,25-pentol y (23S)5 α -coleston-3 α ,7 α ,12 α ,23,25-pentol. En los pacientes con XCT una importante cantidad de alcoholes biliares glucurónidos circulan en el plasma y se excretan tanto en la bilis como en la orina, aunque el patrón de alcoholes biliares de la orina difiere mucho del patrón del plasma o de la bilis³⁹. Al día se excretan 1000 mg de alcoholes biliares glucurónidos en la orina y 100 mg de alcoholes biliares en las heces. La orina es la principal vía de excreción de los alcoholes biliares glucurónicos (los 5 β -colestonpentoles, los 5 β -colestonhexoles y los 5 β -colestonheptoles). En el plasma y en la bilis, los principales componentes son los alcoholes biliares, como el 5 β -coleston-3 α ,7 α ,12 α ,25-tetrol. Existen dos posibles explicaciones para esta distribución: por un lado, la orina elimina los pentahidroxi glucurónidos al ser más polares, por otro lado el 5 β -colestontetrol producido en el hígado es hidroxilado en pentol/hexol/heptol y secretado en la orina y parte es reabsorbido en el riñón y circula en el plasma³⁹.

Al encontrar una elevación de la albúmina y de la apolipoproteína B en el LCR de 8 pacientes con XCT no tratados, Batta y colaboradores³⁹ se plantearon en 1987 que la importante cantidad de alcoholes biliares glucurónidos podría jugar un papel en la alteración de la permeabilidad de la barrera hematoencefálica (BHE) en estos pacientes. Esta alteración de la BHE llevaría al aumento del transporte de colesterol y colestonol en el cerebro.

3.2.4. Esteroles vegetales y latsoterol

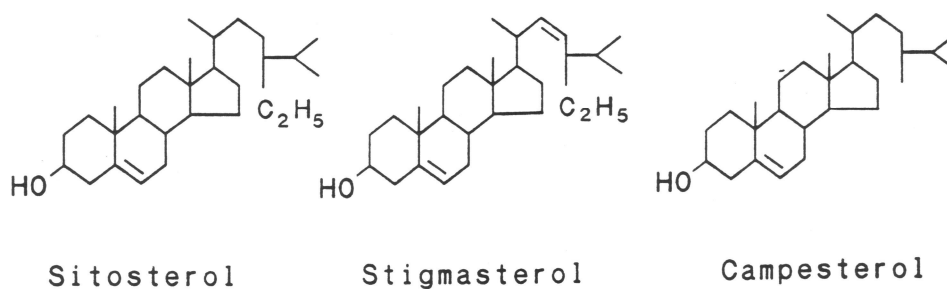


Figura 6.- Estructura de los principales esteroides vegetales

Los esteroides vegetales (campesterol, estigmasterol y sitosterol) son un grupo de esteroides derivados de las plantas con estructuras similares y funciones análogas al colesterol, pero que no son colesterol. Pueden detectarse en la sangre y los tejidos humanos (figura 6), aunque no se sintetizan en los tejidos humanos, sino que se derivan exclusivamente de fuentes dietéticas. Normalmente se absorben poco en el intestino, por lo que sus niveles séricos son bajos. Sus concentraciones séricas se relacionan con la absorción de colesterol en los sujetos sanos o en pacientes con hiperlipidemia⁴⁰.

El latosterol es un precursor en la vía de biosíntesis de colesterol en humanos. La determinación de latosterol sérico es útil para el seguimiento del tratamiento con ácidos biliares en la XCT y para el seguimiento del tratamiento con estatinas y colestiramina en pacientes con hipercolesterolemia. El ratio latosterol total/colesterol total es aún más útil que el latosterol para valorar dicha respuesta (figura 8)⁴¹.

En los pacientes con XCT, las concentraciones de colestanol, latosterol, campesterol y sitosterol están aumentadas en la bilis y en el suero. Tras el tratamiento con AQDC, se reducen los niveles de latosterol, campesterol y colestanol, pero no de sitosterol. Esto sugiere una diferencia en el metabolismo de estos esteroides vegetales (diferentes tasas de conversión a AQDC y ácido cólico e incluso diferentes vías metabólicas)⁴⁰.

En general los niveles de esteroides vegetales y de precursores de colesterol están inversamente proporcionados, excepto en la XCT. En la XCT hay un aumento de la tasa de producción y de catabolismo de LDL y de VLDL apolipoproteína B. Esto podría explicar la esteroidogénesis⁴⁰. No se ha objetivado ninguna diferencia significativa en los niveles séricos de esteroides entre los pacientes con/sin enfermedad cardiovascular⁴⁰.

3.2.5. Precursores del colesterol

Tint y colaboradores⁴² estudiaron en 1974 el metabolismo del Δ^7 -colestanol, del colesterol y del colestanol en los pacientes con XCT tras inyectar DL[2-¹⁴C]mevalonato y 3S,4S,3R,4R[3-³H]mevalonato intravenoso. Los autores determinaron las curvas de actividad específica y las tasas de isótopo. Dedujeron que la síntesis de esteroides se producía siguiendo la siguiente secuencia: mevalonato \rightarrow esqualeno \rightarrow lanosterol \rightarrow Δ^7 -colestanol \rightarrow colesterol \rightarrow colestanol (figura 7). Se pueden usar precursores de colesterol marcados para medir cambios en la síntesis de colesterol, pues se equilibran rápidamente y tienen un tiempo de recambio muy corto. No se puede descartar que también participe una vía alternativa del desmosterol⁴².

Unos años más tarde, estos mismos autores estudiaron la biosíntesis de colesterol, lanosterol y Δ^7 -colestanol en fibroblastos cultivados procedentes de piel de pacientes controles y de pacientes con XCT⁴³. Para ello, inyectaron ³H-acetato en el medio de cultivo. Encontraron ³H en el lanosterol, en el Δ^7 -colestanol y en el colesterol, pero no en el colestanol. La tasa colestanol/colesterol en la subfracción LDL en los pacientes con XCT fue similar a la tasa hallada en el plasma total (1,4-5,3%). Los autores añadieron LDL de pacientes con XCT a los cultivos de células normales y añadieron LDL normal a los fibroblastos de pacientes con XCT. En ambos casos objetivaron una inhibición de la HMG-CoA reductasa y una estimulación de la esterificación del colesterol. El LDL marcado con ¹²⁵I se degradaba con una cinética normal en la superficie de fibroblastos de pacientes con XCT. Por ello, los autores dedujeron que tanto el LDL como los receptores de membrana de LDL en los fibroblastos de pacientes con XCT son biológicamente normales. En conclusión el colesterol se sintetiza en los fibroblastos tanto de los controles, como de los pacientes con XCT a través de Δ^7 -colestanol (un intermediario saturado C24, C25). El colestanol no se sintetiza en la piel de los pacientes con XCT, sino que se transporta por el LDL plasmático desde el hígado. La XCT no se asocia con un defecto de los receptores de LDL de los tejidos periféricos⁴³.

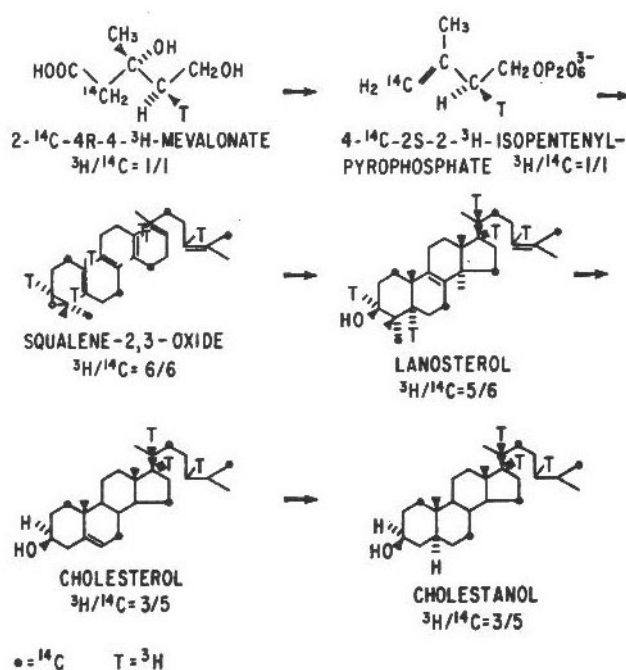


Figura 7.- Secuencia de síntesis de colestanol a partir del mevalonato (según Salen y cols.⁴⁴).

3.2.6. Síntesis de ácidos biliares

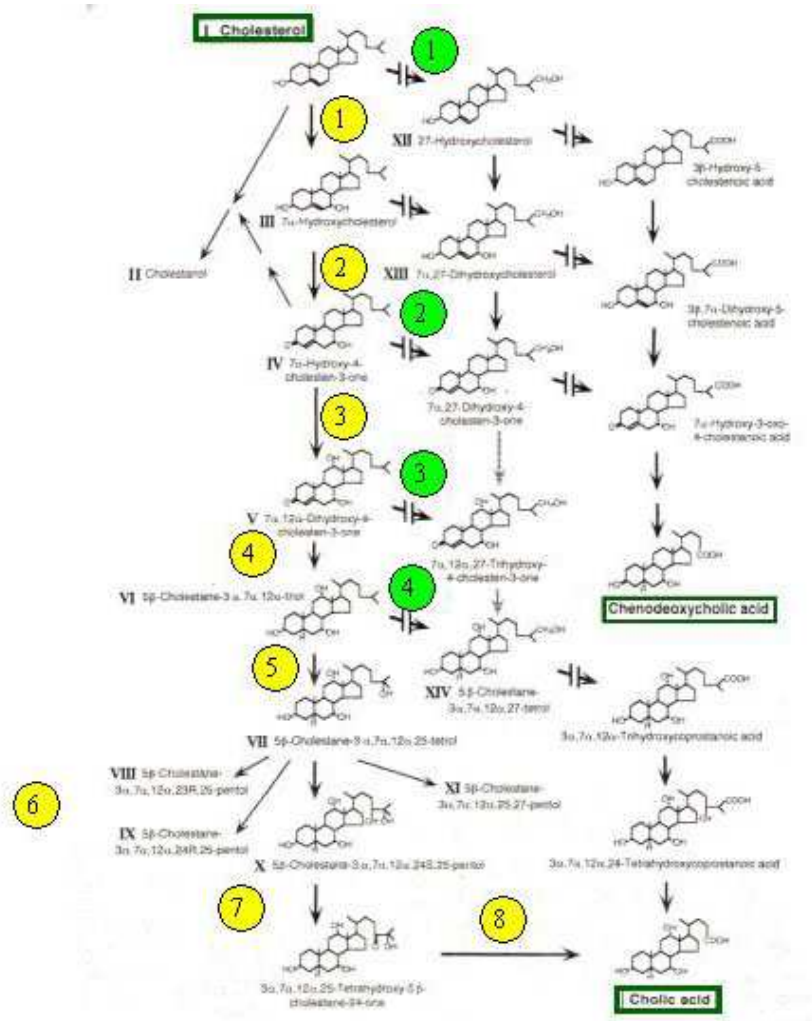


Figura 8.- Vía principal (en amarillo) y vías alternativas (en verde) de la formación de ácido cólico y AQCDC (según Honda y cols.⁴⁵).

3.2.6.1. Vía principal

La figura 8 resume las diferentes vías de síntesis de los principales ácidos biliares. La principal vía de síntesis de ácidos biliares (en amarillo) sigue la siguiente secuencia:

La primera reacción en la secuencia de conversión del colesterol en 7 α -hidroxicolesterol está catalizada por la colesterol 7 α -hidroxilasa. Esta enzima regula la conversión global del colesterol en ácidos biliares. El principal mecanismo para la regulación de la enzima es un *feedback* negativo ejercido por los ácidos biliares reabsorbidos en el intestino, que llegan al hígado a través de la vena porta. La interrupción de la circulación enterohepática (por una fístula del conducto biliar o por el tratamiento con colestiramina) produce por lo tanto un aumento de su actividad. Esta actividad también está influenciada por diferentes factores dietéticos y hormonales. Además, existe un paralelismo entre esta enzima y la enzima limitante de la

biosíntesis de colesterol, HMG-CoA reductasa. El segundo paso en la secuencia, la oxidación del 7α -hidroxicolesterol en 7α -hidroxi-4-colesten-3-ona está catalizado por la 3β -hidroxiesteroide- Δ^5 -oxidorreductasa/isomerasa NAD-dependiente. Esta enzima cataliza dos reacciones: una oxidación del grupo 3β -hidroxi y una isomerización del doble puente. Está presente en el hígado y en los fibroblastos. El tercer paso, la conversión de la 7α -hidroxi-4-colesten-3-ona en $7\alpha,12\alpha$ -dihidroxi-4-colesten-3-ona está catalizado por la 12α -hidroxilasa. Posteriormente, la $7\alpha,12\alpha$ -dihidroxi-4-colesten-3-ona se convierte en $7\alpha,12\alpha$ -hidroxi- 5β -coleston-3-ona (por la 3α oxosteroide- Δ^4 esteroide- 5β -reductasa) y posteriormente en 5β -coleston- $3\alpha,7\alpha,12\alpha$ -triol (por la 3α hidroxiesteroide deshidrogenasa). El quinto y sexto paso, la conversión del 5β -coleston- $3\alpha,7\alpha,12\alpha$ -triol en 5β -coleston- $3\alpha,7\alpha,12\alpha,25$ -tetrol y posteriormente en 5β -coleston- $3\alpha,7\alpha,12\alpha,24S,25$ -pentol están catalizados por hidroxilasas. Posteriormente 5β -coleston- $3\alpha,7\alpha,12\alpha,24S,25$ -pentol es transformado en $3\alpha,7\alpha,12\alpha,25$ -tetrahidroxi- 5β -coleston-24-ona. Finalmente se forma el ácido cólico.

3.2.6.2 Vías alternativas

Se han descrito diferentes vías alternativas en la formación de ácidos biliares (figura 9, color verde). Una de esas vías alternativas parte de la 27-hidroxilación mitocondrial del colesterol y posteriormente de su 7α -hidroxilación. Se cree que por esta vía podrían producirse un 50% de los ácidos biliares formados en el hombre en condiciones normales. Esta vía no se ve afectada por la interrupción de la circulación enterohepática de los ácidos biliares.

Una segunda vía alternativa es aquella en la que la 7α -hidroxi-4-colesten-3-ona es 27hidroxilada en $7\alpha,27$ -hidroxi-4-colesten-3-ona. En esta vía, la 5β -reductasa y la 3α -hidroxiesteroide-deshidrogenasa actúan sobre intermediarios 27-oxigenados o ácido C_{24} -carboxílico.

Una tercera vía es aquella en la que se 27-hidroxila la $7\alpha,12\alpha$ -dihidroxi-4-colesten-3-ona en $7\alpha,12\alpha,27$ -trihidroxi-4-colesten-3-ona. En esta vía la 3α -hidroxiesteroide-deshidrogenasa y la 5β -reductasa actúan sobre intermediarios 27-oxigenados o ácidos C_{24} carboxílico.

Finalmente existe una vía alternativa microsomal que no afecta a enzimas mitocondriales ni peroximales. Esta vía comienza con la 25-hidroxilación microsomal del 5β -coleston- $3\alpha,7\alpha,12\alpha$ -triol y posteriormente la 24-hidroxilación en 5β -coleston- $3\alpha,7\alpha,12\alpha,24\beta,25$ -pentol. Posteriormente éste se convierte es ácido cólico por medio de enzimas solubles. Esta vía es responsable de menos del 5% del ácido cólico formado en condiciones normales. Por el

contrario, parece ser importante cuando se bloquea la vía de la 27-hidroxilasa. Esta vía solamente actúa sobre compuestos 12α -hidroxilados, por lo que no produce nunca AQDC.

La enzima que cataliza la transformación de 5β -colestano- $3\alpha,7\alpha,12\alpha,24,25$ -pentol en ácido cólico requiere NAD^+ y tiene una tasa similar en la rata y en el hombre. La estereoespecificidad es importante: sólo el 24β -epímero se transforma rápidamente en ácido cólico. Tan sólo se detecta 5β -colestano- $3\alpha,7\alpha,12\alpha,24\xi,25$ -pentol y 5β -colestano- $3\alpha,7\alpha,12\alpha,24\alpha,25$ -pentol en la bilis y en las heces de los pacientes con XCT, pero no se detecta 5β -colestano- $3\alpha,7\alpha,12\alpha,24\beta,25$ -pentol⁴⁶.

3.2.7. Síntesis de colestanol

El colesterol también es precursor del colestanol. La principal vía de biosíntesis de colestanol comienza con la oxidación del colesterol en 4-colesten-3-ona a través de una 3β -hidroxi- Δ^5 -dehidrogenasa NAD-dependiente microsomal. Posteriormente, la 4-colesten-3-ona se convierte en colestanol por medio de una 5α -reductasa microsomal y de una 3β -hidroxiesteroide oxidorreductasa (figura 9). Esta secuencia de reacciones desde el colesterol hasta el colestanol no comparte ningún intermediario con las vías de biosíntesis del colesterol y de los ácidos biliares.

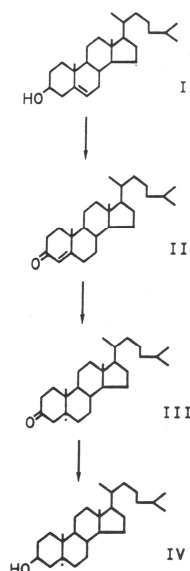


Figura 9.- Principal vía de síntesis del colestanol (I, colesterol; II, 4-colesten-3-ona; III, 5α -colestan-3-ona; IV 5β -colestan- 3β -ol, colestanol) (según Björkhem y cols.⁴⁷).

En la XCT la elevación del colestanol se debe al aumento de una nueva vía que implica la 7α -hidroxi-4-colesten-3-ona. Dado que la concentración hepática de 7α -hidroxi-4-colesten-3-ona está aumentada, se produce un aumento de la 7α -hidroxilación y por lo tanto se produce

habían recibido una dieta con colestanol (con respecto a la dieta normal y a la dieta con colesterol). Sólo se tiñeron con negro Sudán las células de Purkinje en el grupo de las que habían recibido una dieta con colestanol. Los estudios *in vitro* (cultivo de células de Purkinje y de células granulares) pusieron en evidencia que la células cultivadas con colestanol (en comparación con las células cultivadas con colesterol y con las de control) presentaban una mayor concentración de colestanol, una concentración de colesterol parecida, una menor viabilidad celular, un aumento del porcentaje de apoptosis y un aumento de la actividad proteasa de ICE (*interleukin converting enzyme 1β*) y CPP32 (*32-kDa putative cysteine protease*) que inducen la apoptosis neuronal⁵⁰.

3.2.9. Etiopatogenia de los xantomas tendinosos

En los tendones existen tenocitos (con menor cantidad de CYP27A1) y macrófagos (contienen CYP27A1, que produce un flujo de colesterol, convirtiéndolo en 27-hidroxicolesterol y ácido colestenoico). La elevada tasa 27α–hidroxicolesterol/colesterol en tendones y xantomas, que es 20 veces mayor que en la circulación es un mecanismo de defensa muy activo frente al acúmulo de colestanol. En los pacientes con XCT hay una producción excesiva de colestanol, que es un sustrato del CYP27A1. Al no existir el mecanismo del CYP27A1 que permite el flujo de esteroides, el colestanol se acumula en forma de xantomas en los tendones. Este acúmulo se debe tanto a un aumento del colestanol como a su menor eliminación (debido a la estabilidad de los ésteres de colestanol con respecto a los ésteres de colesterol)⁵¹. Según von Bahr y colaboradores⁵¹, al exponer macrófagos alveolares a un medio que contiene colesterol y colestanol, se produce una captación preferente de colesterol y una eliminación preferente de colestanol en forma de colesterol no metabolizado y de metabolitos 27-oxigenados. Esto explica la tendencia al acúmulo de colestanol. El 27-hidroxicolesterol juega un doble papel: un papel directo en el transporte de colesterol y un papel indirecto como estimulador del flujo de colesterol a través de los transportadores (activando los receptores LXR)⁵¹.

Los xantomas están formados por células espumosas. Dos principales factores están implicados en su formación: el LDL oxidado se deposita en los macrófagos y la CETP (*cholesteryl ester transfer protein*) transporta colesterol impidiendo su depósito en los macrófagos. El AQDC permite disminuir la susceptibilidad oxidativa del LDL, previniendo así el depósito de ésteres de colesterol. Tres meses tras la suspensión del AQDC, este efecto permanece. Esta menor susceptibilidad oxidativa no se relaciona con un cambio en el contenido de colesterol en las lipoproteínas, ni con el tamaño del LDL⁵².

El AQDC se une específicamente al LDL. Su ausencia en la XCT aumenta la susceptibilidad del LDL a la oxidación, produciéndose el acúmulo de ésteres de colesterol en los macrófagos. Además, el AQDC actúa como antioxidante. Su déficit en la XCT produce una malabsorción de grasas. A pesar de ello, la vitamina E (que es liposoluble) se mantiene normal, y a pesar de ser normal, al administrarse en pacientes con XCT, mejora la susceptibilidad oxidativa del LDL⁵². Finalmente, el AQDC activa la CETP. Una baja actividad de esta proteína induce arteriosclerosis a pesar de un nivel elevado de HDL-colesterol⁵². Así pues, el AQDC debiera permitir una reducción de los xantomas a través de estos dos mecanismos. La administración de vitamina E permitiría además mejorar la susceptibilidad oxidativa⁵².

3.2.10. Etiopatogenia de la arteriosclerosis en la XCT

Bjorkhem y colaboradores⁵³ estudiaron en 1994 la posible participación de la 27-hidroxilasa en la eliminación del colesterol de los macrófagos humanos en la arteriosclerosis. Para ello analizaron secciones de arterias femorales con arteriosclerosis de 5 pacientes, objetivando una gran cantidad de 27-hidroxicolesterol en ellas. Realizaron cultivos de macrófagos y células endoteliales en los que produjo una transferencia desde las células al medio de 27-hidroxicolesterol y de ácido 3 β -hidroxi-5-colestenoico formado a partir de la esterol 27-hidroxilasa. Al añadir colesterol al medio de cultivo, tanto el 27-hidroxicolesterol como el ácido 3 β -hidroxi-5-colestenoico aumentaron⁵³.

El 27-hidroxicolesterol y el ácido 3 β -hidroxi-5-colestenoico están presentes en la circulación y se transforman en el hígado en ácidos biliares. La conversión del colesterol en 27-hidroxicolesterol y en ácido 3 β -hidroxi-5-colestenoico es un mecanismo de defensa de los macrófagos para eliminar el colesterol de la circulación (figura 11). Por eso, en la XCT no existe este mecanismo de defensa y se produce una arteriosclerosis precoz⁵³.

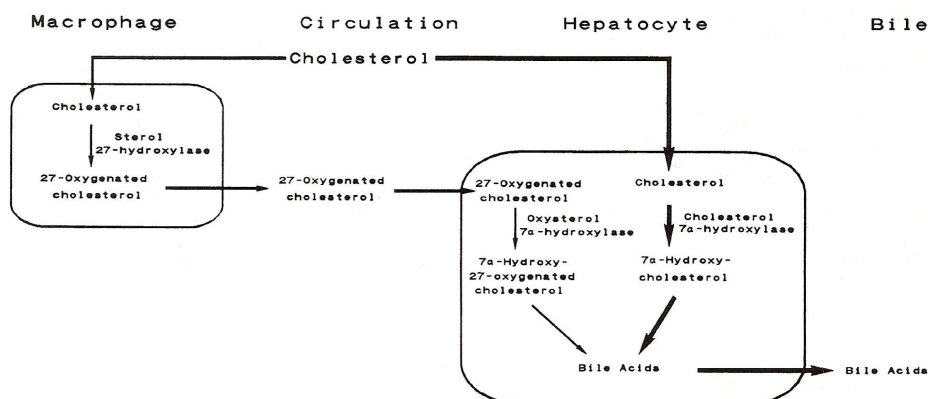


Figura 11.- Mecanismo sugerido para la eliminación del colesterol de los macrófagos y posiblemente de otras células periféricas (según Björkhem y cols.⁵³).

Los macrófagos tienen una mayor capacidad de convertir el colesterol en productos 27-oxigenados y de secretarlo al medio que las células endoteliales y los fibroblastos. La producción y el patrón de productos 27-oxigenados depende de la cantidad de 27-hidroxilasa, de la disponibilidad del colesterol y de la presencia de aceptores en el medio. La 27-hidroxilasa también participa en la conversión de 27-hidroxicolesterol en ácido 3 β -hidroxi-5-colestenoico. La formación de ácido 3 β -hidroxi-5-colestenoico requiere 3 hidroxilaciones, mientras que la formación de 27-hidroxicolesterol requiere una sola hidroxilación. Por ello, si la tasa de actividad enzimática es alta, aumenta el ratio ácido 3 β -hidroxi-5-colestenoico/27-hidroxicolesterol, mientras que si la tasa de actividad enzimática es baja, disminuye el ratio ácido 3 β -hidroxi-5-colestenoico/27-hidroxicolesterol. Por el contrario, la presencia de colesterol en el medio aumenta la secreción de productos 27-oxigenados, aumentando el ratio 27-hidroxicolesterol /3 β -hidroxi-5-colestenoico⁵⁴.

La 27-hidroxilasa se localiza en la membrana interna de la mitocondria. La transferencia del colesterol desde la membrana mitocondrial externa hasta la interna puede ser importante. La proteína reguladora aguda esteroideogénica participa en esta transferencia. Para ello, es necesaria la presencia de aceptores lipofílicos (como el HDL o la ciclodextrina) para la salida de 27-hidroxicolesterol de las células y de albúmina para la salida de ácido 3 β -hidroxi-5-colestenoico. Los aceptores lipofílicos aumentan la secreción de productos 27-oxigenados y disminuyen el ratio ácido 3 β -hidroxi-5-colestenoico/27-hidroxicolesterol. La apolipoproteína A1 en el medio disminuye la salida de colesterol de las células, aumenta la salida de ácido 3 β -hidroxi-5-colestenoico, pero no influye sobre la salida de productos 27-oxigenados de la célula⁵⁴.

El 27-hidroxicolesterol (originado a través de 27-hidroxilasa) y el 7-ketocolesterol (originado de manera no enzimática) son los principales oxisteroles en lesiones humanas arterioscleróticas y las células espumosas derivadas de los macrófagos el principal tipo de célula. Su capacidad de exportar esteroides a los aceptores extracelulares es crucial para el control del acúmulo de colesterol en la pared arterial⁵⁵. La conversión de 27-hidroxicolesterol en ácido colestenoico es importante fisiológicamente. El ácido colestenoico puede exportarse de los macrófagos a la albúmina. La exportación del 27-hidroxicolesterol por el contrario depende de aceptores lipoproteicos, que son limitados en las zonas con arteriosclerosis. En el plasma, el 27-hidroxicolesterol está asociado con lipoproteínas de alta densidad; el ácido colestenoico se encuentra en la fracción libre de la lipoproteína⁵⁵.

Brown y colaboradores⁵⁵ en el año 2000 demostraron la existencia de un nuevo oxisterol, el 27-hidroxi7-ketocolesterol en las lesiones humanas carotídeas. Éste se forma por acción de la

27-hidroxi-7-ketocolesterol, pero no con los de 27-hidroxicolesterol). Además, los cultivos de macrófagos humanos que expresan niveles altos de 27-hidroxi-7-ketocolesterol cuando se incuban con 7-ketocolesterol⁵⁵. El 27-hidroxicolesterol está asociado a la célula, mientras que el 27-hidroxi-7-ketocolesterol se encuentra fundamentalmente en el medio. La 27-hidroxi-7-ketocolesterol es un paso limitante en la formación de metabolitos más acuosos. Se cree que el acúmulo de 7-ketocolesterol en las células espumosas podría deberse a una alteración en el mecanismo de aclaramiento del 7-ketocolesterol mediado por la 27-hidroxi-7-ketocolesterol. Tan sólo el 7-ketocolesterol libre (no esterificado) puede acceder a la 27-hidroxi-7-ketocolesterol en la membrana interna mitocondrial. Al bloquear su esterificación, aumenta su metabolismo a través de la 27-hidroxi-7-ketocolesterol⁵⁵.

En resumen, la actividad de la 27-hidroxi-7-ketocolesterol es un importante mecanismo para los macrófagos de eliminar colesterol y oxisteroles, que puede estar alterado en la arteriosclerosis. Su estimulación tal vez podría proteger de la arteriosclerosis⁵⁵.

3.2.11. Receptores implicados

El receptor nuclear PXR (*pregnane X receptor*) es un receptor activado por numerosos ligandos⁵⁶. Induce la expresión de una serie de genes que controlan el aclaramiento de xenobióticos del hígado y del intestino, como enzimas del citocromo P450 (CYP3A, CYP2B, CYP2C), genes que intervienen en la síntesis del grupo común hemo y de la subunidad oxidorreductasa P450, enzimas que mejoran la solubilidad de metabolitos en fase I y transportadores xenobióticos que median la excreción de otros compuestos. El PXR puede inducir su propia expresión. El gen CYP3A es uno de los principales objetivos del PXR, pues la enzima que codifica metaboliza el 50% de los fármacos (taxol, ritonavir, clotrimazol). Además, permite una vía alternativa de los trioles. En los ratones los trioles activan el PXR, activándose a su vez el CYP3A por vía directa (por interacción con el receptor), que protege al ratón del acúmulo de colestanol. Por el contrario en el hombre el triol no activa el PXR, acumulándose en los tejidos y produciendo la XCT. Tanto los trioles como los tetroles inducen genes endógenos de PXR en el ratón. En el hombre, ni los trioles, ni los tetroles activan el CYP3A4, aunque la rifampicina y la hiperforina sí lo activan. Por ello, Dussault y colaboradores⁵⁶ propusieron en el 2003 el uso de ligandos de PXR humano para el tratamiento o para la prevención de la XCT. Finalmente el PXR contribuye en la homeostasis del colesterol, pues al activar el CYP3A4, activa el flujo de degradación del esterol a través de una vía alternativa. Por ello, los agonistas

del PXR podrían reducir el colesterol en el contexto de una hipercolesterolemia o de una arteriosclerosis⁵⁶.

El receptor X del farnesoide (*farnesoid X receptor*, FXR) juega un papel fundamental en la biosíntesis de los ácidos biliares. El aumento de la actividad CYP7A1 se relaciona con una menor expresión del SHP (*small heterodimer partner*) como consecuencia de la desactivación del FXR. En la XCT existe un aumento de la actividad CYP7A1 a pesar de que la expresión del SHP es normal, por lo que otros factores deben estar implicados. El 5 β -colestano-3 α ,7 α ,12 α ,25-tetrol es un potente ligando del FXR. Se cree que el acúmulo de alcoholes biliares estimula la vía del FXR en la XCT⁵⁷.

Se han propuesto tres vías independientes de FXR, SHP y FTF (*α -fetoprotein transcription factor*). En la primera vía, la transcripción del gen *CYP7A1* está regulada por LXR α (*liver X receptor α*), un receptor nuclear de los oxisteroles. El LXR α induce el ARNm del SHP y disminuye la expresión de *CYP7A1* en los hepatocitos humanos. En la segunda vía, el ácido litocólico y otros ácidos biliares tóxicos son ligandos para el receptor PXR (*pregnane X receptor*) y reprimen la expresión del *CYP7A1*. El HNF4 α (*hepatocyte nuclear factor 4 α*) interacciona con diversos co-activadores, como el PGC-1 α que activa el gen *CYP7A1*. Los ligandos del PXR activan el PXR para que interaccione con el HNF4 α , que altera la interacción HNF4 α -PGC1 α y suprime de esta manera la expresión del *CYP7A1*. En la tercera vía, se produce la activación de la c-Jun N-terminal kinasa (JNK) a través de los ácidos biliares (especialmente el taurocolato). El c-Jun activado inhibe la expresión del *CYP7A1* mediante un mecanismo SHP-dependiente y mediante un mecanismo independiente⁵⁷.

El LXR α no se une al promotor del *CYP7A1* humano. HNF4 α es el único receptor nuclear que estimula la transcripción del gen *CYP7A1*. En la XCT, el aumento del *CYP7A1* a pesar de un SHP normal se explica por la regulación positiva por el HNF4 α que domina sobre el efecto negativo de FXR, SHP y FTF (figura 12). Se ha demostrado que el sitio de unión al HNF4 α es necesario para la expresión de PXR en los hepatocitos fetales⁵⁷.

El déficit de AQDC también puede llevar a una menor activación del receptor activado del farnesoide, produciéndose una menor expresión de la bomba exportadora de sales biliares y un menor transporte canalicular de sales biliares⁵⁸.

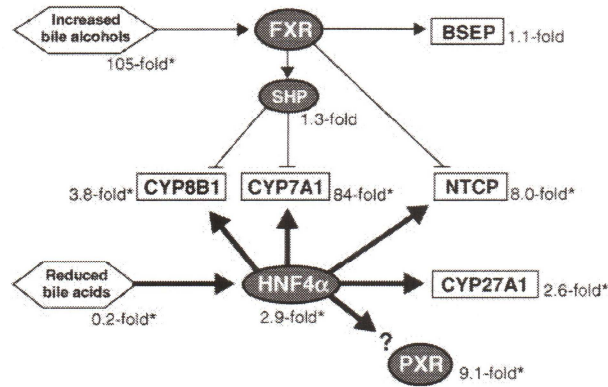


Figura 12.- Regulación del metabolismo de ácidos biliares por el FXR y HNF4 α en el hígado de pacientes con XCT. Las flechas indican una regulación positiva y las líneas con tope una regulación negativa. Se indican los cambios en la expresión de los genes y en las concentraciones de ácidos biliares y de alcoholes biliares en los pacientes con XCT con respecto a los controles. Los asteriscos indican que los valores de los pacientes con XCT están dentro de los intervalos de confianza del 95% de la media de los controles (según Honda y cols.⁵⁷).

3.2.12. Metabolismo en la infancia

El gen que codifica la 7 α -hidroxilasa, que es la enzima limitante de la degradación, no se expresa en la primera infancia. En los adultos con XCT, se induce la 7 α -hidroxilasa como consecuencia de la escasa formación de AQCDC, pero en los niños no existe ese mecanismo compensador. Como consecuencia del déficit de CYP27A1 y CYP7A1 en los neonatos con XCT, hay muy poca producción de ácidos biliares. Una posible vía alternativa podría ser la CYP7B1, que emplea el 25-hidroxicolesterol como sustrato⁵⁸.

En 2002, Clayton y colaboradores⁵⁹ presentaron un caso de hepatitis de células gigantes familiar en la infancia, que a los 11 años desarrolló un patrón de metabolitos similar al de la XCT y propusieron que ambas entidades eran diferentes expresiones de una misma enfermedad según la edad. Relacionaron los cambios en el perfil de metabolitos del paciente con un cambio en las vías de síntesis de los ácidos biliares y de los alcoholes biliares con la enfermedad hepática activa y con la edad. También propusieron la interacción con otros genes y factores ambientales. Al disminuir la 27-hidroxilasa, disminuye el ácido quenodeoxicólico y el FXR que a su vez producen un aumento de la 7 α -hidroxilasa y una disminución de la expresión de las proteínas importantes para la secreción biliar. Por otro lado, la disminución de la 27-hidroxilasa también produce un descenso del 27-hidroxicolesterol y del ácido 3 β -hidroxi-5-colestenoico, que inhiben los receptores LXR α e influyen en el metabolismo del colesterol y de los lípidos. Por todo ello, en el adulto se producen ácidos biliares a través de otras vías y no se produce colestasis.

3.2.13. Investigación sobre ratones

Diversos autores han realizado experimentos sobre ratones *CYP27A1 knockout*. Los ratones *CYP27-/-* tienen poca actividad 25-hidroxisilasa microsomal en el hígado, por lo que no pueden compensar el déficit de 27-hidroxisilasa a través de la vía 25-hidroxisilasa. El hígado de rata contiene una 26-hidroxisilasa microsomal que es capaz de catalizar la 26-hidroxisilación del 5β -colestano- $3\alpha,7\alpha,12\alpha,26$ -tetrol (que es un isómero del 5β -colestano- $3\alpha,7\alpha,12\alpha,27$ -tetrol que puede convertirse en ácido cólico). Esto podría explicar la existencia de una pequeña cantidad de ácidos biliares en los ratones *CYP27-/-*, aunque no se sabe con seguridad. En ratones *CYP27-/-* la ausencia de 27-hidroxisilasa produce una elevación compensatoria de 7α -hidroxisilasa y un aumento de 7α -hidroxicolesterol. La conversión de 7α -hidroxi-4-colesten-3-ona a colestanol requiere una deshidratasa microsomal, cuya actividad es mucho mayor en el hombre que en el ratón. Su baja actividad en el ratón explica que el ratón *CYP27-/-* no tenga mayores niveles de colestanol que el ratón *CYP27+/+*. La 27-hidroxisilasa protege frente a la arteriosclerosis, pero los ratones *CYP27-/-* no presentan xantomas ni arteriosclerosis. En el ratón *CYP27-/-* se produce un aumento de la síntesis de colesterol debido al aumento de la actividad 7α -hidroxisilasa. y como consecuencia de esto se produce un aumento de la HMG-CoA reductasa hepática para consumir el exceso de colesterol. Además, hay un aumento de la 25-hidroxivitamina D (con respecto al ratón *CYP27+/+*) y una 1,25-dihidroxivitamina D normal. En esta especie, la 27-hidroxisilasa es importante para la formación de 25-hidroxivitamina D y de 1,25-dihidroxivitamina D. En el ratón *CYP27-/-* no hay una malabsorción. El colesterol y los ácidos grasos están aumentados y las vitaminas A y E (liposolubles) están levemente disminuidas. Por lo tanto el ratón *CYP27-/-* no es un buen modelo de XCT, al no acumularse colestanol, no activarse el mecanismo compensatorio de la 25-hidroxisilasa y al no presentar alteraciones neurológicas, ni vasculares⁶⁰.

Dubrac y colaboradores⁶¹ estudiaron en el 2005 las diferencias entre ratones *CYP27A1 knockout* heterocigotos, ratones *CYP27A1 knockout* homocigotos y ratones hembra. Los heterocigotos presentan un mayor peso corporal, una hipercolesterolemia media y una elevación de lipoproteínas (LDL). En los homocigotos por el contrario los autores encontraron una mayor expresión del *CYP7A*, que sugiere que parte del fenotipo homocigoto sea secundario al aumento de expresión y de actividad *CYP7A*. También hallaron hepatomegalia, disregulación del metabolismo del colesterol hepático, de los ácidos biliares y de los ácidos grasos, aumento de la síntesis hepática de colesterol, aumento de la síntesis de ácidos biliares intermediarios, menor concentración de sales biliares en la vesícula, aumento de la expresión del polipéptido cotransportador de Na-taurocolato (principal transportador sinusoidal de sales biliares) y

disminución de la bomba exportadora de sales biliares (principal transportador canalicular de sales biliares). Por lo tanto dedujeron que el déficit de CYP27A afecta a las tres vías hepáticas metabólicas: la del colesterol, la de los ácidos biliares y la de los ácidos grasos. Finalmente el sexo también parece influir, con mayor afectación de las hembras⁶¹.

3.2.14. Proteómica

La **talina** es una proteína del citoesqueleto con elevado peso molecular que se localiza en los “contactos focales” (las zonas de unión entre la célula y la matriz extracelular). Une receptores de integrina para estabilizar el citoesqueleto de la actina. Juega un papel en la unión de los filamentos de actina y en la unión y separación de varios tipos de células. En la XCT hay un aumento de una variante de la talina en leucocitos. Se interrumpe la asociación entre integrina y citoesqueleto de actina, alterándose la morfología celular. Esto mismo sucede con la proteína ABP 280 (*actin-binding protein 280*)¹¹.

La **vinculina** es una proteína que contiene sitios de unión a múltiples proteínas del citoesqueleto (actina, α -actinina, talina, paxilina, vinexina y proteincinasa C). Juega un papel en el acoplamiento mecánico de la integrina al citoesqueleto, en la forma celular, en la amplitud de la protrusión y en la motilidad. En la XCT hay un aumento de la vinculina, que afecta a la polimerización normal y a la protrusión de la membrana, interfiriendo en la adhesión mediada por integrina. El aumento de vinculina también produce una menor adhesión entre la células y una menor inmunidad del huésped¹¹.

La **vimentina** normalmente se une a la fosforilatocinasa. En la XCT está disminuida. La cinasa se une retrógradamente a la dineína, produciendo problemas en la transducción neuronal y síntomas neurológicos¹¹.

El colestanol disminuye la fluidez de la membrana celular y el contenido de otras moléculas dentro de la bicapa lipídica de la membrana. Se reemplaza el colesterol en la membrana celular reduciendo su mecánica. La fluidez de la membrana alterada lleva a su mala función en las vías de señalización y transporte de proteínas y lípidos. El aumento de vinculina y de talina podrían reflejar el resultado de dichos cambios en la fluidez de la membrana¹¹.

Los pacientes con XCT presentan una fragilidad de la membrana celular. Algunos marcadores proteicos podrían ser de ayuda para el diagnóstico y tratamiento de la XCT¹¹.

3.3. GENÉTICA

La XCT es una enfermedad autonómica recesiva que codifica el enzima mitocondrial esterol 27-hidroxisilasa ((OMIM#213700). Cali y colaboradores⁶ demostraron en 1991 la localización del gen *CYP27A1* en la porción distal q33-qter del brazo largo del cromosoma 2 (figura 13).

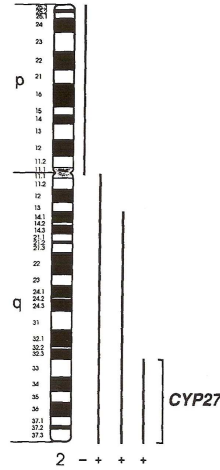


Figura 13.- Mapa regional de la localización del gen de la 27-hidroxisilasa (*CYP27A*) en el cromosoma humano 2 (según Cali y cols.⁶)

Leitersdorf y colaboradores⁹ elucidaron en 1993 la estructura del *CYP27A1* humano. La región promotora es rica en residuos de guanina y citosina y contiene potenciales lugares de unión para los factores de transcripción Sp1 y LF-B1, que son necesarios para la expresión de genes específicos hepáticos⁹. El gen *CYP27A1* está formado por nueve exones y ocho intrones, e incluye 18,6 kb de ADN⁹. El transcrito tiene un tamaño de 1966 pares de bases y codifica una proteína de 531 aminoácidos con una enzima madura de 498 aminoácidos y una secuencia señal mitocondrial de 33 aminoácidos. Los exones están rodeados por secuencias que siguen el consenso de los sitios de *splicing* GT/AG⁹.

La 27-hidroxisilasa pertenece a la familia de la P450 mitocondrial⁹. Necesita ferredoxina como cofactor y ferredoxina reductasa para la transferencia de electrones. La secuencia que codifica la señal mitocondrial extrapéptido hidrofóbica está en el exón 1. El residuo de cisteína que se une al hemo está en el exón 8 y los sitios de unión a la ferredoxina en el final 3' del exón 6 (figura 14)⁹.

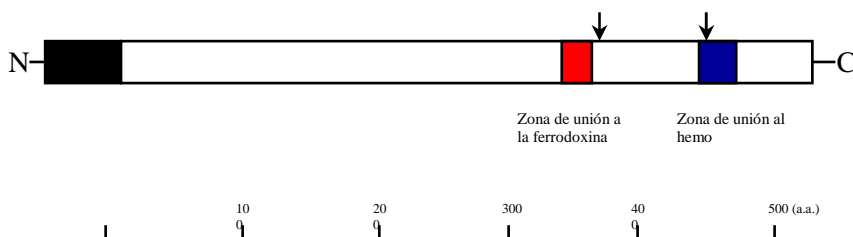


Figura 14.- Estructura del *CYP27A1*. La región en negro indica el péptido señal y en gris las zonas de unión a la ferredoxina y al hemo respectivamente.

Diez años más tarde, Lee y colaboradores³ llevaron a cabo el mapeo fino del gen *CYP27A1* que localizaron entre los marcadores D2S1371 y D2S424 (figura 15)³. Estudiaron la configuración tridimensional teórica de la 27-hidroxilasa (figura 16) y su superposición con la P450scc (*side-chain cleavage*) y tan sólo objetivaron dos áreas discrepantes: el bucle de asociación de la membrana putativa y el bucle corto. Las mutaciones *missense* se suelen localizar en las áreas de unión al hemo y a la adrenodoxina. Tan sólo dos de este tipo de mutaciones se localizaban fuera de estas áreas³. Los autores plantearon que estas mutaciones podrían jugar un papel importante en la actividad enzimática. Finalmente, compararon las secuencias de diferentes *CYP27* (figura 17). La arginina en posición 127 es un aminoácido muy conservado. Se piensa que esta área podría tener una función biológica aún no identificada. La lisina 259 está precedida por un tramo de residuos hidrofóbicos. En la región homóloga del P450scc está la región que participa en la asociación a la membrana³.

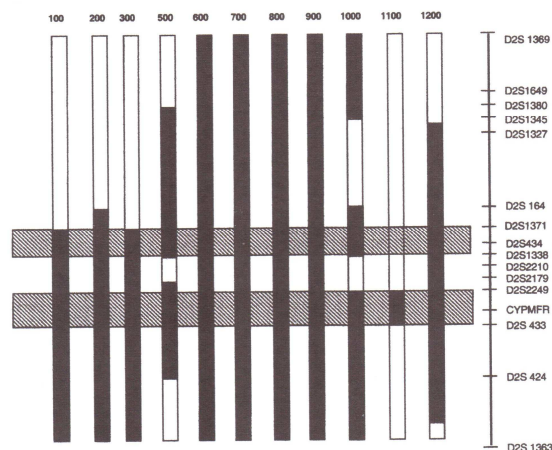


Figura 15.- Análisis de haplotipos y mapeo detallado del *CYP27*. Las barras verticales representan los haplotipos, con áreas sólidas en las zonas recombinantes. Las barras horizontales indican las dos áreas en las que se localiza con mayor probabilidad el *CYP27*, en base a la recombinación de individuos afectados y no afectados. Al combinar la información con la presencia o ausencia de mutaciones en portadores, los autores dedujeron que *CYP27* pudiera estar localizado entre D2S2249 y D2S433 (Lee y cols.³).

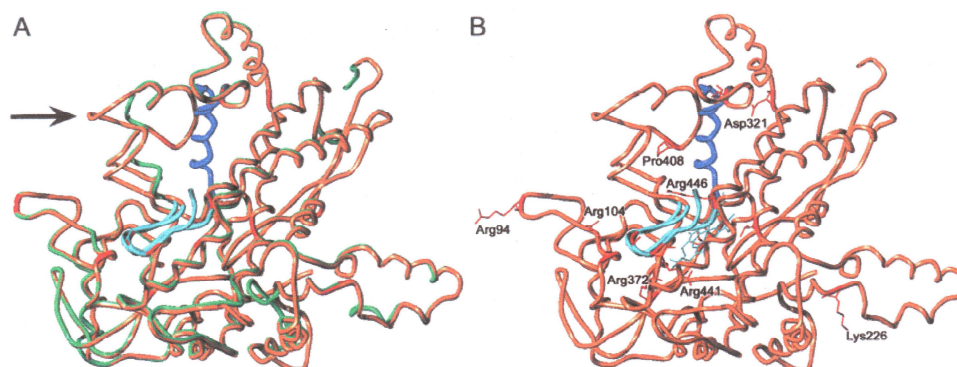


Figura 16.- Modelo estructural y mapeo de las mutaciones *missense* del *CYP27*. A: la estructura de la P450scc (verde claro) se adapta a la estructura prevista de la *CYP27* (marrón). La flecha marca una zona en la que no coinciden ambas estructuras. B: Se muestran en rojo las zonas de las mutaciones *missense*, en azul la zona de unión a la adrenodoxina (residuos 351-365) y en morado la zona de unión al hemo (residuos 435-464). Todas las mutaciones excepto dos se localizan en estas dos zonas (según Lee y cols.³).

Sawada y colaboradores⁶² en el 2001 estudiaron el gen *CYP27B1* en pacientes japoneses con raquitismo dependiente de vitamina D tipo I, que no tienen actividad 1 α -hidroxilasa frente a la 25-hidroxivitamina-D₃. Compararon la secuencia de aminoácidos en el CYP27A1, en el CYP27B1 y en otros citocromos P450 mitocondriales humanos (figura 18). Además realizaron un estudio sobre la unión al hemo y al sustrato en *E. Coli* con CYP27A1 y posteriormente relacionaron CYP27A1 y CYP27B1⁶². Los aminoácidos R127 y G145 son responsables de la formación de la estructura terciaria del sustrato hemo (no son responsables de la unión al sustrato sino del plegamiento del sustrato hemo). La P518 se encarga del plegamiento del sustrato hemo (y no de la unión al sustrato). Es necesaria al menos una carga negativa en la posición 183 ó en 184. D183 y D184 están localizadas en las hélices E, I y J y están expuestas a la superficie de la proteína. Los aspárticos estabilizan los “*four-helix bundles*” que consisten en cuatro hélices D, E, I y J que forman puentes de sal. T339 es responsable de la activación del oxígeno molecular. R405 y R407 están implicadas en la coordinación hemo-propionato. Arginina forma puente de sal con aspártico. Glutámico estabiliza la estructura terciaria de las proteínas. Prolina y glicina son desestabilizadores de hélices y bloqueadores del plegamiento⁶².

	H	H	E	L	N	L	R	P	S	C,H	I	P	C	G	R									
VDDR	65	107	117	125	143	164	189	196	240	321	335	336	368	379	382	385	389	409	429	451	453	458	478	497
CYP27B1	Q	R	R	G	P	D	E	G	H	T	R	H	P	R	P	P	R	T	R	G	R	R	V	P
CYP24	L	R	R	G	K	D	E	S	E	T	R	N	P	R	P	P	R	M	R	G	R	R	I	P
CYP11A1	H	R	H	G	Q	D	D	S	D	T	R	N	P	R	P	V	R	Q	D	G	R	R	V	P
CYP11B1	V	R	R	G	P	D	S	A	S	T	R	N	P	R	P	L	R	R	N	G	R	R	V	P
CYP11B2	M	R	R	G	P	D	S	A	S	T	R	N	P	R	P	L	R	Q	N	G	R	R	V	P
CYP27A1	Q	R	R	G	Q	D	L	A	K	T	K	D	P	R	P	P	R	V	Q	G	R	R	V	P
CTX	85	127	137	145	163	184	208	216	259	339	353	354	384	395	398	401	405	426	445	472	474	479	499	518
	W,Q	W					P	R	M		G	L	C		R	W,Q		A	W		C			

Figura 18.- Comparación de las secuencias de aminoácidos entre el CYP27A1, el CYP27B1 y otros citocromos P450 mitocondriales humanos en las posiciones que presentan mutaciones en los pacientes con raquitismo dependiente de vitamina D tipo I (arriba) y con XCT (abajo). Se han marcado en negro las 4 posiciones comunes en ambas enfermedades, en gris los residuos idénticos y en blanco los residuos homólogos (según Sawada y cols.⁶²).

La arginina en posición 395 suele estar muy conservada y sirve de unión para el cofactor adrenodoxina. Este codón 395 (CGT) está formado por los dos últimos nucleótidos 3' del exón 6 (CG) y el primero 5' del exón 7 (T). Es un *hotspot*: cuatro diferentes mutaciones afectan a esta localización⁶³. El efecto de una mutación sobre el *splicing* del pre-ARNm difiere según la posición de la mutación. Las mutaciones en la región intrónica GT (posiciones +1 y +2 del sitio 5' de *splice*) producen un *splicing* aberrante. Esto se debe a que esta secuencia juega un papel importante estabilizando la complementariedad entre U1 snRNA y el lugar de *splicing*. Las mutaciones en la región exónica del sitio 5' de *splice* no bloquean del todo el lugar normal de *splicing*⁶³.

De 6 mutaciones en pacientes japoneses con XCT, 5 se localizaban cerca de regiones de unión a cofactores, por lo que Chen y colaboradores⁶⁴ planteaban que la enfermedad se debía a una incapacidad de unirse el enzima a los cofactores. La sexta mutación se localizaba en un punto aislado, en la posición 137. Por otro lado, de las 6 mutaciones, 5 se producían en nucleótidos considerados como hipermutables en el genoma humano. Todas las mutaciones halladas hasta ese momento en pacientes japoneses eran de tipo *missense* (sin afectar al *splicing*), sintetizándose una enzima sin actividad.

Estos mismos autores propusieron en 1998 una teoría sobre el *splicing* del pre-ARNm en dos pasos: primero se produce la adhesión del pre-ARNm en el sitio 5' de *splice* (con unión concomitante del final 5' del intrón); posteriormente se produce la adhesión del sitio de *splice* 3'. Para ello participan el reconocimiento de secuencias muy específicas y otros factores (figura 19)⁶⁵.

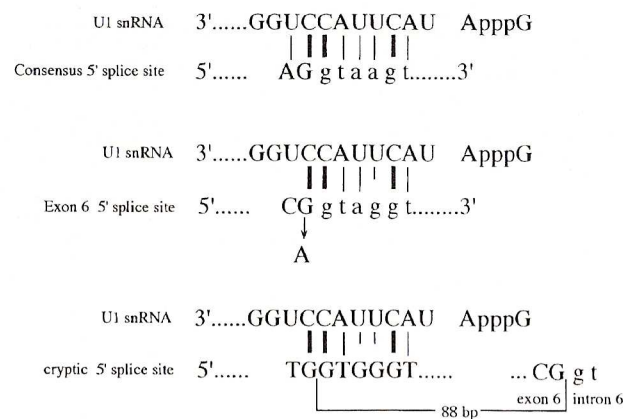


Figura 19.- Esquema de la complementariedad de la zona 5' del U1 snRNA a la región de *splicing* 5'. A: consenso de la zona de *splice* 5'. B: sitio de *splice* 5' del intrón 6 del gen de la esterol 27-hidroxilasa. Se indica con una flecha la mutación G→A. Se indica con barras gruesas la unión G-C, con una barra fina la unión A-U y con una barra corta la unión G-U (según Chen y cols.⁶⁵).

Ese mismo año, también describieron una sustitución silente de un nucleótido como causa de un *splicing* alternativo del pre-ARNm al activar un sitio de *splicing* 5' críptico⁶⁶. La secuencia de *splicing* consenso es AGGTAAGT. Los autores asumían que los nucleótidos alrededor del codón mutante 145 son un sitio de *splice* 5' críptico (secuencia TGGTCCGT, en la que coinciden 5 de los 8 nucleótidos de la secuencia consenso). El *splicing* en este sitio críptico activado produciría un ADNc en el que se eliminan 13 pares de bases. La mutación, aunque silente provocaría un *splicing* alternativo activando el sitio de *splicing* críptico 5'⁶⁶.

El nucleótido G está presente en la posición -1 del sitio de *splicing* 5' (último nucleótido del exón) en el 78% de los casos, mientras que el nucleótido C tan sólo está presente en el 4%. Por el contrario en la posición -1 del sitio de *splicing* normal exón2-intrón 2 se encuentra un nucleótido

C, mientras que en el sitio crítico activado es G. Los autores plantean que G podría jugar un papel importante en el *splicing* estabilizando la complementariedad entre U1 snRNA y el sitio de *splicing* (figura 20)⁶⁶.

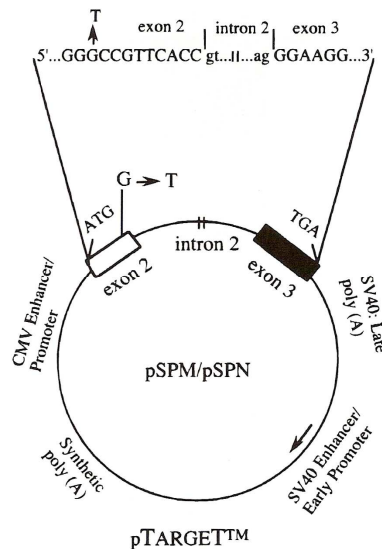


Figura 20.- Representación esquemática de la construcción del minigen mutante (pSPM) y normal (pSPN). Se clona la región insertada, que contiene los exones 2 y 3 y 209 pb truncados del intrón 2, en el vector de expresión pTARGET que contiene la región promotora CMV, un intrón quimérico para una expresión de alto nivel de lo insertado y la señal SV40 de poliadenilación tardía. Se indica con una flecha la mutación silenciosa G → T (según Chen y cols.⁶⁶).

3.4. MUTACIONES

3.4.1. Generalidades

Las primeras mutaciones en el gen *CYP27A1* causantes de XCT fueron descritas en 1991⁶. Poco tiempo después se detectaron también mutaciones en algunos grupos étnicos^{8,67}. Revisando las mutaciones descritas hasta entonces, Lee y colaboradores³ observaron que las mutaciones *missense* se solían localizar en las áreas de unión al hemo y a la adrenodoxina. De las mutaciones nuevas identificadas por estos autores, tan sólo 2 se localizaban fuera de estas áreas: p.R127W y p.K259R. Plantearon que estas áreas también podrían tener un papel importante en la actividad enzimática³. En una revisión más reciente se destaca que de las 49 mutaciones descritas hasta ese momento, la mayoría (65%) eran sustituciones de aminoácidos. El análisis de mutaciones mostraba 22 (45%) mutaciones *missense*, 10 (20%) mutaciones *nonsense*, 9 (18%) mutaciones del sitio de *splicing*, 7 (14%) deleciones y 1 (2%) inserción. Casi el 50% de estas mutaciones se localizan en la región de los exones 6-8⁷. Estas mutaciones afectan con frecuencia a los residuos R395, R474, R479, R137 y G145⁴. Las deleciones, inserciones y mutaciones *nonsense* van a generar la ausencia del sitio de unión para el hemo y para la adrenodoxina. Las mutaciones que afectan a las zonas de *splicing*, producen un ARNm aberrante que se degrada rápidamente, o un cambio de estructura y translación de un polipéptido que es enzimáticamente inactivo al no

presentar el grupo hemo o adrenodoxina^{1,3}. Las mutaciones *missense* podrían alterar la actividad catalítica de la enzima. Se considera que estas mutaciones son patogénicas cuando alteran los sitios de unión a la adrenodoxina o al hemo o a algún sustrato potencial³. Algunas de estas mutaciones presentan una frecuencia relativamente elevada en algunos grupos étnicos, como p.T339M en pacientes holandeses, p.R474(Q/W) en pacientes japoneses y p.A216P en casos italianos. No se ha establecido ninguna correlación específica entre genotipo y fenotipo, lo que sugiere la presencia de otros factores que podrían influir sobre el fenotipo.

En la actualidad se conocen, pues, algo más de 50 mutaciones causantes de XCT en el gen *CYP27A1*. Navegar la literatura para identificar todas las mutaciones descritas y localizarlas correctamente en el gen y la proteína no siempre es sencillo. La existencia del péptido señal ha llevado a confusión en la nomenclatura referida a los residuos aminoacídicos y mutaciones de la 27-hidroxilasa. A todos los efectos en el presente trabajo la numeración de los codones comienza en el primer residuo de la proteína precursora. No todos los autores siguen las recomendaciones de la *Human Genome Variation Society (HGVS)*^{68,69}. En el presente trabajo hemos seguido dichas recomendaciones y las mutaciones descritas anteriormente las hemos renombrado cuando ha sido necesario para adecuarlas a la misma nomenclatura consenso. No existe que tengamos constancia una base de datos de acceso público que resuma de manera extensa y adecuada todas las mutaciones conocidas en *CYP27A1*. A continuación se revisan las mutaciones descritas en cada exón (ver localización de las mismas en el apéndice 2).

3.4.2.Exón 1

- **c.5-6insC**: mutación descrita en una familia francesa que produce un codón de terminación prematuro.⁷⁰
- **c.11-21del TGGGCTGCGC**³

3.4.3.Intrón 1

No se han descrito hasta la fecha mutaciones localizadas en este intrón.

3.4.4.Exón 2

- **c.305delC**: esta deleción produce un cambio de estructura, un codón *stop* prematuro y como consecuencia una ausencia de actividad 27-hidroxilasa¹¹.
- **c.355delC**: mutación encontrada en pacientes israelíes de la minoría drusa; produce un codón *stop* prematuro⁸.

- **c.366 C→A (p.G122G)**: mutación silente descrita por Kato y colaboradores⁷¹ en un paciente con XCT y adenocarcinoma de vesícula bien diferenciado al que se le practicó una necropsia.
- **c.379 C→T (p.R127W)**: mutación encontrada por Verrips y colaboradores⁷² en un paciente con XCT con afectación espinal. Lee y colaboradores⁷³ la hallaron en una familia de Taiwan.
- **c.380 G→A (p.R127Q)**: publicada por Watts y colaboradores⁷⁴ en 1996. Unos años más tarde se relacionó con parkinsonismo juvenil⁷⁵.
- **c.399 G→A (p.W133X)**³
- **c.409 C→T (p.R137W)**⁷⁶: la arginina interacciona con un grupo propionato del hemo y el W133, cuatro residuos más allá, probablemente esté implicado en la transferencia de electrones entre la NADPH-citocromo P450 reductasa y el hemo P450 microsomal⁷⁷.
- **c.433 G→A (p.G145R)**⁷⁶
- **c.435 G→T (p.G145G)**: esta sustitución de un nucleótido que funcionalmente es silente provoca un *splicing* alternativo del pre-ARNm. Se producen tres tipos de ADNc: el terminal 3' del ADN del exón 2 borrado, que incluye 13 pares de bases, con un codón *stop* prematuro; el ADNc excluido del exón 2 que engloba 190 pares de bases también con un codón *stop* prematuro; el ADNc en su longitud completa con una mutación funcionalmente silente G→T en codón 145 (GGG(Gly)→GGT(Gly)). Esta sustitución silente del nucleótido produce un *splicing* alternativo del pre-ARNm, activándose un sitio de *splicing* 5' críptico alrededor del codón mutante. Estos resultados plantean una nueva base molecular de la XCT y sugieren la importancia de las sustituciones silentes de un nucleótido con respecto al *splicing* del pre-ARNm⁶⁶.
- **c.434 G→A (p.G145E)**: la glicina en la posición 145 suele estar muy conservada. Aunque esta posición esté fuera de la zona funcional, en el modelo tridimensional se localiza en la región de unión al hemo. Por otro lado, la sustitución de una glicina por un aminoácido cargado negativamente podría hacer que la enzima fuera más inestable.
- **c. 438 G→A (p.P146P)**⁷⁸: mutación silente

3.4.5. Intrón 2

- **c.446+1G→A**¹: descrita en una familia procedente de Almería; produce un *splicing* aberrante.

3.4.6. Exón 3

- **c.475 C→T (p.Q159X)**: encontrada en un paciente holandés; produce un codón *stop* prematuro⁷⁹.
- **c.525/526delG**: encontrada en un paciente criollo Suriname⁷⁹. También Clayton y colaboradores encontraron esta mutación en un paciente que se presentó como una hepatitis de células gigantes en la infancia, y que a los 11 años desarrolló un patrón de metabolitos similar al de la XCT⁵⁹. Esta deleción produce una hebra desde treonina 175, con una secuencia *nonsense* de 5 aminoácidos y un codón prematuro de terminación TGA en posición 179.
- **c.583 G→T (p.E195X)**: descrita en dos familias japonesas con XCT, cuyos miembros cursaron con parkinsonismo⁸⁰.
- **c.646 G→C (p.A216P)**: reduce el *splicing* al localizarse en el último nucleótido del exón 3; hallada en pacientes italianos⁸¹ y suizos⁸².

3.4.7. Intrón 3

No se han descrito hasta la fecha mutaciones localizadas en este intrón.

3.4.8. Exón 4

- **c.691 C→T (p.R231X)**: encontrada en pacientes italianos⁸³.
- **c.745 C→T (p.R249X)**: descrita en un paciente de Gran Bretaña¹.
- **c.752 C→T (p.S251X)**⁷⁶
- **c.776 A→G (p.K259R)**: hallada en un paciente de Alemania¹.
- **c.779 G→A (p.W260X)**: encontrada en un paciente de Alemania¹.
- **c.808 C→T (p.R270X)**: esta mutación produce un codón *stop* prematuro, formándose una proteína de la mitad del tamaño normal, prácticamente inactiva. Descrita en pacientes pakistaníes⁸⁴ y en paciente diagnosticado tras una muerte súbita en el 2000⁸⁵.
- **c.819delT**: encontrada en familias de judíos de origen marroquí⁹.

3.4.9. Intrón 4

- **c.844+1G→A**: esta mutación produce una unión directa de los exones 3 y 5 (eliminándose el exón 4) con la consiguiente pérdida de 198 pares de bases en el ARNm y de 66 aminoácidos en la enzima⁸⁶. Descrita en los Países Bajos⁸⁶ y en Australia⁸⁷.
- **c.845 -1G→A**: encontrada en pacientes de origen marroquí^{9,88}.

3.4.10. Exón 5

- **c.850 A→T (p. K284X)**: descrita en un paciente británico⁷⁴ y en *afrikaners*⁸⁹.
- **c.852 G→A (p. K284K)**: es un polimorfismo⁹.
- **c. 944-948delTGGCC**: deleción de 5 nucleótidos que produce un cambio en el marco de lectura y la inserción de un codón prematuro en la posición 196. Se forma una proteína que no posee una zona de unión al hemo, ni a la adrenodoxina⁷⁸.
- **c. 1016 C→T (p. T339M)**: publicada por Brautbar y colaboradores⁹⁰ en 1983; también se ha encontrado en un paciente que cursó con demencia fronto-temporal⁹¹; es frecuente en Túnez, Marruecos y Argelia (de hecho supone un 29% de las mutaciones halladas en paciente originarios del Norte de África)⁹².

3.4.11. Intrón 5

No se han descrito hasta la fecha mutaciones localizadas en este intrón.

3.4.12. Exón 6

- **c. 1061 A→G (p. D354G)**: hallada en un paciente de Turquía¹.
- **c. 1151 C→T (p. P384L)**: encontrada en un paciente belga¹.
- **c. 1180-1181delCT**: produce un cambio de estructura y un codón *stop* prematuro³.
- **c. 1183 C→T (p. R395C)**⁹³: esta mutación se localiza en una zona muy conservada de unión al cofactor adrenodoxina, en un dinucleótido CG, que es hipermutable en el genoma humano. Cali y colaboradores⁶ realizaron en 1991 una transfección en células COS-M6 de simio y midieron la actividad de la 27-hidroxilasa mediante cromatografía de capa fina, objetivando un descenso importante de dicha actividad enzimática⁶. Verrips y colaboradores⁷⁹ también encontraron esta mutación en un paciente holandés.
- **c. 1183 C→A (p. R395S)**: esta mutación se produce en el penúltimo nucleótido del exón 6 (posición -2 del sitio de *splicing* del exón 6 - intrón 6). Podría producir un *splicing* alternativo en otro sitio. *In vitro* esta mutación provoca una ausencia en el terminal 3' de 88 pares de bases del exón 6 debido al uso de un sitio de *splicing* 5' críptico activado. Se forma un codón terminal prematuro de 47 pares de bases por debajo del final 5' del exón 7. Se piensa que esto también podría producirse *in vivo* aunque es difícil demostrarlo debido a la inestabilidad. Al realizar una transfección en células COS-1 se objetiva una menor actividad 27-hidroxilasa. Las diferencias entre los estudios *in vivo* y los estudio sobre células COS-1 se deben a las temperaturas, los iones y las diluciones⁶³.

- **c.1184 G→A (p.R395H)**: descrita en un paciente japonés⁶⁷; se localiza en la zona de unión a la adrenodoxina. Da lugar a diferentes tipos de *spliced* ARNm: ADNc que contiene una mutación en el codón R395H; terminal 3' de 88 pares de bases del exón 6 (debido a la utilización de una zona de *splice* activada en 5' en el exón 6); ADNc sin exón 6⁶⁵.

3.4.13. Intrón 6

- **c. 1184 +1G →A**: produce tres fragmentos de ARNm anómalos: en el primero, el extremo 5' del exón 6 se une al exón 7 perdiéndose 89 pares de bases en el exón 7; en el segundo, el exón 5 se une directamente al exón 7; en el tercero, el exón 5 se une al exón 8, perdiéndose 246 pares de bases⁸³. También Sperhake y colaboradores⁸⁵ encontraron esta mutación en un paciente con XCT que tuvo una muerte súbita.
- **c. 1185 -1G →T**: encontrada en tres hermanos chinos procedentes de Hong Kong⁹⁴.
- **c. del 1,9 kb (del exon 7-9)**: delección de 2 kb, del intrón 6 a la región 3' del gen, que elimina los exones 7-9⁹⁵. Esta mutación produce un alelo nulo, sin actividad 27-hidroxilasa. El ARNm mutante debería codificar una proteína de 362 aminoácidos. La unión del exón 6 a la mitad 5' del intrón 6 no unido introduciría un codón terminación prematuro que sigue a la arginina de la posición 395, formándose una enzima que no es funcional, al no tener un sitio de unión al hemo. Por otro lado, la delección elimina el exón 9 que codifica la región 3' no transcrita del ARNm que contiene la señal de poliadenilación. Al ser la poliadenilación (el acortamiento del segmento poli-A) el primer paso en la descomposición del ARNm, es probable que un ARNm desprovisto de la señal de poliadenilación sea degradado poco después de su transcripción. Garuti y colaboradores⁹⁵ plantearon que esta delección podría deberse a la unión de 14 nucleótidos orientados de forma opuesta, localizados en el intrón 6 y en la región 3' FLK ("*flanking*"), que produciría una primera estructura en forma de base de un bucle y una segunda estructura también formando la base de un bucle más abajo, donde ésta presenta una secuencia rica en A-T (figura 21). La formación de estos dos bucles uniría dos repeticiones directas de 6 nucleótidos (AGA-CAG) que en condiciones normales están situadas en el intrón 6 y en el inicio de una secuencia Alu invertida en la región 3'FLK. Estas repeticiones causarían un emparejamiento erróneo durante la duplicación del ADN (durante el reanillamiento las dos tiras se separan y se vuelven a anillar). Si la copia se

une al 5' se produce una duplicación, mientras que si se une al 3' se produce una delección⁹⁵.

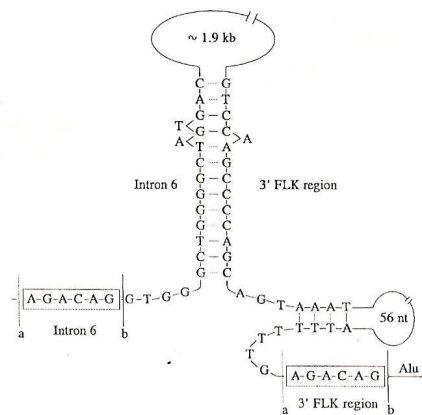


Figura 21.- Posible estructura secundaria en la región de los puntos de ruptura del gen CYP271A. La figura representa dos hipotéticas bases de bucle con sus potenciales estructuras de horquilla que pueden causar la delección. La formación de las estructuras en horquilla produce dos repeticiones de seis nucleótidos muy parecidas (enmarcadas). La vecindad de estas repeticiones directas puede producir un emparejamiento erróneo durante la replicación del ADN, con la eliminación de una de estas repeticiones en la zona de delección. Las líneas verticales continuas (a) y discontinuas (b) indican los posibles puntos de separación. Si los puntos de separación están en la posición a, la secuencia AGACAG presente en la zona de delección pertenece a la región 3'FLK; si los puntos de separación se localizan en la posición b, la secuencia AGACAG pertenece al intrón 6 (según Garuti y cols.⁹⁵).

Desde el punto de vista técnico, para poder detectar esta mutación, los autores tuvieron que realizar 2 PCR independientes: en la primera emplearon 9s3 como *primer forward* y 3'FLKas4 como *primer reverse*, amplificando un alelo normal, de 792 pares de bases; en la segunda emplearon 6s como *primer forward* y 3'FLKas4 como *primer reverse*, amplificando el alelo delecionado (figura 22)⁹⁵.

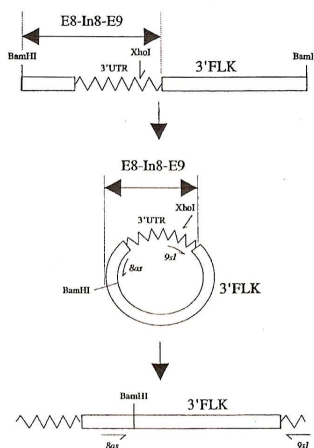


Figura 22.- Método de "PCR inversa" empleado como punto inicial para secuenciar la región 3'FLK del gen CYP27. Se digiere el ADN genómico de un sujeto normal con BamHI y se realiza una electroforesis en un gel de agarosa. Se eligen los fragmentos de un tamaño de 2-3 kb y se ligan con T4 ADN ligasa. Se digieren los fragmentos circulares con XhoI y se amplifican con PCR usando primers 8as y 9s1, como se indica con las flechas. Está marcada la región que abarca el exón 8, el intrón 8 y el exón 9. 3'UTR es una región no traducida codificada por el exón 9. 3'FLK es la región 3' flanking. El fragmento de CYP27 no está dibujado a escala (según Garuti y cols.⁹⁵).

3.4.14. Exón 7

- **c. 1202C→G (p. P401R)**: mutación hallada en familias japonesas. Se localiza en la zona de unión a la ferredoxina. Al afectarse la transferencia de electrones, se inhibe la enzima⁹⁶.
- **c. 1209 C→T (p. N403K)**⁹⁷
- **c. 1213 C→T (p. R405W)**: mutación hallada en un paciente de los Países Bajos¹ y en un paciente suizo que cursó con una mielopatía progresiva⁸².
- **c. 1213 C→G (p. R405G)**⁹⁸
- **c. 1214 G→A (p. R405Q)**: mutación descrita en pacientes japoneses^{64,99} y chinos⁹⁴, que se localiza cerca de R395, aminoácido muy conservado que sirve de unión al cofactor adrenodoxina. Chen y colaboradores⁶⁴ realizaron un estudio de transfección del ADNc mutante en células COS, que demostró un descenso de la actividad 27-hidroxilasa. Realizaron además un estudio mediante análisis de endonucleasa de restricción (HapII).
- **c. 1222 G→T (p. E408X)**: mutación encontrada en un lactante con colestasis que falleció a los 4 meses⁵⁸.

3.4.15. Intrón 7

- **c. 1263 +1 G→A**: mutación hallada en pacientes italianos⁸¹, japoneses¹⁰⁰ y taiwaneses⁷³; produce un ARNm anómalo en el que el exón 6 se une directamente al exón 8, eliminándose el exón 7. La unión del exón 6 y del exón 8 produce un cambio de estructura por debajo de la R395, que genera una cadena de 28 aminoácidos y un codón *stop* prematuro⁸¹.
- **c. 1263 +5 G→T**: en esta mutación, el exón 6 se une al exón 8, con un codón *stop* prematuro⁸³.
- **c. 1264 -1 G→A**: se producen 2 ARNm anómalos (en el primero se elimina el intrón 7, produciéndose un cambio en la estructura y un codón *stop* prematuro; en el segundo se produce una delección de los 6 primeros nucleótidos, uniéndose los exones 7 y 8)⁸³.

3.4.16. Exón 8

- **c. 1323 C→T (p. P441S)**: mutación encontrada en pacientes estadounidenses³.
- **c. 1381 C→T (p. Q461X)**: descrita en pacientes estadounidenses³.
- **c. 1415 G→C (p. G472A)**: mutación hallada en pacientes chinos¹.
- **c. 1420 C→G (p. R474G)**⁹⁸

- **c. 1420 C→T (p. R474W):** mutación descrita en pacientes japoneses y en un paciente escandinavo^{80,99,101-105}.
- **c. 1421 G→A (p. R474Q):** mutación encontrada fundamentalmente en pacientes japoneses^{64,96,106}. Estas dos últimas mutaciones (p. R474W y p. R474Q) corresponden a la zona de unión al hemo. Afectan a nucleótidos C-G que son los nucleótidos más frecuentemente afectados en el genoma humano. Pueden confirmarse mediante las enzimas de restricción *HpaII* y *StuI* respectivamente. Kim y colaboradores¹⁰⁴ estudiaron además la actividad enzimática y propusieron un límite de reducción de la actividad del 98% a partir del cual la enfermedad se hace sintomática (por el contrario pacientes con una reducción de la actividad enzimática del 90% podrían permanecer asintomáticos). También Chen y colaboradores¹⁰⁵ describieron en 1998 estas dos mutaciones en pacientes japoneses. De forma global, encontraron que las mutaciones p.R474W, p.R405Q y p.R474Q suponen el 83% de las mutaciones en Japón, por lo que recomendaban la realización de un *screening* de estas tres mutaciones ante una sospecha de XCT en todo paciente japonés¹⁰⁵.
- **c. 1435 C→A (p. R479S)**¹⁰⁷
- **c. 1435 C→G (p. R479G)**⁹¹: hallada en un paciente con demencia fronto-temporal.
- **c. 1435 C→T (p. R479C):** esta mutación se localiza dos aminoácidos más allá de la cisteína, muy conservada, que sirve de ligando para el cofactor hemo. Cali y colaboradores⁶ realizaron una transfección en células COS-M6 de simio y midieron la actividad de la 27-hidroxilasa mediante cromatografía de capa fina, objetivando un descenso importante de dicha actividad enzimática⁶.

3.4.17. Intrón 8

No se han descrito hasta la fecha mutaciones localizadas en este intrón.

3.4.18. Exón 9

No se han descrito hasta la fecha mutaciones localizadas en este exón.

3.5. EPIDEMIOLOGÍA

Hay pocos datos epidemiológicos, aunque se ha descrito una mayor prevalencia de esta enfermedad en ciertas poblaciones, como japoneses, judíos sefardíes e italianos, a menudo asociada a la existencia de mutaciones específicas³.

Leitersdorf y colaboradores⁹ presentaron en 1993 cinco casos de XCT en 4 familias judías de origen marroquí. Analizaron seguidamente 250 individuos judíos de origen marroquí en busca de las dos mutaciones detectadas en los pacientes y encontraron un portador de la delección del exón 4 y dos de la mutación del intrón 4. La frecuencia de este alelo estimada en esa población fue de 0,006. Por lo tanto la frecuencia estimada de homocigosidad fue de 0,00004. Al ser la población de Israel originaria de Marruecos de 498.000 habitantes y al ser el grado de mezcla interétnica calculado de un 8,6%, los autores estimaron que debía haber unos 20 casos de XCT como resultado de los dos alelos mutantes en matrimonios no consanguíneos⁹. En 1994, los mismos autores describieron varios casos de XCT entre israelíes druzos y relacionaron la mayor prevalencia con la consanguinidad existente y consolidada por motivos culturales⁸.

Reshef y colaboradores⁹² presentaron en 1994 la mutación p.T339M (exón 5) en una familia judía, originaria de Argelia. Esta mutación se ha encontrado además en Túnez, en Marruecos y en Argelia. Supone un 29% de las mutaciones halladas en pacientes originarios del Norte de África. Para explicar la incidencia de esta mutación en este área geográfica, los autores se plantearon la influencia de un posible efecto fundador en ese área dado que varias mutaciones se asocian con diferentes haplotipos del gen (el efecto de selección explicaría la existencia de diferentes mutaciones asociadas a un haplotipo en concreto, pero no a diferentes haplotipos como es el caso)⁹².

Lorincz y colaboradores¹⁷ en el 2005 describieron 2 casos de XCT y realizaron el estudio genético en 115 voluntarios, de origen europeo, de más de 60 años de edad, sin antecedentes personales, ni familiares de enfermedades neurológicas, recolectados en la Universidad de Michigan. Encontraron un portador heterocigoto. Los autores dedujeron que la prevalencia era de 1,9/100000. Dado que existen diferentes mutaciones, la prevalencia de esta enfermedad sería de al menos un 3-5/100000, es decir bastante mayor de lo que se piensa¹⁷.

Con respecto a la prevalencia de la enfermedad, Johannes y colaboradores¹⁰⁸ describieron en el 2002 la XCT como la segunda causa de alteración neurológica en pacientes con cataratas juveniles (detrás de la distrofia miotónica). Basados en estos argumentos, los autores no recomendaban englobar esta enfermedad dentro de las enfermedades raras.

En relación con las características demográficas de esta enfermedad, los datos más completos proceden de una revisión de la literatura en el 2004. Los autores encontraron unos 175 casos descritos en la literatura, de los cuales 98 eran mujeres y 77 varones. El rango de edades estaba comprendido entre los 2 y los 58 años⁴.

En nuestro país, se han publicado 7 casos entre los años 1993 y 2004, sin que tengamos constancia de descripciones de series, ni de estimaciones epidemiológicas.

3.6. CLÍNICA

3.6.1. Generalidades

La XCT es una enfermedad crónica de instauración insidiosa y progresión lenta, cuyos primeros síntomas suelen presentarse a edades tempranas, aunque el cuadro clínico típico puede no ser evidente hasta la edad adulta. La presencia de diarrea en un niño y de cataratas en la segunda década de la vida son a menudo los primeros datos. Hacia la tercera década suelen comenzar los síntomas neurológicos que pueden ser de cualquier tipo: ataxia, mielopatía, polineuropatía, epilepsia, deterioro cognitivo, parkinsonismo etc. La presencia de xantomas puede ayudar al diagnóstico, aunque su ausencia no debe considerarse como un criterio de exclusión.

Verrips y colaboradores¹⁰⁹ propusieron en 2000 para el diagnóstico de la XCT el empleo de los siguientes criterios: cataratas prematuras, diarrea intratable; signos neurológicos progresivos; xantomas tendinosos. En los pacientes que cumplieran 2 de estos 4 criterios recomendaban incluir la XCT en el diagnóstico diferencial¹⁰⁹. Insistían en que la frecuencia de la diarrea es mayor de lo que se piensa, porque no se suele interrogar a los pacientes sobre este síntoma. Por el contrario, la presencia de xantomas tan sólo se objetiva en el 50% de los casos, lo que puede ser causa de un infradiagnóstico¹⁰⁹.

La prevalencia hallada para los diferentes síntomas en una revisión del 2004 fue: 71% xantomas tendinosos; 92% cataratas; 81% retraso mental. En la tabla 1 se resumen los principales síntomas, su edad de inicio, su posible mecanismo patogénico, así como su incidencia aproximada⁴.

Zona afectada	Signos o síntomas clínicos	Edad de inicio	Incidencia	Posible mecanismo
Aparato gastro-intestinal	Diarrea crónica	Infancia precoz	Frecuente	Alteración del metabolismo de los ácidos biliares
Ojos	Cataratas	Adulto joven	Muy frecuente	Depósito de esteroides en el cristalino
Piel y tendones	Xantomas	Adolescencia	Frecuente	Depósito de esteroides
Cerebro	Deterioro cognitivo, trastorno psiquiátrico, afectación cerebelosa y de vía piramidal	Adolescencia, adulto	Muy frecuente	Depósito de esteroides
Sistema cardiovascular	Cardiopatía isquémica	Adulto	Menos frecuente	Depósito de esteroides
Huesos	Osteoporosis, fracturas	Adulto	Menos frecuente	Depósito de esteroides u otro mecanismo

Tabla 1.- Principales manifestaciones clínicas en la XCT (según Moghadasian y cols.⁴).

3.6.2. Diarrea crónica

Van Heijst y colaboradores¹¹⁰ publicaron en 1998 5 casos de niños (entre 7 y 20 años) con XCT y revisaron los datos de la literatura (otros 13 niños más). El cuadro clínico se caracterizaba

por diarrea crónica, cataratas y posteriormente retraso psico-motor. Los autores concluían que ante la presencia de cataratas y diarrea en niños tenía que considerarse en el diagnóstico diferencial la XCT¹¹⁰. Posteriormente otros autores también han insistido en que la frecuencia de la diarrea es mayor de lo que se piensa, porque no se suele interrogar a los pacientes sobre este síntoma¹⁰⁹.

3.6.3. Cataratas y afectación ocular

La presencia de cataratas en estos pacientes es otro signo muy típico de esta enfermedad. El tipo de catarata no es específico, siendo la edad precoz de presentación (segunda o tercera década de la vida) lo que debiera alertar al oftalmólogo sobre la existencia de una posible causa subyacente. Algunos pacientes asocian otro tipo de afectación ocular como es la atrofia del nervio óptico.

Cruysberg y colaboradores¹¹¹ describieron en 1991 tres casos de XCT desde el punto de vista oftalmológico. El primero de los pacientes presentaba cataratas bilaterales, con opacidades múltiples, irregulares, lineales blancas y azules y cataratas subcapsulares posteriores. En el segundo paciente las cataratas eran similares al anterior, pero sin opacidades subcapsulares posteriores. El tercer paciente presentaba cataratas densas polares anteriores y pequeñas opacidades¹¹¹. Antes de los 6 años de edad, suelen aparecer opacidades en la zona cortical del cristalino que progresan con el tiempo. Hacia la adolescencia, las cataratas suelen estar ya bien formadas requiriendo tratamiento quirúrgico⁴.

En un estudio más amplio sobre las manifestaciones oculares basado en 16 pacientes con XCT, la principal afectación encontrada fue el desarrollo de cataratas en la infancia (y no congénitas) de tipo polar anterior, subcapsular posterior o de opacidades irregulares corticonucleares, que requirieron la extracción del cristalino y la implantación de una lente de cámara posterior. También estudiaron en estos pacientes la visión de colores, que estaba frecuentemente alterada y el fondo de ojo que tan sólo en tres pacientes mostraba una palidez papilar. La ecografía ocular, la electroretinografía y la queratometría fueron normales. Los potenciales evocados visuales mostraban diferentes alteraciones: en ocasiones eran normales, otras veces estaban ausentes y en algunos pacientes se objetivaba una afectación de la latencia (por neuropatía o por disminución de la agudeza visual). Algunos pacientes asociaban xantelasmas¹¹².

Dotti y colaboradores¹¹³ en el 2001 observaron que el hallazgo más característico también fue la presencia de cataratas juveniles. También observaron palidez del disco óptico o envejecimiento de la retina en algunos pacientes. Se ha relacionado la existencia de drusas y de

cambios en el epitelio pigmentario de la retina con un posible estadio precoz de degeneración macular. Los potenciales evocados visuales presentaban una latencia alargada (en probable relación con una neuropatía óptica). El estudio anatómo-patológico del material del cristalino aspirado mostró unas estructuras membranosas con vacuolas de material lipídico.

3.6.4. Xantomas tendinosos

Los xantomas son depósitos en la piel y el tejido celular subcutáneo que aparecen como pápulas amarillentas, nódulos y seudotumores. Están formados por tejido conectivo que contiene colesterol, ésteres de colesterol, triglicéridos, fosfolípidos y numerosos macrófagos espumosos cargados de lípidos¹¹⁴.

Los tendones aquíleos son la principal localización en la que se depositan el colestanol y el colesterol. Esto suele producirse antes de los 15 años de edad. Otras posibles localizaciones para estos acúmulos son los dedos, las tuberosidades tibiales y el tríceps⁴. También se pueden observar xantomas tuberosos y xantelasmas en algunos pacientes con XCT⁴.

Smithard y colaboradores¹¹⁴ presentaron en 2007 un caso de XCT con xantomas tendinosos, sin afectación neurológica (con RM craneal normal). Describían que los xantomas tendinosos pueden preceder en años la instauración de la clínica neurológica y que por lo tanto debe plantearse la XCT en el diagnóstico diferencial de los xantomas tendinosos¹¹⁴. Así mismo Muhammed y colaboradores¹¹⁵ diagnosticaron en 2006 esta enfermedad en un paciente en una clínica dermatológica, a la que el paciente había acudido por la presencia de xantomas tendinosos, que también estaban presentes en dos de sus hermanos.

Por el contrario, se han descrito diferentes casos de XCT sin xantomas tendinosos. Por ejemplo, Campdelacreu y colaboradores¹⁰ publicaron en 2002 la descripción de dos hermanos gemelos univitelinos con XCT, que comenzaron con epilepsia fotosensible a los 11 años de edad y posteriormente a los 20 desarrollaron una paraparesia espástica y cataratas, pero que no tenían xantomas tendinosos. Verrips y colaboradores¹⁰⁹ describieron en el 2000 que la presencia de xantomas tan sólo se objetiva en el 50% de los casos, infradiagnosticándose con frecuencia la enfermedad debido a la baja frecuencia de este signo. En conclusión, la ausencia de xantomas no debe excluir el diagnóstico de XCT^{10,116}.

3.6.5. Síntomas neurológicos

A través de los síntomas neurológicos es como se suele diagnosticar la enfermedad en la mayoría de los casos. Éstos pueden ser de cualquier tipo, siendo el retraso psicomotor, la ataxia y

el piramidalismo los más frecuentemente encontrados. También la intensidad de los mismos es muy variable, siendo por lo tanto el grado de discapacidad en estos pacientes muy variable.

- **Retraso psicomotor**

Varios autores describen la presencia de un retraso psicomotor en los pacientes con XCT^{117,118}, aunque no existen casos de esta enfermedad publicados en la literatura que hayan sido diagnosticados por este síntoma (sino que se suelen diagnosticar en la edad adulta por otros síntomas neurológicos y en la anamnesis se menciona el antecedente del retraso en el desarrollo psico-motor).

- **Piramidalismo**

Verrips y colaboradores⁷² presentaron en 1999 7 casos de XCT con una presentación espinal. Realizaron un estudio con RM que mostraba una afectación de la columna lateral y dorsal. Estos pacientes no presentaban afectación cerebelosa, ni deterioro cognitivo ni xantomas. Los autores recomendaban incluir la XCT en el diagnóstico diferencial de las mielopatías crónicas⁷². En el 2004, Bartholdi y colaboradores⁸² describieron otros dos casos más de nacionalidad suiza con mielopatía progresiva, sin afectación cerebelosa, ni cognitiva inicial y sin xantomas. También Rogelet y colaboradores¹¹⁹ presentaron el caso de dos hermanas con XCT, con tetraparesia espástica, xantomas tendinosos, deterioro cognitivo y cataratas juveniles.

En resumen, se trata de uno de los síntomas más típicos y que con relativa frecuencia puede ser su forma de presentación.

- **Ataxia**

Diversos autores han publicado casos de XCT con afectación cerebelosa y con la imagen características en la RM de afectación de los núcleos dentados^{120,121}. En la revisión de Verrips y colaboradores¹ de 58 pacientes con XCT la presencia de ataxia era el segundo síntoma más frecuentemente encontrado (hasta 60%) desde el punto de vista neurológico.

En resumen, la ataxia también es uno de los síntomas más característicos y puede ser su forma de presentación

- **Polineuropatía**

Existen pocos datos en la literatura sobre las características de la polineuropatía (PNP) en la XCT y éstos son contradictorios. Algunos autores describen una PNP de tipo desmielinizante¹²²,

mientras que otros la describen de tipo axonal¹²³. Además, en la mayoría de protocolos de estudio de las PNP no se menciona la XCT en el diagnóstico diferencial de las diferentes PNP.

Argov y colaboradores¹²² presentaron en 1986 tres casos de XCT. Clínicamente no parecían tener neuropatía, pues aunque presentaban atrofia y pies cavos, los reflejos miotáticos estaban aumentados y asociaban una mínima hipopalestesia. La electroneurografía mostraba una reducción de las velocidades de conducción sensitivas y motoras, pero sin bloqueos. La electromiografía no mostraba actividad espontánea pero sí una disminución de las fibras con el esfuerzo máximo, todo ello sugestivo de una neuropatía desmielinizante primaria. Por ello los autores recomendaban incluir la XCT en el diagnóstico diferencial de neuropatías sensitivo-motoras hereditarias¹²².

Unos años más tarde, Verrips y colaboradores¹²³ presentaron los resultados del estudio neurofisiológico y de la biopsia (muscular en nueve pacientes y de nervio sural en 3 pacientes) de 10 pacientes con XCT. Tan sólo 1 de los 10 pacientes se quejaba de debilidad, aunque seis de ellos presentaban signos clínicos. Los estudios neurofisiológicos objetivaban una neuropatía axonal sensitivo-motora. Las biopsias mostraban cambios neurogénicos (degeneración axonal) aunque en un caso la presencia de bulbos gigantes de cebolla sugería un inicio desmielinizante (los autores plantearon que podría existir un componente isquémico). No hallaron ninguna correlación entre el tipo de neuropatía, la edad, la severidad de las alteraciones bioquímicas y el tipo de mutación¹²³.

- **Deterioro cognitivo**

La presencia de deterioro cognitivo en estos pacientes no es infrecuente. Cuando está presente suele tener un patrón fronto-temporal y aparecer en edades tempranas (cuarta-quinta décadas de la vida). Guyant-Marechal y colaboradores⁹¹ describieron un caso de XCT que cursó con demencia fronto-temporal a los 53 años, con xantomas, pero sin cataratas y sin afectación de los núcleos dentados en la RM craneal. Por ello, los autores recomendaban incluir la XCT en el diagnóstico diferencial de demencia fronto-temporal en pacientes jóvenes⁹¹.

- **Manifestaciones psiquiátricas**

Las manifestaciones psiquiátricas en estos pacientes son más frecuentes de lo que se piensa. Suelen cursar con depresión¹²⁴, aunque con frecuencia ésta es reactiva a los síntomas neurológicos.

En una serie de 35 pacientes con XCT, 4 presentaban síntomas psiquiátricos (alucinaciones auditivas, catatonía y agresividad). Estos síntomas podían producirse tras la mejoría de los

síntomas neurológicos, antes de los síntomas neurológicos o en ausencia de demencia. Los autores propusieron como mecanismo patogénico una afectación de la mielina y por lo tanto de los circuitos neuronales¹²⁵.

Lee y colaboradores¹²⁶ relacionaron la depresión con la presencia de una dilatación ventricular. Propusieron como mecanismo fisiopatológico un depósito de colestanol, que altera los circuitos neuronales que regulan la neuroplasticidad y la supervivencia neuronal. Revisaron la literatura y obtuvieron un total de 10 casos de XCT con síntomas psiquiátricos, de los cuales un 60% presentaban retraso mental y un 20% depresión¹²⁶.

En un resumen publicado en el 2007 de todos los errores innatos del metabolismo que podían cursar con alteraciones psiquiátricas, la XCT estaba incluida en el grupo que cursaba con retraso mental leve y alteraciones conductuales o de personalidad tardías¹²⁷.

- **Parkinsonismo**

Wakamatsu y colaboradores⁸⁰ describieron 3 casos de XCT con parkinsonismo. 2 de los casos presentaban una afectación mesencefálica en la RM que justificaría el parkinsonismo y respondieron moderadamente al tratamiento con levodopa y clorhidrato de difenilpiralina. El tercer caso no presentaba ninguna lesión en la RM que justificara la clínica y respondió al tratamiento con AQDC, por lo que se relacionó el parkinsonismo con la XCT⁸⁰. También Dotti y colaboradores⁷⁵ presentaron en el 2000 un caso de XCT con parkinsonismo de inicio precoz (a los 35 años), sin afectación de los ganglios basales en la RM craneal.

Ohno y colaboradores¹²⁸ en el 2001 presentaron 3 hermanas con XCT y un parkinsonismo. Clínicamente el cuadro era indistinguible de una enfermedad de Parkinson. Realizaron un PET que sugería una afectación presináptica y una RM craneal que no mostraba afectación de la sustancia negra ni del estriado. Estas pacientes no respondieron al tratamiento con levodopa, y por el contrario sí al tratamiento con clorhidrato de difenilpiralina. Se cree que este fármaco participa en la recaptación de dopamina. El tratamiento con inhibidores de la HMG-CoA reductasa normalizó el colestanol, pero no frenó la enfermedad. Los autores planteaban que la sustitución de colesterol por colestanol en la membrana lipídica podría alterar la expresión de los transportadores de monoaminas¹²⁸. Otros autores han propuesto como posible mecanismo etiopatogénico de dicha clínica una alteración presináptica de la vía dopaminérgica nigroestriada por depósito de colestanol¹²⁹.

- **Epilepsia**

Se han descrito casos de XCT con epilepsia en la infancia. Por ejemplo, Campdelacreu y colaboradores¹⁰ publicaron en el 2002 la descripción de dos hermanos gemelos univitelinos con XCT, que comenzaron con epilepsia fotosensible a los 11 años de edad y posteriormente a los 20 desarrollaron paraparesia espástica y cataratas.

3.6.6. Afectación cardiovascular

La presencia de miocardiopatía isquémica se asocia con la XCT con una frecuencia superior a lo que tradicionalmente se creía¹³⁰. Valdivieso y colaboradores¹³¹ describieron un varón de 36 años con antecedente de cataratas, xantomias y retraso mental, diagnosticado de XCT, que falleció tras varios infartos agudos de miocardio por fallo cardíaco. Los autores insistieron en que la afectación cardiovascular es más frecuente de lo que pueda parecer clínicamente.

No se conoce la causa de la afectación cardiovascular en la XCT. Podría estar en relación con un aumento de la síntesis de colesterol, pero el perfil de las lipoproteínas es antiaterogénico, por lo que otros factores genéticos o ambientales deben estar implicados^{8,132}. Algunos autores han postulado que existe una afectación del transporte del colesterol periférico en el hígado¹³¹.

En un estudio cardiológico realizado en 9 pacientes con XCT, se encontró una hipertrofia lipomatosa del septo atrial (HLSI) en 4 de ellos, aunque no se halló ninguna relación con la edad del inicio, la duración de la enfermedad, los niveles de colestanol o la duración del tratamiento¹³². La HLSI se define como un acúmulo de grasa no encapsulada a nivel del septo atrial que produce un aumento de su grosor. Los criterios según Fyke (mediante ecocardiograma transtorácico) de hipertrofia lipomatosa del septo atrial son: septo atrial hiperecogénico bilobulado en ventana subcostal; grosor del septo > 15mm; ausencia de otro tipo de cardiopatía que produzca engrosamiento del septo. Algunos autores relacionan la HLSI con una mayor incidencia de alteraciones del ritmo supraventricular, alteraciones de la conducción cardíaca y muerte súbita, aunque no está claro. Sí parece asociarse con la obesidad severa y con la arterosclerosis de las arterias coronarias¹³³.

3.6.7. Afectación hepática

Clayton y colaboradores⁵⁹ presentaron en el 2002 un caso de hepatitis de células gigantes familiar en la infancia, con un aumento en la excreción urinaria de alcoholes biliares glucurónidos (un aumento en la orina de los alcoholes biliares y en la sangre de los precursores de los ácidos biliares). Este paciente a los 11 años desarrolló un patrón de metabolitos similar al objetivado en la XCT, por lo que se realizó un estudio genético en que se demostró una delección

ya descrita anteriormente en casos de XCT (c.525/526 delG). Por ello, proponían que el defecto en la conversión del colesterol en ácidos biliares (que afecta a la 7 α -hidroxilasa y a la 27-hidroxilasa) podía manifestarse en forma de hepatitis de células gigantes en la infancia, de hepatitis neonatal (que puede ser autolimitada o fatal) o de XCT en la edad adulta. Los pacientes con XCT tienen con mayor frecuencia antecedente de hepatitis neonatal, y de elevación de las transaminasas y de la bilirrubina en la infancia que la población general⁵⁹.

Unos años más tarde, Von Bahr y colaboradores⁵⁸ presentaron un caso de XCT que se presentó con colestasis en la infancia, que falleció a los 4 meses. El fenotipo clínico era totalmente diferente. El paciente presentaba además una infección por CMV (que también puede ser causa de una enfermedad hepática severa)⁵⁸.

3.6.8. Otras alteraciones

Algunos casos de XCT asocian alteraciones músculo-esqueléticas, como *pectus excavatum*, escoliosis o pies cavos^{4,134}.

Dorman y colaboradores¹³⁵ presentaron en 1997 una mujer de 41 años con XCT, linfangioleiomiomatosis pulmonar y leiomiosarcoma uterino. Plantearon que un cambio en la sensibilidad hormonal podría estar relacionado con la linfangioleiomiomatosis y con el leiomiosarcoma a través de los receptores de estrógenos y de progesterona. Por el contrario no hallaron ninguna relación entre la linfangioleiomiomatosis pulmonar y la XCT¹³⁵.

3.6.9. Correlación genotipo-fenotipo

Los datos disponibles en la literatura reflejan una mala correlación entre el genotipo y el fenotipo en la XCT. Nagai y colaboradores¹⁰³ en 1996 describieron unos hermanos trillizos con XCT, con una misma mutación y con un fenotipo idéntico caracterizado por retraso mental, alteración de la marcha desde la infancia y xantomas en la edad adulta. La misma mutación ya había sido descrita con anterioridad en un paciente con un fenotipo completamente diferente (alteración de la marcha a partir de los 30 años, con una inteligencia normal), por lo que los autores proponían la participación de un factor medioambiental¹⁰³.

En 1997, Verrips y colaboradores⁸⁶ encontraron tres hermanos de los Países Bajos portadores de una misma mutación, con diferentes presentaciones fenotípicas. Describieron la existencia de una variabilidad clínica a pesar de tratarse de una misma mutación⁸⁶. Tres años más tarde, realizaron una revisión de la literatura, en la que reunieron un total de 54 casos, con 37 diferentes mutaciones. Tampoco objetivaron ninguna correlación entre el fenotipo y el genotipo y también propusieron la implicación de factores ambientales¹.

También Bartholdi y colaboradores⁸² han recalcado la gran variabilidad fenotípica intrafamiliar existente a pesar de la existencia de las mismas mutaciones. Por el contrario sí establecen una correlación entre el grado de afectación del metabolismo de los ácidos biliares y el fenotipo clínico del paciente⁸². Para ello, plantean dos posibles hipótesis: la activación preferente de un alelo diferente en cada una de los hermanos y las diferencias individuales en la activación de otras posibles vías que también participen en el acúmulo de colesterol y colestanol.

3.7. ESTUDIOS DIAGNÓSTICOS COMPLEMENTARIOS

3.7.1. Determinaciones analíticas

- **Colestanol y otros ácidos y alcoholes biliares**

La alteración analítica más característica de la XCT es la elevación de los niveles de colestanol en sangre. No obstante, el colestanol también puede elevarse en algunas enfermedades hepáticas, por lo que se recomienda para el diagnóstico de la XCT la determinación de los precursores de los ácidos biliares y sus metabolitos en bilis, heces y orina (especialmente del 5β -colestano- $3\alpha,7\alpha,12\alpha,23,25$ -pentol, que se expresa en mg/mmol de creatinina)¹³⁶. Así mismo, la determinación de la excreción urinaria de alcoholes biliares (que se expresa en mg de 5β -colestano- $3\alpha,7\alpha,12\alpha,23,25$ -pentol/mmol de creatinina) también puede ser útil para evaluar la efectividad terapéutica. En caso de buena respuesta al tratamiento, se produce una disminución de esta excreción urinaria¹³⁶.

Pitt y colaboradores¹³⁷ propusieron en el 2007 el añadir la XCT y el síndrome de Smith-Lemli-Opitz (SSLO) al panel rutinario de detección de errores innatos del metabolismo a través del análisis de orina. Los conjugados sulfato y glucurónido pueden ser analizados mediante espectrometría de masa con tandem de electrospray negativo, al ser moderadamente polares y al contener grupos cargados negativamente. En la XCT, el principal metabolito es el glucurónido colestano- $3\alpha,7\alpha,12\alpha,23,25$ -pentol. El procedimiento requiere una preparación de la muestra de orina muy sencilla, tiene un tiempo de análisis muy rápido y simplificaría mucho el diagnóstico de XCT y de SSLO¹³⁷.

Los niveles de colestanol pueden ser normales en los portadores heterocigotos, pues persiste suficiente actividad 27-hidroxilasa⁸. Estos niveles no se relacionan con la mutación causante: los niveles pueden ser diferentes a pesar de presentar una misma mutación, por lo que se piensa que otros factores deben estar implicados⁸. También pueden estar estos niveles algo elevados (alrededor de 6, 5 $\mu\text{g/ml}$) en los padres portadores¹¹.

Siman-Tov y colaboradores¹³⁸ presentaron en el 2006 un caso de XCT en el que la administración de esteroides pudo enmascarar el diagnóstico al reducir los niveles de colestanol. Los autores plantearon como posibles causas un aumento de la actividad CYP27A1 y CYP3A4 producido por los corticoides (al afectarse procesos transcripcionales y postranscripcionales)¹³⁸. Además, en la XCT existe una disminución del AQDC en la orina y en el plasma¹⁰⁶. El ratio AQDC/ácido cólico es de 1/10. Los alcoholes biliares y sus glucurónido conjugados están aumentados en la orina y en el plasma (5β-colestan-3α,7α,12α,25-ol, 5β-colestan-3α,7α,12α,23R,25-ol, 5β-colestan-3α,7α,12α,24R,25-ol)¹⁰⁶.

Algunos autores recomiendan el análisis de orina en pacientes con colestasis en busca de patrones anómalos de ácidos biliares o de alcoholes biliares. La asociación de una colestasis severa, con una descenso de ácidos biliares en la orina y son una GGT sérica normal, deben hacer pensar en un error innato del metabolismo de los ácidos biliares⁵⁸.

- **Perfil lipídico**

En los pacientes con XCT, el LDL-colesterol, el HDL-colesterol y el colesterol total están disminuidos¹³⁹. La tasa de producción (TP) y la tasa catabólica fraccional (TCF) de VLDL apoB están muy aumentadas y la TP y la TCF de LDL apoB están moderadamente aumentadas. La biosíntesis de colesterol está disminuida, al estar la reserva hepática de AQDC disminuida. La elevada secreción de apoB es una respuesta al aumento de la TP de colesterol. En algunos casos, el metabolismo de los triglicéridos también está alterado¹³⁹.

Además, existe una reducción de la HDL (a un tercio de lo normal), de tamaño y morfología normales. Las funciones del HDL incluyen la modulación de la captación de LDL-colesterol y la eliminación del exceso de colesterol de los tejidos periféricos. Esta reducción del HDL puede contribuir a la aterogénesis existente en estos pacientes y al excesivo depósito de esteroides en los tejidos. Los ésteres de colesterol también están reducidos, mientras que el colesterol libre y los fosfolípidos son normales. Los triglicéridos están aumentados. El ratio apolipoproteínas/colesterol está muy aumentado y el ratio ApoAI/ApoII levemente aumentado, mientras que la proporción de ApoC permanece disminuida¹⁴⁰.

En pacientes con XCT, las concentraciones de colesterol suelen estar dentro del rango de la normalidad, o por debajo del mismo⁴. Para la determinación de colesterol en plasma suele emplearse el test enzimático colorimétrico. Este test puede detectar otros esteroides que no son colesterol de una manera lineal, sin que exista una interferencia competitiva con el colesterol. Esta reactividad cruzada puede interferir en el diagnóstico y en el tratamiento de algunas

dislipemias que no afectan al colesterol, como la fitosterolemia o la XCT. Por otro lado mediante este test no se pueden detectar cambios en la composición de los lípidos plasmáticos tras administrar una alimentación rica en fitosteroles. Moghadasian y colaboradores¹⁴¹ propusieron el empleo de métodos alternativos para diferenciar entre colesterol y esteroides que no sean colesterol, como la cromatografía de gas, a la espera de desarrollar una reacción enzimática más específica.

En sujetos sanos, la relación entre colestanol y colesterol es de aproximadamente 0,02. En los pacientes con XCT, esta relación puede estar aumentada hasta 30 veces¹⁴².

- **Excreción urinaria de ácido mevalónico como indicador de síntesis de colesterol**

La conversión de 3 β -hidroxi-3 β -metilglutaril coenzima A (HMG-CoA) en ácido mevalónico, regulada por la HMG-CoA reductasa es el paso limitante de la síntesis de colesterol. Lindenthal y colaboradores¹⁴³ investigaron en 1996 sobre la excreción urinaria de ácido mevalónico como indicador de la síntesis de colesterol. No existen diferencias en la tasa de excreción de ácido mevalónico entre voluntarios normolipémicos y pacientes con hipercolesterolemia. Por el contrario, sí existe un aumento (entre 1,6 y 1,9 veces mayor) de excreción urinaria diaria de ácido mevalónico en los pacientes con XCT. Esta diferencia probablemente se deba a la reducción del *feedback* inhibitorio de la 7 α -hidroxilasa y por lo tanto a la consiguiente inhibición de la HMG-CoA reductasa en el hígado. Los alcoholes biliares formados en este paciente no inhiben las enzimas clave de la síntesis de ácidos biliares y de colesterol¹⁴³.

La correlación entre la excreción urinaria de ácido mevalónico y la síntesis de colesterol es bastante constante, independientemente del sexo y de la presencia o no de hipercolesterolemia. A la hora de la interpretación de los resultados, conviene tener en cuenta que existe un leve aumento de la excreción de ácido mevalónico por la noche con respecto al día. La pravastatina disminuye la excreción de 24 horas de ácido mevalónico, mientras que la colestiramina la aumenta. El ratio ácido mevalónico/creatinina realizado sobre muestras de orina de la mañana también proporciona datos valorables sobre la síntesis de colesterol (en lugar de en la orina de 24h). Tanto la simvastatina como la lovastatina disminuyen el ratio ácido mevalónico/creatinina. No se objetivaron grandes cambios en el ratio entre las diferentes dosis de estatinas empleadas (10, 20 y 40mg respectivamente). La cuantificación de ácido mevalónico en orina es más sencilla que en suero. La determinación de ácido mevalónico es una medida independiente de la ingesta de colesterol¹⁴³.

- **Líquido cefalo-raquídeo**

El LCR suele tener una glucosa y unas células normales, pero en algunos pacientes se objetiva un leve aumento de las proteínas. También en ocasiones se puede detectar colesterol y colestanol en el LCR. La presión de apertura suele ser normal¹³⁰.

Wakamatsu y colaboradores⁸⁰ encontraron en 1999 un aumento de los niveles de colestanol en suero y un descenso del ácido vanilmandélico en LCR en 3 pacientes con XCT, valores que mejoraron con la administración de AQDC.

En 1987, Salen y cols¹⁴⁴ describieron un aumento de apolipoproteína B en LCR de los pacientes con XCT. Este hallazgo indica una disrupción de la barrera hemato-encefálica (BHE). Además, la presencia de colestanol en el sistema nervioso (tejido cerebral y LCR) también sugiere una alteración de la BHE, puesto que ni el colestanol ni la apolipoproteína son sintetizados en el sistema nervioso.

- **Metabolismo óseo**

En 8 pacientes con XCT, los niveles de calcio, fósforo y fosfatasa alcalina en el plasma fueron normales. La excreción urinaria de calcio y fósforo estaba aumentada en 2 de los pacientes. La hidroxiprolina urinaria y los metabolitos de la vitamina D (1,25-(OH)₂-D y 25-OH-D) estaban en el rango de la normalidad. La absorción intestinal de radiocalcio y la densidad total ósea por el contrario estaban reducidas. Tras el tratamiento con AQDC los autores objetivaron una leve mejoría de la densidad mineral ósea. Plantearon como posible hipótesis la alteración en la composición y cantidad de ácidos biliares como causa de una alteración en el transporte intestinal de calcio (una malabsorción de calcio). Para compensar la homeostasis, se produciría una resorción ósea y como tal una osteoporosis¹⁴⁵.

3.7.2. Pruebas de imagen

- **Tomografía computerizada**

En la TC de 9 pacientes con XCT, Berginer y colaboradores¹⁴⁶ encontraron una hipodensidad difusa de la sustancia blanca tanto supra como infratentorial, que relacionaron con una infiltración y una desmielinización secundaria. En uno de los pacientes objetivaron además una hipodensidad focal a nivel del cerebelo. Dedujeron que en la XCT existe una afectación difusa, además de la afectación focal a nivel de los hemisferios cerebelosos. También suele visualizarse una atrofia cerebral y cerebelosa generalizada¹².

- **Resonancia magnética craneal y medular**

El hallazgo más característico en la RM craneal de los pacientes con XCT consiste en la presencia de gliosis en los núcleos dentados, rodeada de áreas de licuefacción¹⁴⁷.

Barkhof y colaboradores¹⁴ realizaron una RM en 24 pacientes con XCT y establecieron la correlación neuropatológica en dos de ellos. Objetivaron una afectación de la sustancia blanca periventricular, del *globus pallidus*, los pedúnculos cerebrales, los núcleos dentados, la sustancia negra y las olivas inferiores¹⁴. En la RM ponderada en T₂, suele visualizarse una hipointensidad por el acúmulo de esteroides (y no de ácidos grasos), aunque en ocasiones aparecen áreas de hiperintensidad por depósitos de hemosiderina, pequeñas hemorragias y calcificaciones¹⁴. Esta imagen se corresponde anatómo-patológicamente con un acúmulo de células mononucleares con citoplasma espumoso y células gigantes multinucleadas con aumento del colesterol y formación de granulomas¹⁴⁸. En la médula aparece un aumento de señal en T₂ a nivel de las columnas laterales y dorsales¹⁴.

Los primeros signos radiológicos que aparecen en esta enfermedad son los cambios de la sustancia blanca por degeneración axonal y que posteriormente se producen cambios de señal, bilaterales y simétricos en T₂ en el cerebelo, sustancia blanca periventricular, ganglios basales, núcleos dentados y troncoencéfalo. En algunos casos se objetivan también xantomas en los plexos coroideos. Relacionaron la hiposeñal que aparece en todas las secuencias con la necrosis y el depósito de calcio existente¹³.

Lorincz y colaboradores¹⁷ presentaron en el 2005 dos casos de XCT con algunos datos clínicos de atipicidad, como la presencia de cataratas congénitas y de deterioro cognitivo desde la infancia y una alteración de la sustancia blanca confluyente en la RM, sugestivo de leucodistrofia¹⁷.

Se ha propuesto la utilización de la RM craneal para valorar la respuesta terapéutica. Para ello, Cuende y colaboradores¹⁴⁹ presentaron un caso de XCT, con una RM ponderada en T₁ que mostraba una hiperseñal de la sustancia blanca a nivel parieto-occipital, cerebelo y en el borde anterior y posterior del tallo medular cervical y dorsal. Tras 42 meses de tratamiento con AQDC, no objetivaron alteraciones en el cerebelo, ni en el tronco, aunque persistía la afectación parieto-occipital. En la RM de los tendones no objetivaron cambios tras el tratamiento¹⁴⁹. Por el contrario, Berginer y colaboradores¹⁵⁰ no objetivaron en 1994 ninguna mejoría radiológica tras el tratamiento con AQDC en 13 pacientes con XCT¹⁵⁰. En resumen, parece controvertida la utilidad de la RM en el seguimiento de la respuesta terapéutica al AQDC en la XCT.

- **Espectroscopia**

De Stefano y colaboradores¹⁵¹ realizaron un estudio en el 2001 de los hallazgos en la RM craneal y en la espectroscopia de 12 pacientes con XCT. En la RM objetivaron una afectación de los núcleos dentados en la secuencia FLAIR, que los autores plantearon como un hallazgo muy característico¹⁵¹. Para la realización de la espectroscopia, los autores recogieron la señal en la zona central cerebelosa y por encima de los ventrículos laterales. En esta técnica, se mide la colina (Cho), que es un marcador de la integridad de la membrana celular, el N-acetilaspártato (NAA) que es un marcador de la integridad axonal, el lactato (La) que se acumula en situaciones patológicas y la creatina (Cr), que es resistente a los cambios y por lo tanto se utiliza como valor de referencia. En los pacientes con XCT encontraron un descenso del ratio NAA/Cr, que se relaciona con un daño axonal y que se correlaciona con la discapacidad medida a través de la escala EDSS. El ratio La/Cr por el contrario estaba aumentado, debido a una afectación del metabolismo mitocondrial o a una infiltración por los macrófagos. Este aumento era mayor en los pacientes que no seguían ningún tratamiento. Finalmente el ratio Cho/Cr era normal, probablemente porque el proceso de desmielinización es lentamente progresivo¹⁵¹.

- **Resonancia magnética con transferencia magnética**

Inglese y colaboradores¹⁵² compararon la RM convencional y la RM con transferencia magnética en 9 pacientes con XCT y en 10 controles. Para ello, crearon histogramas con la tasa de transferencia magnética en el cerebro total, en la sustancia blanca cerebral aparentemente normal (*normal-appearing white matter*, NAWM), en la sustancia gris cerebral aparentemente normal (*normal-appearing grey matter*, NAGM), en la sustancia blanca cerebelosa aparentemente normal y en la sustancia gris cerebelosa aparentemente normal. Midieron la discapacidad clínica a través de la escala EDSS (*Expanded Disability Status Scale*). En los pacientes con XCT la tasa media de transferencia magnética y los picos de los histogramas del cerebro total, de la NAWM cerebral y cerebelosa, y la NAGM cerebral y cerebelosa fue significativamente menor que en los controles. Además, encontraron correlación entre los histogramas de la tasa de transferencia magnética del cerebro y de la sustancia blanca cerebral aparentemente normal y la discapacidad medida mediante la EDSS ($r = 0,77$, $p < 0,1$). También encontraron correlación entre la puntuación del sistema funcional cerebeloso y los histogramas de la sustancia blanca cerebelosa aparentemente normal ($r = 0,72$, $p < 0,2$). Por ello, propusieron la utilización de la RM con transferencia magnética para monitorizar la evolución de la enfermedad. Sugirieron que en la XCT se afectan la sustancia blanca y la sustancia gris aparentemente normales. Este daño microestructural no se visualiza en la RM convencional, pero

sí parece correlacionarse con el pronóstico. Podría deberse a una degeneración walleriana de las fibras o a un acúmulo de colestanol. Las principales ventajas de la RM con transferencia magnética son la sensibilidad hacia la desmielinización y la pérdida axonal y neuronal. Además permite obtener una imagen del daño global del tejido cerebral sin sesgos y una valiosa información sobre tejidos específicos y regiones anatómicas concretas¹⁵².

- **Resonancia magnética de los tendones**

En la RM, los ésteres de colesterol y el colesterol libre no producen una señal medible. Por el contrario los triglicéridos producen una gran señal. Por ello, la RM de los xantomas tendinosos muestra regiones focales de gran intensidad en T₁ (por depósito con elevado porcentaje de triglicéridos)¹¹⁴. En las imágenes axiales en T₁ *spin eco* y en T₂ *eco gradiente*, los xantomas muestran un patrón reticulado difuso. Las áreas de baja señal representan fascículos de colágeno residual de los haces del tendón (aparecen como estructuras redondas en el plano axial y como trabeculaciones lineales en el plano sagital), colesterol libre y ésteres de colesterol. Alrededor de estas áreas, se encuentran otras zonas de mayor intensidad entre fibras de colágeno (que corresponden a triglicéridos). Finalmente se visualiza un edema interfascicular en respuesta al depósito de colesterol infiltrativo, que contribuye a la apariencia reticulada. Estas áreas son de alta señal en STIR, T₂ *eco gradiente* y T₂ *spin eco* y captan contraste. La inserción del tendón, la grasa peritendinosa y la estructura ósea son normales; no se visualizan desgarros y los márgenes están bien definidos. El resto de los tendones suelen estar normales¹¹⁴.

En resumen, la RM de los tendones suele mostrar un agrandamiento difuso de los tendones, con áreas de hiperseñal (que corresponde a los lípidos), áreas de isoseñal (por áreas de reacción inflamatoria) y áreas de hiposeñal (correspondiente al tendón)^{12,153}.

- **Ecografía**

Algunos autores han sugerido la existencia en los tendones de áreas ecogénicas con sombra acústica en ausencia de calcificaciones demostrables en la TC como patognomónica de infiltración del tendón por cristales lipídicos¹⁵⁴.

También se ha descrito la presencia de una hiperecogenicidad en el núcleo dentado, por detrás del mesencéfalo en la ecografía transcraneal¹⁵⁵ y un aumento del grosor íntima-media en el doppler de troncos supra-aórticos⁸⁷ en los pacientes con XCT.

3.7.3. Neurofisiología

- **Electroencefalografía**

Existen pocos datos sobre los hallazgos del electroencefalograma (EEG) en la XCT, y éstos parecen tener poco valor al ser inespecíficos y relacionarse más bien con la clínica. Por ejemplo, Meiner y colaboradores⁸⁸ presentaron en 1994 dos hermanos marroquíes con XCT que presentaban una actividad desorganizada en el EEG, con ondas theta y delta⁸⁸. Van Heijst y colaboradores¹¹⁰ en 1998 también encontraron estos hallazgos junto con algunas ondas agudas.

- **Potenciales evocados**

No se ha identificado ningún patrón específico en los potenciales evocados, sino que éstos se correlacionan con la clínica, estando alterados los potenciales evocados somato-sensoriales (PESS) en los pacientes con afectación medular, los potenciales evocados visuales (PEV) en los pacientes con neuropatía óptica y los potenciales evocados auditivos (PEAT) en los pacientes con afectación del troncoencéfalo.

Tanto los PEV, como PEAT y los PESS en el nervio tibial realizados por Tokimura y colaboradores¹⁵⁶ a 7 pacientes con XCT estaban afectados. Los PESS en el nervio mediano eran normales. En los pacientes más graves, las velocidades de conducción motora y sensitiva también estaban afectadas. Los autores establecieron una correlación entre el ratio colestanol/colesterol y los resultados de los PEAT, PESS en el nervio tibial y de las velocidades de conducción motoras¹⁵⁶. Plantearon ante estos hallazgos una hipótesis según la cual la polineuropatía en la XCT podría deberse a una axonopatía distal que afecta a los axones largos antes que a los axones más cortos (una axonopatía distal central-periférica)¹⁵⁶.

En 1992 se estudiaron los PESS y las conducciones motoras centrales en 2 pacientes con XCT. Los PESS en los miembros superiores (MMSS) fueron normales, mientras que en los miembros inferiores (MMII) mostraban un retraso de la respuesta cortical. La conducción motora central (CMC) presentaba un leve retraso en los MMSS, mientras que en los MMII estaba ausente. El retraso se producía tras la estimulación cortical, mientras que con la estimulación espinal no aparecía. Tras la administración del tratamiento con AQDC los pacientes se mantuvieron estables desde el punto de vista clínico, pero tanto la latencia de los PESS en MMII como los potenciales evocados motores tras la estimulación cortical mejoraron. Los autores proponían el empleo de los PESS y de la CMC en la monitorización de la evolución de la enfermedad, incluso en pacientes asintomáticos¹⁵⁷.

En un estudio de conducción motora central y sensitiva realizado en tres pacientes con XCT, las velocidades de conducción periférica fueron normales. Por el contrario tanto la conducción

motora central como la sensitiva estaban afectadas (en probable relación con una desmielinización del tracto corticoespinal y de las columnas posteriores). Esta afectación era mayor en los MMII que en los MMSS (probablemente por degeneración axonal distal)¹⁵⁸.

- **Electroneurograma**

Como se ha mencionado anteriormente, los resultados de los electroneurogramas son variables en cada paciente, habiéndose descrito un patrón tanto axonal en algunos casos, como desmielinizante en otros. Por lo tanto, no existe ningún hallazgo característico de esta enfermedad en el electroneurograma.

Kuritzky y colaboradores¹⁵⁹ publicaron en 1979 los resultados de los estudios neurofisiológicos realizados a cuatro pacientes con XCT. Objetivaron una reducción de las velocidades de conducción, tanto sensitiva como motora. La afectación era mayor cuanto mayor era la afectación del SNC. Además, la afectación del sistema nervioso periférico era relativamente tardía, por lo que no permitía el diagnóstico precoz¹⁵⁹.

En un estudio posterior realizado en tres pacientes con XCT sin datos clínicos de neuropatía, la electroneurografía mostraba una reducción de las velocidades de conducción sensitivas y motoras, pero sin bloqueos. La electromiografía no mostraba actividad espontánea, pero sí una disminución de las fibras con el esfuerzo máximo, todo ello sugestivo de una neuropatía desmielinizante primaria¹²².

3.7.4. Estudio genético

Desde que en 1991 se demostrara la localización del gen *CYP27A1* en el cromosoma 2⁶ y unos años más tarde se elucidara su estructura⁹, el estudio genético en la XCT ha ido cobrando un protagonismo cada vez mayor para su diagnóstico frente a la determinación de los niveles de colestanol en suero.

Desde el punto de vista del paciente en ambos casos requiere un adecuado enfoque diagnóstico y una extracción sanguínea. En el caso del estudio genético, se analiza directamente la causa primaria de esta enfermedad. Para ello, se suele secuenciar el gen por exones o por grupos de exones (2, 3, 4-5, 6-7, 8 y 9). Es decir que con unas 6 PCR se puede llegar al diagnóstico. Por lo tanto el estudio genético no es muy complicado y determina directamente la causa primaria de la enfermedad.

En el caso de la determinación de los niveles de colestanol, como se verá más adelante en el apartado de diagnóstico diferencial, éstos pueden estar elevados en algunas otras enfermedades, como en la fitosterolemia, el hipotiroidismo, la hiperlipoproteinemia familiar tipo IIa y en

algunas enfermedades hepáticas. Además, se ha descrito la existencia de niveles moderadamente elevados de colestanol en pacientes portadores heterocigotos de mutaciones de la XCT⁷⁷. Por lo tanto, prueba no siempre permite el diagnóstico definitivo.

Ante estos resultados, algunos autores han propuesto la utilización del estudio genético para el diagnóstico precoz de la XCT, especialmente en poblaciones en las que la frecuencia es muy elevada, como sucede en los judíos sefardíes de origen marroquí⁶. Además, en países como Taiwán, o Brasil, en los que no se realizan determinaciones de colestanol, el estudio genético también está siendo utilizado como *gold standard* para este diagnóstico^{73,118}.

3.7.5. Medicina nuclear

Con respecto al SPECT, no se ha descrito ningún patrón de hipoperfusión específico de la XCT. Por ejemplo, Guyant-Marechal y colaboradores⁹¹ presentaron en el 2005 un caso de XCT que se presentó como una demencia fronto-temporal en un paciente de 53 años, con xantomas, pero sin cataratas y sin afectación de los núcleos dentados en la RM craneal en el que objetivaron una intensa hipoperfusión cerebelosa⁹¹. Por el contrario, en el SPECT realizado a un paciente con XCT que presentaba retraso mental, ataxia cerebelosa y epilepsia, otros autores hallaron una hipoperfusión temporal⁹⁷.

En relación con el PET, tampoco se ha descrito ningún hallazgo característico de la XCT. En un caso de XCT que cursó con hemiparkinsonismo derecho publicado en 1996, la RM mostraba una alteración en los núcleos dentados. Se realizó un PET con 6-fluorodopa, en el que se objetivó una menor captación en los ganglios basales, especialmente en la región posterodorsal del putamen izquierdo. Así mismo, se completó el estudio con un PET con N-metil-S-piperona, que mostraba una captación normal. Todo ello sugería una afectación de las neuronas dopaminérgicas presinápticas. La clínica no mejoró con la administración de L-dopa. Por el contrario según los autores sí respondió al tratamiento con AQDC, pravastatina y LDL-aféresis, así como con la difenilpiralina, lo que sugiere que el parkinsonismo en ese caso se debiera a la XCT. Los autores sugerían por lo tanto el uso de PET para completar el estudio de pacientes con XCT y parkinsonismo¹⁶⁰.

3.8. ANATOMÍA PATOLÓGICA

3.8.1. Anatomía patológica de las biopsias

- **Anatomía patológica de los tendones**

Los tendones de los pacientes con hipercolesterolemia contienen áreas normales (con infiltración difusa de células espumosas, alteración estructural de las fibras de colágeno e

inflamación crónica focal) y áreas con xantomas (múltiples nódulos de células espumosas, linfocitos, neutrófilos y células gigantes multinucleadas)⁵¹. Los xantomas se localizan en tendón Aquileo, tuberosidad tibial, tendones de los extensores de los dedos y tríceps. Están formados por linfocitos, histiocitos y neutrófilos en la fase precoz, células espumosas en la fase intermedia y colágeno y cristales de colesterol en la fase avanzada¹⁶¹.

La biopsia del tendón muestra una infiltración amarillenta grasa del tendón desde el punto de vista macroscópico. En la microscopía óptica se visualiza una infiltración por macrófagos espumosos con placas lipídicas, células gigantes de tipo Touton, células gigantes tipo cuerpo extraño, linfocitos, cristales de lípidos y áreas de fibrosis^{102,149,153}.

- **Anatomía patológica de los nervios**

Son pocas las publicaciones que describen los hallazgos de las biopsias de nervio en pacientes con XCT. Argov y colaboradores¹²² presentaron en 1986 tres casos de XCT en los que se objetivó la existencia de una neuroptía desmielinizante primaria en las pruebas complementarias, aunque clínicamente no presentaban datos de neuropatía. La biopsia de nervio sural mostró una pérdida de fibras de mielina, especialmente de las largas, una marcada proliferación de las células de Schwann, la formación de bulbos de cebolla y la existencia de segmentos de desmielinización y de remielinización¹²². Cuende y colaboradores¹⁴⁹ también visualizaron en 1996 una desmielinización segmentaria en la biopsia de nervio sural.

- **Anatomía patológica de los músculos**

También son escasas las publicaciones que mencionen el estudio anatómico-patológico de músculo en la XCT. Federico y colaboradores¹⁶² en 1991 presentaron los resultados de la biopsia muscular de ocho pacientes con XCT. En la microscopía óptica los principales hallazgos eran un aumento en la variabilidad del tamaño de las fibras, la presencia de fibras atroficas y el engrosamiento fucsínofílico periférico en bastantes fibras. La microscopía electrónica ponía en evidencia grandes agregados mitocondriales en la región subsarcolémica y también en las miofibrillas y alteraciones morfológicas de las mitocondrias (irregulares y de mayor tamaño). En dos pacientes se visualizaron inclusiones paracristalinas típicas. También se encontraron gotas de lípidos neutros y de lipofucsina y pérdida focal de miofibrillas con interrupción Z del disco¹⁶².

En 1995 se publicó un caso de XCT con evidencia de disfunción mitocondrial. La microscopía óptica mostraba un engrosamiento fucsínofílico en varias fibras y un aumento del contenido de lípidos neutros. En la microscopía electrónica se objetivaban agregados de mitocondrias y un aumento de lípidos neutros en la región subsarcolémica. En las mitocondrias

musculares, la actividad enzimática de la cadena respiratoria estaba reducida, excepto la citrato sintetasa. Tras la administración de AQDC, la elevación de ácido láctico y pirúvico mejoraron en el suero y en el LCR. Los autores proponían que los cambios mitocondriales podían ser secundarios al efecto tóxico del colestanol y/o de los alcoholes biliares por un mecanismo directo sobre la actividad enzimática de la cadena respiratoria y por una afectación estructural de la membrana mitocondrial. Finalmente recomendaban tener precaución en el uso de inhibidores de la HMG-CoA reductasa, al tener estos un efecto tóxico sobre el metabolismo mitocondrial (por depleción de la coenzima Q10)¹⁶³.

- **Anatomía patológica del hígado**

Von Bahr y colaboradores⁵⁸ presentaron en el 2005 un caso de XCT con colestasis en la infancia, que falleció a los cuatro meses. El paciente tenía además una infección por CMV que también puede ser causa de una enfermedad hepática severa. En el estudio anatómico-patológico de hígado, la presencia de células gigantes es un fenómeno típico en la colestasis infantil intrahepática, aunque el número elevado de núcleos por hepatocitos sugiere un error innato del metabolismo. La ausencia de agregados linfocitarios y la presencia de proliferación de los conductos biliares hablan en contra de la infección por CMV como causa de la enfermedad hepática. Finalmente la rápida progresión del cuadro a pesar de la adecuada erradicación del CMV también sugiere un defecto metabólico primario⁵⁸.

3.8.2. Estudio necrópsico

Tan sólo hemos encontrado cinco artículos en la literatura que desarrollen la anatomía patológica postmortem de la XCT. Soffer y colaboradores¹⁶⁴ publicaron en 1995 la primera necropsia en este tipo de paciente. Se trataba de una paciente con un cuadro de piramidalismo, afectación cerebelosa, disfagia, nistagmo y ataxia que falleció a los 37 años de edad. La paciente había sido intervenida de cataratas a los 30 años de edad y presentaba xantomas aquíleos. En el examen macroscópico se objetivaba una atrofia cerebral difusa, de predominio cerebeloso, con un peso cerebral de 900g. A nivel de los plexos coroideos de los ventrículos laterales y en los hemisferios cerebelosos se objetivaban unos depósitos amarillentos. Desde el punto de vista microscópico, se evidenciaban macrófagos espumosos, cristales lipídicos y áreas de gliosis perivasculares a nivel de tálamo, hipotálamo, cuerpos mamilares, cuerpos estriados, núcleos caudados y claustro. A nivel del nervio óptico, se halló además una pérdida de fibras nerviosas. En el cerebelo y en los tractos corticoespinales, la sustancia blanca estaba remplazada por tejido atrófico, cristales lipídicos, tejido fibroso denso y células gigantes multinucleadas¹⁶⁴.

Estas mismas observaciones anatómo-patológicas fueron descritas en el caso de muerte súbita publicado en el 2000 por Sperhake y colaboradores⁸⁵. En este caso se encontró además un cerebro edematoso, con herniación temporal y amigdalina en probable relación con la hipertermia maligna que el paciente sufrió y que se interpretó como causa de su fallecimiento. Esta hipertermia a su vez se relacionó con una posible tirotoxicosis por hipertiroidismo o con un edema perilesional en los centros termorreguladores del hipotálamo⁸⁵.

En el examen macroscópico realizado en otro caso en Alemania, los autores objetivaron a nivel extracraneal un engrosamiento de la aorta ascendente y de la grasa pericárdica y la presencia de nódulos amarillentos en los pulmones. A nivel microscópico cerebral, además de los hallazgos ya descritos, mediante microscopía electrónica visualizaron la existencia de *gaps* y vacuolas de colesterol a nivel intra y extracelular y la pérdida de fibras mielínicas. En las fibras conservadas, no se vieron signos de daño axonal, ni de desmielinización¹⁶⁵.

Barkhof y colaboradores¹⁴, realizaron en el 2000 un estudio radiológico en 24 pacientes con XCT, y compararon los hallazgos radiológicos con el resultado de la autopsia practicada en dos de los pacientes. Desde el punto de vista patológico, también objetivaron áreas de rarefacción con pérdida neuronal, desmielinización, fibrosis, astrocitosis reactiva y abundantes macrófagos con citoplasma espumoso, especialmente alrededor de los vasos. Estas áreas parecían corresponder con una afectación de la sustancia blanca periventricular, *globus pallidus*, pedúnculos cerebrales, núcleos dentados, sustancia negra y olivas inferiores que se visualizaba de manera simétrica en la RM craneal.

Desde un punto de vista patogénico, Soffer y colaboradores¹⁶⁴ observaron que las lesiones se caracterizaban por una pérdida de fibras mielínicas, con un acúmulo de productos lipídicos (en forma de macrófagos espumosos y cristales lipídicos) y con gliosis. Al no hallar microscópicamente desmielinización y al encontrar una ultraestructura normal de la mielina, con una degeneración axonal (con esferoides axonales en tronco y tractos espinales), propusieron la axonopatía distal central-periférica como principal mecanismo patogénico del daño del SNC. Este daño axonal a su vez se produciría por el acúmulo de metabolitos neurotóxicos en el cerebro¹⁶⁴. Por el contrario Isenhardt y colaboradores¹⁶⁵ en el 2005 demostraron una pérdida axonal (visualizada a través de la tinción inmunohistoquímica de neurofilamentos) y un daño de la mielina (objetivada mediante la tinción con *luxol fast blue*) y por ello propusieron que el mecanismo patogénico de la XCT se basa en una afectación tanto axonal, como de las fibras de mielina. Para ello, argumentaban además que en la XCT se produce una afectación metabólica de los esteroides y que éstos están presentes tanto a nivel de la mielina, como a nivel de la célula nerviosa, y que por lo tanto es lógico que ambas estén afectadas¹⁶⁵.

Finalmente en el 2003, Kato y colaboradores⁷¹ describieron una necropsia en un paciente con XCT y con un adenocarcinoma de vesícula bien diferenciado y plantearon una posible relación entre carcinogénesis y ausencia de *feedback* del colesterol (por un lado los adenomas absorben más colesterol de los ácidos biliares que el epitelio normal y por otro lado, el colesterol podría estimular su transformación). Concluyeron no obstante que no se ha descrito una mayor incidencia de neoplasias entre los pacientes con XCT⁷¹.

En la tabla 2 se resumen los hallazgos anatómo-patológicos descritos en estos cinco artículos. Como características generales, se puede decir que se trata de una enfermedad con afectación difusa de la sustancia blanca, aunque con una afectación preferente de algunas zonas, que incluyen el tronco, la médula espinal, el *globus pallidus* y la vía óptica, por acumulo a dicho nivel de lípidos, gliosis y esferoides axonales. Así mismo, se caracteriza por la formación de xantomas en ambos hemisferios cerebelosos^{164,165}.

Mutación	Sexo Edad inicio Edad exitus	Síntomas neurológicos	Anatomía patológica			Referencia
			Descripción macroscópica	Hallazgos microscópicos	Localización	
	F/13/37	Retraso psicomotor, alteraciones neuropsiquiátricas, síntomas cerebelosos	PC 900 g. Atrofia cerebelosa prominente Tejido amarillento en plexos coroideos y cerebelo	Macrófagos cargados de lípidos, astrogliosis, células espumosas, cristales lipídicos Tejido fibroso, células gigantes multinucleadas	Tálamo, hipotálamo, cuerpos mamilares, cuerpo estriado, núcleo caudado, <i>claustrum</i> , nervios ópticos, tronco, cerebelo, médula espinal Cerebelo	Soffer y cols. ¹⁶⁴
	F/39/54	Síntomas piramidales y cerebelosos, deterioro cognitivo	PC 1255 g. Lesiones simétricas prominentes en núcleo dentado y sustancia blanca cerebelosa, mesencéfalo, <i>globus pallidus</i> y cápsula interna	Pérdida neuronal y astrocitosis reactiva Desmielinización, macrófagos espumosos, cristales lipídicos, fibrosis Material <i>mielina-like</i> perivascular Depósito de hemosiderina y calcificaciones	Núcleo dentado, corteza cerebelosa, <i>globus pallidus</i> , olivas inferiores, sustancia negra Sustancia blanca de ambos hemisferios cerebelosos, pedúnculos cerebrales, núcleos dentados, hemisferios cerebelosos, tractos ópticos, cápsula interna, protuberancia Núcleo dentado, corteza cerebelosa Núcleo dentado, corteza cerebelosa	Barkhof y cols. ¹⁴
	F/30/45	Paraparesia espástica progresiva	PC 1220 g.			Barkhof y cols. ¹⁴
p.R270X c.1184+1G →A	M/42/52	Disartria y ataxia	Plexo coroideo engrosado con múltiples depósitos amarillentos	Desmielinización y macrófagos espumosos en espacios <i>cleft-like</i> y quísticos	Sustancia blanca cerebelosa, tractos piramidales y tálamo	Sperhake y cols. ⁸⁵
p.G122G	M/45/57	Deterioro cognitivo y de la marcha	PC 1230 g. Tejido blando amarillento en la sustancia blanca cerebral. Cerebelo amarillento con hemorragias antiguas	Desmielinización y macrófagos espumosos en espacios <i>cleft-like</i> y quísticos Citoarquitectura conservada, sin pérdida neuronal Cristales lipídicos, fibrosis	Sustancia blanca del cerebro, especialmente en tálamo, hipotálamo, núcleo caudado y cerebelo. Corteza cerebral Corteza cerebral, arterias cerebrales	Kato y cols. ⁷¹
	M/32/42	Deterioro cognitivo, síntomas cerebelosos, tetraespasticidad y atrofia papilar	PC 1460 g. Color amarillento en <i>globus pallidus</i> , cruz cerebro y sustancia blanca cerebelosa	Células espumosas, desmielinización Cristales Pérdida neuronal y gliosis reactiva	Sustancia blanca subcortical, astas de Ammon, <i>gyrus parahipocampalis</i> , núcleo caudado, putamen, cápsula interna, cerebelo, cruz cerebro, <i>medulla oblongata</i> y médula espinal Sustancia blanca cerebelosa Cerebelo, tronco, médula espinal	Isenhardt y cols. ¹⁶⁵

PC: peso cerebral

3.9. DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL

- **En relación con la clínica**

Desde el punto de vista clínico, las principales dificultades vienen dadas por la importante heterogeneidad clínica de la enfermedad, y por el frecuente desconocimiento de la misma, dada su baja frecuencia. Dado que la forma de presentación más frecuente es la ataxia y el piramidalismo, los principales diagnósticos diferenciales que se pueden plantear son la ataxia de Friedreich, la ataxia por déficit de vitamina E, el síndrome de Marinesco-Sjögren y la paraparesia espástica familiar. También deben descartarse las causas tóxicas e infecciosas.

La ataxia de Friedreich es la ataxia hereditaria de aparición más precoz, generalmente en la primera o segunda década de la vida, aunque se han descrito casos de aparición más tardía (generalmente suele aparecer más precozmente que la XCT). Se produce por una expansión del triplete GAA en el intrón 1 del gen X25 (el rango normal de repeticiones suele ser de 8-23, produciéndose la enfermedad entre 150 y 1700 repeticiones). Suele asociar arreflexia e hipopalestesia en miembros inferiores. También puede cursar con pie cavo, escoliosis y miocardiopatía hipertrófica. El tratamiento es puramente sintomático.

La ataxia por déficit de vitamina E puede deberse a un síndrome de malabsorción o a una mutación en el gen que codifica para la proteína de transferencia del α -tocoferol localizado en 8q13. Clínicamente puede ser indistinguible de la ataxia de Friedreich. El tratamiento con vitamina E puede prevenir la progresión de la enfermedad.

El síndrome de Marinesco-Sjögren es una enfermedad autosómica recesiva caracterizada por la tríada: ataxia cerebelosa, cataratas congénitas y retraso mental¹²¹. Dado que tan sólo un tercio de los pacientes con XCT presentan xantomas tendinosos, Siebner y colaboradores¹²¹ plantearon en 1996 la conveniencia de incluir la XCT en el diagnóstico diferencial del síndrome de Marinesco-Sjögren.

Con respecto a la paraparesia espástica familiar, se trata de un grupo heterogéneo de enfermedades que se caracterizan por la aparición de una marcha espástica lentamente progresiva, cuya gravedad es muy variable. Algunos pacientes asocian síntomas miccionales o disminución de la sensibilidad vibratoria en los miembros inferiores. La edad de presentación puede ser precoz, o tardía por encima de los 35 años. Aunque la mayoría de los casos tienen una herencia dominante, existen algunas formas de herencia recesiva (formas con las que se plantearía el diagnóstico diferencial de la XCT).

Además, algunos casos asocian otros síntomas como retraso mental, amiotrofia, degeneración pigmentaria de la retina, atrofia óptica, síntomas extrapiramidales, ataxia cerebelosa, neuropatía periférica o lesiones cutáneas. El diagnóstico suele ser clínico. Se han identificado algunas variedades, aunque el diagnóstico molecular aún está por elucidar. El tratamiento es puramente sintomático.

- **En relación con los xantomas**

Enfermedades caracterizadas por un contenido o una estructura de lipoproteínas alterada	Acúmulo de esteroles anómalos en lipoproteínas de baja densidad: -XCT -Sitosterolemia
	Déficit de lipoproteínas de alta densidad -Xantomas difusos planos -Xantomas de mucosa bucal y planos
	Disbetalipoproteinemia normocolesterolémica: -Tuberosis -Xantelasmas
	Hiperbetalipoproteinemia: -Xantomas tendinosos -Xantelasmas
Enfermedades asociadas a anticuerpos frente a los componentes de las lipoproteínas	-Mieloma múltiple -Otras paraproteinemias
Enfermedades sin alteraciones demostrables de las lipoproteínas	Enfermedades linfoproliferativas: -Mieloma múltiple -Crioglobulinemia -Macroglobulinemia de Waldenström -Leucemia -Linfoma
	Xantomatosis precedida de alteraciones tisulares locales: -Xantomas eruptivos normolipémicos -Xantelasmas y xantomas planares (tras eritrodermia) -Xantomas verruciformes (en áreas de epidermolisis bullosa distrófica)
	Otros: -Xantomas tuberosos y tendinosos hereditarios -Xantomas tuberosos y tendinosos normolipémicos -Xantomatosis subcutánea normolipémica

Tabla 3.- Diagnóstico diferencial de xantomatosis normolipémicas (niveles normales de colesterol y triglicéridos en plasma) (según Bel y cols.¹⁶¹).

Los xantomas tendinosos son frecuentes en algunos tipos de hiperlipoproteinemias familiares, como el tipo IIa¹³⁰. En los pacientes normolipémicos, algunas posibles etiologías de xantomas son: aumento de la absorción de esteroides vegetales, paraproteinemias, alteraciones de la apolipoproteína E, aumento de la producción de apolipoproteína B y XCT¹⁶⁶. En estos casos, la presencia de niveles normales de colesterol y de sitosterol permiten diferenciar la XCT de otras enfermedades como la hipercolesterolemia familiar y la sitosterolemia. La ausencia de afectación neurológica

también es un factor determinante en su diferenciación⁴. En la tabla 3 figuran las principales entidades a tener en cuenta en el diagnóstico diferencial de xantomatosis normolipémicas¹⁶¹.

La asociación de xantomas tendinosos y arteriosclerosis está presente en: hipercolesterolemia familiar (hiperlipoproteinemia de tipo IIa), sitosterolemia con xantomatosis (fitosterolemia) y XCT⁴⁰. La fitosterolemia es una enfermedad de depósito de esteroides en la que se acumulan esteroides vegetales (campesterol y sitosterol) en el plasma, la membrana eritrocitaria y los xantomas. Los niveles de colesterol suelen estar normales o levemente aumentados. La absorción intestinal de esteroides vegetales suele estar aumentada y el aclaramiento de sitosterol y de colesterol del plasma disminuido, lo que lleva a un aumento de los esteroides vegetales. Clínicamente cursa en forma de xantomas, artritis o artralgiyas y arteriosclerosis prematura, sin afectación neurológica⁴⁰.

• **En relación con los niveles elevados de colestanol**

Enfermedad	Defecto molecular	Alteración metabólica	Pruebas complementarias	Manifestaciones clínicas	Diagnóstico diferencial	Tratamiento
XCT	Mutaciones en 27-hidroxiilasa	Disminución de la formación de ácidos biliares, producción excesiva y acúmulo de colestanol	Aumento de niveles de colestanol en plasma; colesterol en plasma normal o bajo	Diarrea crónica en infancia, cataratas, baja inteligencia, deterioro cognitivo, afectación cerebelosa xantomas tendinosos, arteriosclerosis.	Síntomas neurológicos progresivos, diarrea crónica, cataratas, xantomas tendinosos	AQDC
Hipercolesterolemia familiar	Alteración en la actividad del receptor de LDL	Disminución del aclaramiento de apolipoproteína B y acúmulo en los tejidos	Aumento de LDL en plasma	Cardiopatía isquémica; xantomas tendinosos	No síntomas neurológicos, ni diarrea	Varias estrategias para disminuir el colesterol
Sitosterolemia	Mutaciones en ABCG5 y ABCG8	Mayor absorción y menor excreción de esteroides vegetales	Aumento importante de niveles de fitosterol; colesterol en plasma normal o levemente aumentado	Xantomas tendinosos y tuberosos; arteriosclerosis acelerada; púrpura trombocitopénica	No síntomas neurológicos, ni diarrea	Dieta pobre en esteroides vegetales y/o by-pass ileal

Tabla 4.- Diagnóstico diferencial entre XCT, hipercolesterolemia familiar y sitosterolemia (Moghadasian y cols.¹⁶⁷).

Los niveles de colestanol también pueden estar elevados en enfermedades hepáticas (como la cirrosis biliar primaria o la colestasis), en la fitosterolemia, en el hipotiroidismo y en la hiperlipoproteinemia familiar tipo IIa⁴⁰. Para su diferenciación puede ser útil la cromatografía por gas capilar de alcoholes biliares urinarios, como el

5 β -colestano-3 α ,7 α ,12 α ,23,25-pentol¹⁶¹. Por otro lado, tan sólo en la XCT asocia un aumento del ratio colestanol/colesterol¹⁴⁹.

La tabla 4 sintetiza las principales diferencias entre XCT, hipercolesterolemia familiar y sitosterolemia¹⁶⁷. En los pacientes con XCT, las concentraciones de colestanol, latosterol, campesterol y sitosterol están aumentadas en la bilis y en el suero. Por el contrario en la fitosterolemia, están elevadas las concentraciones de colestanol, campesterol y sitosterol (pero no de latosterol) en el suero, la membrana de los eritrocitos, la bilis y los xantomas, siendo la elevación de esteroides vegetales más marcada que en la XCT⁴⁰.

Se ha descrito la existencia de niveles moderadamente elevados de colestanol en pacientes portadores heterocigotos de mutaciones de la XCT. Por ello, varios autores han recomendado el estudio genético como base del diagnóstico (en lugar de los niveles de colestanol)^{8,77}.

- **En relación con los hallazgos de la RM**

La afectación de la sustancia blanca periventricular, el *globus pallidus*, los pedúnculos cerebrales, los núcleos dentados, la sustancia negra y las olivas inferiores que se suele observar en la XCT, también puede aparecer en la enfermedad de Erdheim-Chester, en la adrenomielinoneuropatía, en la histiocitosis de células de Langerhans y en la enfermedad de Refsum¹⁴.

Por otro lado, ante el engrosamiento de un tendón en la RM, deben plantearse en el diagnóstico diferencial las siguientes entidades: tendinopatía traumática o degenerativa (el patrón suele ser no uniforme, heterogéneo, con regiones geográficas de señal intermedia en T₁), el desgarramiento parcial de un tendón (suele presentar regiones geográficas de alta señal, lineales, discontinuidad focal y edema en el triángulo graso de Kager), infección y neoplasia (éstas suelen infiltrar la grasa peritendinosa, y presentar áreas más amplias de señal en STIR y en T₂)¹¹⁴.

- **En relación con el antecedente de hepatitis neonatal**

En el diagnóstico diferencial de otras enfermedades que pueden producir hepatitis neonatal y afectación en la edad adulta debería incluirse la enfermedad de Niemann-Pick de tipo C y la deficiencia de α -metil-acil CoA racemosa⁵⁹.

3.10. TRATAMIENTO

3.10.1. Ácido quenodeoxicólico (AQDC)

- **Generalidades**

Asumiendo que los niveles elevados de colestanol son un elemento clave en la etiopatogenia de la XCT, se han estudiado diferentes tratamientos para normalizar los niveles de colestanol en estos pacientes. El más beneficioso por el momento es el ácido quenodeoxicólico (AQDC) que suprime la síntesis de colesterol, colestanol, alcoholes biliares y ácidos biliares¹⁶⁸. Está comercializado bajo el nombre de Quenobilan® en forma de comprimidos de 250 mg. Se suele administrar a dosis de 750 mg al día (es decir 1 comprimido cada 8h). El AQDC puede ser hepatotóxico a altas concentraciones, por lo que es conveniente administrarlo con precaución, especialmente en pacientes con colestasis⁵⁹.

- **Efecto sobre los valores analíticos**

Batta y colaboradores¹⁶⁹ estudiaron en 1985 el efecto del AQDC sobre los ácidos biliares y los alcoholes biliares en la bilis y en la orina de 5 pacientes con XCT. Antes del tratamiento el principal ácido biliar era el ácido cólico (49%) y el principal alcohol biliar era el 5β-colestan-3α,7α,12α,25-tetrol (27%) hallados en la bilis. Por el contrario, en la orina el principal alcohol biliar era el 5β-colestan-3α,7α,12α,23ξ,25-pentol y el único ácido biliar aislado fue el ácido norcólico¹⁶⁹. Tras recibir durante un mes tratamiento con AQDC a dosis de 750 mg al día, los principales ácidos biliares aislados en la bilis fueron el AQDC (71%) y el ácido ursodeoxicólico (21%). Se produjo una importante reducción del ácido cólico (al 3%) y del 5β-colestan-3α,7α,12α,25-tetrol (al 3%). La excreción urinaria de 5β-colestanpentol se redujo considerablemente. Los autores dedujeron que el AQDC suprimía la síntesis hepática de alcoholes biliares¹⁶⁹. Dos años más tarde, los mismos autores estudiaron la presencia de alcoholes biliares glucurónidos en el plasma de los pacientes con XCT. Tras la instauración del tratamiento con AQDC, objetivaron un descenso en los alcoholes biliares glucurónidos en el plasma, la orina y la bilis, por lo que propusieron la determinación de alcoholes biliares glucurónidos en plasma para la evaluación de la respuesta al AQDC³⁹.

Unos años más tarde, otros autores estudiaron el efecto del tratamiento con AQDC sobre las lipoproteínas. En los pacientes con XCT, el LDL-colesterol, el HDL-colesterol y el colesterol total están disminuidos. La tasa de producción (TP) y la tasa catabólica

fraccional (TCF) de VLDL apoB están muy aumentadas y la TP y la TCF de LDL apoB están moderadamente aumentadas. Tras un mes de tratamiento con 750 mg con AQDC, el colesterol aumentó y la TP y la TCF de VLDL apoB y de LDL apoB se normalizaron. Tras 6 meses de tratamiento con 750 mg de AQDC (en otro paciente) la cinética de las lipoproteínas se normalizaron. En algunos casos, el metabolismo de los triglicéridos también estaba alterado. El tratamiento con AQDC también disminuyó la síntesis de triglicéridos¹³⁹.

En resumen, el tratamiento con AQDC sí permite normalizar los niveles de colestanol y la cinética de las lipoproteínas.

- **Efecto sobre los estudios neurofisiológicos**

No existe ningún consenso sobre el papel de las pruebas neurofisiológicas en la monitorización de la respuesta terapéutica, aunque algunos autores sí mencionan su utilidad con dicho fin. Restuccia y colaboradores¹⁵⁷ presentaron en 1992 los resultados de los potenciales evocados somato-sensoriales (PESS) y las conducciones motoras centrales (CMC) en 2 pacientes con XCT antes y después de la administración del AQDC. Tras el tratamiento, los pacientes se mantuvieron estables desde el punto de vista clínico, pero tanto la latencia de los PESS en miembros inferiores como las CMC mejoraron. Los autores propusieron el empleo de los PESS y de la CMC en la monitorización de la evolución de la enfermedad, incluso en pacientes asintomáticos¹⁵⁷. Federico y colaboradores¹⁷⁰ también objetivaron una estabilización clínica en 5 pacientes con XCT que recibieron AQDC durante 11 años, que se correlacionaba con una mejoría de los potenciales evocados visuales (PEV), de la CMC y de las velocidades de conducción. Finalmente, Mondelli y colaboradores¹⁷¹ también hallaron una mejoría de los niveles de colestanol, una mejoría de las velocidades de conducción, de los PEV, PESS (principalmente en MMSS) y PEAT y de la CMC en 10 pacientes con XCT que recibieron AQDC durante 2 semanas. Por el contrario, dos hermanas de los pacientes que nunca emplearon AQDC presentaron un deterioro clínico, de los PESS en MMSS y de los PEAT¹⁷¹.

- **Efecto sobre las imágenes de radiología**

Los resultados en la literatura sobre la evolución radiológica en los pacientes con XCT son contradictorios, puesto que algunos autores sí mencionan una mejoría

radiológica tras la instauración del tratamiento, mientras que otros niegan que las lesiones radiológicas puedan ser reversibles.

Berginer y colaboradores¹⁵⁰ estudiaron en 1994 los hallazgos radiológicos y clínicos en 13 pacientes con XCT. Tras la instauración del tratamiento con AQDC objetivaron una mejoría clínica y analítica, pero los hallazgos radiológicos no se modificaron¹⁵⁰.

Por el contrario, dos años más tarde, Cuende y colaboradores¹⁴⁹ propusieron la utilización de la RM craneal para valorar la respuesta terapéutica, apoyándose en un caso de XCT con una RM ponderada en T₁ que mostraba una hiperseñal de la sustancia blanca a nivel parieto-occipital, cerebeloso y en borde anterior y posterior del tallo medular cervical y dorsal. Tras 42 meses de tratamiento con AQDC, no se objetivaron alteraciones en el cerebelo, ni en el tronco, aunque persistía la afectación parieto-occipital. En la RM de los tendones por el contrario, no se objetivaron cambios tras el tratamiento¹⁴⁹.

- **Efecto sobre los xantomas**

Tras la administración de AQDC durante 5 años a un paciente con XCT, Brodsky y colaboradores¹⁵³ describieron que los xantomas aquíleos se hicieron más blandos, aunque no disminuyeron de tamaño. Kinoshita y colaboradores⁵² estudiaron en el 2004 la susceptibilidad del LDL a la modificación oxidativa en la formación de xantomas. El AQDC se une específicamente al LDL y permite disminuir la susceptibilidad oxidativa del LDL, previniendo así el depósito de ésteres de colesterol. Además, el AQDC actúa como antioxidante. Su déficit en la XCT produce una malabsorción de grasas. A pesar de ello, la vitamina E (que es liposoluble) se ha mantenido normal, y a pesar de ser normal, al administrarse en pacientes con XCT, mejora la susceptibilidad oxidativa del LDL⁵². El AQDC activa la CETP (*cholesteryl ester transfer protein*). Una baja actividad de esta proteína induce arteriosclerosis a pesar de un nivel elevado de HDL-colesterol. Esta actividad tan sólo se limita a pacientes con XCT, baja actividad de CETP y alto nivel de HDL-colesterol⁵². Tres meses tras la suspensión del AQDC, este efecto permanece. En resumen los autores dedujeron que el AQDC podría permitir una reducción de los xantomas a través de estos dos mecanismos. La administración de vitamina E permitiría además mejorar la susceptibilidad oxidativa⁵².

- **Efecto sobre la clínica neurológica**

Las publicaciones sobre la evolución clínica de la XCT tras la instauración del tratamiento con AQDC son contradictorias, puesto que algunos autores describen una mejoría clínica tras el mismo, otros sólo reconocen su estabilización y finalmente otros mencionan un deterioro a pesar de dicho tratamiento. Sí parece que hay un consenso sobre la conveniencia de un diagnóstico y de un tratamiento precoces.

Tras el tratamiento con 750 mg de AQDC durante al menos un año en 17 pacientes con XCT, Berginer y colaboradores¹⁵ objetivaron en 1984 una mejoría tanto clínica (de la neuropatía periférica, la afectación cerebelosa y el deterioro cognitivo), como de las pruebas complementarias (EEG, TC y niveles de colestanol). Plantearon como posible mecanismo de acción una supresión de la actividad 7α -hidroxilasa o de la síntesis de colesterol. Los únicos efectos secundarios encontrados fueron las alteraciones hepáticas y la diarrea¹⁵. Lamon-Fava y colaboradores⁷⁸ presentaron en el 2002 un caso de XCT en el que gracias a la administración de AQDC durante 18 meses se logró enlentecer la progresión de los signos neurológicos de la enfermedad.

Por otro lado, Mondelli y colaboradores¹⁷¹ realizaron un seguimiento a 10 pacientes con XCT que recibieron tratamiento con AQDC durante 2 años. Desde el punto de vista clínico, no objetivaron una clara mejoría (tan sólo una leve mejoría de los xantomas)¹⁷¹. Swanson y colaboradores¹⁷² publicaron en 1986 un caso de XCT con deterioro cognitivo, que progresó a pesar de la instauración de tratamiento con AQDC y con ácido ursodeoxicólico, y a pesar de la normalización de los niveles de colestanol. También Guyant-Marechal y colaboradores⁹¹ presentaron en 2005 otro caso de XCT con demencia fronto-temporal que no mejoró a pesar de la instauración del tratamiento con AQDC y simvastatina.

3.10.2. Inhibidores de la hidroximetilglutaril coenzima A (HMG-CoA) reductasa

Tres hermanos de Hong Kong con XCT que recibieron tratamiento con inhibidores de la HMG-CoA reductasa (10 mg de simvastatina al día), lograron una normalización de los niveles de colestanol en un mes, aunque no presentaron ninguna mejoría clínica¹⁷³. Burnett y colaboradores⁸⁷ administraron simvastatina a un paciente con XCT. Posteriormente asociaron AQDC, logrando una importante reducción del colestanol sérico, que relacionan con un efecto sinérgico de la combinación⁸⁷.

Federico y colaboradores plantearon que los inhibidores de la HMG-CoA reductasa pueden inducir mutaciones del ADN mitocondrial, por lo que recomendaban usar con

precaución este tipo de fármacos en los pacientes con XCT, dado que algunos pacientes presentan una afectación de la función mitocondrial¹⁷⁴. Así mismo, recomendaban asociar CoQ10 al tratamiento con inhibidores de la HMG-CoA reductasa¹⁷⁴.

3.10.3. Asociación ácido quenodeoxicólico e inhibidores de HMG-CoA reductasa

Peynet y colaboradores¹⁷⁵ estudiaron en 1991 la respuesta al tratamiento farmacológico en tres hermanas con XCT. La hermana más afectada recibió inicialmente AQDC, posteriormente asociaron un fibrato, que sustituyeron por lovastatina y finalmente por simvastatina. Las otras dos hermanas que estaban menos afectadas recibieron exclusivamente tratamiento con AQDC. Con la administración de AQDC, los niveles de colestanol y de colesterol se redujeron moderadamente. Al asociar un fenofibrato (a dosis de 300 mg) al AQDC (a dosis de 750 mg), el colesterol se normalizó, y el colestanol se redujo. La lovastatina (a dosis progresivamente ascendente de 20 a 80 mg al día) logró disminuir el colestanol y el colesterol. Finalmente la simvastatina (a dosis de 40 mg al día) logró una reducción menos eficaz de colesterol y más eficaz de colestanol. Los autores dedujeron que el tratamiento más óptimo consistía en la asociación de AQDC a un inhibidor de la HMG-CoA reductasa (la simvastatina preferiblemente). Este tratamiento no logró ninguna mejoría clínica, pero prevenía la progresión¹⁷⁵.

En un paciente británico con XCT el tratamiento con AQDC (750 mg al día) y simvastatina (40 mg al día) durante un año permitió reducir los niveles de triglicéridos y de colesterol y el ratio colestanol/colesterol. Según los autores, el paciente experimentó una mejoría en las funciones cognitivas y en los xantomas⁷⁴.

Kuriyama y colaboradores¹⁶ estudiaron en 1994 el efecto del tratamiento con AQDC a dosis de 300 mg al día y pravastatina a dosis de 10 mg al día en 7 pacientes con XCT. El AQDC provocó un descenso de un 67% en los niveles de colestanol, un 50% en los niveles de latosterol, un 61% en los niveles de campesterol y un 12% en los niveles de sitosterol. También se redujo la concentración de HDL. Por el contrario, aumentaron las concentraciones de colesterol, triglicéridos y LDL-colesterol, provocando un perfil más aterogénico. La pravastatina por el contrario provocó un descenso de un 30% en los niveles de colestanol, un 44% en los niveles de latosterol, un 23% en los niveles de campesterol y un 9% en los niveles de sitosterol. El perfil obtenido fue más antiaterogénico. Finalmente el tratamiento con la asociación de AQDC y pravastatina logró una reducción del colestanol (aunque la concentración seguía siendo 2,7 veces mayor

que en los controles) y una normalización del latosterol y de los esteroides vegetales. Los autores concluían que la asociación de AQDC y pravastatina es el tratamiento más óptimo, aunque no objetivaron cambios clínicos con el mismo¹⁶.

Verrips y colaboradores¹⁷⁶ en 1999 estudiaron el efecto del tratamiento con AQDC y simvastatina en 7 pacientes con XCT que habían recibido tratamiento con AQDC durante más de 7 años (para evitar el sesgo de limpieza de colestanol que se produce en los dos primeros años del tratamiento con AQDC). Objetivaron un descenso en los niveles de colestanol, colesterol, LDL-colesterol (en relación con una menor síntesis y no con la unión a los receptores tisulares de LDL) y latosterol con dosis de 30-40 mg de simvastatina y 750 mg de AQDC. Este efecto se produjo de forma aguda. Posteriormente se mantuvieron estables (fase de mantenimiento). Tras su retirada, los niveles volvieron a sus valores iniciales en un mes. A pesar de la respuesta analítica objetivada, no hallaron mejoría clínica, radiológica, electroencefalográfica, ni en los PEV, ni en los xantomas¹⁷⁶.

En resumen, existe un consenso sobre la asociación del AQDC con un inhibidor de la HMG-CoA reductasa como el tratamiento más óptimo en la XCT. El AQDC permite reducir los niveles de colestanol y el inhibidor de la HMG-CoA reductasa produce un perfil lipídico antiaterogénico.

3.10.4. Ácido ursodeoxicólico

El ácido ursodeoxicólico no es un ácido biliar endógeno humano. Se describió por primera vez en osos. Por ello, no permite una regulación de las vías de síntesis de los ácidos biliares¹⁵³. Por el contrario es más eficaz sobre la colelitiasis¹⁵.

Burnett y colaboradores⁸⁷ tuvieron que administrar en el 2001 ácido ursodeoxicólico en lugar de AQDC por motivos de almacenamiento, logrando mantener unos niveles normales de colestanol a pesar de dicho cambio.

Swanson y colaboradores¹⁷² publicaron en 1986 un caso de XCT con deterioro cognitivo, que progresó a pesar de la instauración de un tratamiento con AQDC y con ácido ursodeoxicólico, y a pesar de la normalización de los niveles de colestanol.

En los pacientes con XCT, el LDL-colesterol, el HDL-colesterol y el colesterol total están disminuidos. La tasa de producción (TP) y la tasa catabólica fraccional (TCF) de VLDL apoB están muy aumentadas y la TP y la TCF de LDL apoB están moderadamente aumentadas. Tras un mes de tratamiento con ácido ursodeoxicólico estos parámetros no se modificaron¹³⁹.

Von Bahr y colaboradores⁵⁸ administraron ácido ursodeoxicólico y posteriormente ácido cólico a un caso de XCT que se presentó con colestasis en la infancia, aunque éste falleció a los 4 meses. Los autores plantearon si la instauración tardía del tratamiento podía ser la causa del fracaso terapéutico⁵⁸.

3.10.5. LDL-aféresis

Mimura y colaboradores¹⁷⁷ en 1993 plantearon la LDL-aféresis como un tratamiento alternativo en la XCT en caso de rápida progresión o de intolerancia al AQDC. Esta técnica permite reducir los niveles de colesterol y colestanol un 60% de forma casi inmediata, recuperando el paciente los niveles iniciales de colesterol y colestanol a las 2 semanas de la plasmaféresis. Tres de los cinco pacientes que recibieron este tratamiento presentaron una mejoría desde el punto de vista neurológico; en uno mejoró el electroencefalograma y en tres se redujeron los xantomas tendinosos. En uno de los pacientes se realizó también una plasmaféresis. Esta técnica permitió una reducción de los niveles de colestanol y de colesterol, pero sin mejoría clínica¹⁷⁷.

Ito y colaboradores¹⁷⁸ en el 2003 estudiaron la posible combinación de LDL-aféresis, AQDC e inhibidor de HMG-CoA reductasa en 2 pacientes con XCT. El paciente 1 recibió inicialmente LDL-aféresis, logrando una reducción de los niveles de colestanol de un 50% tras cada aféresis, aunque a las dos semanas los niveles de colestanol volvieron a sus valores iniciales. Al pautar AQDC, los niveles de colestanol disminuyeron de manera estable. El paciente 2 recibió un tratamiento combinado con LDL-aféresis, AQDC y un inhibidor de la HMG-CoA reductasa, logrando un descenso de los niveles de colestanol más rápido. Por ello, los autores recomendaban el uso combinado de LDL-aféresis y tratamiento farmacológico¹⁷⁸.

Dotti y colaboradores¹⁷⁹ en el 2004 compararon el tratamiento con AQDC durante 8 años que no produjo mejoría alguna, el tratamiento con AQDC (750 mg al día) y simvastatina (20 mg al día) durante 2 años que tampoco produjo mejoría alguna, el tratamiento con AQDC y LDL-aféresis durante 33 semanas, que produjo una normalización de los niveles de colestanol y el tratamiento con AQDC, simvastatina y LDL-aféresis, con el que los niveles de colestanol y de colesterol se normalizaron e incluso alcanzaron unos niveles bajos. A pesar de todo esto, los autores no hallaron ninguna mejoría clínica, por lo que los autores recomendaban tener precaución con las terapias agresivas para reducir el colestanol. Dado que en la XCT hay un aumento de la síntesis de colestanol y que todos los tejidos tienen una mayor cantidad de colesterol de

lo normal, el uso de estatinas es un acercamiento racional, al lograr la reducción de colestanol, especialmente si se asocia con AQDC. Con la LDL-aféresis, todos los esteroides se extraen de la sangre en la misma medida, pero a lo largo del tiempo se objetiva un leve aumento del colestanol, del campesterol y del sitosterol que son esteroides vegetales. Esto podría estar en relación con los depósitos en los tejidos que se van liberando. Por el contrario, no se objetiva con la LDL-aféresis un aumento del colesterol, ni del desmosterol, ni del latosterol. Por ello, los autores recomendaban el uso de AQDC y de estatinas y reservar la LDL-aféresis para casos que no respondan a dicho tratamiento¹⁷⁹.

Tampoco Berginer y colaboradores¹⁸⁰ recomiendan el uso de LDL-aféresis, pues ésta no produce efectos muy importantes. Por un lado, aunque logra reducir los niveles de colesterol y de colestanol, éstos siguen siendo patológicos. Además, el ratio colesterol/colestanol se mantiene igual. Por otro lado, no actúa sobre el mecanismo fisiopatológico de la enfermedad. Finalmente, la técnica presenta ciertos riesgos y existe un tratamiento farmacológico que puede ser efectivo¹⁸⁰.

3.10.6. Rehabilitación

Gill-Body y colaboradores¹⁸¹ publicaron en 1997 los resultados del tratamiento rehabilitador de un paciente con XCT con afectación cerebelosa de unos 10 años de evolución. Como objetivos se plantearon la activación de mecanismos de control postural y neuronal, la integración de información sensitiva y las estrategias de control de los movimientos alternantes. Objetivaron una importante mejoría en la utilización de la información somatosensorial, vestibular, visual y sensitiva para el control postural y una mejoría en la estabilidad postural y en la capacidad de usar el *feedback* somatosensorial para modificar la magnitud de las respuestas posturales¹⁸¹.

3.10.7. Otros tratamientos

Shefer y colaboradores¹⁸² estudiaron en 1984 los efectos del colestanol y del colesterol en el metabolismo de los ácidos biliares y de los esteroides hepáticos en la rata. La absorción de colesterol (un 44,8%) es mayor que la de colestanol (un 14%). Al administrar colesterol, los niveles se cuadriplican, mientras que con el colestanol, tan sólo aumentan un 48%. La excreción fecal de esteroides tras una alimentación con colesterol pasó a 165 mg/día, mientras que tras una alimentación con colestanol pasó a 230 mg/día. El sistema de transporte intestinal reconoce la diferencia estructural y el

colestanol compite con el colesterol. Por ello, al administrar colestanol la excreción de colesterol aumenta¹⁸².

Al suplementar la alimentación con colestanol, aumenta tres veces la actividad de la HMG-CoA reductasa, mientras que si suplementa con colesterol disminuye la actividad de la HMG-CoA reductasa. Con una alimentación con colesterol, los niveles de colesterol microsomaes aumentan un 40% (en probable relación con un *feedback*, con inhibición de la HMG-CoA reductasa). Por el contrario, tras una alimentación con colestanol, los niveles de colesterol microsomaes se redujeron un 8%. En ratas alimentadas con colestanol, se produjo un aumento en el retículo endoplásmico liso del área centrolobular de los hepatocitos, probablemente por activación de la HMG-CoA reductasa¹⁸².

En el 2004, Batta y colaboradores³⁶ compararon el efecto de los ácidos biliares hidrofílicos (ácido ursodeoxicólico, ácido ursocólico), la colestiramina, la lovastatina y el AQDC en cuatro pacientes con XCT. Para ello, midieron los ácidos biliares y los alcoholes biliares en plasma, bilis y orina antes y después del tratamiento. Los pacientes con XCT presentaban ácido cólico (72,7%), ácido quenodeoxicólico (6,2%), alcoholes biliares C₂₇ polihidroxilados (10%) y una elevación del colestanol en el plasma³⁶. El tratamiento con AQDC, que es hidrofóbico, inhibe la síntesis anómala de ácidos biliares, desapareciendo los alcoholes biliares C₂₇ del plasma, la bilis y la orina y disminuyendo el colestanol en plasma. El tratamiento con ácido ursodeoxicólico o con ácido ursocólico, que son hidrofílicos, no inhibe la síntesis anómala de los ácidos biliares. El tratamiento con colestiramina aumenta la síntesis anómala de ácidos biliares (aumenta la síntesis de alcoholes biliares C₂₇ polihidroxilados y aumenta el colestanol). El tratamiento con lovastatina no afecta sobre la síntesis de ácidos biliares y de colestanol³⁶. La regulación de la 7 α -hidroxilasa, que es la enzima limitante de la síntesis de ácidos biliares, se produce a través del FXR. En el núcleo de los hepatocitos, el FXR (*farnesoid X receptor*) se une al RXR (*retinoid X receptor*) formando un heterodímero que requiere la presencia de ácidos biliares para activarse. El ácido biliar más potente es el AQDC. Su ausencia en la XCT hace que aumente el CYP7A1 y la síntesis de ácidos biliares. El tratamiento con AQDC activa el heterodímero FXR/RXR y regula el CYP7A1. Los autores proponen el empleo de la colestiramina como test de provocación en homocigotos/heterocigotos de XCT, al producir un aumento de los alcoholes C27 y del colestanol³⁶.

Recientemente, Szalat y colaboradores¹⁸³ estudiaron la posible utilización de rifampicina u otros inductores del PXR en el tratamiento de la XCT. Diferentes estudios han demostrado que en los ratones CYP27^{-/-} se produce una estimulación del CYP3A11 (excepto en los que hay una deficiencia de PXR). Esto produce un aumento del aclaramiento de los intermediarios de ácidos biliares y previene el desarrollo de XCT. Por el contrario en los seres humanos con XCT no se produce un aumento de la actividad de la CYP3A11. Los autores propusieron el empleo de inductores de PXR, como la rifampicina para ver si se producía un menor acúmulo de colestanol. Administraron rifampicina (600 mg al día durante siete días) a tres pacientes con XCT. A pesar de la inducción del CYP3A4 de hasta un 60%, no se redujeron los niveles de colestanol. Dedujeron que el PXR de los ratones y de los seres humanos no tienen la misma sensibilidad, y que por lo tanto existen diferencias en la activación de la vía PXR-CYP3. Concluyeron que ni la rifampicina ni otros inductores del PXR pueden considerarse alternativas prácticas al AQDC en el tratamiento de la XCT¹⁸³.

4. PACIENTES Y MÉTODOS

4.1. Selección de pacientes

Se revisaron todos los pacientes diagnosticados de XCT en dos de los centros de referencia nacional para el estudio genético de la enfermedad (la Fundación Pública Galega de Medicina Xenómica, en Santiago de Compostela y el Hospital Ramón y Cajal, en Madrid) entre los años 1995 y 2008. Se contactó con los diferentes clínicos, en su mayoría neurólogos responsables de los pacientes, que solicitaron permiso a éstos y a sus familias para la recogida de datos. Se revisaron personalmente todas las historias clínicas, viajando para ello a los diferentes hospitales de referencia distribuidos por toda la geografía española. Se pudo interrogar y explorar directamente a 7 pacientes (casos 9, 15, 16, 20, 22, 23, 24, 25).

4.2. Recogida de datos clínicos

Se preparó una base de datos utilizando el programa Access para Windows, en la que se recogieron los siguientes campos:

- | | |
|------------------------------------|---------------------------------|
| -número de caso | -edad diarrea |
| -apellidos | -síndrome piramidal |
| -nombre | -síndrome cerebeloso |
| -médico responsable | -epilepsia |
| -número de familia | -síndrome extrapiramidal |
| -número de individuo afectado | -miopatía |
| -sexo | -neuropatía periférica |
| -zona de procedencia | -retraso psicomotor |
| -año de nacimiento | -afectación psiquiátrica |
| -mutación 1 | -demencia |
| -mutación 2 | -alteraciones cardio-vasculares |
| -familiares afectados | -dismorfias |
| -edad inicio síntomas neurológicos | -alteraciones esqueléticas |
| -edad diagnóstico | -colestanol |
| -síntoma de inicio | -colesterol |
| -edad fallecimiento | -líquido cefalorraquídeo |
| -edad cataratas | -TC craneal |
| -xantomas | -edad RM |
| -xantelasma palpebrales | -RM craneal |

-RM espinal	-electroencefalograma
-electromiografía	-biopsia
-potenciales evocados somato-sensoriales	-tratamiento
-potenciales evocados visuales	-evolución
	-otras enfermedades

4.3. Análisis estadístico

Para el análisis estadístico de los diferentes datos se utilizó el programa SPSS versión 10.0 for Windows. Para la comparación de variables cuantitativas se empleó la *t de Student*. Se establecieron las correlaciones de variables cuantitativas mediante la *correlación de Pearson*. A través del *test de Fischer* se analizaron las variables cualitativas. Se consideró como estadísticamente significativa una $p < 0,5$, utilizando siempre una significación bilateral.

4.4. Análisis de cluster

El análisis *cluster* es una técnica estadística multivariante cuya finalidad es dividir un conjunto de objetos en grupos (*cluster* en inglés) de forma que los perfiles de los objetos en un mismo grupo sean muy similares entre sí (cohesión interna del grupo) y los de los objetos de grupos diferentes sean distintos (aislamiento externo del grupo). Lo que se intenta de esta forma es maximizar la homogeneidad de los objetos dentro de los conjuntos y la heterogeneidad entre los agregados. En este caso, cada nuevo individuo evaluado se va incorporando dentro de un conglomerado de acuerdo a la similitud de los valores que tomaron sus variables con los de otros individuos. Cada conglomerado a su vez puede agregarse a otro conformando uno nuevo, y así sucesivamente hasta la obtención de un único conjunto (que representa lógicamente la misma muestra original).

Se realizó el análisis de *cluster* jerárquico intentando relacionar las mutaciones con los diferentes síntomas neurológicos (piramidalismo, ataxia, epilepsia, parkinsonismo, polineuropatía, retraso psicomotor, alteraciones psiquiátricas y demencia) y con algunos datos pronósticos (edad de inicio, edad de diagnóstico, cataratas y xantomas).

4.5. Árboles genealógicos

Para la realización de los árboles genealógicos se empleó el programa CYRILLIC versión 2.0 (*Cherwell Scientific Publishing Ltd*, Oxford, Reino Unido).

4.6. Estudio genético

En 11 casos el análisis genético se llevó a cabo en el HRC y en 13 casos en la FPGMX. En ambos centros el abordaje molecular fue similar, mediante secuenciación directa de los 9 exones codificantes del gen *CYP27A1*, si bien el protocolo de extracción de ADN y el de secuenciación variaron ligeramente.

- **Material biológico**

Se obtuvo de cada paciente una muestra de sangre venosa por venopunción en un tubo de 10 cc de EDTA K.

- **Productos y reactivos**

Los reactivos que utilizados fueron:

-*buffers* (TAE50X, TBE10X, buffers de reacciones)

-*primers*

-dNTP

-Taq polimerasa

-bromuro de etidio

-agarosa

- **Selección de los primers**

En la tabla 5 figuran los primers que se emplearon.

Tabla 5. Secuencia y localización de los primers del gen de la esterol 27-hidroxilasa (según Chen y cols.⁶⁶).

Primer	Localización	Amplificación	Secuencia de 5' a 3'	Posición
E1up	5' flanking	exón 1	ACTCAGCACTCGACCCAAAGGTGCA	-22 a 3 ^a
E1d	intrón 1	exón 1	CCACTCCCATCCCCAGGACGCGATG	14 ^b
E2up	intrón 1	exón 2	TGGCCCAGTTATTCAGTTTTGATTG	10 ^b
E2d	intrón 2	exón 2	GGGCCCTGTTCCAGTCCCTTCAGGC	10 ^b
E3up	intrón 2	exón 3	GCTTATCTTTGTGCTGTTCTCTGC	9 ^b
E3d	intrón 3	exón 3	GAGCACAACCTCTCCCTGACCCATT	33 ^b
E4up	intrón 3	exón 4	TCTGCCTCCTGTGATGGCCTCTGTG	10 ^b
E4d	intrón 4	exón 4	GCTGATGCACAGACCTGGAGTCACC	39 ^b
E5up	intrón 4	exón 5	GCTCTTGGTCCTTGGAGATCATGAC	40 ^b
E5d	intrón 5	exón 5	ACTGGTTACGGTTGGGAGCTGGGGG	30 ^b
E6up	intrón 5	exón 6	TTCCTAGAATCGCCTCACCTGATCT	17 ^b
E6d	intrón 6	exón 6	TTCCCTCCCCACAAAGAGATCCTGT	27 ^b
E7up	intrón 6	exón 7-8	GCAGACTCCAGACATTCTTTTCCT	4 ^b
E7d	intrón 7	exón 7-8	TGGAAGCTTTCAGGCTCAGAGAAG	1355- 1332 ^a
E8up	intrón 7	exón 8	CCTTCTCTGAGCCTGAAAGCTTCC	1331- 1354 ^a
E8d	intrón 8	exón 8	GTGGATTGTGTGTTTGCCATCCACT	28 ^b
E9up	intrón 8	exón 9	AGTGGATGGCAAACACACAATCCAC	28 ^b
E9d	3' flanking	exón 9	CCCAGCAAGGCGGAGACTCA	1639- 1620 ^a
372up	exón 6	Exón 6-8	TTTGCCCACATGCCGTTGCTCAA	1159- 1181 ^a
372d	exón 8	Exón 6-8	TGGAAGCTTTCAGGCTCAGAGAAG	1355- 1332a

^a número de nucleótido en el ADNc siguiendo la nomenclatura de Cali y Russel⁶.

^b mínima distancia del exón.

4.7. Extracción del ADN

Se realizó a partir de células sanguíneas mediante un método de extracción con fenol cloroformo y precipitación con etanol. Para ello, se realizó una extracción de sangre de los pacientes en un tubo de EDTA K. Se extrajo el ADN de manera inmediata o unos días después, y una vez extraída la muestra, ésta se mantuvo en nevera a 4°C hasta su procesamiento. El protocolo de extracción empleado consta de dos fases: en la primera se extraen células sanguíneas de la sangre completa y en la segunda se extrae el ADN de esas células.

- Extracción de células:
 - Se mezcló la sangre con 10 ml de FICOLL y se centrifugó a 400 g durante 20 minutos
 - Se extrajo la fase celular con una pipeta Pasteur
 - Se centrifugó a 1500 g y se retiró el sobrenadante
- Extracción de ADN:
 - Se añadieron 2 ml de tampón de lisis (150 mM de ClNa, 20 mM de EDTA, 0,5% SDS, 100 mM Tris-HCl pH 7,5) al pellet de células, agitándose suavemente durante 15 minutos.
 - Se añadió 1 volumen de fenol-cloroformo-isoamílico 1:1:25; se agitó suavemente durante 3 minutos y se centrifugó a 1000 g durante 15 minutos.
 - Se extrajo la fase acuosa con una pipeta.
 - Se añadieron a la fase acuosa 3 volúmenes de etanol al 100%.
 - Se agitó suavemente; apareció entonces un precipitado, que se pasó a un tubo de Eppendorf con ayuda de una pipeta Pasteur.
 - Se dejó evaporar el etanol y se diluyó en 200 μ L de agua, quedando el ADN a una concentración aproximada de 0,1-2 μ g/ μ l.

Una vez realizada la extracción, el ADN puede permanecer a temperatura ambiente. Se almacenó a 4°C si se iba a trabajar con él en un plazo breve o a -20°C si se iba a archivar.

4.8. Determinación de la concentración del ADN

Una medida directa de la calidad de un ADN es su grado de integridad. La presencia de un ADN muy degradado indica que la muestra ha sido sometida a un procesado muy intenso, que se ha almacenado durante demasiado tiempo y/o en malas condiciones o que el protocolo de extracción utilizado resulta excesivamente destructivo. En cualquier caso, cuanto mayor sea la fragmentación del ADN de una muestra, menor es el número de copias intactas de un gen que se encuentran presentes y por lo tanto resulta más difícil la amplificación del mismo por PCR. Cuanto mayor es la integridad del ADN extraído, mayor es el tamaño de la banda que se observa y más definida se encuentra en el gel. Bandas de tamaño molecular pequeño y difuminadas en el gel indican sin embargo un alto grado de degradación en el ADN. Por ello se procedió en determinados casos a examinar el producto de la extracción en gel de agarosa al 1%.

La concentración de ADN de una muestra puede valorarse mediante electroforesis en gel de agarosa. Esto se consigue comparando la intensidad de la banda correspondiente a la muestra problema con bandas de patrones de concentración conocida. Además, la medida de absorbancia a 260 nm (λ de máxima absorbancia de ARN y ADN) de una dilución determinada de la muestra también permite calcular la concentración de ADN de la misma. En nuestro caso utilizamos usualmente este último procedimiento considerando que una unidad de absorbancia a 260 nm corresponde a 50 mg/ml de ADN bicatenario y multiplicando la lectura de absorbancia por el factor correspondiente y por la dilución empleada para obtener la concentración de ADN de la muestra. Se determinó la pureza del ADN extraído mediante el cociente de las absorbancias a 260 y 280 nm. Las determinaciones se llevaron a cabo en un espectrofotómetro *Nanodrop 1000 (Thermo Fisher Cientific)*. Las concentraciones promedio fueron de 29 ng/ μ l.

4.9. Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)

La reacción en cadena de la polimerasa (*polymerase chain reaction, PCR*) es el método más comunmente utilizado para la amplificación en el laboratorio del ADN. Se basa en la utilización en tres ciclos de las propiedades del ADN: de desnaturalizarse en dos cadenas separadas cuando se somete a temperaturas superiores a 90°C; de unirse a *primers* complementarios; finalmente de elongar la cadena mediante el uso de una polimerasa cuando se somete a temperaturas de 72°C. Después de cada ciclo se obtiene como resultado la duplicación de la secuencia de ADN diana delimitada por la pareja de *primers* complementarios. Dado que las nuevas copias también sirven como patrones en los subsiguientes ciclos, la cantidad de ADN generado se incrementa exponencialmente. De este modo, al final de n ciclos, el número de copias de ADN por cada molécula será de 2^n . Un proceso de PCR típico, de entre 28 y 40 ciclos, permite amplificar por tanto un millón de veces como mínimo el número de copias del fragmento de ADN diana que exista en la muestra original

La utilización de polimerasas termoestables junto con el diseño de termocicladores, aparatos que permiten llevar a cabo los ciclos de tiempo y temperatura necesarios de un modo rápido, han permitido la completa automatización de la técnica de PCR, facilitando así su empleo rutinario. Otro factor clave para la expansión de esta técnica ha sido la creciente disponibilidad de *primers* específicos, posibilitada tanto por los avances en las técnicas de secuenciación de ácidos nucleicos que han permitido conocer

las secuencias de un número considerable de genes, como por el desarrollo de equipos y reactivos que permiten una síntesis rápida y económica de los mismos.

Para amplificar por PCR, se preparó la siguiente reacción en un tubo de ensayo de 100 μ l:

-74 μ L de H₂O

-10 μ L *buffer* 100 mM Tris-HCl, pH 8,3, 500 mM KCl, 1,5 mM MgCl₂; concentrado 10 veces

-6 μ L de cada *primer* a una concentración de 10 pmol/ μ l

-4 μ L de DNTPs a una concentración de 2,5 mM

-6 μ L de ADN extraído

-1 μ L de Taq polimerasa a una concentración de 5 U/ μ l

- *Primers*: se emplearon los *primers* listados en la tabla 5.
- Magnesio: El magnesio es necesario para que actúen las polimerasas, siendo la concentración habitual de 1,5 mEq/L. En determinadas reacciones fue necesario emplear concentraciones mayores para aumentar el rendimiento.
- Número de ciclos: Las reacciones se realizaron durante 30-35 ciclos.
- Programa de PCR: El programa que se empleó contiene los siguientes pasos:

-desnaturalización 94°C 30 segundos

-anillamiento 55°C 30 segundos

-extensión 72°C 30 segundos

-extensión final 72°C 3 minutos

35 ciclos

También se realizaron PCR en descenso (*touchdown PCR*). En estas reacciones se fue decreciendo la temperatura de *annealing* a lo largo de ciclos sucesivos, generando un producto muy específico en los primeros ciclos y obteniendo un mayor rendimiento en los últimos ciclos (*annealing* más bajo). Se empleó un gradiente de 60°C a 55°C, con diferencias de 2°C entre los pasos.

4.10. Análisis electroforético del producto de PCR

- **Tampones, geles y soluciones empleados**

Para la preparación del buffer se mezclaron 250 ml de agua destilada y 50 ml de TAE50X (2M Tris-Acetato, pH 8.0, 0,05M EDTA).

- **Preparación del gel**

Los fragmentos amplificados se detectaron mediante electroforesis en geles de agarosa al 2% y tinción con bromuro de etidio. Se prepararon los geles disolviendo 0,6 g de agarosa en 30 ml de agua destilada, 600 μ l de tampón TAE50X en un matraz Erlenmeyer. Se calentó la mezcla hasta ebullición en un horno microondas.

- **Condiciones de separación**

Tras unos 30-60 minutos en presencia de la corriente eléctrica a un voltaje de aproximadamente 130 mV, se separó el producto de PCR suficiente para que se pudieran visualizar las diferentes moléculas de ADN que existían en el medio cargado. Finalizada la electroforesis, se sumergió en una solución de bromuro de etidio con una concentración de 0,5 μ g/ml. El bromuro de etidio es una sustancia fluorescente que se intercala entre los pares de bases adyacentes del ADN, y que en contacto con una luz ultravioleta emite fluorescencia. Debe mantenerse protegido de la luz solar para su conservación. Tras 10 minutos en la solución de bromuro de etidio, se sumergieron los geles otros 5 minutos en agua destilada para limpiar el exceso de bromuro de etidio. En ese momento se visualizó el gel, utilizando un transiluminador de luz ultravioleta. La imagen obtenida se registró mediante un sistema de fotografiado digital de geles.

4.11. Secuenciación de los fragmentos de ADN purificados por PCR

- **Purificación de los productos de PCR**

Para llevar a cabo la secuenciación de fragmentos de ADN amplificados por PCR, deben purificarse previamente dichos fragmentos, es decir eliminar los restos de aquellos reactivos no utilizados en la amplificación (fundamentalmente los *primers*) ya que éstos podrían interferir en la reacción de secuenciación.

Los productos de PCR se purificaron mediante filtración en columnas *Wizard™ PCR Preps Purification System* (Promega Co, Madison, WI, EE.UU.). Para ello, siguiendo las instrucciones del proveedor añadimos al producto de PCR un volumen equivalente de la solución *Membrane Binding*. Se introdujo la mezcla en una columna que a su vez se colocó en el interior de un tubo de Eppendorf. Se incubó a temperatura ambiente durante un minuto. Se centrifugó durante un minuto a 10,000 revoluciones. Se eliminó el sobrenadante y se recolocó la columna dentro del tubo. Se añadieron 700 μ l de solución *Membrane Wash*, que contiene etanol. Se centrifugó a 10.000 revoluciones

un minuto. Se eliminó el sobrenadante, se aplicaron 500 μl de solución *Membrane Wash* y se centrifugó a 10.000 revoluciones durante 5 minutos. Se transfirió la minicolumna a un tubo limpio de microcentrifugado de 1,5 ml. Se añadieron 50 μl de *Nuclease-Free Water* a la minicolumna. Se incubó a temperatura ambiente durante un minuto. Se centrifugó a 10.000 durante un minuto. Se retiró la minicolumna y se mantuvo el ADN del tubo a una temperatura de 4°C hasta su secuenciación.

- **Secuenciación de los productos de PCR purificados**

La secuenciación de los productos de PCR amplificados se realizó por secuenciación cíclica (*Amplicycle TM Sequencing Kit (Perkin Elmer)*) en el Centro de Genómica y Proteómica de la Universidad Complutense de Madrid, mediante la siguiente reacción:

- molde de ADN (producto de PCR purificado a una concentración de 0,1 $\mu\text{l}/\mu\text{l}$) 3 μL
- primer* único (*forward* o *reverse*) a una concentración de 5 pmol/ μl , 2 μl
- agua estéril 3 μl
- dNTPs, *buffer*, enzima, ddNTPs: 4 μL

Los productos de la reacción de secuenciación se resolvieron en un analizador automático ABI377 (*Applied Biosystems*).

- **Análisis informático de las secuencias de ADN**

Para analizar las secuencias de los productos de PCR se utilizaron los siguientes programas y herramientas:

- Programa *Chromas versión 2.0 (Technelysium Pty Ltd, Queensland, Australia)*.

Este programa permite examinar secuencias, editarlas, obtener las franjas de lectura y exportarlas en formato texto.

- Generunner versión 3.05 (*Hasting Software Inc.*)

Programa de utilidades para genética molecular. Permite listar una secuencia de ADN, su complementario, encontrar una secuencia nucleotídica determinada dentro de la secuencia total, ver las enzimas de restricción que cortan esa determinada secuencia, diseñar *primers* para PCR que amplifiquen un determinado segmento, obtener la secuencia de lectura de una secuencia o alinear varias secuencias

La secuencia se visualizó mediante el programa Chromas, exportándose al programa *Generunner* en donde se comparó de forma automatizada con la secuencia silvestre.

4.12. Denominación de las alteraciones encontradas

Como referencia para describir las variantes y alteraciones de secuencia encontradas se utilizaron la secuencia de ARNm del gen *CYP27A1* NM_000784 y la secuencia proteica NP_000775. Las variantes encontradas en la secuencia de los pacientes, es decir, diferencias con respecto a la secuencia de referencia, se denominaron siguiendo las recomendaciones de la Human Genetic Variation Society^{68,69}.

4.13. Búsqueda en bases de datos

No se dispone de una base de datos de mutaciones del gen *CYP27A1* accesible públicamente, similar a las que existen para otros genes. Por ello, para averiguar si una determinada variante de secuencia identificada en un paciente era nueva o bien había sido descrita previamente se consultaron las siguientes bases de datos:

- 1- Human Gene Mutation database, versión profesional (www.hgmd.cf.ac.uk): Base de datos general de mutaciones patogénicas en cualquier gen de interés. Dispone de una parte pública y de una parte privada (versión “profesional”, accesible mediante suscripción), esta última más completa y actualizada.
- 2- dbSNP: Base de datos de SNPS o polimorfismos de nucleótido único en el genoma humano. Es necesario comprobar, ante cada nueva variante identificada, que no se trata de un polimorfismo previamente conocido y sin significado patogénico.
- 3- PubMed: Las bases de datos no están necesariamente al día por completo. Es necesario revisar PubMed en busca de alguna referencia a la nueva variante encontrada.
- 4- Google: Búsqueda amplia, en ocasiones permite detectar descripciones en congresos y otros sitios no recogidas en ninguna publicación depositada en PubMed.

4.14. Análisis de población control.

Cada una de las variantes de secuencias nuevas identificadas en los pacientes fue analizada en una serie de 150 sujetos control, todos ellos de origen gallego, con una

media de edad de 78 años y sin alteraciones neurológicas ni historia familiar relevante de enfermedades neurológicas.

4.14. Construcción de una base de datos de mutaciones.

Como resultado de los datos clínicos y moleculares obtenidos a lo largo del presente estudio, se ha creado una base de datos de mutaciones, siguiendo el modelo de las bases de datos locus-específicas (LSDBs) potenciadas por el *Human Variome Project*. En dicha base de datos se han incluido todas las mutaciones causantes de XCT descritas hasta el momento, así como los principales síntomas acompañantes y su distribución geográfica. Depositada en un servidor de la Universidad de Santiago de Compostela y accesible en http://bioinformatics.cesga.es/lovd/xct/home.php?select_db=CYP27A1, esta base de datos pretende ser una herramienta tanto para clínicos como para genetistas.

5. RESULTADOS

5.1 Datos epidemiológicos

Entre los años 1995 y 2009 se han diagnosticado 26 pacientes con XCT en diferentes puntos de España (figuras 23 y 24). Han sido estudiados en la FPGMX 14 casos, uno de los cuales procedía de Rumanía y estaba de paso en Almería, por lo que no se ha incluido en esta serie. En 11 pacientes se realizó el estudio genético en el Hospital Ramón y Cajal y por último un caso fue diagnosticado en el Hospital General Universitario Gregorio Marañón en base al estudio de los niveles de colestanol en suero y en xantoma realizados en Dijon en 1992 (esta paciente no hacía revisiones desde hacía al menos 5 años dada su mala situación clínica, dependiente para todas las actividades básicas de la vida diaria; por este motivo no se ha realizado estudio genético). Además de estos 26 pacientes, se han encontrado otros 8 casos españoles publicados en la literatura nacional e internacional (dos en *Revista de Neurología*^{149,184}, dos en *Neurología*¹⁰, dos en *Brain*¹, uno en *Alzheimer*¹⁸⁵ y uno en el libro “*Casos Clínicos de Residentes de Neurología*¹⁸⁶”).

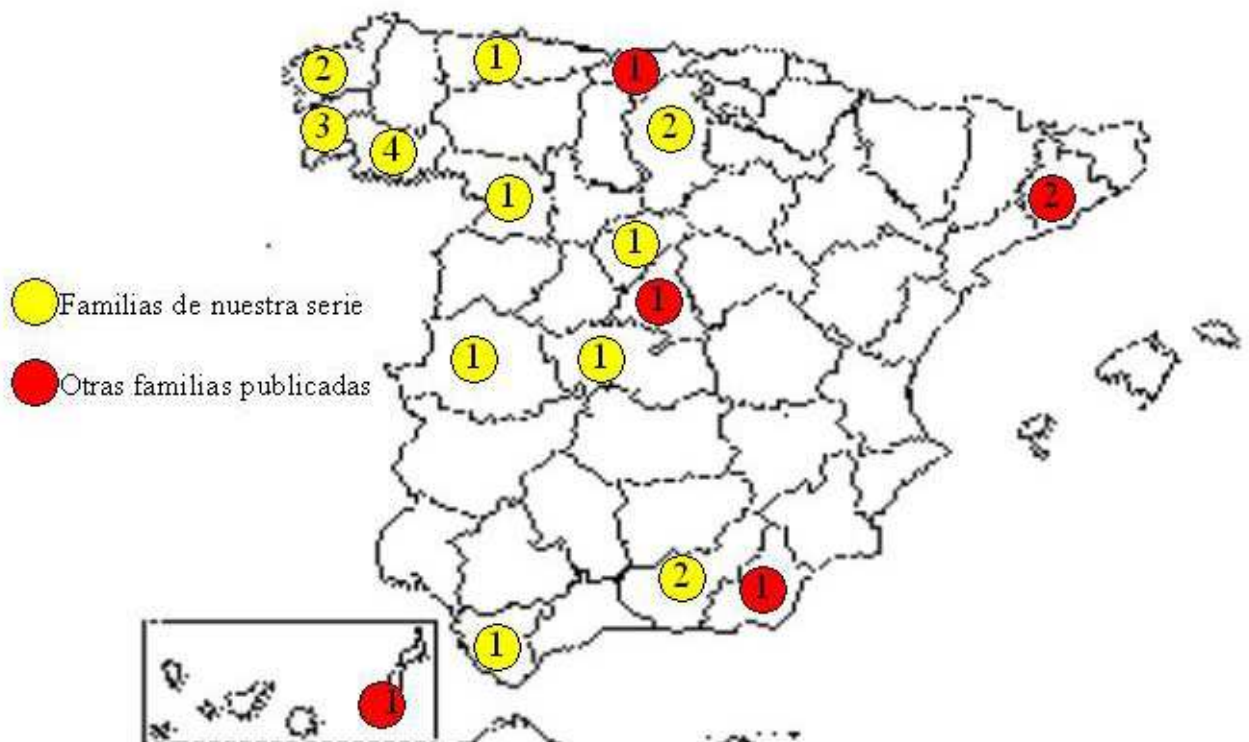


Figura 23.- Distribución de los pacientes con XCT por provincias.

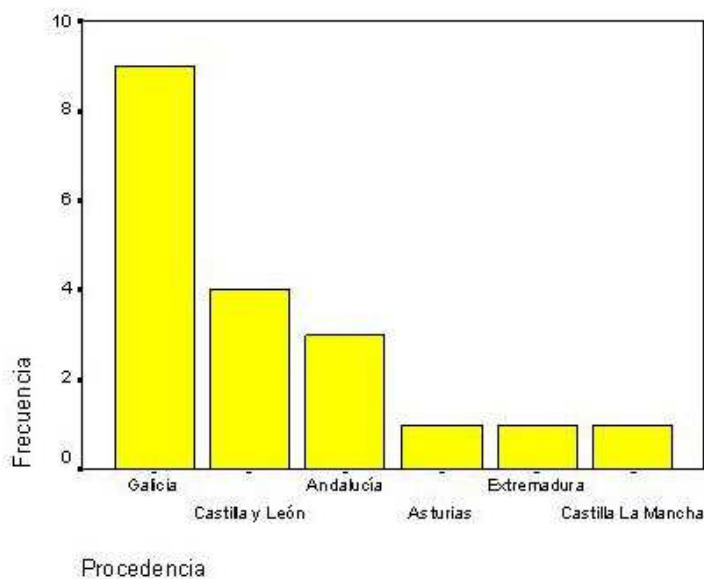


Figura 24.- Distribución de las familias con XCT según su procedencia

De los 25 casos de la serie, 10 (40%) eran varones y 15 (60%) mujeres. En tan sólo 5 (26%) familias se identificaba una consanguinidad como conocida y en 1 (5%) como probable en base al hallazgo de una misma mutación poco frecuente en homocigosis y a la procedencia de ambos progenitores de un mismo pueblo (familia 7). De las 19 familias identificadas, sólo 5 (26%) presentaban más de un miembro afectado, si bien en 3 familias se sospechó la posible existencia de otro miembro afectado, negándose los mismos a su estudio.

La edad del inicio de los síntomas neurológicos variaba desde los 10 hasta los 50 años, con una media de 19 y una desviación estándar de 11 (moda y mediana de 12 años). Se eligió de manera arbitraria la edad de 12 años cuando la edad exacta de inicio de los síntomas no era conocida y los familiares lo mencionaban como “en la infancia”. La edad del diagnóstico variaba de los 14 a los 56 años, con una media de 38 y una desviación estándar de 10 (moda 46 y mediana 36). Por lo tanto, el retraso medio desde el inicio de los síntomas neurológicos hasta el diagnóstico de la enfermedad fue de unos 19 años.

No se halló ninguna relación entre la supervivencia y la edad de inicio de los síntomas. Por el contrario, sí se encontró una diferencia estadísticamente significativa ($p \leq 0,01$) en la edad al diagnóstico más tardía entre los pacientes que fallecían (51 años) que entre los que no fallecían (35 años) (figura 25).

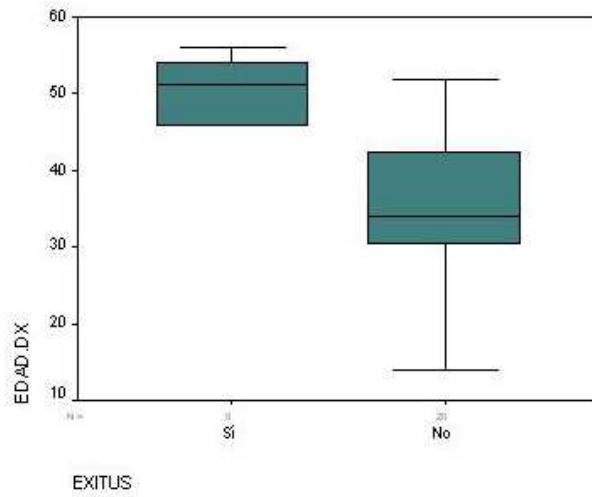
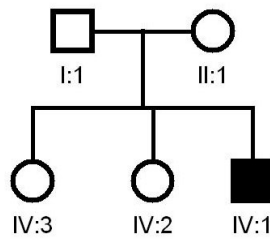


Figura 25.- Edad de diagnóstico entre los fallecidos (51 ± 9) y los no fallecidos (35 ± 18).

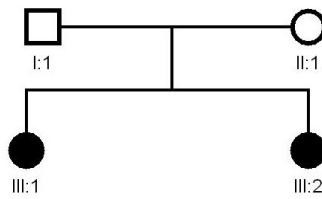
5.2 Árboles genealógicos

Los árboles genealógicos obtenidos fueron los siguientes:

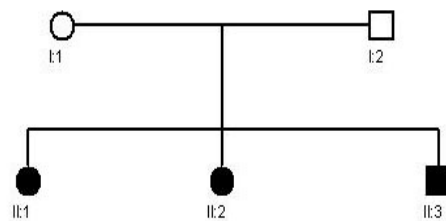
*Familia 1



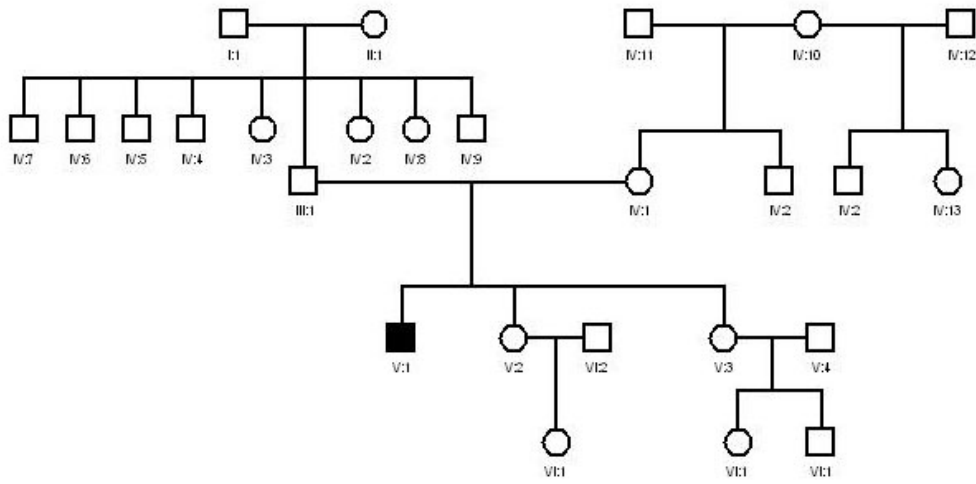
*Familia 2



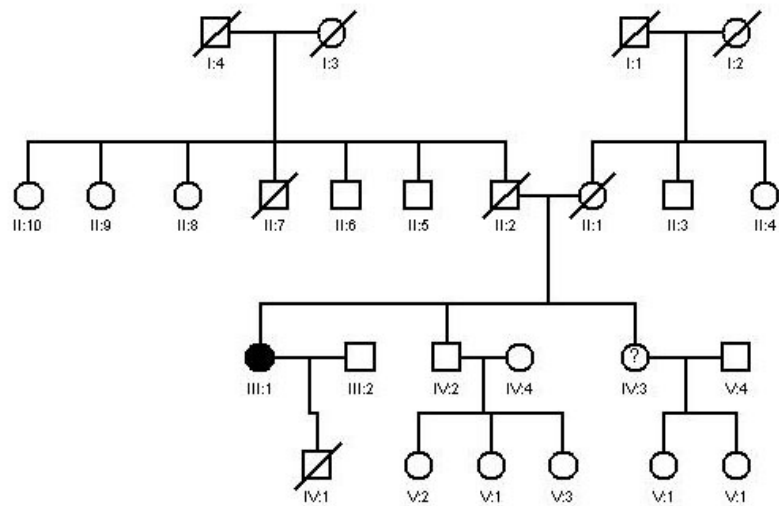
*Familia 3



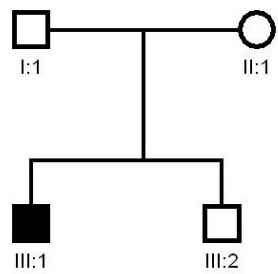
*Familia 4



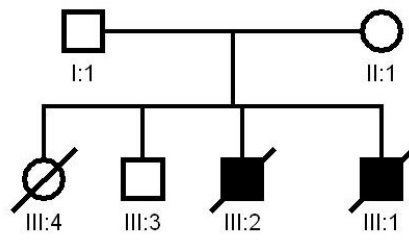
*Familia 5



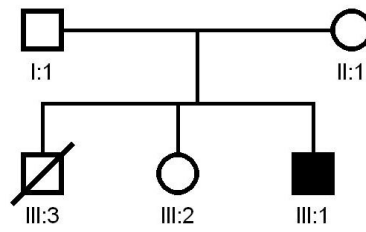
*Familia 6



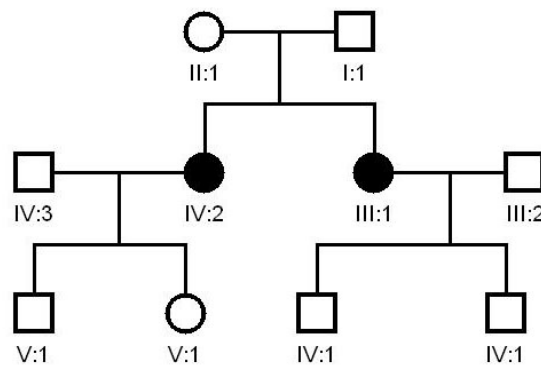
*Familia 7



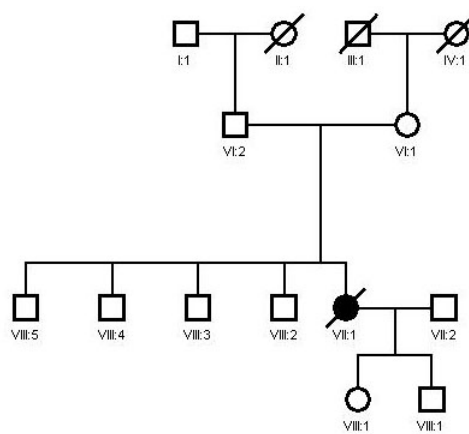
*Familia 9



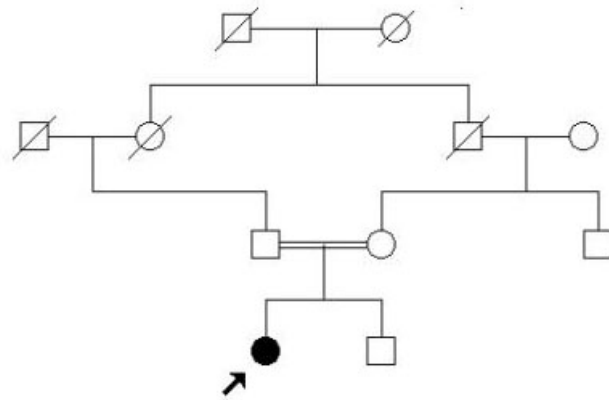
*Familia 10



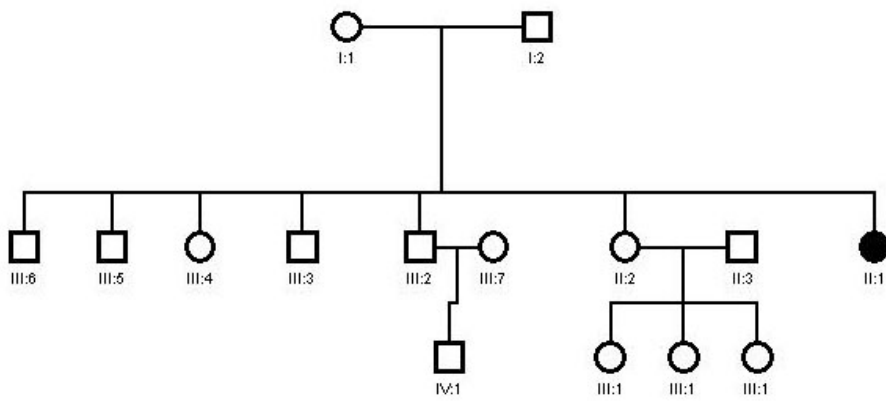
*Familia 12



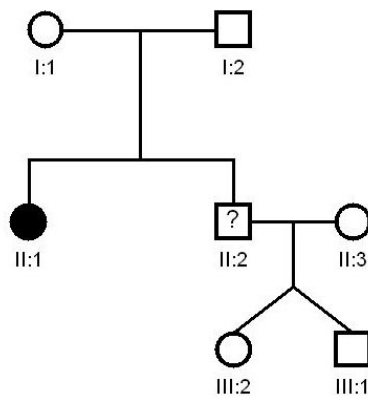
*Familia 14



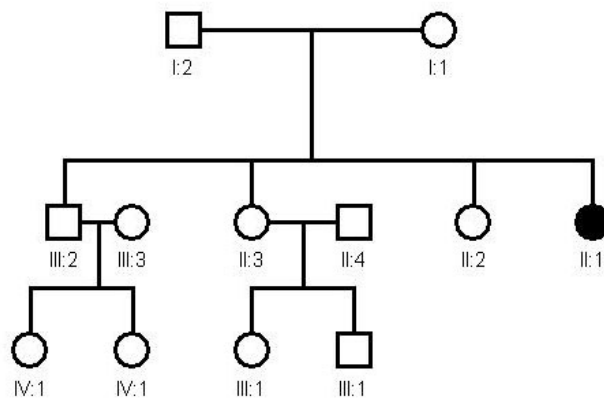
*Familia 15



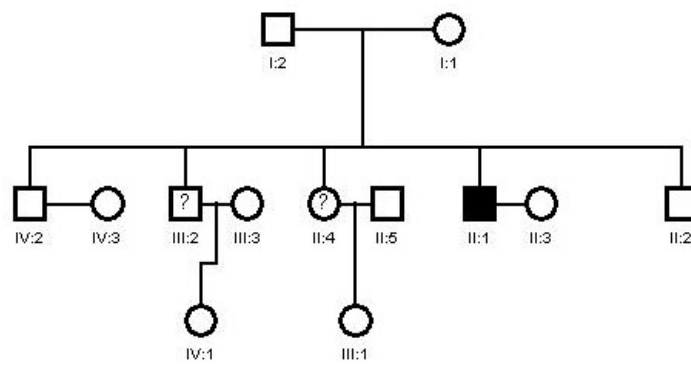
*Familia 16



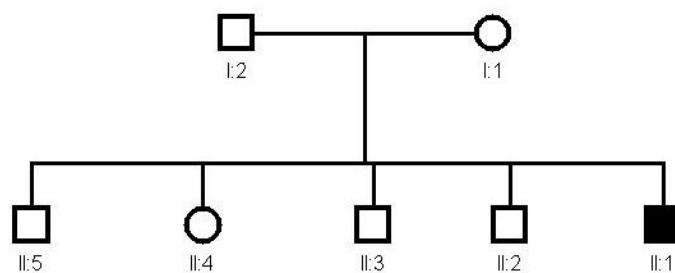
*Familia 17



*Familia 18



*Familia 19



5.3. Datos clínicos

Los hallazgos clínicos de los 25 pacientes de la serie se resumen en el apéndice III.

La manifestación de inicio más frecuente fue el retraso psicomotor (32%), seguido de la alteración de la marcha (24%), cataratas (20%) y epilepsia (16%) (figura 26). Tan sólo en un paciente en cada caso se encontró como síntoma de inicio la diarrea y las alteraciones psiquiátricas.

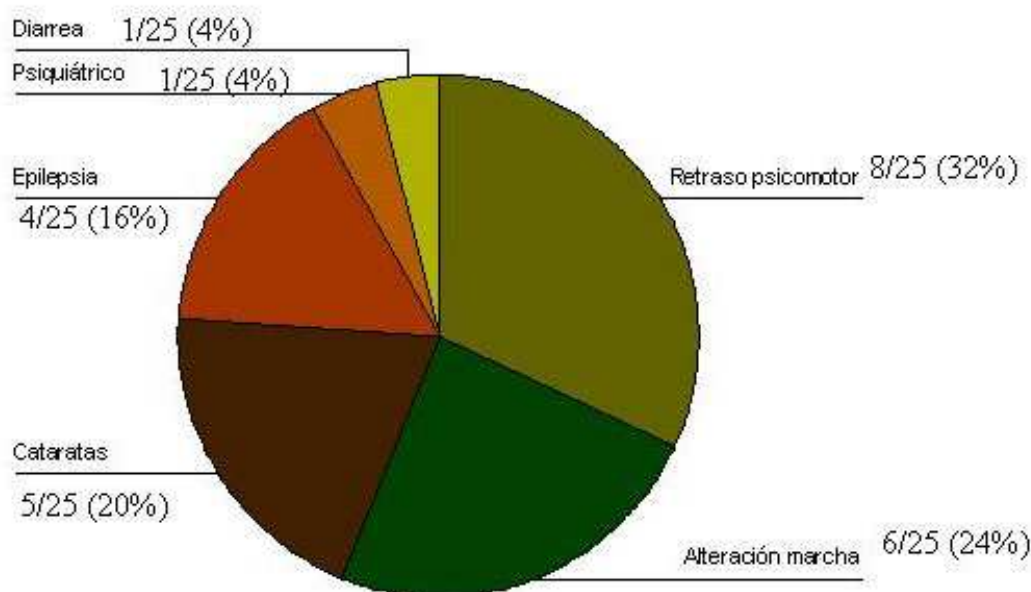


Figura 26.- Frecuencia de las manifestaciones de inicio en los pacientes con XCT.

En tan sólo 2 de los 25 pacientes (8%) no se objetivaron cataratas. En los 23 (92%) que sí tenían cataratas, la mediana de aparición de éstas era de 28 años. En 13 de ellos, no se pudo identificar el tipo de catarata, al no figurar datos en la historia clínica. De los otros 10, 3 tenían opacidades puntiformes periféricas que no afectaban a la función visual, 2 cataratas subcapsulares posteriores, 1 subcapsulares posteriores y anteriores, 2 capsulares posteriores, 1 polares anteriores y 1 capsular anterior y posterior.

Con respecto a la diarrea, tan sólo 1 paciente (4%) negaba dicho antecedente y tan sólo 11 (44%) lo confirmaban. En 13 de los casos (52%) se desconocía la existencia o no de diarrea durante la infancia.

De los 25 casos, 14 (56%) tenían xantomas. La localización más frecuente fue la aquilea (100%) (ver figura 27). En el 50% de los pacientes con xantomas, la localización fue múltiple: el 28% tenía xantomas en los codos, el 43% en rodillas y el 7% en los dedos de las manos.



Figura 27.- Xantomas aquileos (caso 15).

Con respecto a los síntomas y signos neurológicos, la tabla 6 resume el tipo y frecuencia de aparición. El piramidalismo fue el signo más frecuentemente encontrado (en 23 de los pacientes, es decir un 92%). La ataxia (19/25, 76%), la polineuropatía (16/25, 64%), la demencia (13/25, 52%) y los trastornos psiquiátricos (15/25, 60%) fueron los síntomas más frecuentes. Tan sólo 8 pacientes (32%) tenían epilepsia y 4 (16%) parkinsonismo. En ningún paciente se hallaron datos de miopatía.

<u>Signo/síntoma neurológico</u>	<u>Frecuencia</u>
Piramidalismo	23/25 (92%)
Ataxia	19/25 (76%)
Epilepsia	8/25 (32%)
Parkinsonismo	4/25 (16%)
Miopatía	0/25 (0%)
Polineuropatía	16/25 (64%)
Retraso psicomotor	12/25 (48%)
Demencia	13/25 (52%)
Trastorno psiquiátrico	15/25 (60%)

Tabla 6.- Frecuencias de los principales síntomas y signos neurológicos encontrados

Se valoró el grado de discapacidad en estos pacientes en el momento del diagnóstico a través de la escala EDSS (*Expanded Disability Status Scale*) de Kurtzke, con una media de 4,8 y una desviación estándar de 1,9 (figura 28), lo que traduce una incapacidad suficiente para afectar en las funciones de la vida diaria. Se encontró una

relación estadísticamente significativa ($p \leq 0,01$) entre el grado de discapacidad y la edad del diagnóstico, siendo mayor la discapacidad a más tardío el diagnóstico (figura 29).

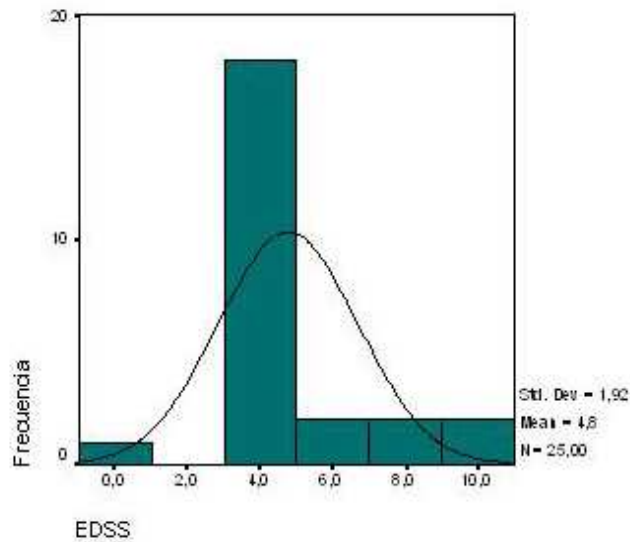


Figura 28.- Distribución del grado de discapacidad medido a través de la escala EDSS entre los pacientes

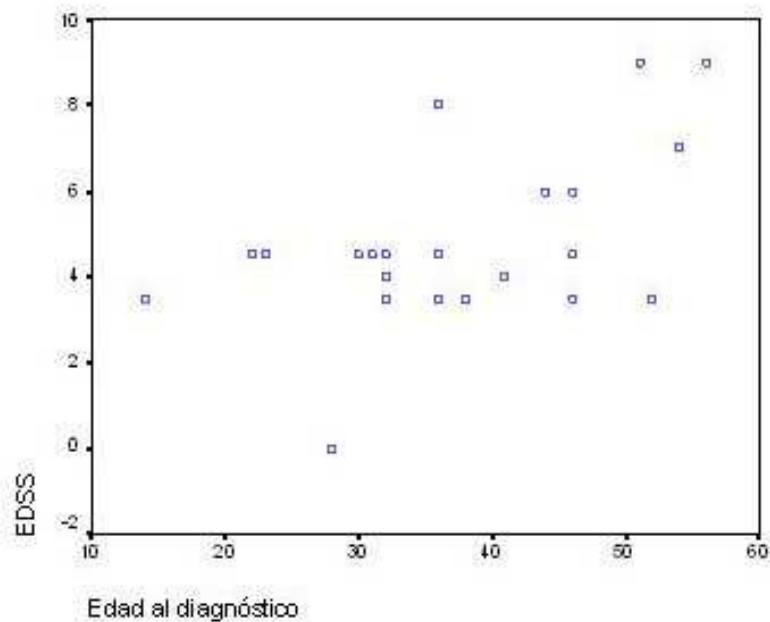


Figura 29.- Relación entre la edad al diagnóstico y el grado de discapacidad medido a través de la escala EDSS.

En relación con las anomalías morfológicas, 16 de los pacientes (64%) tenían pie cavo (ver figura 30), 4 (16%) escoliosis, 4 (16%) facies dismórfica, 2 (8%) alteraciones en las manos (una paciente presentaba dedos en palillo de tambor y otra aracnodactilia)

y 2 (8%) alteraciones en la cavidad oral (un paciente con hipertrofia gingival, otro con paladar ojival y otro con labio leporino)



Figura 30.- Pies cavos, dedos en martillo y xantomas (caso 9).

Se encontró una relación estadísticamente significativa entre la edad al diagnóstico y la existencia de dismorfias, polineuropatía, epilepsia y demencia. En los pacientes con dismorfias la edad media al diagnóstico fue de 35 años frente a 47 años en los que no tenían dismorfias ($p \leq 0,01$). La edad media al diagnóstico en los pacientes con epilepsia fue de 29 años, frente a 42 entre los no epilépticos ($p \leq 0,004$); en los paciente con demencia fue de 42 años, frente a los 32 cuando no existía deterioro cognitivo ($p \leq 0,01$); en los pacientes con polineuropatía fue de 34 años, frente a los 44 años entre los que no tenían polineuropatía ($p \leq 0,03$).

Con respecto a la edad de inicio de los síntomas, sólo se pudo relacionar con la presencia de xantomas. En los pacientes con xantomas, la edad media de inicio de los síntomas fue de 23 años, frente a los 14 años entre los que no tenían xantomas ($p \leq 0,02$).

Desde el punto de vista sistémico, no se objetivaron alteraciones cardio-vasculares en ninguno de los pacientes. 5 pacientes (20%) asociaron colelitiasis y 3 (12%) nefrolitiasis. En 3 (12%) se diagnosticaron enfermedades endocrinológicas (una paciente presentaba un nódulo tiroideo, otra un hipotiroidismo y una tercera una tiroiditis autoinmune), en 2 (8%) enfermedades intestinales (un paciente tenía

intolerancia a la lactosa y otra una enfermedad celiaca y una malrotación intestinal) y en 2 (8%) enfermedades reumatológicas (una paciente sufría una artritis reumatoide y otra una enfermedad de Marfan incompleta).

5.4.Pruebas complementarias

En tan sólo 12 de los casos se midieron los niveles de colestanol (figura 31). Estos niveles variaban de 57 a 238 $\mu\text{mol/l}$, con una media de 112 $\mu\text{mol/l}$. El rango normal de colestanol es de 2 a 12 $\mu\text{mol/l}$. En uno de los pacientes se envió la muestra a Dijon (Francia), encontrándose unos niveles de 31 mg/l, siendo el rango de la normalidad en ese laboratorio de 2,45 +/- 0,8 mg/l.

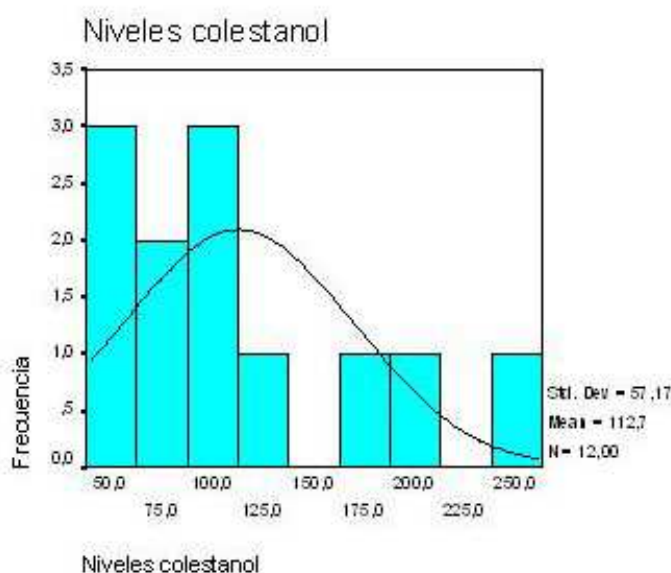


Figura 31.- Niveles de colestanol

Se encontró una relación estadísticamente significativa ($p \leq 0,02$) entre los niveles de colestanol al diagnóstico y la supervivencia, siendo los niveles de colestanol inferiores en los pacientes que han fallecido ($63 \mu\text{mol/l}$) con respecto a los pacientes que aún siguen vivos ($137 \mu\text{mol/l}$) (figura 32).

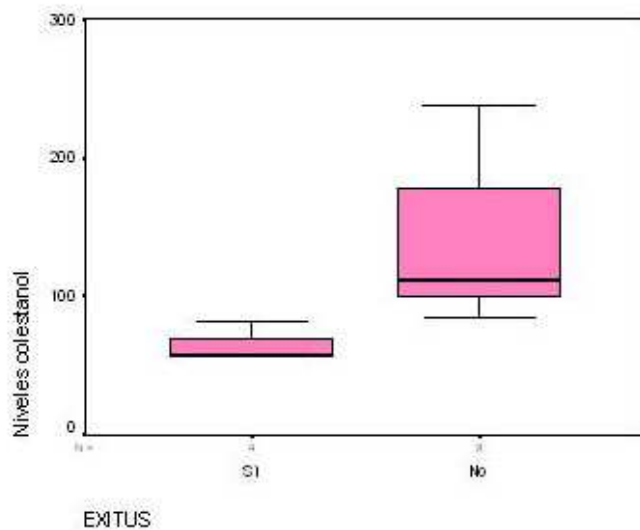


Figura 32.- Niveles de colestanol en el momento del diagnóstico en los pacientes que han fallecido ($63 \mu\text{mol/l} \pm 25$) y en los que siguen vivos ($137 \mu\text{mol/l} \pm 108$).

Así mismo, se encontró una relación estadísticamente significativa ($p \leq 0,039$) entre la edad de inicio de los síntomas y los niveles de colestanol, siendo menores los niveles de colestanol a menor edad de inicio de los síntomas neurológicos (figura 33).

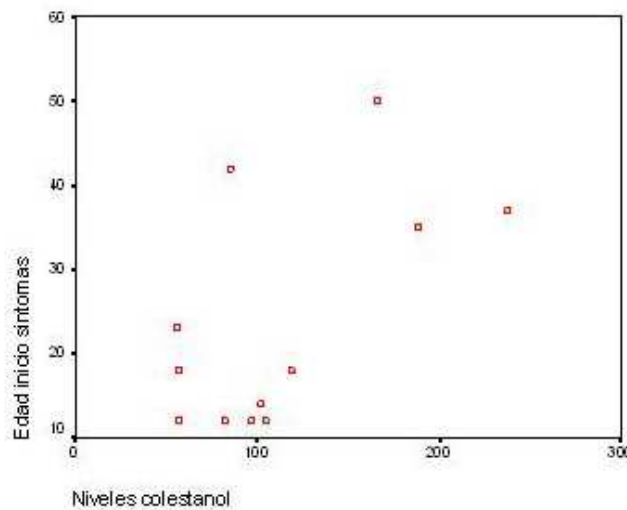


Figura 33.- Relación entre la edad de inicio de los síntomas y los niveles de colestanol.

Los niveles de colesterol total variaban entre 126 mg/dl y 231 mg/dl, con una media de 175 mg/dl (ver figura 34). No se encontró ninguna relación estadísticamente significativa entre los niveles de colesterol y la supervivencia de los pacientes.

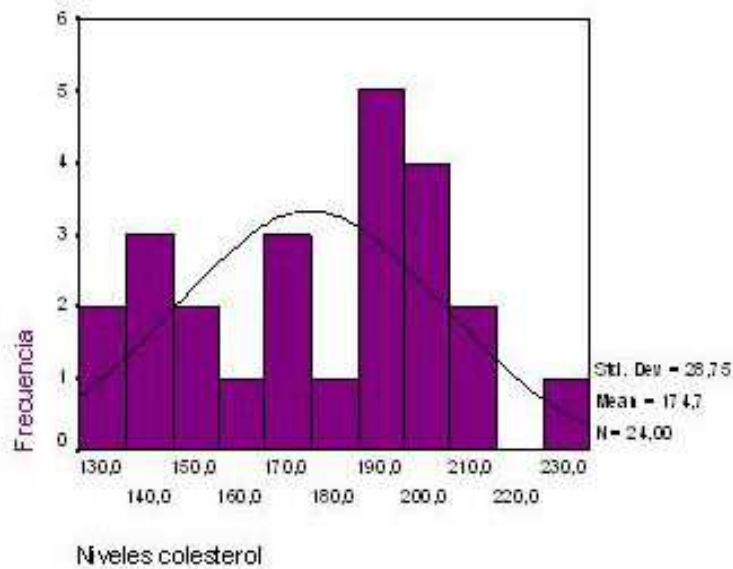


Figura 34.- Niveles de colesterol.

En 5 de los pacientes (20%) se analizó el líquido cefalorraquídeo que fue normal.

De los 25 pacientes, en tan sólo 9 se realizó tomografía computerizada (TC) craneal. De las 9 TC craneales realizadas, 2 (22%) fueron normales, 2 (22%) sólo mostraban atrofia y 5 (55%) mostraban una hipodensidad simétrica a nivel de ambos núcleos dentados (figura 35).



Figura 35. Tomografía computerizada craneal que muestra una hipodensidad a nivel de ambos núcleos dentados (caso 17).

En 23 (92%) de los pacientes se realizó resonancia magnética (RM) craneal. Los hallazgos más frecuentemente encontrados fueron la atrofia cortico-subcortical (14/23, 61%) y la hiperintensidad de los núcleos dentados (14/23, 61%) (ver figura 36). En 7 casos (30%) se visualizaba una hiperintensidad de la vía piramidal (ver figura 37). 6

pacientes (26%) presentaban leucoaraiosis y 2 (9%) lesiones de aspecto desmielinizante inespecíficas. 5 pacientes (22%) tenían una RM craneal normal. 2 pacientes tenían un Chiari tipo I (9%) y 1 paciente unos senos craneales agrandados (4%). Se realizó espectro-resonancia en dos pacientes que tenían una RM craneal basal normal, que fue normal.

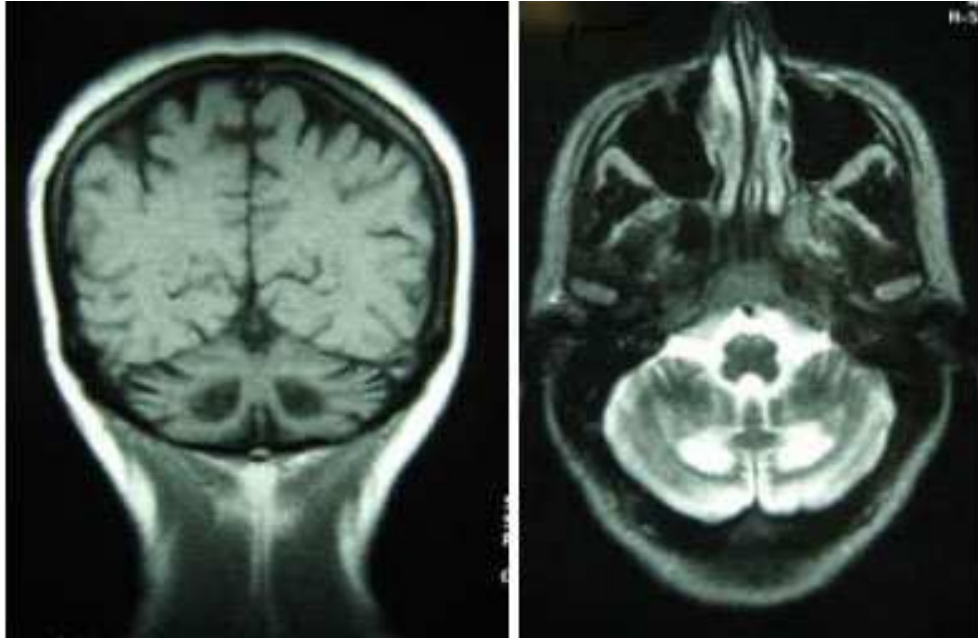


Figura 36.- RM craneal, cortes coronal (T_1) y axial (T_2) que muestran una hiperintensidad simétrica a nivel de ambos núcleos dentados (caso 18).

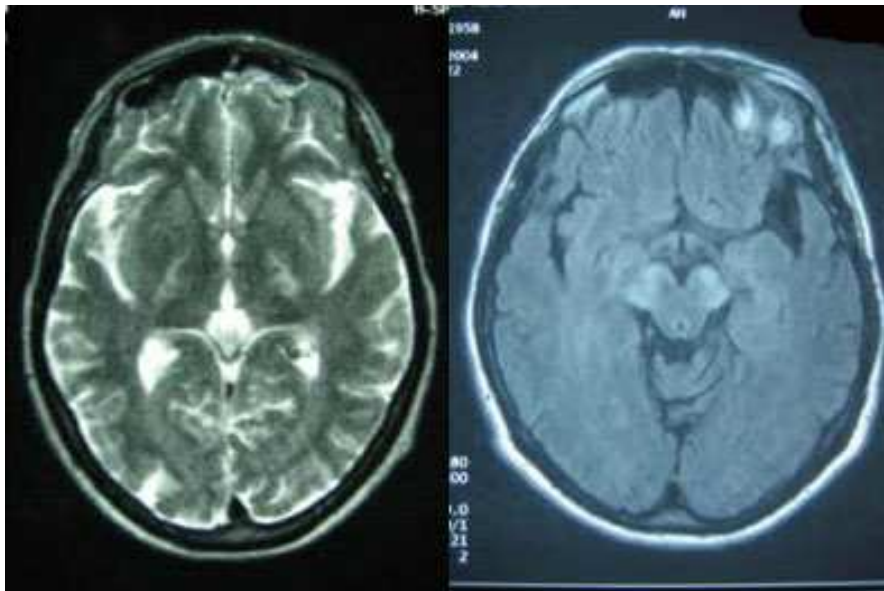


Figura 37.- RM craneal ponderada en T_2 y en FLAIR que muestra una hiperintensidad de la vía piramidal (caso 15).

Se realizó RM espinal en 8 de los pacientes (32%). De ellas, tan sólo 2 mostraron un sutil aumento de señal del cordón medular.

Se realizó radiografía de tobillos en 2 pacientes, visualizándose en uno de ellos un aumento de partes blandas (figura 38). Se realizó ecografía de tendones en un paciente que mostraba un engrosamiento muy marcado hipoecoico y con transmisión sónica posterior y alguna zona que dejaba sombra acústica posterior que podría corresponder a depósito de calcio. En 5 de los pacientes que tenían xantomas tendinosos se realizó RM de los tobillos. Todas las resonancias obtenidas mostraban un engrosamiento fusiforme a nivel de la unión músculo-tendinosa de intensidad heterogénea (figura 39).

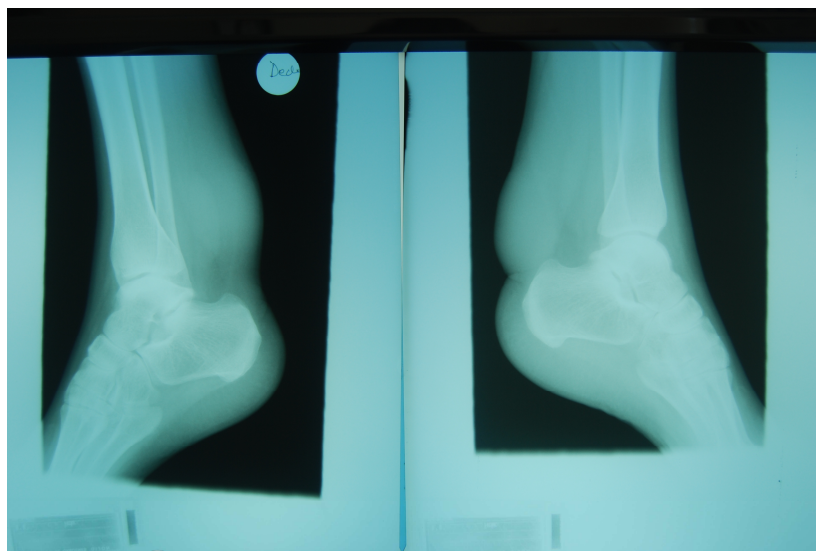


Figura 38.- Radiografía de tobillos que muestra un aumento de partes blandas a nivel de los tendones de Aquiles (caso 8).



Figura 39. RM de tendones que muestra un engrosamiento fusiforme heterogéneo en la unión músculo-tendinosa (caso 21).

En dos pacientes se realizó una tomografía por emisión de fotón único (SPECT) cerebral. Una de las pruebas se vió artefactada por los movimientos de la paciente y no

fue concluyente. La otra mostraba una importante hipoperfusión fronto-temporal izquierda periférica y frontoparietal izquierda, áreas focales hipoperfundidas a nivel temporo-parietal derecha e hipoperfusión en ambos hemisferios cerebelosos.

En un paciente se realizó un DaTSCAN que objetivaba un discreto deterioro de los receptores pre- y post-sinápticos a nivel del putamen posterior derecho, una mayor afectación de los receptores post-sinápticos que también están afectados en los caudados y una aparente integridad presináptica en el estriado izquierdo con una pérdida post-sináptica en el putamen posterior, todo ello compatible con un parkinsonismo *plus*.

Se realizaron velocidades de conducción en 18 de los pacientes (72%) (figura 40). Entre los 18 estudios realizados, 6 (33%) fueron normales, 7 mostraban un patrón desmielinizante (39%), 4 un patrón axonal (22%) y 1 un patrón mixto (5%)

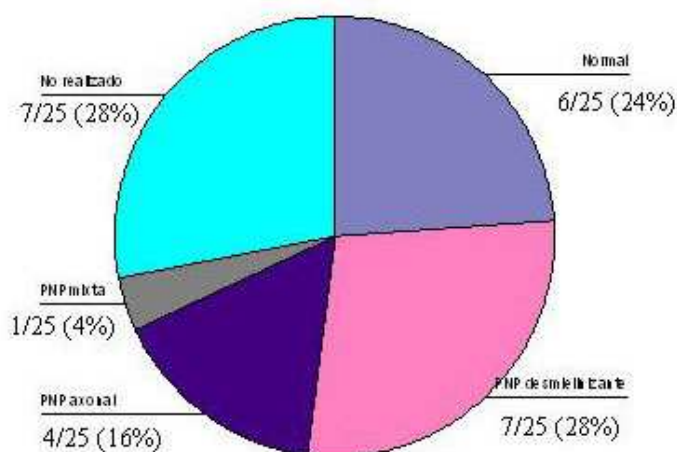


Figura 40.- Resultados de los electromiogramas.

Se realizaron potenciales evocados visuales en 10 de los pacientes (55%). Entre los realizados, 3 fueron normales (30%) y 7 mostraban una afectación de la vía óptica (70%), con un aumento de las latencias y un trazado desestructurado.

Se realizaron potenciales evocados somato-sensoriales en 9 de los pacientes (36%). Tan sólo uno de los estudios fue normal. El resto mostraba una afectación cordonal posterior en miembros inferiores (4/9, 44%) o en miembros superiores e inferiores (4/9, 44%) con un retraso en la latencia y una reducción en la amplitud.

El reflejo de parpadeo realizado en un paciente evidenciaba una lesión tronco-encefálica a nivel pontino bilateral, más intensa a nivel bulbar izquierda.

Se realizó electroencefalograma (EEG) en 12 de los pacientes (48%). De éstos, 5 fueron normales (42%), 2 estaban desestructurados (17%), 1 mostraba ondas lentas (8%), 2 ondas agudas (17%) y 2 punta-onda generalizada (17%).

La conducción motora central realizada en dos pacientes mostraba una afectación de la vía cortico-espinal bilateral.

En dos pacientes se realizó biopsia muscular que no mostraba alteraciones estructurales, ultraestructurales, ni inmunohistoquímicas. La biopsia de tendón (realizada en 7 pacientes) visualizaba un xantoma tendinoso, con células espumosas, depósito de colesterol y tejido conjuntivo. Se envió una muestra de tendón a Dijon para determinación de ésteres. En 100 mg de tejido se encontraron 26,2 $\mu\text{g}/\text{mg}$ de colesterol, 50 ng/mg de colestanol y 34 ng/mg de 8-latosterol.

5.5. Estudio necrópsico

La familia de uno de los pacientes (caso 19) que falleció durante el seguimiento autorizó el estudio necrópsico. El cerebro obtenido tenía un peso fijado de 1210 g. Desde el punto de vista macroscópico presentaba una atrofia externa difusa. A la sección de los cortes coronales se observaban unas áreas bilaterales de coloración amarillenta y aspecto granular en los núcleos dentados (figura 41) y en la sustancia blanca cerebelosa circundante, en mesencéfalo, los *globus pallidus* y la sustancia blanca periventricular, así como unos nódulos amarillentos de entre 1-2 mm en los plexos coroideos (figura 42).

Desde el punto de vista microscópico las áreas visualizadas macroscópicamente mostraban una severa pérdida neuronal y desmielinización, acúmulos perivasculares de histiocitos espumosos (figura 43), depósitos extracelulares y perivasculares de material “*mielina-like*”, astrocitosis reactiva y áreas de inflamación crónica rodeando hendiduras de cristales de lípidos (figura 44).



Figura 41.- Aspecto macroscópico del cerebro. Corte sagital que muestra una atrofia generalizada y unos nódulos amarillentos a nivel de los plexos coroideos.

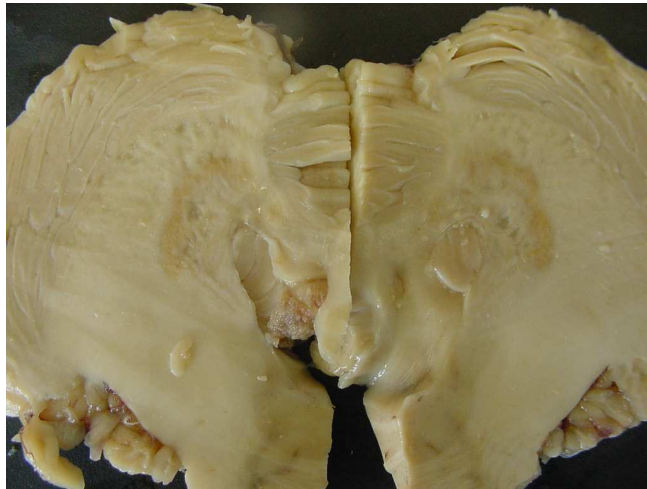


Figura 42.- Aspecto macroscópico. Corte axial que muestra áreas bilaterales de coloración amarillenta a nivel de los núcleos dentados.

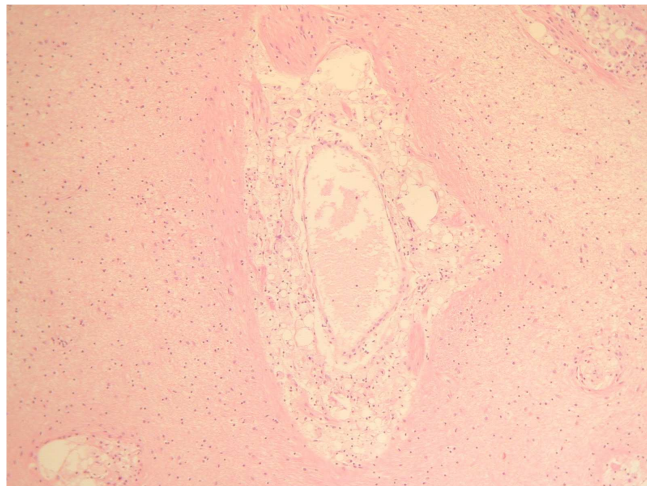


Figura 43.- Aspecto microscópico (hematoxilina-eosina, x40). Acúmulo perivascular de histiocitos espumosos.

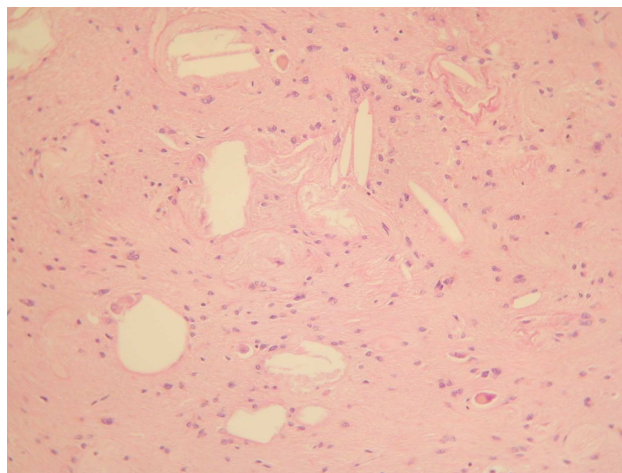


Figura 44.- Aspecto microscópico (hematoxilina-eosina, x100). Depósitos extracelulares y perivascuales de material "mielina-like" y áreas de inflamación crónica rodeando hendiduras de cristales de lípidos.

5.6. Mutaciones encontradas

Se llevó a cabo el estudio genético en 18 de las 19 familias de la serie. En la otra familia no fue posible obtener una muestra de ADN para el estudio. En todos los casos analizados fue posible identificar los 2 alelos mutados. Es decir, en el presente trabajo se han identificado 36 mutaciones. De las 18 familias, 9 eran homocigotas y 8 heterocigotas compuestas.

En la tabla 7 y en la figura 45 se detallan todas las mutaciones encontradas en los pacientes con XCT.

		Frecuencia	Porcentaje
Deleciones	c.1043-1054delTGTTACCACCTCT	3	8,3%
	c.1414-1421delGGGGTCCG	1	2,8%
Intrónicas	c.844 +1G→T	1	2,8%
	c.845 -1G→A	2	5,5%
	c.1184 +1G→A	2	5,5%
Mutaciones puntuales <i>missense</i>	p.W268C	2	5,5%
	p.T339M	2	5,5%
	p.T343R	1	2,8%
	p.R395C	12	33,3%
	p.N403K	1	2,8%
	p.R405W	4	11,1%
	p.Q230X	1	2,8%
<i>nonsense</i>	p.Q525X	2	5,5%

Tabla 7.- Mutaciones encontradas entre las familias (en negrita están marcadas las mutaciones no descritas previamente en la literatura)

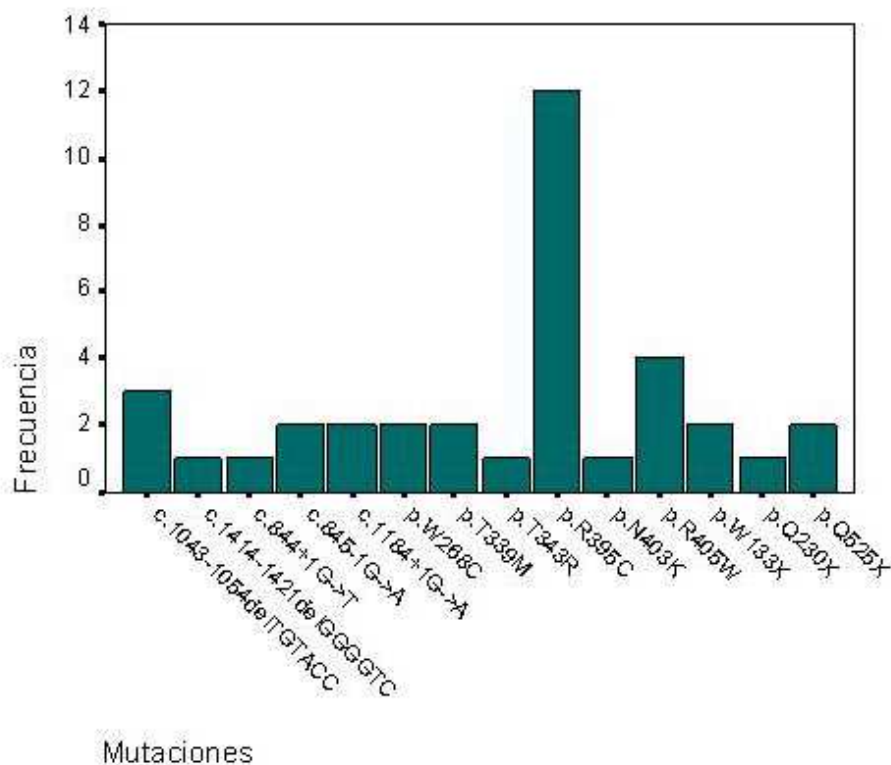


Figura 45.- Frecuencia de las mutaciones encontradas entre las 19 familias.

La mayoría de las mutaciones identificadas ocasionan un *splicing* anómalo, corrimiento del marco de lectura o un codón de parada prematuro, por lo que alteran gravemente la proteína resultante.

La deleción c.1043-1054delTGTACCACCTCT se localiza en el exón 6, mientras que la deleción c.1414-1421delGGGGTCCC se localiza en el exón 8. Suponen el 11,1% de las mutaciones,

Las mutaciones c.844 +1G→T y c.845 -1G→A se localizan en el intrón 4, mientras que la mutación c.1184 +1G→A está en el intrón 6. Suman el 13,9% de las mutaciones.

Las mutaciones puntuales suponen el 74,8% del total de mutaciones. Hay tres de tipo *nonsense* (p.W133X, p.Q230X y p.Q525X). La más frecuente es la p.R395C que suma el 33,3% del total. En el exón 3 se localiza la mutación p.W133X; p.Q230X y p.W268C están en el exón 4; p.T339M en el exón 5; p.T343R y p.R395C en el exón 6; p.N403K y p.R405W en el exón 7 y p.Q525X en el 9. En la figura 46 se muestran las diferentes mutaciones encontradas a lo largo del gen *CYP27A1*.

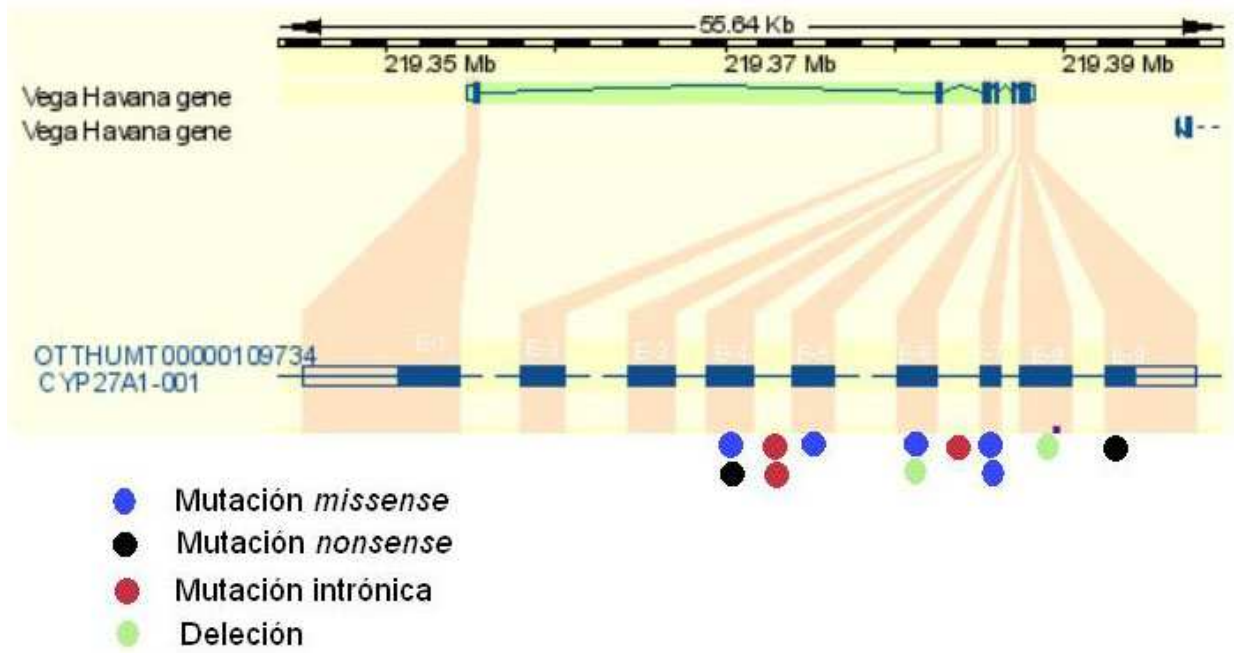


Figura 46.- Representación de las mutaciones encontradas en nuestra serie en el gen CYP27A1.

De las 14 mutaciones diferentes encontradas, 7 no habían sido descritas con anterioridad en la literatura (figuras 47, 48 y 49).

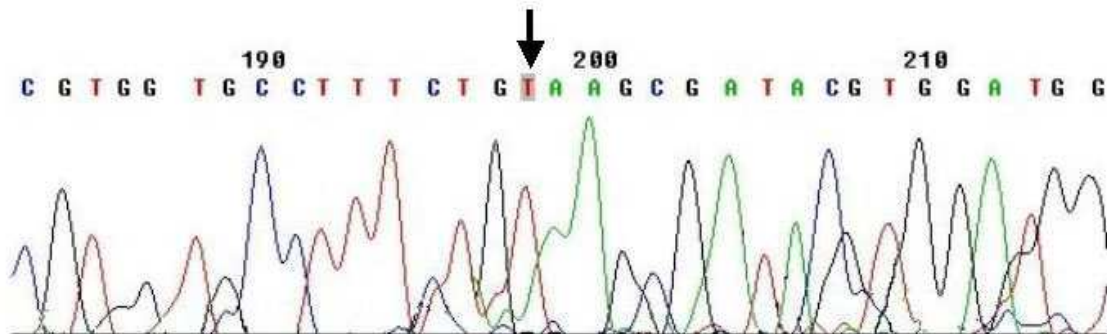


Figura 47.- Cromatograma de la mutación p.W268C (c.804 G→T)

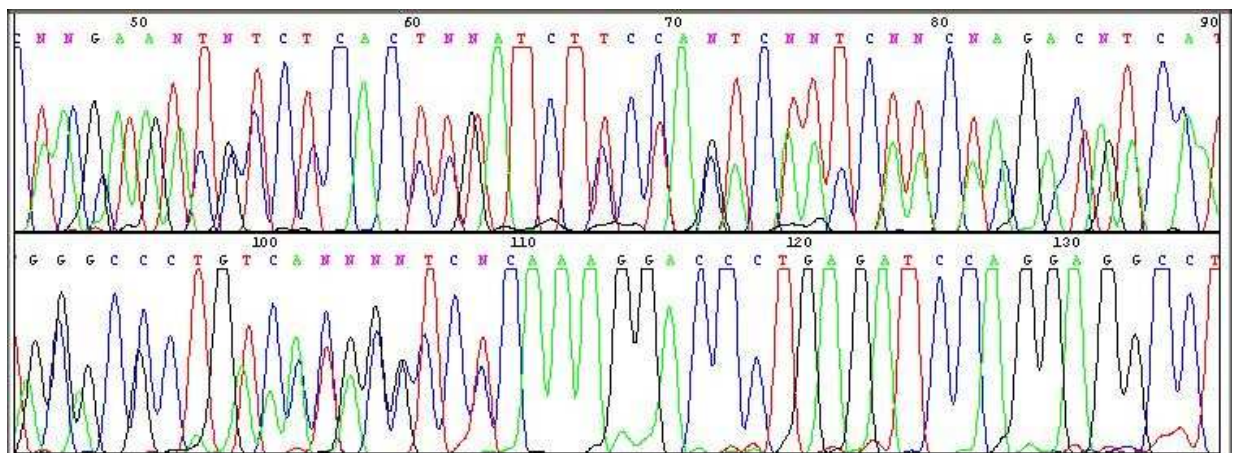


Figura 48.- Cromatograma de la deleción c.1043-1054delTGACCACCTCT

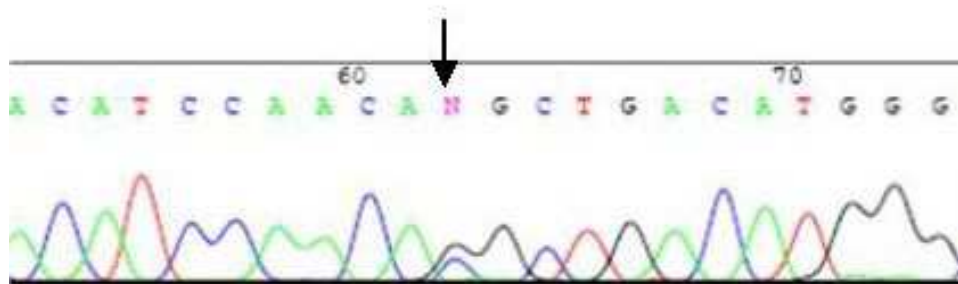


Figura 49.- Cromatograma de la mutación *c.1028 C→G (p.T343R)*.

Desde el punto de vista geográfico, se objetivó una mayor prevalencia de la mutación p.R395C en el norte de España (especialmente en Galicia). Por el contrario en los 3 pacientes procedentes de Andalucía se encontró la mutación p.R405W.

En 3 de las 19 familias se pudo realizar consejo genético en la FPGMX. Uno de los pacientes era hijo único, otro tenía una hermana que era portadora asintomática y el tercero tenía dos hermanas portadoras asintomáticas (cada una de ellas de una de las mutaciones).

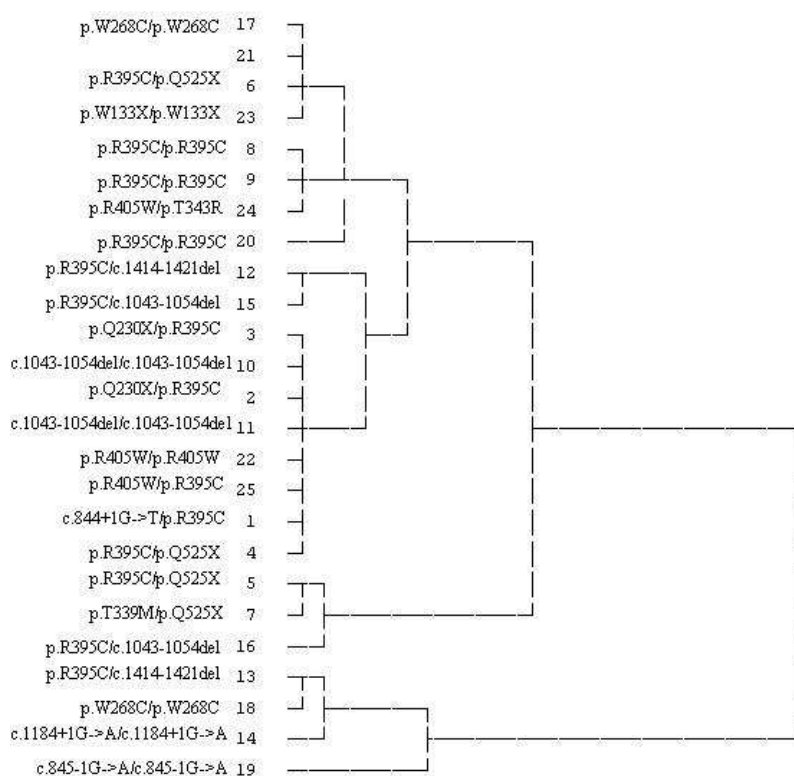


Figura 50.- Análisis de cluster. Conglomerados obtenidos al relacionar las mutaciones con algunos valores pronósticos.

Se realizó el *cluster* jerárquico intentando relacionar las mutaciones con algunos valores pronósticos (la edad al inicio de los síntomas y la edad al diagnóstico). Se clasificaron los 25 casos en 4 conglomerados en base al promedio estandarizado de los valores obtenidos de las diferentes variables (figura 50), sin encontrar asociaciones entre las mutaciones y los diferentes valores introducidos.

Así mismo, se realizó el análisis de *cluster* jerárquico intentando relacionar las mutaciones con los diferentes síntomas neurológicos, sin que tampoco se encontraran conglomerados bien definidos.

5.7. Tratamiento y evolución

Generalmente se inició tratamiento en el momento del diagnóstico. De los 25 pacientes, 5/25 (20%) recibieron exclusivamente ácido quenodeoxicólico (AQDC), 14/25 (56%) recibieron AQDC asociado a una estatina, 5/25 (20%) AQDC asociado a una estatina y a vitamina E y 1/25 (4%) recibió exclusivamente vitamina E (falleció al poco tiempo del diagnóstico). De los 19 pacientes que recibieron una estatina, 3/19 (16%) recibieron atorvastatina, 5/19 (26%) simvastatina, 8/19 (41%) pravastatina y en 3/19 (16%) no se especifica la estatina. Una paciente fue sometida a LDL-aféresis mensual durante 6 años (con una interrupción de un año entre medias), a pesar de lo cual siguió progresando neurológicamente hasta quedar en silla de ruedas.

De los 22 pacientes en los que se dispone de datos de seguimiento, tan sólo 6/22 (27,3%) se han estabilizado. Entre los 16/22 (72,7%) que han progresado pesar del tratamiento, 5/22 han fallecido (22,7%). No se encontró diferencia en la supervivencia entre los que recibieron AQDC y los que recibieron la asociación de AQDC y de un inhibidor de la HMG-CoA reductasa. La edad de fallecimiento varió entre los 47 y 60 años con una media de 52 años. La edad media al diagnóstico entre los 5 pacientes fallecidos fue de 51 años, es decir que la supervivencia media en estos pacientes fue de un año. Por el contrario la edad media de inicio de los síntomas neurológicos en estos cinco pacientes fue de 15 años (rango 12-23). En estos casos el diagnóstico se retrasó desde el inicio de los síntomas neurológicos una media de 35 años. Este retraso en el diagnóstico y por lo tanto en el inicio del tratamiento podría justificar una menor supervivencia de los mismos.

6. DISCUSIÓN

6.1 Datos epidemiológicos

Es destacable que de las 19 familias con XCT, 9 (es decir un 47,4%) procedían de la comunidad autónoma de Galicia. Esto podría deberse al sesgo de la localización de uno de los dos centros de referencia (la FPGMX) en Santiago de Compostela, aunque de las 11 familias valorados en el Hospital Ramón y Cajal, 2 (es decir un 18,2%) procedían también de Galicia. Por otro lado, es posible que en otras zonas de España (fundamentalmente por la zona de Cataluña) se hayan diagnosticado otros casos de XCT en base a los niveles de colestanol, (que se realizan en el Instituto de Bioquímica Clínica de Barcelona desde hace unos 10 años) y que como tal, la no inclusión en este estudio basado en criterios genéticos altere los resultados sobre distribución geográfica.

Por otro lado, es llamativo el retraso medio de 19 años entre el inicio de los síntomas y su diagnóstico. Esto se explica por el escaso conocimiento de la enfermedad hace tan sólo 10 años. El primer caso (caso 8) de esta serie fue diagnosticado en Gijón en 1987, en base a los niveles de colestanol realizados en el Hospital Clínico San Carlos de Madrid (esta determinación se estuvo realizando en el contexto de un proyecto de investigación en dicho centro durante unos años). El segundo caso (caso 7) fue diagnosticado en Santiago en 1990 en base a la clínica. Fue el primer caso publicado en la literatura española (*Neurología*, 1993¹²). El tercer caso (caso 21) fue diagnosticado en 1992 en base a los niveles de colestanol en suero y en xantoma realizados en Dijon (Francia). Posteriormente en 1995 y en 1996 se publicaron otros dos nuevos casos en la *Revista de Neurología*^{149,184}, diagnosticándose en 1997 otros 2 casos más (casos 9 y 20). En el 2000 se incluyeron 2 pacientes españoles con XCT en una serie internacional en la revista *Brain*¹. Ese mismo año se diagnosticaron otros 5 casos más en España (casos 12, 13, 14, 18, 25). En el 2001 y en el 2002 se diagnosticaron otros 2 casos más (casos 19 y 22). En el año 2002 se publicó otro artículo más en la revista *Neurología*¹⁰ y en el 2003 en la revista *Alzheimer*¹⁸⁵. El número de pacientes diagnosticados en el 2003 ascendió a 8 (casos 1, 2, 3, 4, 11, 17, 23, 24). En el 2004 fue publicado un nuevo caso en el libro “*Concurso de Casos Clínicos para Residentes de Neurología*”¹⁸⁶, diagnosticándose ese año otros 5 casos más (casos 5, 6, 10, 15, 16). En resumen, a medida que se ha ido dando a conocer esta enfermedad a través de publicaciones y de comunicaciones en congresos, se ha logrado diagnosticar un mayor número de pacientes (figura 51).

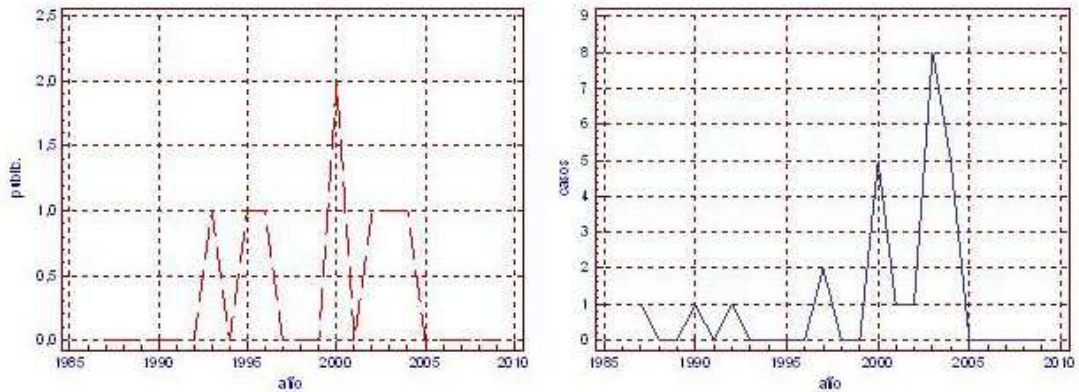


Figura 51.- Evolución del número de casos publicados y del número de pacientes diagnosticados.

Por otro lado, las dificultades para la realización de las pruebas diagnósticas de esta enfermedad eran notorias hace 20 años, al no existir ningún centro de referencia en nuestro país para su diagnóstico (tanto bioquímico como genético) hasta aproximadamente el año 2000. Los tres primeros pacientes diagnosticados en nuestro país, lo fueron en base a la clínica, sin pruebas complementarias confirmatorias (caso 7) o en base a la determinación de colestanol realizada en el contexto de una tesis doctoral (caso 8) o en otro país (caso 21). El establecimiento de centros de referencia para su diagnóstico tanto bioquímico (Instituto de Bioquímica Clínica de Barcelona) como genético (FPGMX, Santiago de Compostela; HRC, Madrid) también ha podido influir en que a lo largo de los últimos años se esté diagnosticando mejor la enfermedad y que como tal se estén diagnosticando un mayor número de casos.

No es sorprendente que exista una relación estadísticamente significativa entre la supervivencia y la edad del diagnóstico (y no con la edad de inicio de los síntomas). Los pacientes fallecidos habían sido diagnosticado más tardíamente (51 años frente a 38 años de edad media al diagnóstico entre los que seguían vivos). Viendo en el estudio necrópsico los acúmulos de cristales de lípidos y la pérdida neuronal, parece lógico pensar que si la enfermedad se diagnostica más tarde y como tal el tratamiento que logra normalizar los niveles de colestanol se inicia después (cuando el depósito de colestanol y la pérdida neuronal ya se han establecido) es más probable que la evolución neurológica y por lo tanto el pronóstico funcional y vital del paciente empeoren. Por lo tanto, el reto que nos queda de cara al futuro es verificar si el diagnóstico precoz de los pacientes (ahora que se conoce más la enfermedad y que se dispone de los medios para

su diagnóstico) y la instauración de un tratamiento precoz (como ha sido el caso en los pacientes 4, 9, 14, 24, 25) mejora su pronóstico a medio y largo plazo.

6.2. Datos clínicos

El síntoma de inicio más frecuentemente encontrado en la presente serie fue el retraso psicomotor. Este hallazgo difiere de lo descrito en la literatura, pues la afectación de la vía piramidal⁷² y la ataxia^{1,121} suelen ser referidos como principales síntomas de inicio neurológico. La mayor parte de estas publicaciones pertenecen a revistas de neurología general (y no de neuropediatría), por lo que podría existir un sesgo al no incluir los neurólogos de adultos frecuentemente en la anamnesis los síntomas que se remontan a la infancia. No se suele incluir en dichos artículos ningún test de inteligencia, por lo que es plausible que el retraso psicomotor, sobre todo si no es intenso, no se haya detectado en algunos casos o simplemente no se haya incluido en el interrogatorio. Como consecuencia, parece fundamental extender el conocimiento de la XCT entre los neurólogos infantiles, para que la tengan en cuenta en el diagnóstico diferencial de las enfermedades que cursan con retraso psicomotor, ya que otros síntomas y signos pueden aparecer más tardíamente.

Con respecto al resto de síntomas neurológicos encontrados, los resultados de la serie coinciden con los de la literatura, siendo la afectación de la vía piramidal (92%) y la ataxia (80%) los más frecuentemente encontrados, seguidos de la polineuropatía (64%), el deterioro cognitivo (60%) y los trastornos psiquiátricos (60%). Por lo tanto la XCT pertenece, fundamentalmente, al diagnóstico diferencial de las ataxias y paraparesias espásticas.

De los 14 pacientes con datos clínicos de deterioro cognitivo en tan sólo 3 se realizó estudio neuropsicológico (casos 21, 22, 23). Los estudios neuropsicológicos mostraban un trastorno grafo-perceptivo. El perfil clínico en la mayoría de los casos sugería una demencia de tipo fronto-temporal, coincidiendo con lo descrito en la literatura⁹¹. Es de destacar la carencia de neuropsicólogos en el sistema sanitario público español, pues a pesar de la sospecha clínica, en la mayor parte de los casos no se ha podido confirmar mediante estudio neuropsicológico completo.

De los 15 pacientes con clínica psiquiátrica, 14 (93%) tenían depresión, llegando a realizar uno de ellos (caso 1) un intento autolítico. Estos hallazgos también coinciden con lo comunicado en la literatura^{124,126}, aunque en nuestra serie, la proporción de pacientes con síntomas psiquiátricos (15/25, 60%) es superior (Lee y colaboradores¹²⁶

en su artículo presentaron tres casos con depresión y tras revisar la literatura estimaron en un 20% la frecuencia de depresión). Berginer y colaboradores¹²⁵ en 1988 describieron entre 38 casos 4 con prominentes síntomas psiquiátricos, como alucinaciones auditivas, catatonía y agresividad. En nuestra serie de 25 pacientes, 1 tenía esquizofrenia, 2 trastorno de la personalidad y 3 trastornos de conducta, es decir globalmente 6 tenían otro tipo de afectación psiquiátrica además de (o en un caso en lugar de) depresión.

Un caso con parkinsonismo y casos previos en la literatura^{80,128} obligan a considerar este diagnóstico en el estudio de los síndromes parkinsonianos de inicio juvenil.

Con respecto a la presencia de cataratas, los hallazgos de esta serie son también congruentes con lo descrito en la literatura, pues se encontraron en 23 de los pacientes (92%). Estas cataratas suelen aparecer en la primera década y se suelen diagnosticar e intervenir en la tercera década (la edad media de diagnóstico fue de 28 años), al igual que mencionan otros autores¹¹¹. De los 23 pacientes con cataratas, en 13 de ellos, no se pudo identificar el tipo de catarata, al no figurar datos en la historia clínica. De los otros 10, 3 tenían opacidades puntiformes periféricas que no afectaban a la función visual, 2 cataratas subcapsulares posteriores, 1 subcapsulares posteriores y anteriores, 2 capsulares posteriores, 1 polares anteriores y 1 capsular anterior y posterior. Las cataratas corticales y subcapsulares son más prevalentes en la población joven, mientras que en la población senil, la catarata tiene un componente mayoritariamente nuclear. Como describieron Cruysberg y colaboradores¹¹² en 1995, nuestros hallazgos también hablan a favor de que no existe un claro patrón en el tipo de cataratas, pudiendo ser éstas de tipo polar anterior, subcapsular posterior o simplemente opacidades corticonucleares, siendo el único factor llamativo, su edad de presentación¹¹².

Además, 7 pacientes tenían datos de neuropatía óptica (una alteración de los potenciales evocados visuales y/o una atrofia papilar con un déficit de la función visual). Dotti y colaboradores¹¹³ en el 2001 también describieron esta asociación¹¹³. En un paciente se objetivó la presencia de fibras de mielina peripapilares, hallazgo de dudoso significado (pues es congénito), no descrito anteriormente. Tan sólo un paciente presentaba xantelasma, asociación conocida pero que parece tener una frecuencia relativamente baja (4% en nuestra serie).

El antecedente de diarrea sólo se registró en 12 de los pacientes, siendo negativo en tan sólo uno de esos casos. En el resto de casos (13) no se menciona este antecedente en la historia. Vemos por lo tanto que se trata de un síntoma bastante persistente (11/12, es

decir en 92% de los casos en los que se pregunta sobre él), que puede ser útil por lo tanto como un dato más a favor de la enfermedad, pero que con frecuencia (en el 52% de las historias) se omite. Estos datos coinciden con los encontrados por Verrips y colaboradores¹⁰⁹ y por Van Heijst y colaboradores¹¹⁰.

Se observaron xantomas en el 56% de los pacientes de nuestra serie. Esta cifra es similar a la publicada por Verrips y colaboradores¹⁰⁹ en el 2000. En ese artículo insistieron en la confusión provocada por el nombre de la enfermedad (que sobreentiende la presencia de xantomas como un criterio fundamental) como una posible causa del infradiagnóstico de la misma. Llamaron la atención sobre que en ningún caso debe la ausencia de xantomas excluir el diagnóstico. Nuestra serie también confirma que tan sólo la mitad de los pacientes con esta enfermedad tienen xantomas y que por lo tanto su ausencia no es ningún criterio de exclusión. En cuanto a la localización, todos los pacientes con xantomas tenían afectación aquílea y el 50% tenían afectación múltiple. Estas localizaciones (tibial, codos, interfalángica), aunque no cuantificadas anteriormente coinciden con lo mencionado por Moghadasian y colaboradores⁴.

Finalmente se intentó agrupar la afectación neurológica desde el punto de vista funcional a través de la escala de discapacidad de Kurtzke, encontrándose una puntuación media al diagnóstico de 4,8. Esto traduce que se trata de una enfermedad moderadamente incapacitante a edades tempranas (la edad media al diagnóstico fue de 38 años). No se había cuantificado el grado de discapacidad en estos pacientes con anterioridad. Se encontró una relación estadísticamente significativa entre la edad del diagnóstico y el grado de discapacidad, siendo mayor la discapacidad a más tardío el diagnóstico. Es lógico pensar que dado que se trata de una enfermedad degenerativa cuanto más se retrase el diagnóstico, mayor será la afectación neurológica y como tal mayor la incapacidad del paciente. Esto refuerza una vez más la importancia de un diagnóstico precoz de cara a poder iniciar un tratamiento precoz, argumento sobre el que otros autores han insistido también⁵⁸.

Verrips y colaboradores⁷² presentaron en 1999 siete casos de XCT con una afectación espinal pura, sin afectación neurológica de otro tipo y sin xantomas, por lo que recomendaba incluir la XCT en el diagnóstico diferencial de las mielopatías crónicas. Unos años antes, en 1992, Rogelet y colaboradores¹¹⁹ habían publicado dos hermanas con XCT con una presentación predominantemente espinal, pero que también asociaban deterioro cognitivo y xantomas tendinosos. En nuestra serie hemos encontrado 7 pacientes con presentación predominantemente espinal, de los cuales 2

tenían una afectación espinal pura (sin otros síntomas neurológicos), junto con xantomas; 1 tenía mielopatía y polineuropatía, sin xantomas; 4 tenían una afectación predominantemente espinal pero además otros síntomas neurológicos (2 tenían retraso psicomotor, 1 epilepsia y 1 retraso psicomotor y epilepsia) y sin xantomas. Esto supone que un 28% de los pacientes de muestra serie tuvieron una forma de presentación que fue predominantemente espinal, por lo que concluimos al igual que Verrips⁷² que debe de tenerse en cuenta la XCT en el diagnóstico diferencial de las mielopatías crónicas (tanto si tienen antecedentes familiares, como si no, al tratarse de una enfermedad autosómica recesiva).

Rasgos faciales dismórficos reconocibles estuvieron presentes en un 16% de los casos de la serie, alteraciones en las manos en un 8% y alteraciones en la cavidad oral en un 12%. Puesto que se trata de hallazgos puntuales (un paciente con hipertrofia gingival, otro con paladar ojival, otro con labio leporino; un paciente con dedos en palillo de tambor, otro con aracnodactilia), no se le puede adjudicar ningún significado ni valor diagnóstico concreto. También se encontró escoliosis en el 16% de los pacientes, hallazgo anteriormente comunicado y que Federico y colaboradores¹⁴⁵ en 1993 relacionaron con una posible osteoporosis por una alteración en el transporte intestinal de calcio a su vez debida a la alteración de la composición y cantidad de ácidos biliares. Finalmente un 64% de los pacientes tenía pie cavo, hallazgo ya conocido, pero para el que hemos encontrado una prevalencia probablemente mayor de la esperada. De estos 16 pacientes, tan sólo 1 tenía un estudio neurofisiológico normal (aunque con valores de las velocidades de conducción motora y sensitiva en el límite) y en 3 pacientes no se llegó a realizar. En el resto de los casos sí se pudo documentar la presencia de una polineuropatía como probable origen del pie cavo.

Otro dato llamativo es que se encontró una relación estadísticamente significativa entre la edad del diagnóstico y la existencia de dismorfias, de polineuropatía, de epilepsia y de demencia, siendo la edad de diagnóstico menor entre los pacientes que tenían estos síntomas, con respecto a los pacientes que tenían afectación de la vía piramidal, ataxia, parkinsonismo, retraso psicomotor o trastornos psiquiátricos. Es de suponer una mayor preocupación de la población hacia ciertos síntomas o signos (dismorfias, neuropatía, epilepsia, demencia) que les ha llevado a demandar una asistencia sanitaria más precoz, con respecto a otros síntomas (afectación piramidal, ataxia, retraso psicomotor, alteraciones psiquiátricas) que son más difíciles de reconocer o menos importantes para la población o que relacionan con otro tipo de especialistas.

Además, se encontró una relación estadísticamente significativa entre la edad de inicio de los síntomas y la presencia de xantomias, siendo el inicio de los síntomas más precoz en los pacientes que no tenían xantomias. Se podría argumentar que todo el colestanol que se acumula a nivel de los tendones no lo hará a otros niveles al menos hasta fases más tardías. Por ello, si el colestanol se acumula a nivel cerebral más tarde, los síntomas neurológicos serán posteriores. No obstante, no se puede demostrar esta hipótesis, puesto que desconocemos el motivo por el que el colestanol se acumula en unos tejidos más que en otros (por ejemplo por qué se acumula a nivel de los núcleos dentados de manera preferente en el cerebelo).

Kuriyama y colaboradores¹³⁰ objetivaron en 1991 la presencia de miocardiopatía isquémica asociada a la enfermedad con una frecuencia que estimaban como superior a lo previamente publicado. En nuestra serie, no se objetivaron alteraciones cardiovasculares en ninguno de los pacientes, si bien al ser un estudio descriptivo, tan sólo nos basamos para hacer la estimación en los antecedentes clínicos, en la radiografía de tórax y en el electrocardiograma (en la mayor parte de los pacientes no se había realizado ningún ecocardiograma). Por otro lado, Dotti y colaboradores¹³² encontraron en 1998 una hipertrofia lipomatosa del septo atrial (HLSA) en 4 de 9 pacientes con XCT. Puesto que en la mayoría de los casos no se había realizado ecocardiograma, deben interpretarse estos datos con reservas, no pudiéndose excluir del todo la existencia de una afectación cardíaca.

Un 12% de los pacientes asociaba nefrolitiasis y un 20% colelitiasis, hallazgos ya descritos con anterioridad y probablemente relacionados con la deficiencia de sales biliares.

Un 12% de los pacientes tenían una afectación tiroidea (un nódulo tiroideo, un hipotiroidismo y una tiroiditis autoinmune). No se ha relacionado anteriormente la afectación tiroidea con la XCT. Si bien el número de pacientes con este tipo de afectación es reducido (3 pacientes de entre 25), estos hallazgos son a tener en cuenta.

Dos pacientes tenían una enfermedad reumatológica asociada (uno artritis reumatoide y el otro una enfermedad de Marfan incompleta). Otros 2 pacientes tenían una enfermedad intestinal (uno intolerancia a la lactosa y el otro una enfermedad celíaca y una malrotación intestinal). Al tratarse de casos aislados, no pueden interpretarse estos hallazgos como relacionados con la enfermedad. Tampoco se han descrito en la literatura estas enfermedades en pacientes con XCT.

6.3. Pruebas complementarias

6.3.1. Análisis

La prueba bioquímica habitualmente utilizada como apoyo principal al diagnóstico de XCT es el colestanol plasmático. Es de destacar sin embargo que tan sólo contamos en esta serie con la determinación de colestanol del 48% de los pacientes. Al habernos basado en el estudio genético como criterio diagnóstico (y siendo un estudio puramente descriptivo), en más de la mitad de los pacientes se había omitido esta determinación. El criterio de facilidad de acceso, de cercanía geográfica y el coste económico probablemente hayan sido los responsables de estos resultados: al tener uno de los centros de referencia en Santiago de Compostela, en la mayor parte de los pacientes procedentes de Galicia el diagnóstico se ha basado exclusivamente en el estudio genético. Por el contrario en el resto de áreas de España con frecuencia el estudio genético se ha realizado una vez obtenido el resultado de la determinación de colestanol realizada en el Instituto de Bioquímica Clínica de Barcelona. Es posible que existan otros pacientes con la enfermedad diagnosticados exclusivamente en base la clínica junto con los niveles de colestanol y en los que no se haya completado el estudio desde el punto de vista genético, por lo que no se tenga constancia de los mismos en nuestros centros de referencia.

El rango de la normalidad de los niveles plasmáticos de colestanol está entre 2 y 12,6 $\mu\text{mol/L}$. Los niveles detectados en los pacientes con XCT de esta serie son claramente superiores a este rango (entre 5 y 20 veces el valor superior de la normalidad), con una media de 112 $\mu\text{mol/L}$ (es decir diez veces el rango superior de la normalidad) y encontrándose la mayoría de los valores entre 50 y 125 $\mu\text{mol/L}$. Puesto que cada laboratorio tiene sus propios rangos de normalidad, no hay datos en la literatura sobre la distribución de estos niveles ni sobre su significado. Cifras elevadas de colestanol no son exclusivas de la XCT, y pueden observarse, por ejemplo, en enfermedades hepáticas, fitosterolemia, hipotiroidismo e hiperlipoproteinemia familiar tipo II. También pueden encontrarse elevaciones moderadas en portadores heterocigotos asintomáticos.

Es llamativo el hecho de que no se observó ninguna relación significativa entre los niveles de colestanol y el grado de discapacidad. A pesar de que en la literatura se sobreentiende que unos niveles de colestanol más elevados se relacionan con un peor pronóstico funcional y vital, habiendo utilizado algunos autores los niveles de

colestanol como método de monitorización de la respuesta al tratamiento, los resultados de nuestra serie ponen en duda esta aplicación. Entre los 12 pacientes en los que sí se determinaron los niveles de colestanol no se ha visto que en los pacientes con mayor discapacidad funcional los niveles de colestanol fueran superiores. Esto en parte se explica por la dispersión de los datos obtenidos. Una limitación importante para poder alcanzar conclusiones definitivas sobre la relación entre el nivel de colestanol y el pronóstico funcional es que desconocemos en gran medida la evolución natural de la enfermedad, al ser una enfermedad tan poco prevalente y al contar con series tan reducidas. Además, a cada paciente se le ha realizado la determinación de colestanol en el momento del diagnóstico, es decir a una edad diferente y en un momento de la evolución natural de su enfermedad diferente y como tal es difícil interpretar estos resultados. Para ello, sería necesario estudiar en un paciente con la enfermedad la evolución natural de esta determinación (si hay variaciones según el sexo, la edad y diversos factores ambientales), para posteriormente poder interpretar los resultados obtenidos tras la instauración del tratamiento, cosa que nunca va a ser posible por motivos éticos. Por lo tanto, debemos insistir en que hay que tener precaución a la hora de interpretar el significado de los niveles de colestanol. Unos niveles muy elevados son muy útiles para establecer el diagnóstico de la enfermedad, pero no tienen valor pronóstico ni de seguimiento terapéutico demostrado y pueden en ocasiones llevar a confusiones. Por otro lado, Siman-Tov y colaboradores¹³⁸ plantearon en el 2006 que la administración de esteroides podría reducir los niveles de colestanol como consecuencia de un aumento de la actividad de la CYP27A1 y de la CYP3A4 por afectación de los procesos transcripcionales y postranscripcionales. Es decir, que incluso algunos tratamientos concomitantes podrían influir sobre los niveles de colestanol.

Otras cifras que subrayan la mala correlación entre el nivel de colestanol y el pronóstico funcional las encontramos en el grupo de pacientes que fallecieron y en el grupo de inicio más temprano. Llamamos la atención unos menores niveles de colestanol entre los pacientes que han fallecido con respecto a los pacientes que siguen vivos. Teniendo en cuenta que los pacientes que han fallecido son los que se han diagnosticado de una manera más tardía, podríamos deducir que en las fases más avanzadas de la enfermedad los niveles de colestanol son menores. Otra posible explicación para este hallazgo podría ser que en los pacientes que fallecen el colestanol se deposita en los diferentes tejidos (cristalino, tendones, cerebro) y que por ello es menor el colestanol circulante en sangre.

Por otro lado se encontraron unos menores niveles de colestanol en los pacientes que iniciaron más precozmente con síntomas neurológicos. Esto a su vez podría relacionarse con una curva de niveles propia de la enfermedad en la que en las fases iniciales los niveles fueran bajos o con el hecho de que algunos pacientes tienen una mayor susceptibilidad al acumulo de colestanol en los tejidos, y que por lo tanto en ellos el colestanol en sangre fuera menor. No obstante como ya hemos indicado con anterioridad tan sólo se trata de hipótesis, no pudiendo demostrarse ninguna de ellas al no conocer la evolución natural de la enfermedad.

Con respecto al colesterol, Moghadasian y colaboradores⁴ ya publicaron en el 2004 que los niveles de colesterol en los pacientes con XCT solían ser normales. En nuestra serie encontramos también unos niveles de colesterol normales, con una media de 175 mg/dL. Se intentó relacionar los niveles de colesterol con los diferentes síntomas y con la supervivencia de los pacientes, no encontrándose ninguna relación estadísticamente significativa. Por lo tanto, no parece que el colesterol se relacione con ningún factor pronóstico, ni funcional de la enfermedad. Shore y colaboradores¹⁴⁰ describieron en 1981 un perfil lipídico aterogénico en los pacientes con XCT que incluía una reducción de la HDL, con un aumento de los ésteres de colesterol y de los triglicéridos que no ha podido demostrarse en esta serie. Por otro lado, la mayoría de los pacientes de nuestra serie estaban recibiendo el tratamiento combinado de AQDC y una estatina.

Kuriyama y colaboradores¹³⁰ describieron en 1991 que en algunos pacientes con XCT puede objetivarse un leve aumento de las proteínas en el líquido cefalo-raquídeo y que incluso en ocasiones se puede detectar colesterol y colestanol. En el 20% de los pacientes de nuestra serie se realizó una punción lumbar, siendo la bioquímica del LCR normal en todos los casos. No se estudió la presencia de colesterol/colestanol en LCR en ninguno de los casos.

En nuestra opinión, el estudio genético tiene algunas ventajas frente a la determinación plasmática de colestanol y debería considerarse la primera prueba complementaria ante la sospecha clínica.

6.3.2. Pruebas de imagen

Uno de los primeros autores en hablar de las pruebas de imagen en la XCT fue Berginer¹⁴⁶, que en 1981 publicó los resultados de la TC craneal realizada a 9 pacientes con XCT. Los principales hallazgos que describió fueron la hipodensidad de la sustancia blanca supra e infratentorial y en tan sólo un caso encontró una afectación

focal a nivel de los hemisferios cerebelosos. En nuestra serie en 9 de los casos se realizó TC craneal. En 5 de estos 9 casos (55%) se visualizó una hipodensidad simétrica a nivel de ambos núcleos dentados. La proporción de pacientes en los que se encontró esa imagen tan características es por lo tanto bastante superior en nuestra serie a la encontrada por Berginer¹⁴⁶. También la calidad y la accesibilidad de la TC han mejorado considerablemente en estos 20 años. No se encontró en ningún paciente la hipodensidad de la sustancia blanca descrita por Berginer¹⁴⁶. Sí se halló en otros 2 casos una atrofia mayor de la esperada para la edad del paciente.

Con respecto a la RM, Barkhof y colaboradores¹⁴ publicaron en el 2000 los resultados de las RM craneales realizadas a 24 pacientes con XCT, concluyendo que en esta enfermedad se produce una afectación de la sustancia blanca periventricular, el *globus pallidus*, los pedúnculos cerebrales, los núcleos dentados, la sustancia blanca y las olivas inferiores. Posteriormente se ha ido viendo que la afectación radiológica más características en esta enfermedad es la gliosis en los núcleos dentados, rodeada de áreas de licuefacción, hasta casi considerarse esta afectación como patognomónica de la enfermedad¹⁴⁷. En nuestra serie se realizó RM craneal a 23 de los 25 pacientes. De los otros 2 pacientes, en 1 no se tienen los datos al respecto y en el otro no se hizo al estar casi asintomático (se diagnosticó al completar el estudio genético a los hermanos). Vemos por lo tanto como la RM es claramente la prueba de imagen de elección en este tipo de pacientes y como su accesibilidad en toda la geografía nacional es uniforme. Los hallazgos más frecuentemente encontrados fueron la atrofia cortico-subcortical (en el 61%) y la hiperintensidad de los núcleos dentados (en el 61%). Además, el 30% presentaban una hiperintensidad de la vía piramidal, el 26% leucoaraiosis y el 8% lesiones de aspecto desmielinizante. En 5 casos (22%), la RM craneal fue normal. Estos hallazgos con parecidos a los descritos por Barkhof¹⁴, aunque con respecto a la literatura posterior es llamativo que la afectación de los núcleos dentados sea probablemente menos frecuente de lo esperado. De los 10 pacientes en los que la RM no mostraba afectación cerebelosa, 3 eran formas espinales puras, 4 eran formas predominantemente espinales, con algún síntoma neurológico de menor magnitud que la afectación espinal, y los otros 3 casos eran formas típicas pero diagnosticadas de una forma precoz (edad inferior a los 30 años).

En primer lugar es de destacar como en las fases iniciales de la enfermedad la RM craneal suele ser normal. Al tratarse de una enfermedad degenerativa, el colesterol se va acumulando lentamente en los tejidos, por lo que al principio el depósito es

microscópico y posteriormente según evoluciona la enfermedad se va haciendo macroscópico. Por lo tanto deducimos que cuando ya se puede visualizar en la RM craneal la afectación cerebelosa, estamos ya en fases muy avanzadas. Una vez más, estos hallazgos nos permiten incidir en la importancia de un diagnóstico precoz y en que una RM craneal normal no permite excluir esta enfermedad.

En segundo lugar es de destacar como también desde el punto de vista radiológico se pueden identificar dos subtipos de pacientes: los pacientes en los que el colestanol se deposita predominantemente a nivel cerebeloso y que como tal desarrollan la forma clásica con síntomas neurológicos supratentoriales diversos pero con importante ataxia y los pacientes en los que el colestanol se deposita predominantemente a nivel medular y que desarrollan la forma predominantemente espinal, con algún síntoma supratentorial de diversa intensidad.

Finalmente 2 pacientes tenían una malformación de Chiari tipo I, un paciente unos senos craneales agrandados, y un paciente higromas crónicos subdurales. Estos hallazgos al contar con una frecuencia de aparición demasiado baja son de dudoso significado y de dudosa relación con la enfermedad. No hay casos publicados en la literatura con estos hallazgos en la RM.

En resumen, con respecto a la RM craneal, la afectación de los núcleos dentados es muy sugestiva de la enfermedad, aunque sólo aparece en el 61% de los casos. También es frecuente la presencia de atrofia, y la afectación de la vía piramidal. No obstante, los pacientes en fases precoces de la enfermedad y los pacientes con formas espinales pueden tener una RM craneal normal, por lo que una prueba de imagen normal no permite excluir el diagnóstico, especialmente si la presentación clínica es de predominio espinal o si la edad es menor de 30 años.

Cuende y colaboradores¹⁴⁹ propusieron en 1996 la utilización de la RM craneal para valorar la respuesta terapéutica. Ante los hallazgos anteriormente descritos parece difícil pensar que la RM craneal pueda ser de interés para el seguimiento de la enfermedad. Esta prueba no podría emplearse ni en las formas precoces, ni en las formas espinales (que en nuestra serie ya supondrían el 43% de los casos). Además, cuesta creer que permita diferenciar los cambios acontecidos en unos meses, dado que ni siquiera es útil en las formas precoces (antes de los 30 años).

De Stefano y colaboradores¹⁵¹ publicaron en el 2001 los hallazgos de la espectroscopia realizada a 12 pacientes con XCT, encontrando un descenso del ratio NAA/Cr que se correlacionaba con la discapacidad y un aumento del ratio La/Cr por

afectación del metabolismo mitocondrial. En nuestra serie se había realizado espectroresonancia en dos pacientes, que fue normal. No obstante se trataba de dos pacientes con formas clínicas predominantemente espinales, en las que la RM craneal basal había sido también normal.

A nivel medular Barkhof y colaboradores¹⁴ describieron un aumento de señal en T₂ en las columnas laterales y dorsales. En nuestra serie tan sólo se realizó RM espinal en 8 pacientes (32%), de los cuales en tal sólo 2 (25%) se objetivaba un sutil aumento de señal del cordón medular. Por lo tanto a diferencia de lo descrito en la literatura, la proporción de RM medulares patológicas fue baja (25%) y los hallazgos encontrados en éstas fueron sutiles y difusos, no habiendo localizado la afectación a nivel dorsal y lateral como mencionan otros autores. No obstante el número de casos es bajo y existe una variabilidad en la interpretación de las imágenes entre radiólogos, por lo que conviene ser cautos a la hora de interpretar estos hallazgos.

En dos de los pacientes se intentó realizar una tomografía por emisión de fotón único (SPECT), aunque tan sólo en uno de los casos fue concluyente. Esta prueba demostraba una hipoperfusión generalizada, tanto fronto-temporal, como frontoparietal, de hemisferios cerebelosos, y de predominio en hemisferio izquierdo. Clínicamente el paciente había cursado con un retraso psicomotor desde la infancia, ataxia, parkinsonismo y pie cavo, por lo que vemos que los hallazgos encontrados parecen corresponder con la clínica de retraso psicomotor y ataxia. Guyant-Marcehal y colaboradores⁹¹ presentaron en 2005 un caso de XCT que había debutado con una demencia fronto-temporal y en el que el SPECT - a diferencia de nuestro caso- tan sólo había mostrado una hipoperfusión cerebelosa. Por el contrario, el equipo de Castelnovo⁹⁷ sí había descrito dos años antes una hipoperfusión temporal en un paciente con XCT con retraso mental, ataxia y epilepsia. En resumen, no existe ningún patrón específico de SPECT descrito en la XCT. Comparado con los pocos otros casos publicados, sí parece que el paciente de nuestra serie tenía una hipoperfusión más extensa y generalizada.

Kuwabara y colaboradores¹⁶⁰ describieron en 1996 un paciente con XCT y parkinsonismo en el que el PET con 6-fluorodopa sugería una afectación de las neuronas dopaminérgicas presinápticas. Además, el paciente, que inicialmente no mejoraba con L-dopa, sí lo hizo con AQDC, pravastatina y LDL-aféresis. En nuestra

serie se ha realizado un DaTSCAN en una paciente con parkinsonismo. A diferencia de lo anteriormente descrito ese DaTSCAN era compatible con un parkinsonismo *plus*. Además, esa paciente no mejoró con el tratamiento dopaminérgico, ni con la LDL-aféresis, ni con el AQDC. Una vez más, se observa la gran heterogenicidad de presentación clínica, neuroimagen y respuesta terapéutica.

Con respecto a los tendones, se realizó una radiografía de los tobillos en 2 pacientes, visualizándose en uno de ellos un aumento de partes blandas. Cuando Van Bogaert² describió la enfermedad por primera vez en 1937 también utilizó esa prueba de imagen al ser la única disponible en aquella época. Posteriormente Ortega y colaboradores¹⁵⁴ describieron la existencia de áreas ecogénicas con sombra acústica en ausencia de calcificaciones demostrables en la TC como patognomónica de infiltración del tendón por cristales lipídicos y como tal muy sugestiva de la XCT¹⁵⁴. En nuestra serie se realizó ecografía de tendón en un paciente siendo los hallazgos similares a los descritos por Ortega y colaboradores¹⁵⁴ (un engrosamiento muy marcado hipoeoico con algunas zonas que dejan sombra acústica posterior). Finalmente cada vez se viene utilizando más la resonancia magnética para el estudio de los tendones. Ya en 1993, Pardo y colaboradores¹² describieron el resultado de la RM de tendones en un paciente con XCT, en el que encontraron un agrandamiento difuso de los mismos, con áreas de hiperseñal, otras de isoseñal y otras de hiposeñal¹². En nuestra serie se completó el estudio con RM de tendones en 5 pacientes (el 20%). En todos los casos, la RM mostró un engrosamiento fusiforme de intensidad heterogénea, hallazgo acorde con lo descrito en la literatura. En algunos casos incluso la RM permitió diagnosticar pequeños xantomas que no eran visibles anatómicamente.

6.3.3. Estudios neurofisiológicos

Se realizó electroneurografía en 18 de los pacientes, de los cuales 6 fueron normales. De los 12 restantes, 7 (39%) mostraban un patrón desmielinizante, 4 (22%) un patrón axonal y 1 (5%) un patrón mixto. Las publicaciones al respecto son contradictorias. Algunos autores como Kuritzky¹⁵⁹ y Argov¹²² han publicado que la polineuropatía que se produce en la XCT es predominantemente desmielinizante. Argov¹²² además completó el estudio de sus casos con la biopsia de nervio sural que mostraba una pérdida de fibras de mielina, una proliferación de las células de Schwann, una formación de bulbos de cebolla y la existencia de segmentos de desmielinización y

de remielinización, datos que también apoyaban el origen desmielinizante de la polineuropatía. Cuende y colaboradores¹⁴⁹ también visualizaron en 1996 una desmielinización segmentaria en la biopsia de nervio sural. Por contrario, otros autores como Tokimura¹⁵⁶ han descrito una polineuropatía de predominio axonal. Estos autores incluso llegaron a plantear una hipótesis etiopatogénica según la cual la neuropatía en la XCT podría deberse a una axonopatía distal que afecta a los axones largos antes que a los más cortos. En resumen, los hallazgos de nuestra serie indican que en la XCT puede existir una neuropatía tanto axonal, como desmielinizante. La forma desmielinizante es más frecuente (58% de los pacientes con polineuropatía), aunque en un 33% puede ser axonal y en un 8% mixta.

Los potenciales evocados somato-sensoriales (PESS) fueron patológicos en 8 de los 9 realizados. De estos 8, 4 mostraban una afectación exclusiva en miembros inferiores, mientras que en los otros 4 la afectación era de miembros tanto inferiores como superiores. En todos los casos la alteración consistía tanto en un aumento de las latencias, como en una desestructuración del trazado. Diversos autores han descrito con anterioridad una afectación de los PESS en miembros inferiores que han relacionado con una posible degeneración axonal distal¹⁵⁶⁻¹⁵⁸. La afectación de miembros tanto inferiores como superiores que hemos encontrado en la mitad de nuestros pacientes y que no se ha descrito con anterioridad podría corresponder a un estadio más grave de la enfermedad, es decir la degeneración axonal distal podría producirse inicialmente en los miembros inferiores que son más largos y posteriormente en los miembros superiores.

Se realizó la conducción motora central (CMC) en dos pacientes, hallando en ambos casos una afectación de la vía cortico-espinal bilateral. Ugawa y colaboradores¹⁵⁸ publicaron en 1988 los resultados de las velocidades de CMC de 3 pacientes con XCT, que estaban retrasadas fundamentalmente en MMII. Relacionaron estos hallazgos con una probable desmielinización del tracto corticoespinal y de las columnas posteriores¹⁵⁸. Unos años más tarde, en 1992, Restuccia y colaboradores¹⁵⁷ plantearon la utilidad de la CMC y de los PESS en la monitorización de la respuesta al tratamiento y de la evolución de la enfermedad. En nuestra serie sí se objetivaron unas CMC alteradas, fundamentalmente en MMII. No se realizó ningún control evolutivo, por lo que no se pueden sacar conclusiones sobre su utilidad en la monitorización de la enfermedad.

En un paciente de nuestra serie se realizó el reflejo de parpadeo, que mostró una lesión tronco-encefálica a nivel pontino bilateral. No hay datos en la literatura con respecto a este tipo de pruebas. No obstante este hallazgo parece ser congruente, puesto

que sabemos que el colestanol tiene cierto tropismo por los núcleos dentados, por lo que parece lógico que este reflejo se haya visto alterado de manera bilateral.

Se realizó electroencefalograma a 12 de los pacientes, de los cuales 5 fueron normales, 2 estaban desestructurados, 2 mostraban ondas agudas, 2 punta-onda generalizadas y 1 ondas lentas. Meiner y colaboradores⁸⁸ presentaron en 1994 dos pacientes que tenían una actividad desorganizada en el EEG con ondas lentas⁸⁸. Así mismo, unos años más tarde Van Heijst y colaboradores¹¹⁰ observaron además de una actividad desorganizada algunas ondas agudas. Por lo tanto los hallazgos de esta serie parecen coincidir con lo anteriormente descrito y no revelan datos electroencefalográficos específicos en la XCT.

Los potenciales evocados (PEV) visuales presentaban un aumento de las latencias y un trazado desestructurado en 7 de los 10 estudios realizados. Otros autores ya habían descrito con anterioridad este tipo de alteraciones¹⁵⁶, que parecen estar relacionadas con un posible acúmulo de colestanol en el nervio óptico.

Federico y colaboradores¹⁶² presentaron en 1991 los resultados de las biopsias musculares realizadas en 8 pacientes con XCT. Encontraron un aumento en la variabilidad del tamaño de las fibras, un engrosamiento fucsínofílico periférico en bastantes fibras, y en la microscopia electrónica unos agregados mitocondriales en la región subsarcolémica, algunas inclusiones paracristalinas típicas y gotas de lípidos neutros¹⁶². Unos años más tarde Dotti y colaboradores¹⁶³ presentaron un caso de XCT con disfunción mitocondrial generalizada. En nuestra serie, se realizó biopsia muscular en 2 pacientes, sin objetivarse alteraciones estructurales, ultraestructurales, ni inmunohistoquímicas.

En 7 de los pacientes de la serie se biopsió el tendón, encontrándose un xantoma tendinoso, con células espumosas, depósito de colesterol y tejido conjuntivo. Estos hallazgos son similares a los ya descritos por otros autores^{102,149,153}. Como única aportación, una de las muestras fue enviada a Dijon, donde se determinaron las concentraciones de ésteres, hallándose en 100 mg de tejido 26,2 µg de colesterol, 50 ng/mg de colestanol y 34 ng/mg de 8-lastosterol. Al no disponer de otra literatura al respecto, sobreentendemos que estas concentraciones son elevadas, sin poder añadir otro valor a este hallazgo.

6.4. Estudio necrópsico

Durante el seguimiento falleció uno de los pacientes y fue posible realizar un estudio necrópsico en ese caso, objeto de una publicación en el *Journal of Neurology*¹⁸⁷.

Sólo tenemos conocimiento de otros cinco casos de XCT estudiados postmortem en la literatura. Desde el punto de vista macroscópico, las principales alteraciones incluyen atrofia cerebral y depósitos amarillentos múltiples en los plexos coroideos y en la sustancia blanca cerebral y cerebelosa^{14,71,85,164}. En nuestro caso también se encontró atrofia (peso 1210g) y una coloración amarillenta con un aspecto granular de los núcleos dentados, del mesencéfalo, de los *globus pallidus* y la sustancia blanca periventricular, así como unos nódulos de 1-2 mm en los plexos coroideos¹⁸⁷.

Desde el punto de vista microscópico las principales descripciones de la literatura incluyen desmielinización y gliosis extensas en la sustancia blanca cerebelosa y en las vías piramidales^{85,164}, con múltiples hendiduras con cristales lipídicos dispersos¹⁴, así como acúmulo de células espumosas y de material homogéneo similar a la mielina, fundamentalmente alrededor de los vasos^{71,85}. La mayoría de los autores relacionan estos hallazgos con el acúmulo de colesterol y de colestanol en los tejidos afectados¹⁶⁷ que pueden ser neurotóxicos y provocar axonopatía¹⁶⁴. En nuestro caso se encontraron acúmulos perivasculares de histiocitos espumosos, depósitos extracelulares y perivasculares de material *mielina-like*, astrocitosis reactiva, áreas de inflamación crónica rodeando hendiduras de cristales de lípidos y una severa pérdida neuronal y desmielinización, todo ello fundamentalmente a nivel de los núcleos dentados, la sustancia blanca cerebelosa, el mesencéfalo, los *globus pallidus* y la sustancia blanca periventricular. Por lo tanto, estos hallazgos coinciden plenamente con lo publicado en la literatura y apoyarían el acúmulo de colestanol y colesterol en las estructuras encefálicas como mecanismo etiopatogénico fundamental.

La repercusión de las lesiones anteriormente descritas confirma que se trata de una enfermedad grave, en la que se produce una extensa afectación a nivel cerebral que parece poco probable que pueda ser reversible (ante la importante pérdida neuronal, la desmielinización y el acúmulo de material *mielina-like* y de cristales de lípidos) una vez instaurado el daño celular y tisular. Una vez más, estos resultados subrayan la importancia de un diagnóstico precoz, con el fin de iniciar el tratamiento lo antes posible, antes de que se produzcan estas graves lesiones cerebrales.

Por otro lado, puede ser interesante realizar una correlación entre los hallazgos anatómo-patológicos, clínicos y radiológicos en este caso. Este paciente había debutado

con un retraso mental leve y esquizofrenia paranoide hacia los 40 años. Posteriormente hacia los 50 años presentó signos de neuropatía óptica, alteración de la marcha (parkinsonismo y ataxia) y deterioro cognitivo. En la primera RM craneal realizada a los 50 años tan sólo se objetivaba una atrofia cortico-subcortical fronto-parietal bilateral. A lo largo de los 5 siguientes años el paciente se fue deteriorando hasta precisar silla de ruedas y ser dependiente para todas las actividades básicas de la vida diaria. En una segunda RM craneal realizada a los 55 años, además de la atrofia cortico-subcortical se visualizaban en T₂ y en FLAIR unas imágenes hiperintensas asimétricas a nivel de los pedúnculos cerebrales, región anterior de la protuberancia bilateral, núcleos dentados y sustancia blanca periventricular. El paciente falleció a los 56 años. Vemos por lo tanto las lesiones anatómo-patológicas que veíamos a nivel macroscópico y posteriormente a nivel microscópico se corresponden con las imágenes hiperintensas visualizadas en T₂ y en FLAIR. Finalmente vemos como en la etapa inicial la RM tan sólo mostraba una atrofia y como a medida que la enfermedad progresa y que el acúmulo se incrementa, éste se llega a visualizar radiológicamente.

6.5. Hallagos genético-moleculares

En todos los casos se encontraron los 2 alelos mutados. Esto refleja que la XCT no está causada por grandes reordenamientos genéticos, ni por mutaciones en el interior de intrones, tipo de mutaciones que no habrían sido detectadas mediante la técnica empleada. Esto demuestra que la secuenciación directa es apropiada para el abordaje genético de estos pacientes.

Se encontraron un total de 14 diferentes mutaciones, de las cuales 7 no habían sido descritas anteriormente en la literatura. De entre las mutaciones, 6 eran *missense*, 3 *nonsense*, 3 de *splicing* y 2 inserciones- deleciones. Esta proporción es discretamente diferente a la publicada por Gallus y colaboradores⁷ en el 2006, que encontró un 45% de *missense*, 20% *nonsense*, 18% intrónicas, 14% deleciones y 2% inserciones.

En cuanto a la localización de las mutaciones, 2 estaban en el intrón 4, 2 en el exón 4, 1 en el exón 5, 1 en el intrón 6, 2 en el exón 6, 2 en el exón 7, 1 en el exón 8 y 1 en el exón 9. Estos hallazgos concuerdan también con lo descrito anteriormente: existe un *hotpoint* entre los exones 6 y 9 donde se localizan una mayor proporción de mutaciones³. En nuestra serie, el 36,1% de las mutaciones se localizan en el exón 6, es decir en la zona de unión a la ferredoxina.

Entre las deleciones que no habían sido descritas con anterioridad en la literatura hemos encontrado c.1043-1054delTGTTACCACCTCT en el exón 6 y c.1414-1421delGGGGTCCG en el exón 8. Ambas son deleciones largas que alteran todo el resto de la secuencia. Estas deleciones posiblemente afectan a los sitios de unión para el hemo y para la adrenodoxina^{1,3}.

Entre las mutaciones intrónicas que no habían sido descritas con anterioridad hemos encontrado c.844+1G→T. Verrips y colaboradores⁸⁶ publicaron en 1997 una mutación en esa misma localización: c.844+1G→A. Se cree que este tipo de mutaciones producen un ARNm aberrante que se degrada rápidamente o un cambio de estructura y translación de un polipéptido que es enzimáticamente inactivo al no presentar el grupo hemo o adrenodoxina^{1,3}.

También encontramos dos mutaciones *nonsense* no descritas previamente: p.Q230X en el exón 4 y p.Q525X en el exón 9. Estas mutaciones llevan a un codón de parada precoz y por lo tanto a la pérdida de un fragmento de la proteína.

Finalmente hemos hallado otras 2 mutaciones no publicadas previamente, de tipo *missense*: p.W268C en el exón 4 y p.T343R en el exón 6 .

Con respecto a la distribución de estas mutaciones es muy llamativa la alta prevalencia de la mutación p.R395C que representa el 33,3% de las mutaciones, es decir la tercera parte. Además esta mutación es especialmente prevalente en el área de Galicia. De las 8 familias procedentes de Galicia con estudio genético, 6 tenían esta mutación, además de una familia procedente de Asturias.

Por otro lado es llamativo que los tres pacientes procedentes de Andalucía tenían la mutación p.R405W (uno de ellos en homocigosis y los otros dos en heterocigosis), que fue descrita por Verrips¹ en un paciente de los Países Bajos.

Diversos autores han intentado relacionar el genotipo y el fenotipo de la enfermedad sin éxito^{82,86}. En nuestra serie, 3 pacientes no emparentados son portadores de la mutación p.R395C en homocigosis. Dos de estos pacientes presentan similitudes clínicas: forma espinal, con pie cavo, xantomas, cataratas y depresión, con RM craneal normal y con nefrolitiasis. Por el contrario el tercer paciente tiene una forma de presentación completamente diferente: retraso psicomotor, ataxia, parkinsonismo, deterioro cognitivo, xantomas, cataratas y colelitiasis.

Con respecto a los hermanos portadores de mismas mutaciones, heterocigotos compuestos, tenemos 2 parejas de hermanos con presentaciones clínicas similares. Los

casos 2-3 portadores de las mutaciones p.Q230X y p.R395C cursaron con paraparesia, pie cavo, cataratas e importantes trastornos psiquiátricos, con RM craneal normal y sin xantomas. Ambos fallecieron hacia los 50-60 años. Los casos 10-11, portadores de la mutación en homocigosis c.1043-1054delTGTACCACCTCT cursaron con ataxia, deterioro cognitivo y cataratas tardías.

Por el contrario tenemos otros 3 grupos de hermanos con diferentes fenotipos. El caso 15, portadora de las mutaciones p.R395C y c.1414-1421delGGGGTCCG cursó con ataxia, deterioro cognitivo, alteraciones psiquiátricas, xantomas y cataratas. Al hacer el *screening* familiar, se objetivó la presencia de xantomas tendinosos, así como de pie cavo en su hermana 6 años mayor. La paciente confirmó que había sido intervenida de cataratas y de xantomas tendinosos unos años antes. Se planteó que la exéresis de los xantomas y como tal de un depósito importante de colestanol en el organismo podía haber jugado un papel en la diferente intensidad de la sintomatología neurológica a pesar de tratarse de la hermana 6 años mayor.

También los casos 4, 5 y 6 son hermanos, portadores de las mutaciones p.R395C y p.Q525X, con diferente presentación: uno de los hermanos está casi asintomático y los otros dos tienen ataxia, deterioro cognitivo, xantomas y cataratas.

Otro caso interesante es el de las hermanas 12 y 13, portadoras de las mutaciones p.R395C y c.1043-1054delTGTACCACCTCT. Son hermanas gemelas bivitelinas. Ambas desarrollaron un retraso psicomotor y posteriormente paraparesia, pie cavo y cataratas. En ambas se inició el tratamiento con AQDC. Una se ha mantenido estable, mientras que la otra ha seguido progresando hasta estar en silla de ruedas. Ambas viven juntas, por lo que son fáciles de excluir los factores medioambientales. En este caso un importante factor que diferenciaba a las pacientes era el antecedente de un embarazo en la hermana que evolucionó mejor. Se planteó como hipótesis que durante los meses del embarazo al ser el feto presumiblemente sano y como tal tener una actividad normal de la 27-hidroxilasa, éste pudo compensar en parte la deficiencia de la madre y ejercer como factor protector retrasando la formación de colestanol y como tal su acumulación.

Por lo tanto no hemos podido identificar una buena correlación genotipo-fenotipo. Tampoco el análisis de *cluster* nos permitió descubrir asociaciones entre los diferentes grupos. Bartholdi y colaboradores⁸² plantearon en el 2004 dos posibles hipótesis para la variabilidad fenotípica intrafamiliar: la activación preferente de un alelo diferente en cada hermano y las diferencias individuales en la activación de otras posibles vías que también participen en el acúmulo de colesterol y de colestanol⁸².

6.6. Consejo genético

Además, es de destacar que en 3 de las familias (un 16%) no se haya querido completar el estudio familiar a pesar de la sospecha de existir otro miembro afectado, sabiendo que existe un tratamiento para la XCT. Esto podría explicarse por el nivel cultural de los pacientes, por un estigma social aún existente en nuestro país en lo que a las enfermedades hereditarias se refiere y/o por un distanciamiento familiar. Al tratarse de un estudio descriptivo nos hemos limitado a recomendar a los pacientes y/o neurólogos implicados la conveniencia de hacer un diagnóstico lo más precoz posible de cara a un inicio precoz del tratamiento.

6.7. Tratamiento y evolución

Desde que Berginer y colaboradores¹⁵ publicaron en 1984 la existencia de una mejoría tanto clínica, como bioquímica, radiológica y neurofisiológica en 17 pacientes con XCT tras la administración de AQDC durante 1 año, poco se ha avanzado en lo que al tratamiento de la XCT se refiere. En 1986, Swanson y colaboradores¹⁷² describieron un paciente que había seguido progresando a pesar de la instauración del tratamiento con AQDC. Unos años más tarde, en 1991, Peynet y colaboradores¹⁷⁵ publicaron que la asociación de un inhibidor de la HMG-CoA reductasa al AQDC lograba una mayor reducción de los niveles tanto de colesterol (con un perfil más antiaterogénico) como de colestanol. En nuestra serie, de los 25 pacientes, 6 recibieron tratamiento con AQDC y 18 la asociación de AQDC y un inhibidor de la HMG-CoA reductasa. Del grupo que recibió AQDC fallecieron 2 y del grupo que recibió la asociación fallecieron otros 2. También falleció un paciente que sólo recibió vitamina E. Por lo tanto no se encontró ninguna diferencia estadísticamente significativa en la supervivencia entre ambos grupos. Al ser la cifra baja no se puede extraer ninguna conclusión sobre la eficacia de ambos tratamientos. Por el contrario sí se ha podido relacionar la supervivencia con una edad al diagnóstico más tardía.

Tan sólo se realizó seguimiento neurofisiológico en uno de los pacientes, objetivándose un deterioro en los potenciales evocados y en la conducción motora central a pesar del tratamiento. Así mismo sólo se realizó seguimiento radiológico en 5 de los pacientes de los cuales tan solo 2 tenían alteraciones típicas en la RM (los otros 2 tenían formas espinales y el último era un diagnóstico precoz con RM normal). No se objetivaron cambios en las RM (en uno de los casos el intervalo fue de un año y en el

otro de 7 años). Finalmente se realizó un seguimiento de los niveles de colestanol en 6 pacientes. En todos los casos, tras la instauración del AQDC los niveles de colestanol se redujeron. En tan sólo 2 casos se llegaron a normalizar. Por lo tanto, los niveles de colestanol se reducen, pero los estudios complementarios de función y daño neurológico no se modifican.

Desde que Amura y colaboradores¹⁷⁷ plantearon en 1993 la LDL-aféresis como un tratamiento alternativo en la XCT en caso de rápida progresión o de intolerancia al AQDC, ha habido una gran controversia al respecto. Un año más tarde, Berginer¹⁸⁰ respondió con otra publicación desaconsejando esta técnica, al no haber encontrado una respuesta con dicha terapia, al presentar ciertos riesgos técnicos, al no actuar sobre el mecanismo fisiopatológico de la enfermedad y al existir un tratamiento farmacológico comercializado. En nuestra serie, un paciente estuvo recibiendo LDL-aféresis durante 6 años, a pesar de lo cual la enfermedad siguió progresando hasta quedar en silla de ruedas, dependiente para todas las actividades básicas de la vida diaria. Así mismo, se realizó una RM craneal al inicio de dicha terapia y al primer año, no encontrándose mejoría alguna desde el punto de vista radiológico.

Para tres pacientes no se dispone de datos de seguimiento. De forma global, de los 22 pacientes con datos de evolución disponibles, tan sólo 6 (27%) se estabilizaron. De entre los 16 (73%) que han seguido progresando, 5 han fallecido, con una edad media de fallecimiento de 52 años. Se encontró una relación estadísticamente significativa entre la supervivencia y la edad del diagnóstico, siendo la supervivencia menor entre los que se diagnosticaron de manera tardía, con un retraso medio desde el inicio de los síntomas hasta su diagnóstico de 35 años. Estas cifras obligan a insistir en que se trata de una enfermedad degenerativa y potencialmente mortal a edades relativamente precoces. Esta serie incluye los primeros diagnósticos hace 20 años, cuando apenas se conocía la enfermedad. Esta tendencia está cambiando, pues se está empezando a diagnosticar de manera más temprana la enfermedad. Queda por conocer en un futuro si la instauración precoz de un tratamiento que se ha demostrado que permite reducir los niveles de colestanol es capaz de retrasar el depósito cerebral de colestanol y mejorar su supervivencia.

Para finalizar, la figura 52 resume el protocolo diagnóstico y terapéutico que recomendamos para detectar y tratar la XCT.

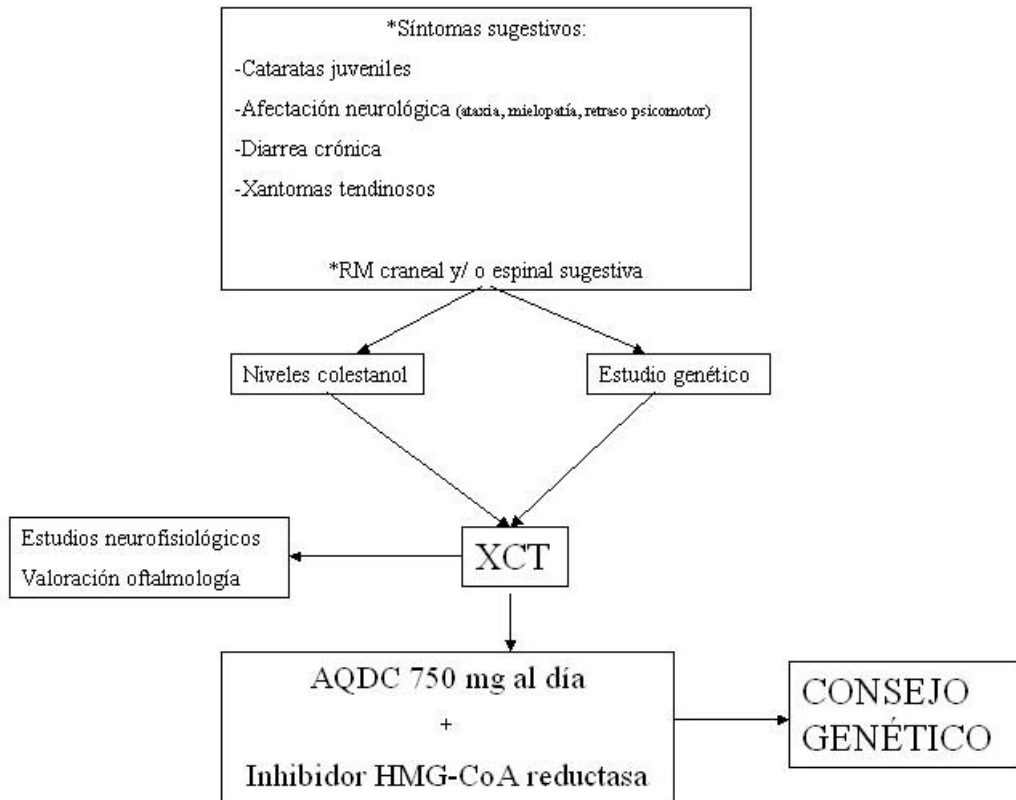


Figura 52.- Protocolo diagnóstico y terapéutico en caso de sospecha de XCT.

7. CONCLUSIONES

1. La presente serie es la única en nuestro país sobre esta enfermedad de la que tengamos constancia. La prevalencia encontrada en esta serie, sugiere que este trastorno posiblemente sea la heredoataxia recesiva más frecuente después de la enfermedad de Friedreich.
2. Existe un área de alta prevalencia de este trastorno en la región noroeste de España. La presencia frecuente de la mutación p.R395C indica la existencia probable de un fundador común en estos casos.
3. El síntoma de inicio de la enfermedad más frecuentemente encontrado fue el retraso psicomotor. Esto apunta la necesidad de implicar a los neuropediatras en la detección precoz de la enfermedad.
4. En nuestra serie se pueden diferenciar dos grupos clínicos principales. La forma clásica predominantemente supratentorial con ataxia *plus*, y la forma predominantemente espinal con paraparesia espástica. Debido a la presencia de un subtipo espinal menos conocido en esta enfermedad, se debe de incluir la XCT en el diagnóstico diferencial de las mielopatías crónicas.
5. La valoración funcional ha demostrado que se trata de una enfermedad moderadamente incapacitante en edades relativamente precoces (EDSS medio 4,8 en la tercera década de la vida).
6. Aunque la hiperintensidad a nivel de los núcleos dentados es una imagen muy característica de esta enfermedad, es poco sensible al no estar presente en las formas espinales, ni en los casos precoces.
7. Se han identificado en pacientes españoles con XCT siete mutaciones no descritas previamente en la literatura: c.1043-1054delTGTACCACCTCT, c.1414-1421delGGGGTCCG, c.844 +1G→T, p.W268C, p.T343R, p.Q230X y p.Q525X.

8. Los niveles de colestanol plasmático no se correlacionan con la severidad clínica ni permiten monitorizar la respuesta terapéutica.
9. La presencia de una enorme pérdida neuronal y acúmulos de cristales lipídicos a nivel cerebral en el estudio necrópsico explica la irreversibilidad del cuadro una vez establecido.
10. El tratamiento con ácido quenodeoxicólico a pesar de normalizar los niveles de colestanol no detiene el curso degenerativo progresivo de esta enfermedad. El seguimiento de los pacientes detectados en fases iniciales permitirá conocer si en estos casos la enfermedad puede detenerse con el tratamiento.

8. CEREBROTENDINOUS XANTHOMATOSIS IN SPAIN: MUTATIONS, CLINICAL AND THERAPEUTICAL ASPECTS

• INTRODUCTION

In 1936, Schneider¹⁸ described xanthomatous lesions in the nervous system of a mentally challenged patient who died at the age of 36. A year later, van Bogaert et al.² reported the presence of xanthomatous lesions in the tendons and the nervous system of a patient with dementia, ataxia and cataract, all markers for CTX disease .

CTX is a rare, autosomal recessive, lipid storage disease, caused by a deficiency of the mitochondrial enzyme sterol 27-hydroxylase (CYP27)¹. Sterol 27-hydroxylase, a member of the mitochondrial cytochrome P₄₅₀ family, catalyzes the initial oxidation of the side chain of sterol intermediates at the C₂₇ position in hepatic bile acid synthesis, as well as vitamin D₃ in C₁ and C₂₅ positions³. Such a deficiency results in a reduced production of bile acids, predominantly chenodeoxycholic acid (CDCA) and in the increased formation of intermediate metabolites such as cholestanol and 27-carbon bile alcohols⁴. The decreased bile-acid pool may be responsible for increased cholesterol biosynthesis through a feed-back regulatory mechanism⁴. Consequent overproduction of cholesterol and cholestanol leads to excess deposits of these sterols in all body tissues, predominantly in the brain, lungs, lens and Achilles tendons⁴. The enzyme is expressed in the CNS, liver, lung, duodenum and endothelial cells²⁴.

In 1989, Andersson et al.⁵ characterized the ADNc encoding rabbit mitochondrial CYP27, which is a member of the mitochondrial cytochrome P450 enzyme family. In 1991, the cDNA for human *CYP27A1* (cytochrome P450, family 27, subfamily A, polypeptide 1) was isolated, hybridizing rabbit cDNA to a liver cDNA library, and its gene was localised on the distal portion (q33-qter) of the long arm of chromosome 2⁶. The first mutations in *CYP27* gene were described⁶. The genomic structure of the *CYP27* gene was elucidate in 1993. This gene contains nine exons and eight introns and spans 18,6 kb of cDNA⁹. Molecular cloning of the human sterol 27-hydroxylase cDNA has shown that the protein consists of a 498 amino acid mature enzyme and a 33 amino acid mitochondrial signal sequence⁶. The promoter region is rich in guanine and cytosine residues and contains three potential binding sites for the transcription factor SP1 and one for the liver transcription factor LF-B1⁹. The sequence encoding the hydrophobic “exrapeptide” mitochondrial signal is located in exon 1⁹. The mature enzyme contains adrenodoxin-binding site (residues 351-365) and the heme-binding site

(residues 435-464). These regions are the conserved part of the gene and interact with the two protein cofactors, adrenodoxin and adrenodoxin reductase⁷. The enzyme also requires ferredoxin as a co-factor and ferredoxin reductase for electron transfer⁹. The putative ferredoxin binding site is located at the 3' end of exon 6⁹. Using recombination and linkage analysis, Lee et al.³ fine-mapped the *CYP27A1* gene locus to between markers D2S2249-D2S433.

A review of the literature allowed Gallus et al. to list 49 different mutations in more than 300 CTX patients, distributed throughout exons 1-8 of the *CYP27A1* gene⁷, which cause the enzyme to be dysfunctional¹¹. The majority of them are amino acid substitutions (65%). Mutations analysis shows that 22 (45%) are missense mutations, 10 nonsense mutations (20%), 9 splice site mutations (18%), 7 deletions (14%) and one insertion (2%)⁷. Some of these mutations have a relatively high frequency in some ethnic groups such as p.T339M in Dutch patients, p.R474(Q-W) in Japanese patients and p.A216P in Italian cases⁷. A higher frequency of CTX has also been described in Israeli Druze⁸, and in Moroccan Jews⁹, because of an increased homozygosity related to a high degree of consanguinity.

Patients with CTX usually have a history of chronic diarrhea during infancy⁴. Bilateral cataracts and tendon xanthomas may develop in the third decade of life. In this respect, unexplained juvenile cataracts, which can be associated with chronic diarrhea should always suggest the possibility of CTX¹¹³. The presence of Achilles tendon xanthomas in a patient with normal plasma cholesterol and sitosterol levels differentiates CTX xanthomas from familial hypercholesterolemia and sitosterolemia⁴. Neurologic symptoms generally appear in early adulthood⁴. The range of neurological symptoms is wide, from low intelligence to ataxia, dementia, cerebellar and pyramidal signs and epilepsy. Parkinson's disease syndrome and psychiatric disturbances may be seen¹²⁹. Peripheral demyelinating neuropathy is also commonly observed¹²². Psychiatric disorders are also commonly found, such as depression or psychotic symptoms¹²⁶

Beside cataracts, other ophthalmological findings include optic disk atrophy and signs of premature retinal senescence¹¹³. Some patients have xanthelasmas⁴. The absence of xanthomas does not exclude the diagnosis, but can delay it¹⁰. Atherosclerosis and consequent cardiac events are a serious concern in patients having CTX⁴. Thickening of the interatrial septum compatible with lipomatous hypertrophy has also been described in some patients with CTX¹³². Pes cavus or high arched feet, osteoporosis and fractures are associated with CTX in some cases⁴.

The primary laboratory finding is a markedly elevated concentration of cholestanol and bile alcohols in plasma and affected organs, urinary excretion of bile-alcohol glucuronides and diminished biliary concentrations of cholic acid and CDCA⁴. Interestingly, plasma cholesterol levels and lipoprotein profiles remain within or below normal range (the lipoprotein profile is substantially “antiatherogenic”)⁴. The increased prevalence of atherosclerosis in this disease must therefore be related to additional genetic and/or environmental factors¹³². Although elevated sterols can be an important index in the diagnosis of CTX, they are also demonstrated in primary biliary cirrhosis and cholestasis¹¹. The presence of apolipoprotein B in cerebrospinal fluid indicates penetration of LDL cholesterol particles from plasma through the blood-brain barrier⁴. ¹H-NMR spectroscopy of blood plasma or serum lipid extracts can be used to accurately identify and quantify unusual lipids in blood of patients with inborn errors of lipid metabolism¹⁸⁸. With regard to bone metabolism, Federico et al.¹⁴⁵ found serum calcium, phosphate and vitamin D metabolites in normal ranges, but a reduction in total body density and an impairment of intestinal radiocalcium absorption in the majority of the patients.

Cerebral CT scan demonstrates diffuse hypodensities in white matter of both cerebellar hemispheres¹². MRI findings typically include a bilateral and almost symmetrical increase of signal intensity on T₂-weighted images in the cerebellar and periventricular cerebral white matter, the basal ganglia, the dentate nuclei and the brainstem, as well as cerebellar and cerebral atrophy¹³. In these locations, lipid crystal clefts and perivascular macrophages, neuronal loss, demyelination, fibrosis and reactive astrocytosis were found at microscopic examination¹⁴. Hypointensity is sometimes found on T₂-weighted images in dentate nucleus and is related to deposition of hemosiderin and calcifications¹⁴. Transcranial sonography shows a pronounced calcification and hemosiderin deposits of the dentate nucleus, not affecting the basal ganglia¹⁵⁵. Spinal cord MRI reveals increased signal intensity in the lateral and dorsal columns on T₂-weighted images¹⁴. MRI study of the Achilles tendon shows a diffuse enlargement of the tendon with multiple areas of hypersignals in T₁ and T₂ demonstrative of the lipid deposition, interposed between the isosignal zones that may correspond to the inflammatory reaction secondary to the accumulation of cholesterol and cholestanol¹². The presence of ultrasound echogenic areas with acoustic shadowing in the absence of calcification demonstrable by CT scan can be considered pathognomonic of lipid-crystal infiltration of the tendon¹⁵⁴. Proton MR spectroscopy

data demonstrated widespread axonal damage (as shown by the decrease in N-acetylaspartate) and diffuse brain mitochondrial dysfunction (as shown by the increase in brain parenchyma lactate) in patients with CTX¹⁵¹. The close correlation seen between the values of the putative axonal marker N-acetylaspartate and the patients' disability scores suggests that proton MR spectroscopy can provide a useful measure of disease outcome in CTX¹⁵¹. Quantitative assessment of brain damage in patients with CTX by using magnetization transfer MR imaging has the potential to provide powerful measures of disease outcome and to improve our understanding of CTX pathophysiology¹⁵². Technetium-99m ECD brain SPECT in a 44-years old man who presented with fronto-temporal dementia revealed a severe cerebellar hypoperfusion⁹¹. Sural nerve biopsies displayed severe loss of large myelinated fibers with demyelination, marked Schwann cell proliferation and onion bulb formation¹²². In the necropsy studies, lesions are characterized by loss of myelinated fibres and accumulation of lipid products in the form of foamy macrophages and crystalline clefts, accompanied by gliosis, occasional axonal spheroids and in the cerebellum also by multinucleated foreign giant cells¹⁶⁴. Demyelination is not seen, and ultrastructurally myelin sheaths are normally structured. Signs of axonal degeneration are also present in the spinal roots¹⁶⁴.

Replacement therapy with CDCA, which inhibits abnormal bile-acid synthesis, is most effective in correcting the biochemical abnormalities¹⁵ and slowing progression of the disease⁴. Hydroxymethylglutaryl coenzyme A (HMG-CoA) reductase inhibitors (statins) have been used to manage CTX⁴. Kuriyama et al.¹⁶ investigated the effectiveness of oral administration of CDCA alone, HMG-CoA reductase inhibitor (pravastatin) alone and the combination of both drugs. They concluded that the combination of CDCA and pravastatin was the best therapy for CTX, based on the improvement of serum lipoprotein metabolism, the suppression of cholesterol synthesis and the reduction of cholestanol and plant sterol levels¹⁶. The progression of the disease was arrested but dramatic effects on clinical manifestations, xanthoma and electrophysiological findings could not be found after the treatment with these drugs¹⁶. Mondelli et al.¹⁷¹ reported in 2001 that chronic CDCA therapy improves all electrophysiological measures without clinical improvement, except the slight diminution of xanthomas after a few months of therapy. In contrast, untreated subjects deteriorated clinically and electrophysiologically¹⁷¹. Cuende et al.¹⁴⁹ pointed out the utility of MRI in the follow-up of treatment with CDCA in patients with CTX.

LDL-apheresis has also been employed to reduce plasma cholestanol levels and to improve clinical symptoms⁴. However, Berginer and Salen¹⁸⁰ have pointed that this method is not harmless and may further increase cholestanol production and enlarge body-tissue pools.

Lorincz et al.¹⁷ published in 2005 that CTX may have higher prevalence than previously recognized. It is crucial that the diagnosis of CTX can be made before there is any neurological deterioration, since early treatment with CDCA can halt the progression of this disorder by feedback control¹¹. In this regard, specific biochemical tests in children with unexplained bilateral cataracts and a history of chronic diarrhoea are key steps to early diagnosis, preventing progression and treatment of this potentially fatal disease⁴.

- **METHODS**

The diagnosis of XCT was established by the characteristic clinical features, together with the mutational analysis or the finding of high serum cholestanol levels.

We reviewed all patients with CTX diagnosed between 1995 and 2008 in the main Reference Centres for the genetic diagnosis of CTX in Spain (Fundación Pública Galega de Medicina Xenómica in Santiago de Compostela and Hospital Ramón y Cajal in Madrid).

We studied the following data: sex, geographical origin, mutations, affected relatives, age at first neurological symptoms, age at diagnosis, age at death, first symptom, age at cataracts, presence of xanthomas, localization of xanthomas, diarrhoea, pyramidal signs, cerebellar signs, epilepsy, parkinsonism, myopathy, peripheral neuropathy, mental retardation, psychiatric disturbances, cognitive decline, cardio-vascular disturbances, dysmorphia, cholestanol, cholesterol, cerebrospinal fluid, brain MRI, spinal MRI, electromyography, evoked potentials, EEG, therapies, response to treatment and the presence of other diseases. Severity was scored by the Kurtzke Expanded Disability Status Scale (EDSS).

DNA from these patients was also analysed. The DNA was extracted from peripheral blood leukocytes and *CYP27* gene coding region was amplified by polymerase chain reaction and sequenced.

The study was approved by the Ethics Committee of the Hospital Ramon y Cajal.

- **RESULTS**

25 patients (10 males, 15 females) were diagnosed between 1995 and 2008 in Spain. The average age at onset of symptoms was 19 years-old. Since the average age at diagnosis was 38 years-old, we can conclude that the average delay between the initial symptoms and the diagnosis was 19 years. We observed a shorter survival in patients who were diagnosed later.

Among general abnormalities, cataracts were present in 92% of the patients, tendon xanthomas in 56% and chronic diarrhoea in 44%. The most frequent neurological signs were pyramidalism (92%), cerebellar signs (76%) and peripheral neuropathy (64%). Cognitive decline was present in 52% of the patients, psychiatric disturbances in 60%, mental retardation in 48%, epilepsy in 32% and parkinsonism in 16%. We scored by the Expanded Disability Status Scale (EDSS) an average disability at diagnosis of 4,8.

All the patients whose serum cholestanol level was tested had levels more than ten times higher than normal controls. We did not find a significant relationship between the disability and the cholestanol levels. On the other hand, we found lower cholestanol levels at diagnosis in patients with shorter survival and in patients with earlier neurological symptoms. In patients in whom brain MRI was available, global atrophy and hyperintense abnormalities on the dentate nuclei were present in 61%. Evoked potential studies (visual evoked potential, somatosensory evoked potential) revealed delayed central conduction times in 70% (VEP) and 88% (SSEP). In 39% of the patients in whom an EMG was performed, demyelinating neuropathy could be established, in 22% axonal neuropathy and in 5% mixed neuropathy. 33% EMG were normal.

In the 19 families 14 different mutations were found. They consisted of 6 missense mutations, 2 deletions, 3 splice site and 3 nonsense mutations. 7 novel mutations were found. A c.804G→T transversion in exon 4 resulting in the substitution of triptophan by cysteine in codon 268 and a c.1029C→G transition in exon 6 resulting in the substitution of threonine by arginine in codon 343 were observed. Two novel nonsense mutations were present: a c.688C→T transversion in exon 4 changing codon 230 into a termination codon and a c.1473C→T transversion in exon 9 changing codon 525 into a termination codon. Two deletions were also found: c.1043-1054 delTGACCACCTCT in exon 6 and c.1414-1421 delGGGGTCCG in exon 8. Finally a c.844+1G→T transversion in intron 4 affecting the splicing site was observed.

24% of patients received CDCA and 72% were treated with CDCA associated with a HMG-CoA reductase inhibitor. With this treatment, a considerable decrease in serum cholestanol level was found, although no clinical improvement could be observed. 24% of patients remained stable while 64% continued to deteriorate. 20% of patients died. The average age at death was 52. In these patients the average age at first symptoms had been 15 while average age at diagnosis had been 51 years (the average delay in this group had been 36 years). The delay in diagnosis and in treatment could account for this severe course.

During the follow-up, we were able to study the brain of a deceased case. This autopsy revealed at macroscopic examination brain atrophy (weight 1210 g) and a yellowish soft tissue in the cerebellum and in the plexus choroideus. In the optic microscopy study, the dentate nuclei and surrounding white matter of both cerebellar hemispheres showed extensive rarefaction with severe neuronal loss, demyelination, lipid crystal cleft fibrosis and reactive astrocytosis. Lipid-laden macrophages and myelin-like material were seen around small blood vessels in the cerebrum white matter, caudate nucleus and cerebellum. These findings suggest the limited reversibility of the disease, and its bad prognosis, specially when therapy is not started precociously.

- **DISCUSSION**

We quantified the disability of these patients through the Expanded Disability Status Scale (EDSS) and found a moderate disability (4,8) at the age of diagnosis. This disability was more important when diagnosis was more delayed. On the other hand, survival was shorter if diagnosis was more delayed. These arguments reinforce the importance of early diagnosis.

As other authors had previously described⁷², we found two main subgroups: patients with the classical form (cerebellar and other supratentorial symptoms) and patients with the spinal form (chronic myelopathy). Therefore CTX should be included as well in the differential diagnosis of chronic myelopathies.

We did not find a significant relationship between level of cholestanol in serum and clinical disability of patients. Remarkably, levels of cholestanol were lower in patients with shorter survival and in patients with earlier symptoms. We can not establish any hypothesis, since we ignore the spontaneous evolution of cholestanol levels in untreated cases, or why cholestanol has a special tropism for certain tissues. Therefore we can not

conclude that serum cholestanol has a prognostic value or is useful for the follow-up of the disease.

Different authors have described the hyperintensities in T₂ MRI on dentate nuclei and on pyramidal tracts as a very specific finding in CTX^{14,147}. Nevertheless in our series we only observed these findings in 61% and in 30% of cases respectively. We found a normal or non-specific cranial MRI in early stages of the classical forms (30%) and in the spinal forms (70%). The spectroscopy of two patients with spinal form was normal. We can conclude that a normal cranial MRI does not exclude the diagnosis and we doubt about the usefulness of MRI in the follow-up of these patients that some authors have proposed¹⁴⁹.

The necropsic findings (demyelination, lipid crystal clefts, foamy cells, myelin-like material^{14,71,85,164}) represent the consequence of accumulation of cholesterol and cholestanol in affected tissues¹⁶⁷ which may be neurotoxic, with resultant axonopathy¹⁶⁴. The severity of these lesions confirms the seriousness of the disease and questions its reversibility, reinforcing that the classical therapy of this disorder could be effective only if it is started before this deposit occurs.

In the Spanish CTX patients the mutation p.R395C was the most common, being found in more than one third of the alleles. Its predominant distribution in the Northwest of Spain suggests a common founder. Within the different mutations, 61% were missense, 11% deletions, 14% splice site and 14% nonsense mutations. We described 7 novel mutations. No specific genotype-phenotype correlation could be established.

In this series, long-term administration of CDCA did not improve the neurological disorder. Despite this therapy, 64% of the patients continued to deteriorate and 20% died. Survival was statistically associated only with the age at diagnosis (being the age of diagnosis in the patients who died delayed an average of 35 years). These findings suggest that early detection is the most important factor in the prognosis of these patients. Early therapy could reduce the impact of the disease.

- **CONCLUSIONS**

1. This is the first series of XCT in Spain to our knowledge. CTX is probably the second most frequent recessive ataxia (after Friedreich's ataxia)
2. The prevalence of CTX is higher in the Northwest of Spain. The high prevalence of p.R395C in this area could prove a common founder

3. The most frequent initial symptom found was mental retardation. Paediatric neurologists should be aware of this fact, to include CTX in the differential diagnosis of treatable causes of mental retardation.
4. CTX has two main presentation forms: the classical form (cerebellar ataxia plus other supratentorial symptoms) and the spinal form (spastic paraparesia plus other symptoms). Consequently, XCT should be included in the differential diagnosis of chronic myelopathy
5. A moderate disability (EDSS 4,8) at early stages (third decade of life) was found contrarywise to the general statement. CTX is a serious condition
6. The hyperintensity on dentate nuclei in cranial MRI, although highly specific, is not very sensitive, since it is not present in spinal forms and in early stages of the disease.
7. In this series, 7 new mutations were identified: c.1043-1054delTGTAACCTCT, c.1414-1421delGGGGTCCG, c.844 +1G→T, p.W268C, p.T343R, p.Q230X and p.Q525X.
8. Cholestanol levels do not correlate with clinical severity or with the response to therapy.
9. The microscopic findings of neuronal loss and lipid crystal clefts suggest the limited reversibility of the disease
10. Long-term treatment with CDCA although normalises cholestanol level, does not improve neurological manifestations. Early therapy, before pathological lesions have been established, could prevent the progression of the disease.

9. BIBLIOGRAFÍA

1. Verrips A, Hoefsloot LH, Steenbergen GC, Theelen JP, Wevers RA, Gabreels FJ et al. Clinical and molecular genetic characteristics of patients with cerebrotendinous xanthomatosis. *Brain* 2000; 123(Pt 5):908-919.
2. Van Bogaert L, Scherer HJ, Epstein E. Une forme cérébrale de la cholesterinose généralisée. Paris: Mason et Cie . 1937.
3. Lee MH, Hazard S, Carpten JD, Yi S, Cohen J, Gerhardt GT et al. Fine-mapping, mutation analyses, and structural mapping of cerebrotendinous xanthomatosis in U.S. pedigrees. *J Lipid Res* 2001; 42(2):159-169.
4. Moghadasian MH. Cerebrotendinous xanthomatosis: clinical course, genotypes and metabolic backgrounds. *Clin Invest Med* 2004; 27(1):42-50.
5. Andersson S, Davis DL, Dahlback H, Jornvall H, Russell DW. Cloning, structure, and expression of the mitochondrial cytochrome P-450 sterol 26-hydroxylase, a bile acid biosynthetic enzyme. *J Biol Chem* 1989; 264(14):8222-8229.
6. Cali JJ, Hsieh CL, Francke U, Russell DW. Mutations in the bile acid biosynthetic enzyme sterol 27-hydroxylase underlie cerebrotendinous xanthomatosis. *J Biol Chem* 1991; 266(12):7779-7783.
7. Gallus GN, Dotti MT, Federico A. Clinical and molecular diagnosis of cerebrotendinous xanthomatosis with a review of the mutations in the CYP27A1 gene. *Neurol Sci* 2006; 27(2):143-149.
8. Leitersdorf E, Safadi R, Meiner V, Reshef A, Bjorkhem I, Friedlander Y et al. Cerebrotendinous xanthomatosis in the Israeli Druze: molecular genetics and phenotypic characteristics. *Am J Hum Genet* 1994; 55(5):907-915.
9. Leitersdorf E, Reshef A, Meiner V, Levitzki R, Schwartz SP, Dann EJ et al. Frameshift and splice-junction mutations in the sterol 27-hydroxylase gene cause cerebrotendinous xanthomatosis in Jews or Moroccan origin. *J Clin Invest* 1993; 91(6):2488-2496.
10. Campdelacreu J, Munoz E, Cervera A, Jauma S, Giros M, Tolosa E. [Cerebrotendinous xanthomatosis without tendinous xanthomas: presentation of two cases]. *Neurologia* 2002; 17(10):647-650.
11. Wang PW, Chang WN, Lu CH, Chao D, Schrag C, Pan TL. New insights into the pathological mechanisms of cerebrotendinous xanthomatosis in the Taiwanese using genomic and proteomic tools. *Proteomics* 2006; 6(3):1029-1037.
12. Pardo J, Prieto JM, Rodriguez JR, Vadillo J, Dapena MD, Noya M. [Magnetic resonance of the brain and Achilles tendon in cerebrotendinous xanthomatosis]. *Neurologia* 1993; 8(8):268-270.
13. Vanrietvelde F, Lemmerling M, Mespreuve M, Crevits L, De Reuck J, Kunnen M. MRI of the brain in cerebrotendinous xanthomatosis (van Bogaert-Scherer-Epstein disease). *Eur Radiol* 2000; 10(4):576-578.
14. Barkhof F, Verrips A, Wesseling P, Der Knaap MS, van Engelen BG, Gabreels FJ et al. Cerebrotendinous xanthomatosis: the spectrum of imaging findings and the correlation with neuropathologic findings. *Radiology* 2000; 217(3):869-876.

15. Berginer VM, Salen G, Shefer S. Long-term treatment of cerebrotendinous xanthomatosis with chenodeoxycholic acid. *N Engl J Med* 1984; 311(26):1649-1652.
16. Kuriyama M, Tokimura Y, Fujiyama J, Utatsu Y, Osame M. Treatment of cerebrotendinous xanthomatosis: effects of chenodeoxycholic acid, pravastatin, and combined use. *J Neurol Sci* 1994; 125(1):22-28.
17. Lorincz MT, Rainier S, Thomas D, Fink JK. Cerebrotendinous xanthomatosis: possible higher prevalence than previously recognized. *Arch Neurol* 2005; 62(9):1459-1463.
18. Schneider C. Über eine eigenartige Hirnerkrankung (vaskuläre Lipoidose). *Allg Z Psychiatr* 104, 144. 1936.
19. Menkes JH, Schimschock JR, Swanson PD. Cerebrotendinous xanthomatosis. The storage of cholestanol within the nervous system. *Arch Neurol* 1968; 19(1):47-53.
20. Menkes JH, Philippart M. Cholestanol storage in the nervous system of two patients with cerebrotendinous xanthomatosis. *Trans Am Neurol Assoc* 1968; 93:66-9.:66-69.
21. Salen G. Cholestanol deposition in cerebrotendinous xanthomatosis. A possible mechanism. *Ann Intern Med* 1971; 75(6):843-851.
22. Setoguchi T, Salen G, Tint GS, Mosbach EH. A biochemical abnormality in cerebrotendinous xanthomatosis. Impairment of bile acid biosynthesis associated with incomplete degradation of the cholesterol side chain. *J Clin Invest* 1974; 53(5):1393-1401.
23. Oftebro H, Bjorkhem I, Stormer FC, Pedersen JI. Cerebrotendinous xanthomatosis: defective liver mitochondrial hydroxylation of chenodeoxycholic acid precursors. *J Lipid Res* 1981; 22(4):632-640.
24. Reiss AB, Martin KO, Rojer DE, Iyer S, Grossi EA, Galloway AC et al. Sterol 27-hydroxylase: expression in human arterial endothelium. *J Lipid Res* 1997; 38(6):1254-1260.
25. Javitt NB. Biologic role(s) of the 25(R),26-hydroxycholesterol metabolic pathway. *Biochim Biophys Acta* 2000; 1529(1-3):136-141.
26. Norlin M, von Bahr S, Bjorkhem I, Wikvall K. On the substrate specificity of human CYP27A1: implications for bile acid and cholestanol formation. *J Lipid Res* 2003; 44(8):1515-1522.
27. Okuda KI. Liver mitochondrial P450 involved in cholesterol catabolism and vitamin D activation. *J Lipid Res* 1994; 35(3):361-372.
28. Bjorkhem I, Leitersdorf E. Sterol 27-hydroxylase deficiency: a rare cause of xanthomas in normocholesterolemic humans. *Trends Endocrinol Metab* 2000; 11(5):180-183.
29. Bjorkhem I. Inborn errors of metabolism with consequences for bile acid biosynthesis. A minireview. *Scand J Gastroenterol Suppl* 1994; 204:68-72.:68-72.
30. Javitt NB. 25R,26-Hydroxycholesterol revisited: synthesis, metabolism, and biologic roles. *J Lipid Res* 2002; 43(5):665-670.
31. Javitt NB, Kok E, Cohen B, Burstein S. Cerebrotendinous xanthomatosis: reduced serum 26-hydroxycholesterol. *J Lipid Res* 1982; 23(4):627-630.

32. Javitt NB. 26-Hydroxycholesterol: synthesis, metabolism, and biologic activities. *J Lipid Res* 1990; 31(9):1527-1533.
33. Salen G, Tint GS, Eliav B, Deering N, Mosbach EH. Increased formation of ursodeoxycholic acid in patients treated with chenodeoxycholic acid. *J Clin Invest* 1974; 53(2):612-621.
34. Kuramoto T, Furukawa Y, Nishina T, Sugimoto T, Mahara R, Tohma M et al. Identification of short side chain bile acids in urine of patients with cerebrotendinous xanthomatosis. *J Lipid Res* 1990; 31(10):1895-1902.
35. Shefer S, Dayal B, Tint GS, Salen G, Mosbach EH. Identification of pentahydroxy bile alcohols in cerebrotendinous xanthomatosis: characterization of 5beta-cholestane-3alpha, 7alpha, 12alpha, 24xi, 25-pentol and 5beta-cholestane-3alpha, 7alpha, 12alpha, 23xi, 25-pentol. *J Lipid Res* 1975; 16(4):280-286.
36. Batta AK, Salen G, Tint GS. Hydrophilic 7 beta-hydroxy bile acids, lovastatin, and cholestyramine are ineffective in the treatment of cerebrotendinous xanthomatosis. *Metabolism* 2004; 53(5):556-562.
37. Hoshita T, Yasuhara M, Une M, Kibe A, Itoga E, Kito S et al. Occurrence of bile alcohol glucuronides in bile of patients with cerebrotendinous xanthomatosis. *J Lipid Res* 1980; 21(8):1015-1021.
38. Kihira K, Fukuda K, Kuramoto T, Kuriyama M, Fujiyama J, Osame M et al. Identification of (23S)-5 alpha-cholestane-3 alpha,7 alpha,12 alpha,23,25-pentol in urine of patients with cerebrotendinous xanthomatosis. *Steroids* 1991; 56(9):464-468.
39. Batta AK, Salen G, Shefer S, Tint GS, Batta M. Increased plasma bile alcohol glucuronides in patients with cerebrotendinous xanthomatosis: effect of chenodeoxycholic acid. *J Lipid Res* 1987; 28(8):1006-1012.
40. Kuriyama M, Fujiyama J, Kasama T, Osame M. High levels of plant sterols and cholesterol precursors in cerebrotendinous xanthomatosis. *J Lipid Res* 1991; 32(2):223-229.
41. Wolthers BG, Walrecht HT, van der Molen JC, Nagel GT, Van Doormaal JJ, Wijnandts PN. Use of determinations of 7-lathosterol (5 alpha-cholest-7-en-3 beta-ol) and other cholesterol precursors in serum in the study and treatment of disturbances of sterol metabolism, particularly cerebrotendinous xanthomatosis. *J Lipid Res* 1991; 32(4):603-612.
42. Tint GS, Salen G. Transformation of 5 alpha-cholest-7-en-3 beta-ol to cholesterol and cholestanol in cerebrotendinous xanthomatosis. *J Lipid Res* 1974; 15(3):256-262.
43. Tint GS, Salen G. Biosynthesis of cholesterol, lanosterol, and delta 7-cholestenol, but not cholestanol, in cultured fibroblasts from normal individuals and patients with cerebrotendinous xanthomatosis. *J Lipid Res* 1982; 23(4):597-603.
44. Salen G, Polito A. Biosynthesis of 5 -cholestan-3 -ol in cerebrotendinous xanthomatosis. *J Clin Invest* 1972; 51(1):134-140.
45. Honda A, Salen G, Matsuzaki Y, Batta AK, Xu G, Leitersdorf E et al. Differences in hepatic levels of intermediates in bile acid biosynthesis between Cyp27(-/-) mice and CTX. *J Lipid Res* 2001; 42(2):291-300.

46. Shefer S, Cheng FW, Dayal B, Hauser S, Tint GS, Salen G et al. A 25-hydroxylation pathway of cholic acid biosynthesis in man and rat. *J Clin Invest* 1976; 57(4):897-903.
47. Bjorkhem I, Boberg KM. Inborn errors in bile and biosynthesis and storage of sterols other than cholesterol. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, editors. *The Metabolic and Molecular Basis of Inherited Disease*. New York: McGraw-Hill, 1995: 2073-2099.
48. Skrede S, Buchmann MS, Bjorkhem I. Hepatic 7 alpha-dehydroxylation of bile acid intermediates, and its significance for the pathogenesis of cerebrotendinous xanthomatosis. *J Lipid Res* 1988; 29(2):157-164.
49. Bhattacharyya AK, Lin DS, Connor WE. Cholesterol metabolism in patients with cerebrotendinous xanthomatosis: absorption, turnover, and tissue deposition. *J Lipid Res* 2007; 48(1):185-192.
50. Inoue K, Kubota S, Seyama Y. Cholesterol induces apoptosis of cerebellar neuronal cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1999; 256(1):198-203.
51. von Bahr S, Movin T, Papadogiannakis N, Pikuleva I, Ronnow P, Diczfalussy U et al. Mechanism of accumulation of cholesterol and cholesterol in tendons and the role of sterol 27-hydroxylase (CYP27A1). *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2002; 22(7):1129-1135.
52. Kinoshita M, Kawamura M, Fujita M, Hirota D, Suda T, Taki M et al. Enhanced susceptibility of LDL to oxidative modification in a CTX patient:- role of chenodeoxycholic acid in xanthoma formation. *J Atheroscler Thromb* 2004; 11(3):167-172.
53. Bjorkhem I, Andersson O, Diczfalussy U, Sevastik B, Xiu RJ, Duan C et al. Atherosclerosis and sterol 27-hydroxylase: evidence for a role of this enzyme in elimination of cholesterol from human macrophages. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1994; 91(18):8592-8596.
54. Babiker A, Andersson O, Lund E, Xiu RJ, Deeb S, Reshef A et al. Elimination of cholesterol in macrophages and endothelial cells by the sterol 27-hydroxylase mechanism. Comparison with high density lipoprotein-mediated reverse cholesterol transport. *J Biol Chem* 1997; 272(42):26253-26261.
55. Brown AJ, Watts GF, Burnett JR, Dean RT, Jessup W. Sterol 27-hydroxylase acts on 7-ketocholesterol in human atherosclerotic lesions and macrophages in culture. *J Biol Chem* 2000; 275(36):27627-27633.
56. Dussault I, Yoo HD, Lin M, Wang E, Fan M, Batta AK et al. Identification of an endogenous ligand that activates pregnane X receptor-mediated sterol clearance. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003; 100(3):833-838.
57. Honda A, Salen G, Matsuzaki Y, Batta AK, Xu G, Hirayama T et al. Disrupted coordinate regulation of farnesoid X receptor target genes in a patient with cerebrotendinous xanthomatosis. *J Lipid Res* 2005; 46(2):287-296.
58. von Bahr S, Bjorkhem I, Van't Hooft F, Alvelius G, Nemeth A, Sjoval J et al. Mutation in the sterol 27-hydroxylase gene associated with fatal cholestasis in infancy. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2005; 40(4):481-486.

59. Clayton PT, Verrips A, Siermans E, Mann A, Mieli-Vergani G, Wevers R. Mutations in the sterol 27-hydroxylase gene (CYP27A) cause hepatitis of infancy as well as cerebrotendinous xanthomatosis. *J Inher Metab Dis* 2002; 25(6):501-513.
60. Rosen H, Reshef A, Maeda N, Lippoldt A, Shpizen S, Triger L et al. Markedly reduced bile acid synthesis but maintained levels of cholesterol and vitamin D metabolites in mice with disrupted sterol 27-hydroxylase gene. *J Biol Chem* 1998; 273(24):14805-14812.
61. Dubrac S, Lear SR, Ananthanarayanan M, Balasubramaniyan N, Bollineni J, Shefer S et al. Role of CYP27A in cholesterol and bile acid metabolism. *J Lipid Res* 2005; 46(1):76-85.
62. Sawada N, Sakaki T, Kitanaka S, Kato S, Inouye K. Structure-function analysis of CYP27B1 and CYP27A1. Studies on mutants from patients with vitamin D-dependent rickets type I (VDDR-I) and cerebrotendinous xanthomatosis (CTX). *Eur J Biochem* 2001; 268(24):6607-6615.
63. Chen W, Kubota S, Ujike H, Ishihara T, Seyama Y. A novel Arg362Ser mutation in the sterol 27-hydroxylase gene (CYP27): its effects on pre-mRNA splicing and enzyme activity. *Biochemistry* 1998; 37(43):15050-15056.
64. Chen W, Kubota S, Kim KS, Cheng J, Kuriyama M, Eggertsen G et al. Novel homozygous and compound heterozygous mutations of sterol 27-hydroxylase gene (CYP27) cause cerebrotendinous xanthomatosis in three Japanese patients from two unrelated families. *J Lipid Res* 1997; 38(5):870-879.
65. Chen W, Kubota S, Seyama Y. Alternative pre-mRNA splicing of the sterol 27-hydroxylase gene (CYP 27) caused by a G to A mutation at the last nucleotide of exon 6 in a patient with cerebrotendinous xanthomatosis (CTX). *J Lipid Res* 1998; 39(3):509-517.
66. Chen W, Kubota S, Teramoto T, Nishimura Y, Yonemoto K, Seyama Y. Silent nucleotide substitution in the sterol 27-hydroxylase gene (CYP 27) leads to alternative pre-mRNA splicing by activating a cryptic 5' splice site at the mutant codon in cerebrotendinous xanthomatosis patients. *Biochemistry* 1998; 37(13):4420-4428.
67. Chen W, Kubota S, Nishimura Y, Nozaki S, Yamashita S, Nakagawa T et al. Genetic analysis of a Japanese cerebrotendinous xanthomatosis family: identification of a novel mutation in the adrenodoxin binding region of the CYP 27 gene. *Biochim Biophys Acta* 1996; 1317(2):119-126.
68. den Dunnen JT, Antonarakis SE. Mutation nomenclature extensions and suggestions to describe complex mutations: a discussion. *Hum Mutat* 2000; 15(1):7-12.
69. Antonarakis SE. Recommendations for a nomenclature system for human gene mutations. Nomenclature Working Group. *Hum Mutat* 1998; 11(1):1-3.
70. Segev H, Reshef A, Clavey V, Delbart C, Routier G, Leitersdorf E. Premature termination codon at the sterol 27-hydroxylase gene causes cerebrotendinous xanthomatosis in a French family. *Hum Genet* 1995; 95(2):238-240.
71. Kato H, Koyabu S, Aoki S, Tamai T, Sugawa M, Watanabe M et al. An autopsy case of gallbladder cancer developing in a Japanese man with cerebrotendinous xanthomatosis:

- genetic analysis of the sterol 27-hydroxylase and p53 genes. *Pathology* 2003; 35(2):141-144.
72. Verrips A, Nijeholt GJ, Barkhof F, van Engelen BG, Wesseling P, Luyten JA et al. Spinal xanthomatosis: a variant of cerebrotendinous xanthomatosis. *Brain* 1999; 122(Pt 8):1589-1595.
 73. Lee MJ, Huang YC, Sweeney MG, Wood NW, Reilly MM, Yip PK. Mutation of the sterol 27-hydroxylase gene (CYP27A1) in a Taiwanese family with cerebrotendinous xanthomatosis. *J Neurol* 2002; 249(9):1311-1312.
 74. Watts GF, Mitchell WD, Bending JJ, Reshef A, Leitersdorf E. Cerebrotendinous xanthomatosis: a family study of sterol 27-hydroxylase mutations and pharmacotherapy. *QJM* 1996; 89(1):55-63.
 75. Dotti MT, Federico A, Garuti R, Calandra S. Cerebrotendinous xanthomatosis with predominant parkinsonian syndrome: further confirmation of the clinical heterogeneity. *Mov Disord* 2000; 15(5):1017-1019.
 76. Federico A, Gallus GN, Cardaioli E, Da Pozzo P, Elia M, Szlago M et al. Three novel CYP27A1 mutations in CTX patients. *Eur J Neurol* 2006; 13(Suppl.2):9-41.
 77. Nakashima N, Sakai Y, Sakai H, Yanase T, Haji M, Umeda F et al. A point mutation in the bile acid biosynthetic enzyme sterol 27-hydroxylase in a family with cerebrotendinous xanthomatosis. *J Lipid Res* 1994; 35(4):663-668.
 78. Lamon-Fava S, Schaefer EJ, Garuti R, Salen G, Calandra S. Two novel mutations in the sterol 27-hydroxylase gene causing cerebrotendinous xanthomatosis. *Clin Genet* 2002; 61(3):185-191.
 79. Verrips A, Steenbergen-Spanjers GC, Luyten JA, van den Heuvel LP, Keyser A, Gabreels FJ et al. Two new mutations in the sterol 27-hydroxylase gene in two families lead to cerebrotendinous xanthomatosis. *Hum Genet* 1996; 98(6):735-737.
 80. Wakamatsu N, Hayashi M, Kawai H, Kondo H, Gotoda Y, Nishida Y et al. Mutations producing premature termination of translation and an amino acid substitution in the sterol 27-hydroxylase gene cause cerebrotendinous xanthomatosis associated with parkinsonism. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1999; 67(2):195-198.
 81. Garuti R, Lelli N, Barozzini M, Tiozzo R, Dotti MT, Federico A et al. Cerebrotendinous xanthomatosis caused by two new mutations of the sterol-27-hydroxylase gene that disrupt mRNA splicing. *J Lipid Res* 1996; 37(7):1459-1467.
 82. Bartholdi D, Zumsteg D, Verrips A, Wevers RA, Sistermans E, Hess K et al. Spinal phenotype of cerebrotendinous xanthomatosis--a pitfall in the diagnosis of multiple sclerosis. *J Neurol* 2004; 251(1):105-107.
 83. Garuti R, Croce MA, Tiozzo R, Dotti MT, Federico A, Bertolini S et al. Four novel mutations of sterol 27-hydroxylase gene in Italian patients with cerebrotendinous xanthomatosis. *J Lipid Res* 1997; 38(11):2322-2334.
 84. Ahmed MS, Afsar S, Hentati A, Ahmad A, Pasha J, Juneja T et al. A novel mutation in the sterol 27-hydroxylase gene of a Pakistani family with autosomal recessive cerebrotendinous xanthomatosis. *Neurology* 1997; 48(1):258-260.

85. Spermhake JP, Matschke J, Orth U, Gal A, Puschel K. Sudden death due to cerebrotendinous xanthomatosis confirmed by mutation analysis. *Int J Legal Med* 2000; 113(2):110-113.
86. Verrips A, Steenbergen-Spanjers GC, Luyten JA, Wevers RA, Wokke JH, Gabreels FJ et al. Exon skipping in the sterol 27-hydroxylase gene leads to cerebrotendinous xanthomatosis. *Hum Genet* 1997; 100(2):284-286.
87. Burnett JR, Moses EA, Croft KD, Brown AJ, Grainger K, Vasikaran SD et al. Clinical and biochemical features, molecular diagnosis and long-term management of a case of cerebrotendinous xanthomatosis. *Clin Chim Acta* 2001; 306(1-2):63-69.
88. Meiner V, Meiner Z, Reshef A, Bjorkhem I, Leitersdorf E. Cerebrotendinous xanthomatosis: molecular diagnosis enables presymptomatic detection of a treatable disease. *Neurology* 1994; 44(2):288-290.
89. Meiner V, Marais DA, Reshef A, Bjorkhem I, Leitersdorf E. Premature termination codon at the sterol 27-hydroxylase gene causes cerebrotendinous xanthomatosis in an Afrikaner family. *Hum Mol Genet* 1994; 3(1):193-194.
90. Brautbar C, Yehuda O, Eisenberg S, Cohen N, Amar A, Sharon R et al. Study of a family with Cerebrotendinous Xanthomatosis. No HLA linkage, but an informative recombination between HLA-B and Bf. *Tissue Antigens* 1983; 21(3):233-237.
91. Guyant-Marechal L, Verrips A, Girard C, Wevers RA, Zijlstra F, Siermans E et al. Unusual cerebrotendinous xanthomatosis with fronto-temporal dementia phenotype. *Am J Med Genet A* 2005; 139(2):114-117.
92. Reshef A, Meiner V, Berginer VM, Leitersdorf E. Molecular genetics of cerebrotendinous xanthomatosis in Jews of north African origin. *J Lipid Res* 1994; 35(3):478-483.
93. Harlan WR, Jr., Still WJ. Hereditary tendinous and tuberous xanthomatosis without hyperlipidemia. A new lipid-storage disorder. *N Engl J Med* 1968; 278(8):416-422.
94. Mak CM, Lam KS, Tan KC, Ma OC, Tam S. Cerebrotendinous xanthomatosis in a Hong Kong Chinese kinship with a novel splicing site mutation IVS6-1G>T in the sterol 27-hydroxylase gene. *Mol Genet Metab* 2004; 81(2):144-146.
95. Garuti R, Lelli N, Barozzini M, Dotti MT, Federico A, Bertolini S et al. Partial deletion of the gene encoding sterol 27-hydroxylase in a subject with cerebrotendinous xanthomatosis. *J Lipid Res* 1996; 37(3):662-672.
96. Okuyama E, Tomita S, Takeuchi H, Ichikawa Y. A novel mutation in the cytochrome P450(27) (CYP27) gene caused cerebrotendinous xanthomatosis in a Japanese family. *J Lipid Res* 1996; 37(3):631-639.
97. Castelnovo G, Jomir L, Bouly S. Cerebrotendinous xanthomatosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2003; 74(9):1335.
98. Gupta RP, Patrick K, Bell NH. Mutational analysis of CYP27A1: assessment of 27-hydroxylation of cholesterol and 25-hydroxylation of vitamin D. *Metabolism* 2007; 56(9):1248-1255.

99. Toba H, Fukuyama R, Sasaki M, Shiga K, Ishibashi S, Fushiki S. A Japanese patient with cerebrotendinous xanthomatosis has different mutations within two functional domains of CYP27. *Clin Genet* 2002; 61(1):77-78.
100. Shiga K, Fukuyama R, Kimura S, Nakajima K, Fushiki S. Mutation of the sterol 27-hydroxylase gene (CYP27) results in truncation of mRNA expressed in leucocytes in a Japanese family with cerebrotendinous xanthomatosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1999; 67(5):675-677.
101. Rystedt E, Olin M, Seyama Y, Buchmann M, Berstad A, Eggertsen G et al. Cerebrotendinous xanthomatosis: molecular characterization of two Scandinavian sisters. *J Intern Med* 2002; 252(3):259-264.
102. Nakamura S, Tamura T, Takahashi H, Ishida-Yamamoto A, Hashimoto Y, Kuroda K et al. Cerebrotendinous xanthomatosis: report of a case. *Br J Dermatol* 2000; 142(2):378-380.
103. Nagai Y, Hirano M, Mori T, Takakura Y, Tamai S, Ueno S. Japanese triplets with cerebrotendinous xanthomatosis are homozygous for a mutant gene coding for the sterol 27-hydroxylase (Arg441Trp). *Neurology* 1996; 46(2):571-574.
104. Kim KS, Kubota S, Kuriyama M, Fujiyama J, Bjorkhem I, Eggertsen G et al. Identification of new mutations in sterol 27-hydroxylase gene in Japanese patients with cerebrotendinous xanthomatosis (CTX). *J Lipid Res* 1994; 35(6):1031-1039.
105. Chen W, Kubota S, Teramoto T, Ishida S, Ohsawa N, Katayama T et al. Genetic analysis enables definite and rapid diagnosis of cerebrotendinous xanthomatosis. *Neurology* 1998; 51(3):865-867.
106. Sugama S, Kimura A, Chen W, Kubota S, Seyama Y, Taira N et al. Frontal lobe dementia with abnormal cholesterol metabolism and heterozygous mutation in sterol 27-hydroxylase gene (CYP27). *J Inherit Metab Dis* 2001; 24(3):379-392.
107. Hansson M, Olin M, Floren CH, von Bahr S, Van't Hooft F, Meaney S et al. Unique patient with cerebrotendinous xanthomatosis. Evidence for presence of a defect in a gene that is not identical to sterol 27-hydroxylase. *J Intern Med* 2007; 261(5):504-510.
108. Cruysberg JR. Cerebrotendinous xanthomatosis: juvenile cataract and chronic diarrhea before the onset of neurologic disease. *Arch Neurol* 2002; 59(12):1975.
109. Verrips A, van Engelen BG, Wevers RA, van Geel BM, Cruysberg JR, van den Heuvel LP et al. Presence of diarrhea and absence of tendon xanthomas in patients with cerebrotendinous xanthomatosis. *Arch Neurol* 2000; 57(4):520-524.
110. van Heijst AF, Verrips A, Wevers RA, Cruysberg JR, Renier WO, Tolboom JJ. Treatment and follow-up of children with cerebrotendinous xanthomatosis. *Eur J Pediatr* 1998; 157(4):313-316.
111. Cruysberg JR, Wevers RA, Tolboom JJ. Juvenile cataract associated with chronic diarrhea in pediatric cerebrotendinous xanthomatosis. *Am J Ophthalmol* 1991; 112(5):606-607.
112. Cruysberg JR, Wevers RA, van Engelen BG, Pinckers A, Van Spreken A, Tolboom JJ. Ocular and systemic manifestations of cerebrotendinous xanthomatosis. *Am J Ophthalmol* 1995; 120(5):597-604.

113. Dotti MT, Rufa A, Federico A. Cerebrotendinous xanthomatosis: heterogeneity of clinical phenotype with evidence of previously undescribed ophthalmological findings. *J Inher Metab Dis* 2001; 24(7):696-706.
114. Smithard A, Lamyman MJ, McCarthy CL, Gibbons CL, Cooke PJ, Athanasou N. Cerebrotendinous xanthomatosis presenting with bilateral Achilles tendon xanthomata. *Skeletal Radiol* 2007; 36(2):171-175.
115. Muhammed K, Nandakumar G, Saritha S. Cerebrotendinous xanthomatosis: need for early diagnosis. *Indian J Dermatol Venereol Leprol* 2006; 72(5):364-366.
116. Gilad R, Lampl Y, Lev D, Sadeh M. Cerebrotendinous xanthomatosis without xanthomas. *Clin Genet* 1999; 56(5):405-406.
117. Pedley TA, Emerson RG, Warner CL, Rowland LP, Salen G. Treatment of cerebrotendinous xanthomatosis with chenodeoxycholic acid. *Ann Neurol* 1985; 18(4):517-518.
118. Lange MC, Zetola VF, Teive HA, Scola RH, Trentin AP, Zavala JA et al. Cerebrotendinous xanthomatosis: report of two Brazilian brothers. *Arq Neuropsiquiatr* 2004; 62(4):1085-1089.
119. Rogelet P, Gerard JM, Michotte A, Masingue M, Destee A. [Cerebrotendinous xanthomatosis. 2 cases with magnetic resonance imaging]. *Rev Neurol (Paris)* 1992; 148(8-9):541-545.
120. Fleck JD, Biller J, Mathews VP. Neuroimages: cerebrotendinous xanthomatosis. *Neurology* 2000; 55(4):601.
121. Siebner HR, Berndt S, Conrad B. Cerebrotendinous xanthomatosis without tendon xanthomas mimicking Marinesco-Sjogren syndrome: a case report. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1996; 60(5):582-585.
122. Argov Z, Soffer D, Eisenberg S, Zimmerman Y. Chronic demyelinating peripheral neuropathy in cerebrotendinous xanthomatosis. *Ann Neurol* 1986; 20(1):89-91.
123. Verrips A, van Engelen BG, ter Laak H, Gabreels-Festen A, Janssen A, Zwarts M et al. Cerebrotendinous xanthomatosis. Controversies about nerve and muscle: observations in ten patients. *Neuromuscul Disord* 2000; 10(6):407-414.
124. Shapiro S. Depression in a patient with dementia secondary to cerebrotendinous xanthomatosis. *J Nerv Ment Dis* 1983; 171(9):568-571.
125. Berginer VM, Foster NL, Sadowsky M, Townsend JA, III, Siegel GJ, Salen G. Psychiatric disorders in patients with cerebrotendinous xanthomatosis. *Am J Psychiatry* 1988; 145(3):354-357.
126. Lee Y, Lin PY, Chiu NM, Chang WN, Wen JK. Cerebrotendinous xanthomatosis with psychiatric disorders: report of three siblings and literature review. *Chang Gung Med J* 2002; 25(5):334-340.
127. Sedel F, Baumann N, Turpin JC, Lyon-Caen O, Saudubray JM, Cohen D. Psychiatric manifestations revealing inborn errors of metabolism in adolescents and adults. *J Inher Metab Dis* 2007; 30(5):631-641.

128. Ohno T, Kobayashi S, Hayashi M, Sakurai M, Kanazawa I. Diphenylpyraline-responsive parkinsonism in cerebrotendinous xanthomatosis: long-term follow up of three patients. *J Neurol Sci* 2001; 182(2):95-97.
129. Grandas F, Martin-Moro M, Garcia-Munozguren S, Anaya F. Early-onset parkinsonism in cerebrotendinous xanthomatosis. *Mov Disord* 2002; 17(6):1396-1397.
130. Kuriyama M, Fujiyama J, Yoshidome H, Takenaga S, Matsumuro K, Kasama T et al. Cerebrotendinous xanthomatosis: clinical and biochemical evaluation of eight patients and review of the literature. *J Neurol Sci* 1991; 102(2):225-232.
131. Valdivielso P, Calandra S, Duran JC, Garuti R, Herrera E, Gonzalez P. Coronary heart disease in a patient with cerebrotendinous xanthomatosis. *J Intern Med* 2004; 255(6):680-683.
132. Dotti MT, Mondillo S, Plewnia K, Agricola E, Federico A. Cerebrotendinous xanthomatosis: evidence of lipomatous hypertrophy of the atrial septum. *J Neurol* 1998; 245(11):723-726.
133. Frih-Ayed M, Boughammoura-Bouatay A, Ben Hamda K, Chebel S, Ben Farhat M. [Hypertrophy of the atrial septum in the cerebrotendinous xanthomatosis]. *Rev Med Interne* 2005; 26(12):992-993.
134. Bencze KS, Vande Polder DR, Prockop LD. Magnetic resonance imaging of the brain and spinal cord in cerebrotendinous xanthomatosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1990; 53(2):166-167.
135. Dormans TP, Verrips A, Bulten J, Cox N. Pulmonary lymphangiomyomatosis and cerebrotendinous xanthomatosis: is there a link? *Chest* 1997; 112(1):273-274.
136. Waterreus RJ, Koopman BJ. Cerebrotendinous xanthomatosis: more on diagnosis and treatment. *Neurology* 1987; 37(6):1091-1092.
137. Pitt JJ. High-throughput urine screening for Smith-Lemli-Opitz syndrome and cerebrotendinous xanthomatosis using negative electrospray tandem mass spectrometry. *Clin Chim Acta* 2007; 380(1-2):81-88.
138. Siman-Tov T, Meiner V, Gadoth N. Could steroids mask the diagnosis of cerebrotendinous xanthomatosis? *J Neurol Sci* 2006; 243(1-2):83-86.
139. Tint GS, Ginsberg H, Salen G, Le NA, Shefer S. Chenodeoxycholic acid normalizes elevated lipoprotein secretion and catabolism in cerebrotendinous xanthomatosis. *J Lipid Res* 1989; 30(5):633-640.
140. Shore V, Salen G, Cheng FW, Forte T, Shefer S, Tint GS et al. Abnormal high density lipoproteins in cerebrotendinous xanthomatosis. *J Clin Invest* 1981; 68(5):1295-1304.
141. Moghadasian MH, Frohlich JJ, Scudamore CH. Specificity of the commonly used enzymatic assay for plasma cholesterol determination. *J Clin Pathol* 2002; 55(11):859-861.
142. Koopman BJ, Wolthers BG, van der Molen JC, van der SW, Waterreus RJ, Van Sprecken A. Cerebrotendinous xanthomatosis: a review of biochemical findings of the patient population in The Netherlands. *J Inherit Metab Dis* 1988; 11(1):56-75.

143. Lindenthal B, Simatupang A, Dotti MT, Federico A, Lutjohann D, von Bergmann K. Urinary excretion of mevalonic acid as an indicator of cholesterol synthesis. *J Lipid Res* 1996; 37(10):2193-2201.
144. Salen G, Berginer V, Shore V, Horak I, Horak E, Tint GS et al. Increased concentrations of cholestanol and apolipoprotein B in the cerebrospinal fluid of patients with cerebrotendinous xanthomatosis. Effect of chenodeoxycholic acid. *N Engl J Med* 1987; 316(20):1233-1238.
145. Federico A, Dotti MT, Lore F, Nuti R. Cerebrotendinous xanthomatosis: pathophysiological study on bone metabolism. *J Neurol Sci* 1993; 115(1):67-70.
146. Berginer VM, Berginer J, Salen G, Shefer S, Zimmerman RD. Computed tomography in cerebrotendinous xanthomatosis. *Neurology* 1981; 31(11):1463-1465.
147. Clemen CS, Spottke EA, Lutjohann D, Urbach H, von Bergmann K, Klockgether T et al. Cerebrotendinous xanthomatosis: a treatable ataxia. *Neurology* 2005; 64(8):1476.
148. Gaikwad SB, Garg A, Mishra NK, Gupta V, Srivastava A, Sarkar C. Cerebrotendinous xanthomatosis: Neuroimaging findings in two siblings from an Indian family. *Neurol India* 2003; 51(3):401-403.
149. Cuende E, Gomez-Rz dM, Vesga JC, Saracibar N, Ibanez-Aviles A, Castellano-Hurtado C. [Cerebrotendinous xanthomatosis: utility of nuclear magnetic resonance image in the follow-up and response to treatment]. *Rev Neurol* 1996; 24(136):1535-1538.
150. Berginer VM, Berginer J, Korczyn AD, Tadmor R. Magnetic resonance imaging in cerebrotendinous xanthomatosis: a prospective clinical and neuroradiological study. *J Neurol Sci* 1994; 122(1):102-108.
151. De Stefano N, Dotti MT, Mortilla M, Federico A. Magnetic resonance imaging and spectroscopic changes in brains of patients with cerebrotendinous xanthomatosis. *Brain* 2001; 124(Pt 1):121-131.
152. Inglese M, DeStefano N, Pagani E, Dotti MT, Comi G, Federico A et al. Quantification of brain damage in cerebrotendinous xanthomatosis with magnetization transfer MR imaging. *AJNR Am J Neuroradiol* 2003; 24(3):495-500.
153. Brodsky JW, Beischer AD, Anat D, East C, Soltero E, Tint GS et al. Cerebrotendinous xanthomatosis: a rare cause of bilateral Achilles tendon swelling and ataxia. A case report. *J Bone Joint Surg Am* 2006; 88(6):1340-1344.
154. Ortega HR, Santiago FR, Artalejo Martinez de la Victor. Computed tomography and ultrasound of the achilles tendon in cerebrotendinous xanthomatosis. *Eur Radiol* 2000; 10(7):1204.
155. Schols L, Nagele T, Schule R, Berg D. Cerebrotendinous xanthomatosis. *Neurology* 2006; 67(11):E20.
156. Tokimura Y, Kuriyama M, Arimura K, Fujiyama J, Osame M. Electrophysiological studies in cerebrotendinous xanthomatosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1992; 55(1):52-55.
157. Restuccia D, Di L, V, Servidei S, Colosimo C, Tonali P. Somatosensory and motor evoked potentials in the assessment of cerebrotendinous xanthomatosis before and after

- treatment with chenodeoxycholic acid: a preliminary study. *J Neurol Sci* 1992; 112(1-2):139-146.
158. Ugawa Y, Kohara N, Shimpo T, Mannen T. Central motor and sensory conduction in adrenoleukomyeloneuropathy, cerebrotendinous xanthomatosis, HTLV-1-associated myelopathy and tabes dorsalis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1988; 51(8):1069-1074.
 159. Kuritzky A, Berginer VM, Korczyn AD. Peripheral neuropathy in cerebrotendinous xanthomatosis. *Neurology* 1979; 29(6):880-881.
 160. Kuwabara K, Hitoshi S, Nukina N, Ishii K, Momose T, Kubota S et al. PET analysis of a case of cerebrotendinous xanthomatosis presenting hemiparkinsonism. *J Neurol Sci* 1996; 138(1-2):145-149.
 161. Bel S, Garcia-Patos V, Rodriguez L, Selva A, Diaz P, Wolthers BG et al. Cerebrotendinous xanthomatosis. *J Am Acad Dermatol* 2001; 45(2):292-295.
 162. Federico A, Dotti MT, Volpi N. Muscle mitochondrial changes in cerebrotendinous xanthomatosis. *Ann Neurol* 1991; 30(5):734-735.
 163. Dotti MT, Manneschi L, Federico A. Mitochondrial enzyme deficiency in cerebrotendinous xanthomatosis. *J Neurol Sci* 1995; 129(2):106-108.
 164. Soffer D, Benharroch D, Berginer V. The neuropathology of cerebrotendinous xanthomatosis revisited: a case report and review of the literature. *Acta Neuropathol (Berl)* 1995; 90(2):213-220.
 165. Isenhardt K, Schmitt R, Nagel A, Drach L, Schlote W. Inherited cholesterol lipidosi: cerebrotendinous xanthomatosis (van Bogaert Scherer Epstein disease). A clinicopathological study. *Clin Neuropathol* 2005; 24(6):276-283.
 166. Grundy SM. Cerebrotendinous xanthomatosis. *N Engl J Med* 1984; 311(26):1694-1695.
 167. Moghadasian MH, Salen G, Frohlich JJ, Scudamore CH. Cerebrotendinous xanthomatosis: a rare disease with diverse manifestations. *Arch Neurol* 2002; 59(4):527-529.
 168. Salen G, Meriwether TW, Nicolau G. Chenodeoxycholic acid inhibits increased cholesterol and cholestanol synthesis in patients with cerebrotendinous xanthomatosis. *Biochem Med* 1975; 14(1):57-74.
 169. Batta AK, Shefer S, Batta M, Salen G. Effect of chenodeoxycholic acid on biliary and urinary bile acids and bile alcohols in cerebrotendinous xanthomatosis; monitoring by high performance liquid chromatography. *J Lipid Res* 1985; 26(6):690-698.
 170. Federico A, Dotti MT. Cerebrotendinous xanthomatosis. *Neurology* 2001; 57(9):1743.
 171. Mondelli M, Sicurelli F, Scarpini C, Dotti MT, Federico A. Cerebrotendinous xanthomatosis: 11-year treatment with chenodeoxycholic acid in five patients. An electrophysiological study. *J Neurol Sci* 2001; 190(1-2):29-33.
 172. Swanson PD, Cromwell LD. Magnetic resonance imaging in cerebrotendinous xanthomatosis. *Neurology* 1986; 36(1):124-126.
 173. Ko KF, Lee KW. Cerebrotendinous xanthomatosis in three siblings from a Chinese family. *Singapore Med J* 2001; 42(1):030-032.

174. Federico A, Dotti MT. Treatment of cerebrotendinous xanthomatosis. *Neurology* 1994; 44(11):2218.
175. Peynet J, Laurent A, De Liege P, Lecoz P, Gambert P, Legrand A et al. Cerebrotendinous xanthomatosis: treatments with simvastatin, lovastatin, and chenodeoxycholic acid in 3 siblings. *Neurology* 1991; 41(3):434-436.
176. Verrips A, Wevers RA, van Engelen BG, Keyser A, Wolthers BG, Barkhof F et al. Effect of simvastatin in addition to chenodeoxycholic acid in patients with cerebrotendinous xanthomatosis. *Metabolism* 1999; 48(2):233-238.
177. Mimura Y, Kuriyama M, Tokimura Y, Fujiyama J, Osame M, Takesako K et al. Treatment of cerebrotendinous xanthomatosis with low-density lipoprotein (LDL)-apheresis. *J Neurol Sci* 1993; 114(2):227-230.
178. Ito S, Kuwabara S, Sakakibara R, Oki T, Arai H, Oda S et al. Combined treatment with LDL-apheresis, chenodeoxycholic acid and HMG-CoA reductase inhibitor for cerebrotendinous xanthomatosis. *J Neurol Sci* 2003; 216(1):179-182.
179. Dotti MT, Lutjohann D, von Bergmann K, Federico A. Normalisation of serum cholestanol concentration in a patient with cerebrotendinous xanthomatosis by combined treatment with chenodeoxycholic acid, simvastatin and LDL apheresis. *Neurol Sci* 2004; 25(4):185-191.
180. Berginer VM, Salen G. LDL-apheresis cannot be recommended for treatment of cerebrotendinous xanthomatosis. *J Neurol Sci* 1994; 121(2):229-232.
181. Gill-Body KM, Popat RA, Parker SW, Krebs DE. Rehabilitation of balance in two patients with cerebellar dysfunction. *Phys Ther* 1997; 77(5):534-552.
182. Shefer S, Hauser S, Salen G, Zaki FG, Bullock J, Salgado E et al. Comparative effects of cholestanol and cholesterol on hepatic sterol and bile acid metabolism in the rat. *J Clin Invest* 1984; 74(5):1773-1781.
183. Szalat A, Gershkovich P, Ben Ari A, Shaish A, Liberman Y, Boutboul E et al. Rifampicin-induced CYP3A4 activation in CTX patients cannot replace chenodeoxycholic acid treatment. *Biochim Biophys Acta* 2007; 1771(7):839-844.
184. Arpa J, Sanchez C, Vega A, Cruz-Martinez A, Ferrer T, Lopez-Pajares R et al. Cerebrotendinous xanthomatosis diagnosed after traumatic subdural haematoma. *Rev Neurol* 1995; 23(121):675-678.
185. Salas Cortes M., Fossas Felip P. Xantomatosis cerebrotendinosa. *Alzheimer* 25[enero/abril], 18-21. 2003.
186. Malo de Molina Zamora R., Hervas Garcia M. Trastorno de la marcha y de la articulacion asociado a deterioro cognitivo y cataratas juveniles. Casos clinicos de residentes de neurologia. *Luzan*, 2004: 337-341.
187. Pilo dIF, Ruiz I, Lopez dM, Jimenez-Escrig A. Cerebrotendinous xanthomatosis: neuropathological findings. *J Neurol* 2008; 255(6):839-842.
188. Oostendorp M, Engelke UF, Willemsen MA, Wevers RA. Diagnosing inborn errors of lipid metabolism with proton nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Clin Chem* 2006; 52(7):1395-1405.

APÉNDICE I. MUTACIONES DESCRITAS EN LA LITERATURA

Localización	Mutación	Citación	Comentarios
Exón 1	-c.5-6 ins C	Segev y colaboradores, 1995 ⁷⁰	
	-c.11-21 del TGGGCTGCGC	Lee y colaboradores, 2001 ³	
Intrón 1			
Exón 2	-c.305 del C	Wang y colaboradores, 2006 ¹¹	Mutación silente
	-c.355 del C	Leitersdorf y colaboradores, 1994 ⁸	
	-c.366 C→A (p.G122G)	Kato y colaboradores, 2003 ⁷¹	
	-c.379 C→T (p.R127W)	Verrips y colaboradores, 1999 ⁷²	
	-c.380 G→A (p.R127Q)	Watts y colaboradores, 1996 ⁷⁴	
	-c.399 G→A (p.W133X)	Lee y colaboradores, 2001 ³	
	-c.409 C→T (p.R137W)	Nakashima y colaboradores, 1994 ⁷⁷	
	-c.433 G→A (p.G145R)	Federico y colaboradores, 2006 ⁷⁶	
	-c.434 G→A (p.G145E)	Lamon-Fava y colaboradores, 2002 ⁷⁸	
	-c.435 G→T (p.G145G)	Chen y colaboradores, 1998 ⁶⁶	
-c.438 G→A (p.P146P)	Lamon-Fava y colaboradores, 2002 ⁷⁸	Mutación silente	
Intrón 2	-c.446 + 1 G→A	Verrips y colaboradores, 2000 ¹	
Exón 3	-c.475 C→T (p.Q159X)	Verrips y colaboradores, 1996 ⁷⁹	
	-c.525/526 del G	Verrips y colaboradores, 1996 ⁷⁹	
	-c.583 G→T (p.E195X)	Wakamatsu y colaboradores, 1999 ⁸⁰	
	-c.646 G→C (p.A216P)	Garuti y colaboradores, 1996 ⁸¹	
Intrón 3			
Exón 4	-c.688C→T (p.Q230X)	Presente estudio	
	-c.691 C→T (p.R231X)	Garuti y colaboradores, 1997 ⁸³	
	-c.745 C→T (p.R249X)	Verrips y colaboradores, 2000 ¹	
	-c.752 C→A (p.S251X)	Federico y colaboradores, 2006 ⁷⁶	
	-c.776 A→G (p.K259R)	Verrips y colaboradores, 2000 ¹	
	-c.779 G→A (p.W260X)	Verrips y colaboradores, 2000 ¹	
	-c.804 G→T (p.W268C)	Presente estudio	
	-c.808 C→T (p.R270X)	Ahmed y colaboradores, 1997 ⁸⁴	
-c.819 delT	Leitersdorf y colaboradores, 1993 ⁹		
Intrón 4	-c.844 +1 G→A	Verrips y colaboradores, 1997 ⁸⁶	
	-c.844 +1 G→T	Presente estudio	

	-c.845 -1G→A	Leitersdorf y colaboradores, 1993 ⁹	
Exón 5	-c.850 A→T (p.K284X) -c.852 G→A (p.K284K) -c.944-948 del TGGCC -c.1016 C→T (p.T339M)	Meiner y colaboradores, 1994 ⁸⁹ Leitersdorf y colaboradores, 1993 ⁹ Lamon-Fava y colaboradores, 2000 ⁷⁸ Brautbar y colaboradores, 1983 ⁹⁰	Es polimorfismo
Intrón 5			
Exón 6	-c.1029 C→G (p.T343R) -c.1043-1054 del TGTACCACCTCT -c.1061 A→G (p.D354G) -c.1151 C→T (p.P384L) -c.1180-1181 del CT -c.1183 C→T (p.R395C) -c.1183 C→A (p.R395S) -c.1184 G→A (p.R395H)	Presente estudio Presente estudio Verrips y colaboradores, 2000 ¹ Verrips y colaboradores, 2000 ¹ Lee y colaboradores, 2001 ³ Harlan y colaboradores, 1968 ⁹³ Chen y colaboradores, 1998 ⁶³ Chen y colaboradores, 1996 ⁶⁷	
Intrón 6	-c.1184+1Gg→A -c.1185-1G→T - del 1,9 kb (Del exon 7-9)	Garuti y colaboradores, 1997 ⁸³ Mak y colaboradores, 2004 ⁹⁴ Garuti y colaboradores, 1996 ⁹⁵	Deleción de 2 kb en región 3' FLK que elimina exones 7-9
Exón 7	-c.1202 C→G (p.P401R) -c.1209 C→G (p.N403K) -c.1213 C→T (p.R405W) -c.1213 C→G (p.R405G) -c.1214 G→A (p.R405Q) -c.1222 G→T (p.E408X)	Okuyama y colaboradores, 1996 ⁹⁶ Castelnuovo y colaboradores, 2003 ⁹⁷ Verrips y colaboradores, 2000 ¹ Gupta y colaboradores, 2007 ⁹⁸ Chen y colaboradores, 1997 ⁶⁴ Von Bahr y colaboradores, 2005 ⁵⁸	
Intrón 7	-c.1263+1G→A -c.1263+5G→T -c,1264-1G→A	Garuti y colaboradores, 1996 ⁸¹ Garuti y colaboradores, 1997 ⁸³ Garuti y colaboradores, 1997 ⁸³	
Exón 8	-c.1321 C→T (p.P441S) -c.1381 C→T (p.Q461X) -c.1415 G→C (p.G472A) -c.1414-1421 del GGGGTCCG -c.1420 C→T (p.R474W) -c.1420 C→G (p.R474G)	Lee y colaboradores, 2001 ³ Lee y colaboradores, 2001 ³ Verrips y colaboradores, 2000 ¹ Presente estudio Kim y colaboradores, 1994 ¹⁰⁴ Gupta y colaboradores, 2007 ⁹⁸	

	-c.1421 G→A (p.R474Q) -c.1434C→A (p.G478G) -c.1435 C→A (p.R479S) -c.1435 C→G (p.R479G) -c.1435 C→T (p.R479C)	Kim y colaboradores, 1994 ¹⁰⁴ Hansson y colaboradores, 2007 ¹⁰⁷ Hansson y colaboradores, 2007 ¹⁰⁷ Guyant-Marechal y colaboradores, 2005 ⁹¹ Cali y colaboradores, 1991 ⁶	
Intrón 8			
Exón 9	-c.1473 C→T (p.Q525X)	Presente estudio	
Intrón 9			

c.433G→A (p.G145R)⁷⁶
 c.434G→A (p.G145E)⁷⁸
 c.435G→T (p.G145G)⁶⁶
 c.438G→A (p.P113P)⁷⁸
 (p.Q159X)⁷⁶

Exón 3

433 GGG CCG TTC ACC ACG GAA GGA CAC CAC TGG TAC CAG CTG CGC CAG GCT
 145 Gly Pro Phe Thr Thr Glu Gly His His Trp Tyr Gln Leu Arg Gln Ala
 112 113 114 115 116 117 118 119 120 121 122 123 124 125 126 127

c.475C→T

c.525/526delG (T175+5aa>ctp)⁷⁹

481 CTG AAC CAG CGG TTG CTG AAG CCA GCG GAA GCA GCG CTC TAT ACG GAT
 161 Leu Asn Gln Arg Leu Leu Lys Pro Ala Glu Ala Ala Leu Tyr Thr Asp
 128 129 130 131 132 133 134 135 136 137 138 139 140 141 142 143

529 GCT TTC AAT GAG GTG ATT GAT GAC TTT ATG ACT CGA CTG GAC CAG CTG
 177 Ala Phe Asn Glu Val Ile Asp Asp Phe Met Thr Arg Leu Asp Gln Leu
 144 145 146 147 148 149 150 151 152 153 154 155 156 157 158 159

c.583G→T (p.E195X)⁸⁰

577 CGG GCA GAG AGT GCT TCG GGG AAC CAG GTG TCG GAC ATG GCT CAA CTC
 193 Arg Ala Glu Ser Ala Ser Gly Asn Gln Val Ser Asp Met Ala Gln Leu
 160 161 162 163 164 165 166 167 168 169 170 171 172 173 174 175

c.646G→C (p.A216P)⁸¹

Exón 4

625 TTC TAC TAC TTT GCC TTG GAA GCT ATT TGC TAC ATC CTG TTC GAG AAA
 209 Phe Tyr Tyr Phe Ala Leu Glu Ala Ile Cys Tyr Ile Leu Phe Glu Lys
 176 177 178 179 180 181 182 183 184 185 186 187 188 189 190 191

c.688C→T (p.Q230X) (presente estudio)
 c.691C→T (p.R231X)⁸³

673 CGC ATT GGC TGC CTG CAG CGA TCC ATC CCC GAG GAC ACC GTG ACC TTC
 225 Arg Ile Gly Cys Leu Gln Arg Ser Ile Pro Glu Asp Thr Val Thr Phe
 192 193 194 195 196 197 198 199 200 201 202 203 204 205 206 207

c.745C→T (p.R249X)¹
 c.752 C→A (p.S251X)⁷⁶

721 GTC AGA TCC ATC GGG TTA ATG TTC CAG AAC TCA CTC TAT GCC ACC TTC
 241 Val Arg Ser Ile Gly Leu Met Phe Gln Asn Ser Leu Tyr Ala Thr Phe
 208 209 210 211 212 213 214 215 216 217 218 219 220 221 222 223

c.776A→G (p.K259R)¹
 (p.R270X)⁸⁴
 c.779G→A (p.W260X)¹
 c.804G→T (p.W268C) (presente estudio)
 c.808C→T

769 CTC CCC AAG TGG ACT CGC CCC GTG CTG CCT TTC TGG AAG CGA TAC CTG
 257 Leu Pro Lys Trp Thr Arg Pro Val Leu Pro Phe Trp Lys Arg Tyr Leu
 224 225 226 227 228 229 230 231 232 233 234 235 236 237 238 239

Exón 8

1249 CTC TTC CCC AAG AAC ACC CAG TTT GTG TTC TGC CAC TAT GTG GTG TCC
 417 Leu Phe Pro Lys Asn Thr Gln Phe Val Phe Cys His Tyr Val Val Ser
 384 385 386 387 388 389 390 391 392 393 394 395 396 397 398 399

c.1321C→T (p.P441S)³

1297 CGG GAC CCC ACT GCC TTC TCT GAG CCT GAA AGC TTC CAG CCC CAC CGC
 433 Arg Asp Pro Thr Ala Phe Ser Glu Pro Glu Ser Phe Gln Pro His Arg
 400 401 402 403 404 405 406 407 408 409 410 411 412 413 414 415

c.1381C→T (p.Q461X)³

1345 TGG CTG AGA AAC AGC CAG CCT GCT ACC CCC AGG ATC CAG CAC CCA TTT
 449 Trp Leu Arg Asn Ser Gln Pro Ala Thr Pro Arg Ile Gln His Pro Phe
 416 417 418 419 420 421 422 423 424 425 426 427 428 429 430 431

c.1414-1421 delGGGTCCG (presente estudio)

c.1420C→T (p.R474W)¹⁰⁴

c.1420C→(p.R474G)⁹⁸

c.1421G→A (p.R474Q)¹⁰⁴

c.1434C→A (p.G478G)¹⁰⁷

c.1435C→T (p.R479C)⁶

c.1435C→G (p.R479G)⁹¹

c.1435C→A (p.R479S)¹⁰⁷

c.1415G→C (p.G472A)¹

1393 GGC TCT GTG CCC TTT GGC TAT GGG GTC CCG GCC TGC CTG GGC CGC AGG
 465 Gly Ser Val Pro Phe Gly Tyr Gly Val Arg Ala Cys Leu Gly Arg Arg
 432 433 434 435 436 437 438 439 440 441 442 443 444 445 446 447

Exón 9

1441 ATT GCA GAG CTG GAG ATG CAG CTA CTC CTC GCA AGG CTG ATC CAG AAG
 481 Ile Ala Glu Leu Glu Met Gln Leu Leu Leu Ala Arg Leu Ile Gln Lys
 448 449 450 451 452 453 454 455 456 457 458 459 460 461 462 463

1489 TAC AAG GTG GTC CTG GCC CCG GAG ACG GGG GAG TTG AAG AGT GTG GCC
 497 Tyr Lys Val Val Leu Ala Pro Glu Thr Gly Glu Leu Lys Ser Val Ala
 464 465 466 467 468 469 470 471 472 473 474 475 476 477 478 479

c.1473C→T (p.Q525X) (presente estudio)

1537 CGC ATT GTC CTG GTT CCC AAT AAG AAA GTG GGC CTG CAG TTC CTG CAG
 513 Arg Ile Val Leu Val Pro Asn Lys Lys Val Gly Leu Gln Phe Leu Gln
 480 481 482 483 484 485 486 487 488 489 490 491 492 493 494 495

1585 AGA CAG TGC TGA
 529 Arg Gln Cys END
 496 497 498

Apéndice III.- Relación de los pacientes con XCT. Mutaciones, aspectos clínicos y epidemiológicos.

Nº familia	Nº caso	Zona procedencia	Con-sanguinidad	Mutación 1	Mutación 2	Edad inicio síntomas neurológicos	Edad Dx	Edad exitus	Síntoma inicio	Edad cataratas	Xantomas	Edad diarrea	Alt. esqueléticas	Tto	Evolución
1	1-1	Galicia (Coruña)	No	c.844+1G→T	p.R395C	18	32	NF	Epilepsia	28	No	NC	Escoliosis	AQDC, vitE, atorvastatina,	Estable
2	2-1	Galicia (Pontevedra)	No	p.Q230X	p.R395C	10	30	NF	Epilepsia	14	No	10	Talla corta, escoliosis, pie cavo	AQDC, vitE, pravastatina	Deterioro
	2-2	Galicia (Pontevedra)	No	p.Q230X	p.R395C	12	23	NF	Cataratas	10	No	12	Talla corta, pie cavo	AQDC, vitE, pravastatina	Deterioro
3	3-1	Galicia (Pontevedra)	No	p.R395C	p.Q525X	12	32	NF	Retraso intelectual	15	Aquileos, rodillas, codos	NC	Pies cavos	AQDC, estatina	NC
	3-2	Galicia (Pontevedra)	No	p.R395C	p.Q525X	12	22	NF	Retraso intelectual	20	Aquileos, codos	NC	Facies tosca	AQDC, atorvastatina	NC
	3-3	Galicia (Pontevedra)	No	p.R395C	p.Q525X	15	28	NF	Epilepsia	No	Aquileos	No	NC	AQDC, estatina	NC
4	4-1	Galicia (Coruña)	No	p.T339M	p.Q525X	12	31	NF	Retraso intelectual	30	Aquileos, rodillas, codos	NC	Facies miopática, cifoescoliosis, pies cavos	AQDC	Deterioro
5	5-1	Asturias	No	p.R395C	p.R395C	20	36	NF	Paraparesia	36	Aquileos, rodillas, codos	15	Pies cavos	AQDC, simvastatina	Deterioro
6	6-1	Galicia (Orense)	Sí	p.R395C	p.R395C	30	32	NF	Alteración marcha	32	Aquileos, rodillas	No	No	AQDC, vitE	Estable
7	7-1	Galicia (Orense)	Probable	c.1043-1054 delTGTACCACCTCT	c.1043-1054 delTGTACCACCTCT	12	56	60	Alteración marcha	56	No	NC	NC	AQDC	Exitus
	7-2	Galicia (Orense)	Probable	c.1043-1054 delTGTACCACCTCT	c.1043-1054 delTGTACCACCTCT	12	51	52	Alteración marcha	No	No	NC	NC	vit E	Exitus
8	8-1	Galicia (Pontevedra)	NC	p.R395C	c.1414-1421 delGGGGTCCG	12	46	NF	Retraso psicomotor	18	No	NC	Facies dismórfica, pies cavos	AQDC, vitE, pravastatina	Estable
	8-2	Galicia (Pontevedra)	NC	p.R395C	c.1414-1421 delGGGGTCCG	12	46	NF	Retraso psicomotor	18	No	NC	Facies dismórfica, pies cavos, atrofia muscular	AQDC, vitE, estatina,	Deterioro

Nº familia	Nº caso	Zona procedencia	Con-sanguinidad	Mutación 1	Mutación 2	Edad inicio síntomas neurológicos	Edad Dx	Edad exitus	Síntoma inicio	Edad cataratas	Xantomas	Edad diarrea	Alt. esqueléticas	Tto	Evolución
9	9-1	Zamora	No	c.1184+1G→A	c.1184+1G→A	12	36	NF	Retraso psicomotor	36	Aquíleos, rotulianos	12	Pie cavo, cifosis, labio leporino, alopecia	AQDC, atorvastatina	Estable
10	10-1	Galicia (Orense)	Sí	c.1043-1054 delTGTACCA CCTCT	p.R395C	42	46	NF	Alteración marcha	38	Aquíleos	12	Pies cavos	AQDC, pravastatina	Deterioro
	10-2	Galicia (Orense)	Sí	c.1043-1054 delTGTACCA CCTCT	p.R395C	50	52	NF	Alteración marcha	35	Aquíleos	12	Pies cavos	AQDC, pravastatina	Estable
11	11-1	Segovia	No	p.N403K	p.T339M	23	46	47	Epilepsia	46	No	NC	No	AQDC	Exitus
12	12-1	Caceres	No	p.W268C	p.W268C	12	46	47	Retraso psicomotor	39	No	NC	Pie cavo	AQDC, pravastatina	Exitus
13	13-1	Burgos	Sí	c.845-1G→A	c.845-1G→A	18	54	56	Alteración conductual	54	No	NC	NC	AQDC, atorvastatina	Exitus
14	14-1	Toledo	Sí	p.R395C	p.R395C	14	36	NF	Retraso psicomotor	23	Aquíleos	12	Pies cavos	AQDC, pravastatina	Deterioro
15	15-1	Galicia (Orense)	No	NC	NC	12	41	NF	Cataratas	12	Aquíleos, rotuliano, dedo	NC	Dedos palillo tambor	AQDC, simvastatina, LDL-aféresis	Deterioro
16	16-1	Cádiz	No	p.R405W	p.R405W	37	44	NF	Cataratas	24	Aquíleos	12 (celiaca)	Pies cavos	AQDC, simvastatina	Deterioro
17	17-1	Burgos	Sí	p.W133X	p.W133X	35	38	NF	Diarrea	26	Aquíleos	12	Pies cavos, aracnodactilia	AQDC	Deterioro
18	18-1	Granada	No	p.R405W	p.T343R	25	32	NF	Cataratas	25	Aquíleos	12	Pies cavos	AQDC, simvastatina	Deterioro
19	19-1	Granada	No	p.R405W	p.R395C	12	14	NF	Cataratas	8	No	12	Pies cavos, paladar ojival	AQDC, simvastatina	Estable

Apéndice IV.- Síntomas neurológicos en los pacientes con XCT.

Nº paciente	EDSS	Piramidalismo	Ataxia	Epilepsia	Parkinson	Miopatía	Neuropatía	Retraso psicomotor	Trastorno psiquiátrico	Demencia
1-1	4,5	+	+	+	-	-	+ (desm)	+	+	+
2-1	4,5	+	+	+	-	-	+ (desm)	-	+	-
2-2	4,5	+	+	-	-	-	+ (desm)	-	+	-
3-1	4,5	+	+	+	-	-	+ (axon)	+	-	-
3-2	4,5	+	-	+	-	-	probable	+	-	-
3-3	0	NC	NC	+	-	-	NC	-	-	-
4-1	4,5	+	+	-	-	-	+ (desm)	+	-	-
5-1	4,5	+	-	-	-	-	probable	-	+	+
6-1	4	+	-	-	-	-	-	-	+	-
7-1	9	+	+	-	-	-	-	-	-	+
7-2	9	+	+	-	-	-	-	-	-	+
8-1	4,5	+	-	-	-	-	+	+	+	-
8-2	4,5	+	-	-	-	-	+	+	+	-
9-1	3,5	-	+	-	+	-	+ (axon)	+	+	-
10-1	4,5	+	+	-	-	-	-	-	+	+
10-2	3,5	+	+	-	-	-	probable	-	+	-
11-1	3,5	+	+	+	-	-	NC	-	NC	+
12-1	6	+	+	-	-	-	+ (desm)	+	-	+
13-1	7	+	+	-	+	-	-	+	+	+
14-1	8	+	+	-	+	-	+ (axon)	+	+	+
15-1	4	+	+	-	+	-	-	-	+	+
16-1	6	+	+	-	-	-	+ (desm)	-	-	+
17-1	3,5	+	+	-	-	-	+ (axon)	+	+	+
18-1	3,5	+	+	+	-	-	NC	-	+	+
19-1	3,5	+	+	+	-	-	+ (desm)	+	-	-

Apéndice V.- Pruebas complementarias en los pacientes con XCT

N°	Colestanol	Colesterol	TC craneal	RM craneal	RM espinal	ENF	PEV	PESS	EEG	Otras enfermedades
1-1	119	126	No	Atrofia, desmielinización	Normal	PNP desm	Alterados	Alterados	Normal	Colelitiasis
2-1	No	139	No	Normal	Normal	PNP desmie	No	No	No	No
2-2	No	143	No	Normal	Normal	PNP desmie	No	No	No	No
3-1	No	203	Típico	Típico	No	PNP mixta	NC	NC	Actividad paroxística	No
3-2	No	148	No	Chiari tipo I	No	No	No	No	Ondas agudas y lentas	No
3-3	No	177	No	Normal	No	No	No	No	No	No
4-1	No	158	Típico	Típico	No	PNP desm	Alterados	No	Desestructurado	Colelitiasis
5-1	1,1 mg/dl	194	Atrofia	Atrofia, leucoaraiosis	Hernias discales	No	No	No	No	Nefrolitiasis, artritis reumatoide
6-1	No	186	No	Normal	Normal	Normal	Normal	Alterados	Normal	Nefrolitiasis
7-1	No	168	No	Típica	No	No	No	No	No	No
7-2	57	165	No	Típica	No	Normal	No	No	No	No
8-1	No	231	No	Atrofia	No	PNP axon	Alterados	Alterados	No	No
8-2	No	168	Atrofia	Atrofia	No	PNP axon	Alterados	Alterados	No	No
9-1	104	205	No	Típica	No	PNP axon	No	No	Ondas lentas	Colelitiasis
10-1	85	199	No	Típica	No	Normal	Normal	Alterados	Desestructurado	Tiroiditis autoinmune
10-2	166	186	No	No	No	No	No	No	No	Hipotiroidismo
11-1	56	185	Típico	Típico	No	No	No	No	Punta-onda generalizada	Nódulo tiroideo
12-1	82	127	No	Típico	Normal	PNP desm	Alterados	Alterados	No	No
13-1	57	204	No	Típica	No	Normal	No	No	Normal	Colelitiasis
14-1	102	199	Típico	Típica	No	Normal	No	Normal	Normal	Colelitiasis
15-1	31 mg/dL*	146	Típico	Típica	Normal	Normal	Normal	Alterados	Normal	No
16-1	238	209	No	Típica	Normal	PNP desm	No	No	No	Enf celiaca, malrotación intestino, nefrolitiasis
17-1	188,9	185	Normal	Típica	Normal	PNP axonal	Alterados	Alterados	No	Marfan
18-1	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	No
19-1	97	141	Normal	Lesiones desmielinizantes	No	PNP desm	Alterados	No	Punta-onda generalizada	Intolerancia a lactosa

*Determinación realizada en Dijon; valores de referencia 2,45 +/- 0,83 mg/l

Apéndice VI.- Casos de XCT en España descritos en la literatura

Nº familia	Nº paciente	Zona procedencia	Con-sanguinidad	Mutación 1	Mutación 2	Edad inicio síntomas neurológicos	Edad Dx	Edad exitus	Síntoma inicio	Edad cataratas	Xantomias	Edad diarrea	Alt. esqueléticas	Tto	Evolución	Referencia
I	I-1	NC (Madrid)	No	NC	NC	Nacimiento	34	44	Retraso psicomotor	20	No	NC	No	ADC	Exitus	Arpa y cols. ¹⁸⁴ d}
II	II-1	NC (Barcelona)	No	NC	NC	11	27	NF	Epilepsia	21	No	No	No	AQDC	NC	Campdelacreu y cols. ¹⁰ d}
	II-2	NC (Barcelona)	No	NC	NC	12	27	NF	Epilepsia	21	No	No	No	AQDC	NC	
III	III-1	NC (Gran Canaria)	NC	NC	NC	12	34	NF	Retraso psicomotor	19	Sí	32	No	AQDC, simvastatina	NC	Malo de Molina y cols. ¹⁸⁶ d}
IV	IV-1	NC (Vitoria)	NC	NC	NC	31	34	NF	Cataratas	16	Sí	NC	No	AQDC	Estable	Cuende y cols. ¹⁴⁹ d}
V	V-1	NC (Almería)	NC	p.R127Q	c.446+1 G→A	13	31	NC	Diarrea	18	Sí	5	NC	AQDC Lovastatina	NC	Verrips y cols. ¹ d}
	V-2	NC (Almería)	NC	p.R127Q	c.446+1 G→A	23	28	NC	Trastorno marcha	30	Sí	No	NC	AQDC Lovastatina	NC	
VI	VI-1	NC (Barcelona)	NC	NC	NC	Nacimiento	45		Retraso psicomotor	20	Sí	NC	NC	AQDC	Deterioro	Bel y cols. ¹⁶¹ d}

Apéndice VII.- Síntomas neurológicos en los pacientes con XCT procedentes de España descritos en la literatura

Nº familia	Nº paciente	Piramidalismo	Ataxia	Epilepsia	Parkinson	Miopatía	Neuropatía	Retraso psicomotor	Trastorno psiquiátrico	Demencia
I	I-1	Si	Sí	No	No	No	Sí	Sí	No	No
II	II-1	Sí	No	Sí	No	No	No	No	No	No
	II-2	Sí	No	Sí	No	No	No	No	No	No
III	III-1	Sí	Sí	Sí	No	No	No	Sí	No	No
IV	IV-1	Sí	Sí	No	No	No	Sí	No	No	No
V	V-1	Sí	Sí	Sí	NC	NC	Sí	NC	NC	Sí
VI	V-2	Sí	Sí	No	NC	NC	Sí	NC	NC	No
	VI-1	No	Sí	No	No	No	No	Sí	Sí	Sí

Apéndice VIII.- Pruebas complementarias en los pacientes españoles con XCT de España descritos en la literatura

Nº familia	Nº paciente	Colestanol	Colesterol	TC craneal	RM craneal	RM espinal	ENF	PEV	PESS	EEG
I	I-1	120	NC	Típico	Hiperintensidad núcleos dentados y vía piramidal	No	PNP mixta	Normal	Normal	Desorganizado, ondas agudas
II	II-1	0,06 (N=0,005)	NC	No	Típica	Normal	Normal	No	No	No
	II-2	0,09 (N=0,005)	NC	No	Típica	Normal	Normal	No	No	Punta-onda
III	III-1	126	171	No	Típica	Hiperintensidad	Normal	No	No	Punta-onda, actividad lenta
IV	IV-1	89	NC	No	Hiperintensidad periventricular y núcleos dentados	Hiperintensidad	PNP desm	Alterados	Alterados	Ondas lentas
V	V-1	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC
VI	VI-1	NC	NC	NC	Típica	NC	NC	NC	NC	NC
	VI-2	NC	NC	NC	Típica	NC	NC	NC	NC	NC