

Síntesis y uso de histidinato de cobre en niños con enfermedad de Menkes en México

Andrey Arturo Flores-Pulido,¹ Víctor Manuel Jiménez-Pérez² y Néstor Rodolfo García-Chong¹

¹Secretaría de Salud, Centro Regional de Alta Especialidad de Chiapas, Hospital de Especialidades Pediátricas, Chiapas; ²Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Ciencias Químicas, Departamento de Materiales, Nuevo León, México

Resumen

La enfermedad de Menkes es una patología neurodegenerativa y letal debida a mutaciones génicas de la enzima ATP-7A transportadora de cobre; se manifiesta por síntomas neurológicos y alteraciones del tejido conectivo de severidad variable. El uso subcutáneo oportuno de histidinato de cobre (Cu-His) es determinante en la calidad de vida. Se reportan las primeras experiencias en México en la síntesis y uso seguro de Cu-His en tres casos en los que corroboramos hipocupremia e hipoceruloplasminemia. Bajo asesoramiento del Hospital for Sick Children, Toronto, Canadá, elaboramos una solución de 500 µg/mL. En los tres casos aplicamos 250 µg de Cu-His, sin efectos indeseables relevantes durante 30 días y observamos las siguientes determinaciones séricas de cobre (Cu en µg/L) y ceruloplasmina (Cp en mg/dL): caso 1, Cu días 0 y 30, 8 y 504 µg/L; Cp días 0 y 30, 4 y 10.75 mg/dL; caso 2, Cu días 0 y 30, < 50 y 502, µg/L; Cp días 0 y 30, 2 y 15 mg/dL; caso 3, Cu días 0 y 30, 3 y 84.2 µg/L; Cp días 0 y 30, 4 y 10.7 mg/dL. En México es posible la síntesis segura de Cu-His y tratar la enfermedad de Menkes, la cual debe ser intencionalmente buscada.

PALABRAS CLAVE: Menkes. Histidinato. Cobre. Niños.

Abstract

Menkes disease is a neurodegenerative and lethal pathology caused by gene mutations of the copper-transporting ATP-7A enzyme; it manifests itself by neurological symptoms and connective tissue changes of varying severity. Timely subcutaneous use of copper histidinate (Cu-His) is determinant for quality of life. We report the first experiences in Mexico on Cu-His synthesis and its safe use in 3 cases where hypocupremia and hypoceruloplasminemia were corroborated. With advice of the Hospital for Sick Children of Toronto Canada, we prepared a 500 µg/mL solution. In all three cases were 250 µg of Cu-His applied without relevant undesirable effects for 30 days. Serum copper (Cu, expressed in µg/L) and ceruloplasmin (Cp, in mg/dL) were determined: case 1, Cu days 0 and 30, 8 and 504 µg/L; Cp days 0 and 30, 4 and 10.75 mg/dL; case 2, Cu days 0 and 30, <50 and 502 µg/L; Cp days 0 and 30, 2 and 15 mg/dL; case 3, Cu days 0 and 30, 3 and 84.2 µg/L; Cp days 0 and 30, 4 and 10.7 mg/dL. In Mexico, it is possible to safely synthesize Cu-His and treat MD, which must be intentionally sought.

KEY WORDS: Menkes. Histidinate. Copper. Children.

Introducción

La enfermedad de Menkes, código OMIM#309400, es una noxa recesiva ligada a X poco frecuente (1 entre 35 000 a 250 000 nacidos vivos), pero tempranamente letal y neurodegenerativa;^{1,2} se debe a

mutaciones interagénicas o deleciones en el gen codificante para la enzima ATP7A transportadora de cobre, que afectan múltiples sistemas enzimáticos (Tabla 1)^{3,4} y se manifiestan en un espectro clínico que varía entre la forma severa (más común) o Menkes clásico y el síndrome de cuerno occipital

Correspondencia:
Andrey Arturo Flores-Pulido
E-mail: andreyfp77@gmail.com

Fecha de recepción: 26-03-2018
Fecha de aceptación: 22-11-2018
DOI:10.24875/GMM.18004310

Gac Med Mex. 2019;155:191-195
Disponible en PubMed
www.gacetamedicademexico.com

Tabla 1. Enzimas cobredendientes en mamíferos y su relación probable con la enfermedad de Menkes

Enzima	Actividad biológica	Síntoma
Oxidasa del citocromo C	Respiración celular	Degeneración del sistema nervioso central, ataxia, debilidad muscular, falla respiratoria
Dismutasa de superóxido	Barrido de radicales libres	Degeneración del sistema nervioso central
Ceruloplasmina	Transportador de hierro y cobre	Anemia
Hepaestina	Trasporte de hierro	Anemia
Tirosinasa	Formación de pigmentos tegumentarios	Hipomelanosis
Beta OH-asa de dopamina	Producción de catecolaminas	Ataxia, hipotermia, hipotensión, diarrea
Peptidil alfa amidante	Activación de péptidos hormonales	Inespecíficos
Lisil oxidasa	Enlaces cruzados del colágeno y la elastina	Ruptura prematura de membranas, cefalohematoma, facies anormal, paladar ojival, enfisema, hernias, divertículos vesicales, aneurismas arteriales, hiperlaxitud articular y cutánea, osteoporosis, petequias, heridas dehiscentes, degeneración del sistema nervioso central
Sulfidrilo oxidasa	Cruzamientos de la queratina	Cabello anormal y piel seca

Fuente: Traducción de referencias 3 y 4.

(OHS), con manifestaciones como retraso psicomotor severo, encefalopatía epiléptica, emaciación, falla de medro, hipopigmentación tegumentaria, tricodistrofia (pili torti), urocistodistrofia, osteoporosis, con supervivencia de los casos severos generalmente no más allá del tercer año de vida.^{3,5} Para el tratamiento y paliación se utiliza histidinato de cobre (Cu-His) como intervención de impacto clínico posiblemente relevante en el sistema nervioso central y en la calidad de vida, a tal punto que en pacientes que lo recibieron precozmente ha alargado la supervivencia a más de 30 años de vida en buenas condiciones clínicas.⁶⁻⁸ Reportamos las primeras experiencias en México en la síntesis de Cu-His y los hallazgos con su uso en tres casos.

Método

Todos los reactivos fueron producidos por Sigma-Aldrich. La síntesis del Cu-His se llevó a cabo usando las instrucciones del Hospital for Sick Children de Toronto Canadá (versión de agosto de 2013, Department of Pharmacy-Compounding). El producto final derivado del cobre expira después de 56 días de ser sintetizado.

La preparación magistral del Cu-His (500 µg/mL⁻¹) se realizó de la siguiente forma:

- Preparación de la solución de hidróxido de sodio 0.2N en solución inyectable de cloruro de sodio a 0.9 %. Con el equipo de protección adecuado (lentes y guantes), se pesaron 400 mg de hidróxido de

sodio en la balanza analítica. Al tratarse de pellets fue necesario un cálculo de ajuste (por ejemplo, 440 mg qs para 56 mL). Los pellets se colocaron en un vaso de precipitados estéril, en la cabina de flujo laminar. Se añadieron 40 mL de cloruro de sodio a 0.9 % en solución inyectable para disolver; se procedió a agitar el preparado. Después se agregó qs para 50 mL, con solución inyectable de cloruro de sodio a 0.9 % en un matraz volumétrico. Los mililitros adicionales a los 50 mL se preparan aparte utilizando una jeringa y se incorporan el vaso de precipitados, donde se mezclan.

- Preparación de la solución de Cu-His. Con el equipo de protección adecuado (lentes y guantes), se pesaron el cloruro de cobre y la L-histidina en la balanza analítica. El frasco fue pesado y regresado rápidamente al desecador (el cloruro de cobre es higroscópico). Los dos polvos se colocaron en el vaso de precipitados y se disolvieron en aproximadamente 185 mL de solución inyectable de cloruro de sodio a 0.9 %; la preparación fue agitada suavemente solo para disolverlo (el producto es sensible al oxígeno). Después de estandarizar, el electrodo (entre pH 4 y 7) fue sumergido varias veces en alcohol a 99 % para limpiarlo; se procedió a enjuagarlo. Se ajustó la solución a pH de 7.38 a 7.40, utilizando la solución de hidróxido de sodio 0.2N; se determinó el pH de la solución. Se tomaron aproximadamente 14 mL más 10 a

13 gotas (dependiendo de la potencia del NaOH se emplearon más o menos); después de cada adición se mezclaron bien. Continuamente se monitoreaba el pH. Una vez cercano al pH indicado (6.9 a 7.0), se añadió de media a una gota y se agitó lentamente. Al llegar al pH indicado, los electrodos fueron limpiados con agua estéril y la solución fue transferida a un matraz volumétrico. El volumen fue ajustado a 200 mL con solución inyectable de cloruro de sodio a 0.9 %. Se midió de nuevo el pH para asegurar que continuaba en el rango (en ocasiones se pueden necesitar gotas extra de NaOH). La solución se transfirió a un vaso de precipitados. Se tomó solución de cobre-histidina en una jeringa de 20 mL y se filtraron 3 mL de la solución utilizando un filtro de disco de 0.22 micrones en viales de 5 o 10 mL.

Es importante considerar algunas especificaciones técnicas:

- Los matraces y vasos usados en la preparación de la solución de cobre-histidina deben estar cubiertos con aluminio porque el producto es muy sensible a la luz. La luz de la campana deberá estar apagada durante la preparación. Si el cloruro de cobre se torna azul/verde, es indispensable verificar con el farmacéutico antes de su uso.
- Una vez preparado el primer vial, debe ser enviado a medición del nivel de cobre.
- El producto deberá permanecer de color azul agua. Si se oscurece a verdeazulado significa que se está degradando.
- Una vez terminado, el producto no deberá ser golpeado o agitado.

Para evitar degeneración por exposición fótica o térmica, se dispuso de viales de 2 mL tipo falcon con coloración ámbar y se transportaron en base soporte para mantenerlos verticales en contenedores, cuya temperatura interna debía oscilar entre 4 a 10 °C

Para su dispensación unitaria se sugiere cargar dentro del área de servicios farmacéuticos en los minutos previos a su administración, en habitación con luz tenue y temperatura regulada y campana de flujo laminar en jeringa de 1 mL con aguja 27G × 13 mm, verificando la coloración adecuada y protegiendo el dispositivo de inyección cuanto antes con plástico oscuro.

Para la administración se utilizó la región deltoidea de ambos brazos, dividida en nueve cuadrantes para ordenar su aplicación diaria (Figura 1).⁷ La inyección

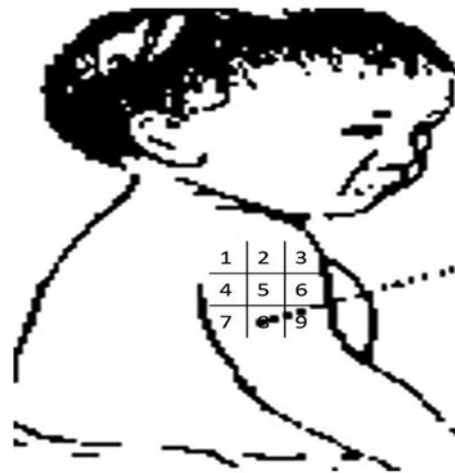


Figura 1. Cuadrantes de administración subcutánea del Cu-His en la región deltoidea (cara posterolateral del tercio proximal del brazo derecho e izquierdo). Fuente: Recreación de la imagen de la referencia 8.

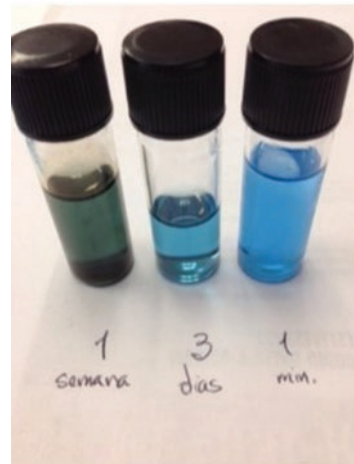


Figura 2. Apariencia de la solución. Fuente: Fotografía tomada en el laboratorio de materiales de la Facultad de Química de la Universidad Autónoma de Nuevo León con el primer lote de viales sintetizados.

debe ser vía subcutánea. La dosis estándar recomendada es de 250 µg/dosis (0.5 mL) cada 24 horas.^{2,3,4}

Resultados

La solución resultante de la preparación —clara, azul agua, fotosensible y termosensible (Figura 2)— fue aplicada sin efectos indeseables significativos relacionados con el sitio de administración subcutánea (deltoidea), ni sistémicos relevantes durante el seguimiento de los pacientes. Durante los primeros 30 días, la administración subcutánea diaria (previo consentimiento informado) de 250 µg de Cu-His en los pacientes portadores de enfermedad de Menkes genera cambios en las

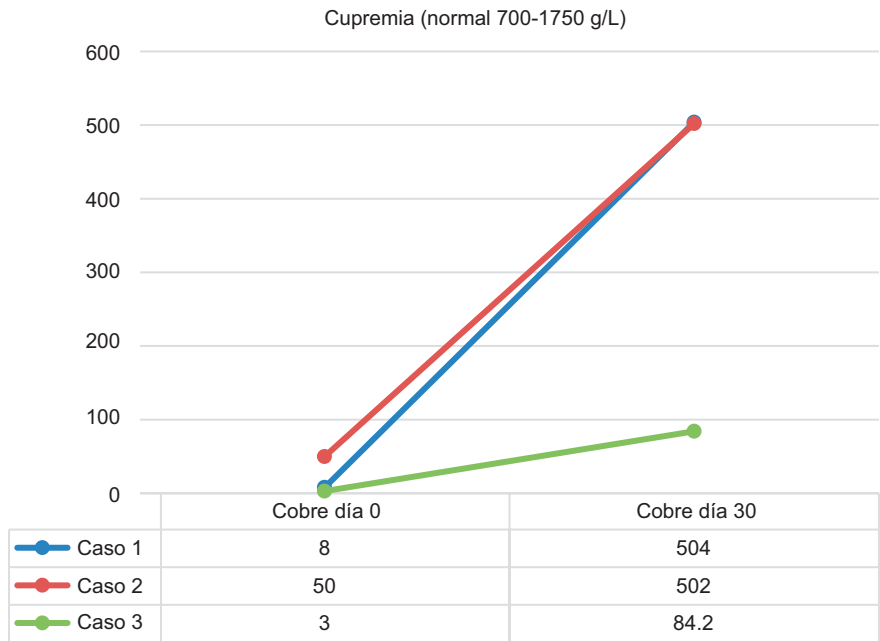


Figura 3. Cupremia resultante de 30 días de uso de Cu-His en los tres casos.

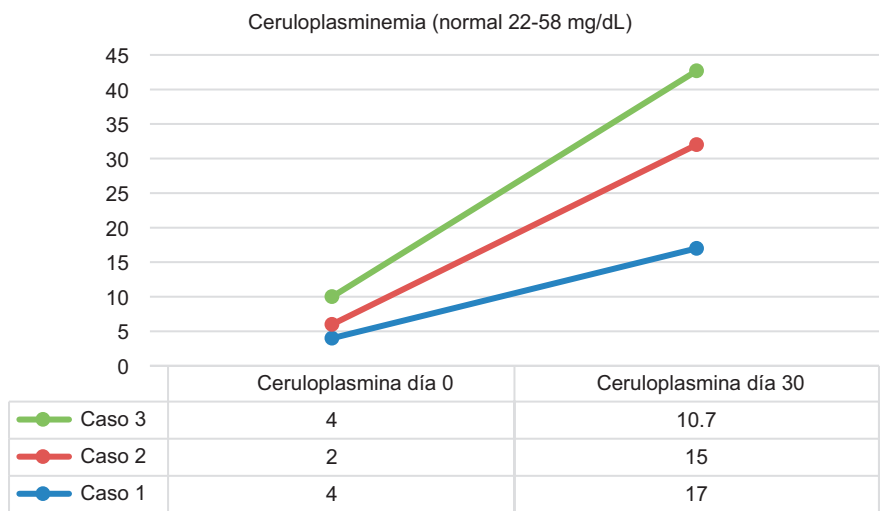


Figura 4. Ceruloplasminemia resultante de 30 días de uso de Cu-His en los tres casos.

determinaciones séricas de cobre (Cu, nivel de referencia de 700 a 1750 µg/L) y de ceruloplasmina (CP, nivel de referencia de 22 a 58 mg/dL) (Figuras 3 y 4).

El caso 1 fue captado a los 12 meses de edad, el caso 2 a los 36 meses de edad y el caso 3, a los cuatro meses de edad. En todos los casos se observó la atenuación del número y duración de los espasmos infantiles, así como mejoría en cuanto a la reactividad y alternancia del sueño-alerta. Solo el caso 3 presentó cambios tegumentarios, aun con niveles de Cu y CP inferiores a los de referencia. Al momento de este informe se continuaba con la medición espectroscópica

y monitoreo del comportamiento de la β-microglobulina a manera de seguimiento de la función tubular.

Discusión

El Cu-His es una molécula endógena o sintética que refuerza la captura intracelular de cobre y a la vez es un modulador o amortiguador del intercambio de cobre entre la célula y la albúmina que regula su biodisponibilidad.^{2,9}

En la enfermedad de Menkes, los niveles séricos de Cu y CP son ínfimos, primariamente por daño en la

capacidad intestinal absorbente relacionada con la disfunción de la ATP7A, por lo que el tratamiento suplementario se enfoca en la restitución de este elemento. Recuperada la cupremia, se induce restitución de la ceruloplasminemia, lo que asegura su portación eficiente hacia las células, sin embargo, ya en el compartimiento plasmático debe evadirse la alta afinidad cúprica por la albúmina, lo que le resta biodisponibilidad, allí en donde radica la multitarea de moléculas como el Cu-His, pues otras moléculas como el cloruro de cobre, sulfato de cobre, ácido etilendiaminotetraacético de cobre y la albúmina cúprica no han mostrado impacto clínico suficiente comparado con el Cu-His.⁹⁻¹²

La recomendación es emplear Cu-His para mejorar la biodisponibilidad de Cu en los sistemas enzimáticos cobredpendientes a través de la vía subcutánea, evadiendo el defecto de la barrera enteral y facilitando y captando el transferencia de cobre desde la albúmina cúprica para mejorar su biodisponibilidad. Lo anterior se ha establecido conforme varios casos de detección temprana en el rango de cero a siete meses de edad, en los cuales el pronóstico de la evolución neurológica cambia drásticamente, sobre todo si se administra dentro de los primeros dos meses de vida.^{3,6,9-13} Nuestros casos tenían 12 y 36 y 4 meses de edad, con evolución de la enfermedad de Menkes clásica y cuyo principal problema era el estado nutricional y la epilepsia refractaria. Hay escasa información disponible acerca del inicio tardío de Cu-His, que no puede contrastarse con el uso crónico de inicio temprano en la mayoría de las series reportadas (durante los primeros tres años de vida).^{7,13}

La decisión de desarrollar la síntesis en México —que no había sido posible dada la inestabilidad de esta sustancia en estado acuoso y de que no se había establecido la red logística que permitiera su disponibilidad segura— fue motivada por la posibilidad de modificar drásticamente la historia natural de los futuros casos y de disponer de una intervención tardía potencialmente benéfica, si bien de efecto incierto, que requiere vigilancia estrecha.

En el recuento de los obstáculos, la realización de pruebas de absorción atómica y la esterilidad constituyen los pasos procedimentales que más recursos y precisión demandan, a pesar de lo cual se realizaron de forma óptima.

A pesar del inicio tardío del Cu-His se observaron cambios plasmáticos y clínicos de mejora, por lo que

se continuará su empleo con el monitoreo de hallazgos y su comparación con los de otras series.

Consideramos que en México es posible sintetizar colaborativamente y de forma segura el Cu-His y acceder tempranamente al tratamiento de la enfermedad de Menkes, lo que implica una búsqueda intencionada y sistemática de casos en todo el sistema nacional, ya que muchos fallecen por la falta de detección oportuna.

Agradecimientos

Con el apoyo generoso de los doctores Sarkar y Walsh del Hospital for Sick Children, de Toronto, Canadá, y del doctor Víctor Manuel Jiménez de la Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Nuevo León, ha sido posible sintetizar, asegurar, dispensar y administrar con seguridad el Cu-His en el Centro Regional de Alta Especialidad de Chiapas, así como compartirlo remotamente gracias al apoyo logístico del laboratorio clínico, servicios farmacéuticos y dirección de operaciones. Trabajo en honor a la batalla que enfrentan Harold, Alan, Gabriel y sus familias en contra de la enfermedad de Menkes.

Bibliografía

1. Carbajal-Rodríguez L, Belmont-Martínez L, González-Del Ángel A, Delgado-Falcón J, Durán-C, Rodríguez-Herrera R, et al. Síndrome de Menkes. *Bol Med Hosp Infan Mex.* 2002;59:365-371.
2. Christodoulou J, Danks D, Sarkar B, Baerlocher K, Casey R, Horn N, et al. Early treatment of Menkes disease with parenteral copper-histidine: long term follow-up of four treated patients. *Am J Med Genet.* 1998;76:154-164.
3. Deschamps P, Kulkarni P, Gautam-Basak M, Sarkar B. The saga of copper (II)-L histidine. *Coord Chem Rev.* 2005;249:895-909.
4. Ojha R, Prasad AN. Menkes disease: what a multidisciplinary approach can do. *J Multidiscip Healthc.* 2016;9:371-385.
5. Garnica A, Chan WY, Rennert O. Copper-histidine treatment of Menkes disease. *J Pediatr.* 1994;125:336-338.
6. León-García, Dávila-Gutiérrez. Estado actual de la enfermedad de Menkes en México. *Salud Publica Mex.* 2012;54:103-104.
7. Menkes JH, Alter M, Steigleder GK, Weakley DR, Sung JH. A sex-linked recessive disorder with retardation of growth, peculiar hair, and focal cerebral and cerebellar degeneration. *Pediatrics.* 1962;29:761-779.
8. Vía de administración subcutánea en lactantes e infantes. Disponible en: <https://image.slidesharecdn.com/1-tecnicasdeaplicacion-130201120246-phpapp01/95/1tcnicas-de-aplicacin-vacun-13-638.jpg?cb=1359720489>
9. Sarkar B, Lingertat-Walsh K, Clarke JTR. Copper histidine therapy for Menkes disease. *J Pediatr.* 1993;123:828-830.
10. Tümer Z, Möller LB. Menkes disease. *Eur J Hum Genet.* 2010;18:511-518.
11. Tümer Z, Christodoulou J, Clarke JTR, Sarkar B, Horn N. Early copper histidine treatment for Menkes disease. *Nat Genet.* 1996;12:11-13.
12. Kaler SG, Holmes CS, Goldstein DS, Tang J, Gosdwin S, Donsante A, et al. Neonatal diagnosis and treatment of Menkes disease. *N Eng J Med.* 2008;358:605-614.
13. Sheela SR, Latha M, Liu P, Lem K, Kaler SG. Copper-replacement treatment for symptomatic Menkes disease: ethical considerations. *Clin Genet.* 2005;68:278-283.