



202  
24  
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

**EVALUACION DEL TAMIZ METABOLICO COMO  
HERRAMIENTA PARA LA DETECCION DE ERRO-  
RES INNATOS DEL METABOLISMO. PERIODO  
1987 - 1989. INSTITUTO NACIONAL DE  
PEDIATRIA**

**T E S I S**

PARA OBTENER EL TITULO DE:

**B I O L O G O**

**Q U E P R E S E N T A :**

**LEDA CAROLINA TORRES MALDONADO**

MEXICO, D. F.

**FALLA DE ORIGEN**

1991



Universidad Nacional  
Autónoma de México



## **UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso**

### **DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## INDICE

Resumen.....	1
Abreviaturas.....	3
<b>I Introducción.....</b>	<b>5</b>
1 Antecedentes.....	5
1.1 Generalidades.....	5
Información Genética. Metabolismo Intermedio e Integración Metabólica. Nutrición.	
1.2 Errores Innatos del Metabolismo .....	21
Fisiopatología. Clasificación. Frecuencia.	
1.3 Genética de los Errores Innatos del Metabolismo..	35
1.4 Manifestaciones Clínicas de los Errores Innatos del Metabolismo.....	36
1.5 Diagnóstico de los Errores Innatos del Metabolismo.....	42
Estudios de laboratorio. Tamiz metabólico. Estudios de apoyo. Estudios específicos y de seguimiento.	
1.6 Tratamiento de los Errores Innatos del Metabolismo.....	66
Tratamiento. Asesoramiento genético.	
1.7 Investigación y perspectivas en los Errores Innatos del Metabolismo.....	77
2 Objetivos.....	80
Objetivo general. Objetivos específicos.	
<b>II Metodología.....</b>	<b>81</b>
<b>III Resultados Y Discusion.....</b>	<b>94</b>
<b>IV Conclusiones.....</b>	<b>127</b>
<b>V Propuestas.....</b>	<b>130</b>
<b>VI Bibliografía.....</b>	<b>134</b>
<b>VII. Anexos.....</b>	<b>146</b>

## INDICE DE TABLAS Y FIGURAS

Figura 1. Estructura del DNA. Bases.....	8
Figura 2. Estructura del DNA Modelo de la Doble Hélice.....	9
Figura 3. Dogma Central.....	11
Figura 4. Regulación Genética del Metabolismo.....	20
Figura 5. Fisiopatología de los EIM.....	26
Figura 6. Inhibición del Transporte de AA por la FEN.....	28
Tabla I. Clasificación EIM.....	32
Tabla II. Frecuencia EIM.....	34
Figura 7. Diagrama Flujo Tamiz Metabólico.....	50
Tabla III. DNPH y Cloruro Férrico.....	55
Figura 8. Cromatograma de Gas Líquido.....	62
Figura 9. Espectro de Resonancia Magnética Nuclear.....	65
Tabla IV. Detección Heterocigotos.....	76
Tabla V. Estructura de la Base de Datos.....	83
Tabla VI. Matriz Comparación Grupo, Edad y Sexo.....	91
Tabla VII Matriz Comparación Grupo y Edad.....	92
Gráfica 1. Distribución Temporal.....	95
Gráfica 2. Distribución Hospitales.....	96
Gráfica 3. Distribución Servicios.....	98
Gráfica 4. Distribución Servicios de Genética.....	99
Tabla VIII. Resultados Laboratorio Pac. Diagnósticados...	105
Tabla IX Resultados Laboratorio Pacientes Alterados.....	106
Tabla X. Distribución Pacientes por Grupo y Tipo de Pac..	110
Tabla XI. Resultados Comparación con Otros Estudios.....	123

## R E S U M E N

Los Errores Innatos del Metabolismo (EIM) se definen como desordenes bioquímicos genéticamente determinados debidos a defectos congénitos específicos en la estructura o función de moléculas proteicas, comunmente enzimas, de manera general esta alteración produce un acúmulo del substrato y una deficiencia de los productos de la reacción que cataliza la enzima afectada.

Dado que puede estar afectada cualquiera de las vías metabólicas es natural que las manifestaciones clínicas de los EIM sean muy diversas, que pueden presentarse como manifestaciones graves o crónicas.

Durante 30 meses se estudiaron un total de 619 pacientes pediátricos con sintomatología inespecífica y sin diagnóstico, realizandoles estudios de Tamiz Metabólico (TM), que incluyen pruebas químicas cualitativas y cromatografía bidimensional de aminoácidos en orina, además de estudios de apoyo en los pacientes con TM alterado. Caracterizandolos de acuerdo a sus características bioquímicas en tres grupos: Diagnosticados con EIM (18 pacientes), con alteración metabólica no hereditaria (30 pacientes) y normales (571 pacientes). Posteriormente se compararon los grupos para conocer las manifestaciones clínicas relacionadas con los EIM y formar grupos de riesgo (pacientes candidatos para TM de alto riesgo) . Resultando los mejores indicadores para grupos

de riesgo las manifestaciones neurológicas, gastroenterológicas, renales, oseas, antecedentes familiares y hallazgos de laboratorio, poniendo énfasis en las manifestaciones neurológicas, renales y gastroenterológicas en los pacientes menores de un año de edad. Es importante realizar de forma rutinaria el TM en la población pediátrica que presente la sintomatología establecida para los grupos de riesgo para dar un diagnóstico oportuno.

## A B R E V I A T U R A S

<b>JOHBT</b>	3 hidroxibutirato
<b>AA</b>	Aminoácido (s)
<b>ALA</b>	Alanina
<b>AMM</b>	Acidemia metilmalónica
<b>ATE</b>	Acidosis Tubular Renal
<b>CAE</b>	Cardiología
<b>CC</b>	Crisis Convulsivas
<b>CEP</b>	Consulta Externa de Pediatría
<b>CGL</b>	Cromatografía de Gas Líquido
<b>CIE</b>	Cirugía
<b>CIS</b>	Cistina
<b>CIT</b>	Citrulina
<b>CLAR</b>	Cromatografía Líquida de Alta Resolución
<b>CRAMU</b>	Cromatografía de Azúcares
<b>CST</b>	Cistationina
<b>DCU</b>	Defecto en el Ciclo de la Urea
<b>DER</b>	Dermatología
<b>DX</b>	Diagnóstico
<b>EIM</b>	Error(es) Innato(s) del Metabolismo
<b>END</b>	Endocrinología
<b>FEN</b>	Fenilalanina
<b>GAS</b>	Gastroenterología
<b>GEA</b>	Hospital General Manuel Gea González
<b>GEN</b>	Genética
<b>GLN</b>	Glutamico
<b>GLU</b>	Glutamina
<b>GLY</b>	Glicina
<b>HAA</b>	Hiperaminoaciduria
<b>HCT</b>	Homocitrulina
<b>HEM</b>	Hematología
<b>HGM</b>	Hospital General de México
<b>ILE</b>	Isoleucina
<b>INSE</b>	Instituto Mexicano del Seguro Social
<b>INF</b>	Infectología
<b>INN</b>	Inmunología
<b>INPED</b>	Instituto Nacional de Pediatría
<b>INPER</b>	Instituto Nacional de Perinatología
<b>INSANE</b>	Instituto Nacional de Salud Mental
<b>ISSSTE</b>	Instituto de Seguridad Social al Servicio de los Trabajadores del Estado
<b>LAC</b>	Lactato
<b>LCE</b>	Líquido Cefalo-raquídeo
<b>LEU</b>	Leucina
<b>MET</b>	Metionina
<b>MHI</b>	Metilhistidina

<b>MIM</b>	Medicina Interna
<b>NEF</b>	Nefrología
<b>NEM</b>	Neumología
<b>NEO</b>	Neonatología
<b>NEU</b>	Neurología
<b>NL</b>	Normal
<b>NUT</b>	Nutrición
<b>OJA</b>	Orina de Jarabe de Arce
<b>ONC</b>	Oncología
<b>PEO</b>	Pediatría
<b>PEMEX</b>	Hospital de Petroleos Mexicanos
<b>PHQ</b>	Foniatria
<b>PIR</b>	Piruvato
<b>PKU</b>	Fenilcetonuria
<b>POL</b>	Policlínica
<b>PRM</b>	Programa de Prevención del Retardo Mental de Origen Metabólico
<b>RAM</b>	Aminoácido ramificados
<b>RMN</b>	Resonancia Magnética Nuclear
<b>RNA</b>	Acido Ribonucleico
<b>RPM</b>	Retraso Psicomotor
<b>SER</b>	Serina
<b>SFP</b>	Sangre en Papel Filtro
<b>SI</b>	Síndrome
<b>TAR</b>	Tamiz de Alto Riesgo
<b>TM</b>	Tamiz Metabólico
<b>TN</b>	Tamiz Neonatal
<b>TX</b>	Tratamiento
<b>TYE</b>	Tirosina
<b>UGN</b>	Unidad de Genética de la Nutrición
<b>URG</b>	Urgencias
<b>UTI</b>	Unidad de Terapia Intensiva
<b>VAL</b>	Valina



## I N T R O D U C C I O N

### 1 Antecedentes.

#### 1.1 Generalidades.

Las funciones del organismo pueden definirse en base a cuatro variables específicas. La información genética que determina el tipo de elementos estructurales y funcionales que la célula es capaz de producir. Así, el material genético determina los límites de respuesta y también los productos finales que dicho organismo es capaz de obtener.

La segunda variable es el **metabolismo intermedio** de la célula. Los procesos de ingestión, transformación y utilización de los substratos metabólicos dependen de la información genética, pero la forma en que cada uno se relaciona con otro para dirigir el flujo de los substratos, energía y materiales estructurales en los procesos intracelulares depende de las propiedades fisicoquímicas del propio substrato y de las enzimas.

La tercera variable consiste en la **integración metabólica** de las relaciones entre células y órganos. Mientras que la adaptación de las vías del metabolismo intermedio es de tipo intracelular, en los seres complejos deben existir mecanismos de control para integrar las actividades de los distintos tejidos en un patrón que resulte útil para el organismo. Muchos de estos sistemas de

organización son conocidos, por ejemplo el sistema endócrino. Dado que el efecto de las hormonas se lleva a cabo a través de modificaciones sobre las funciones bioquímicas de la célula, resulta imposible establecer una limitante entre los mecanismos de control del metabolismo intermedio y los factores de organización de tipo hormonal. Sin embargo, en general, los mecanismos de control del metabolismo intermedio se deben a cambios producidos en el interior de la célula, que se llevarán a cabo aunque dicha célula sea aislada del resto del organismo, mientras que los organizadores endócrinos establecen relaciones entre distintos órganos. Esto se mantiene, aunque en algunos casos su función se ejerza de forma directa sobre cada célula en particular (1).

La última variable es la llamada nutrición, que es el sustrato (materiales y energía) de que dispone el organismo (1, 2).

#### **Información Genética.**

La más notable de todas las propiedades de las células vivas es su capacidad para transmitir la información genética, de una generación a otra con gran fidelidad por varios cientos de generaciones. Esta información genética contiene las pautas para la estructura, función y regulación de la célula. Las instrucciones contenidas en moléculas específicas son transcritas a moléculas mensajeras intermediarias las cuales se traducen a proteínas, que presentan características estructurales y funcionales

específicas (3).

En general, la información genética se encuentra codificada en el ácido desoxirribonucleico (DNA). Este es una macromolécula formada por la polimerización de cuatro nucleótidos. Estos últimos están formados por la unión de un residuo de 2'-desoxirribosa, un fosfato y una base nitrogenada que puede ser púrica (adenina y guanina) o pirimídica (citosina y timina) (figura 1). La unión entre los nucleótidos es por medio de enlaces covalentes fosfodiéster 3'-5', que forman una cadena lineal, que es complementaria y antiparalela a una segunda con la cual se une a través de puentes de hidrógeno entre las bases adenina-timina o citosina-guanina y adquiere la forma de doble hélice (4, 5) (figura 2).

Otro ácido nucleico que se presenta en la célula es el ácido ribonucleico (RNA). Esta molécula es un polímero de nucleótidos, en general de cadena sencilla con ribosa como carbohidrato y uracilo en lugar de timina como sus principales diferencias con el DNA. Los RNA constituyen un grupo de moléculas intermediarias entre el almacén de información (DNA) y la función (proteínas) (5, 6).

En las células procariontes el DNA es una molécula "circular" cerrada que se encuentra en el citoplasma. En las células eucariontes el DNA se encuentra asociado con proteínas y rodeado de la envoltura nuclear, cuando la célula entra en mitosis el DNA se empaqueta en unidades denominadas

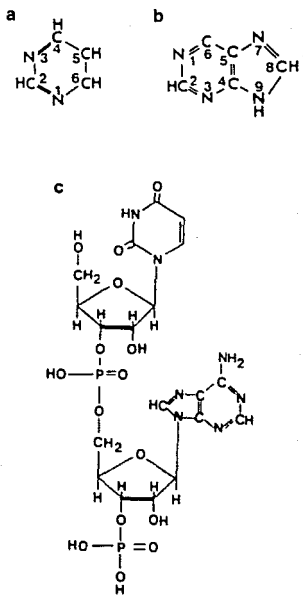


Figura 1. Estructura del DNA. Bases: a) Pirimidina b) Purina. c) Dinucleótido, se muestra un enlace fosfodiéster 3'-5' (4, 5).

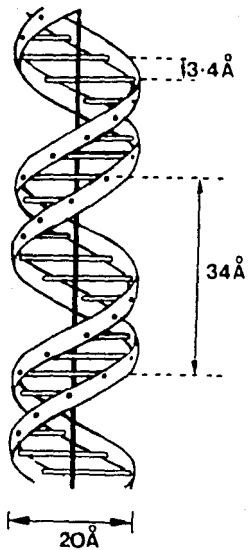


Figura 2. Estructura del DNA. Modelo de Watson y Crick de la Doble Hélice (4, 5).

cromosomas (6). En las células somáticas humanas se han reconocido 46, 44 autosomas y 2 cromosomas sexuales (').

Antes de la división celular, el DNA tiene que ser duplicado para que cada célula hija contenga la misma información genética. A este proceso se le llama replicación.

La replicación es el primer paso en el flujo de información genética de acuerdo al llamado "dogma central" de la biología molecular (7) (figura 3). La replicación es un proceso semiconservativo, que comienza en un punto específico. En una molécula de DNA puede haber uno o más orígenes. Desde el punto de inicio, la replicación es bidireccional. Ambas hebras se replican por adición de nucleótidos en dirección 5'-3', en forma semidiscontinua, pues es continua en una hebra (llamada líder) y discontinua en la otra (llamada rezagada), requiere para iniciar el proceso de un pequeño fragmento de RNA (RNA "primer" o cebador).

La replicación del DNA requiere de la cooperación de varias enzimas como la RNA primasa y las DNA polimerasas I, II y III que catalizan la polimerización y la fidelidad de la misma; las helicasas y las proteínas desestabilizadoras de la doble hélice, que se encargan de abrir la hélice para que se pueda copiar, la ligasa que une los fragmentos en la hebra rezagada y una exonucleasa para eliminar el "primer" o cebador, así como factores de inicio de la replicación (5, 6).

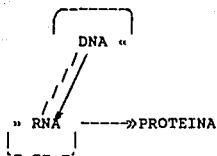


Figura 3. Dogma Central de la Biología Molecular. Las flechas continuas muestran la transferencia general de la información genética. Las flechas punteadas muestran transferencias especiales. Las flechas ausentes son transferencias no detectadas (7).

El siguiente paso en el flujo de la información genética es la transcripción, que es el proceso de formación de una cadena de RNA que toma como molde una de las hebras de DNA, el RNA tiene tres variedades: mensajero (RNAm), ribosomal (RNAr) y de transferencia (RNAt) (5, 6).

El RNA transcrito sufre ciertas modificaciones postranscripcionales que lo hacen biológicamente activo, por ejemplo en eucariontes el RNA heterogeneo nuclear (RNAhn) es procesado extensivamente por enzimas en el núcleo celular, entonces cruza la membrana nuclear ya como RNA mensajero maduro (RNAm) entra al citoplasma donde sirve como molde para la síntesis de una proteína específica (5, 6).

A la biosíntesis de una cadena polipeptídica se le denomina traducción, en los procariontes la transcripción y la traducción son simultáneas, mientras que en los

eucariontes están separadas en tiempo y espacio. Para traducir el mensaje de RNAm en una proteína, el RNAm se ancla a una estructura compleja llamada ribosoma, la cual esta compuesta de 2 subunidades, formadas por RNAr y proteínas.

Para poder ser insertados en el lugar que les corresponde en la secuencia proteica, cada uno de los 20 aminoácidos se une a uno de sus correspondientes RNAt, los cuales tienen un sitio de unión para el aminoácido y un anticodón que es complementario a un codón en la secuencia del RNAm de acuerdo al código genético, por ejemplo la fenilalanina se une específicamente al RNAt cuyo anticodón tiene la secuencia AAA, que es complementaria al codón UUU del RNAm. Bajo la influencia de factores citoplásmicos (de inicio, elongación y término) se lleva a cabo la formación de la cadena polipeptídica y eventualmente un codón de terminación será alcanzado y el polipéptido completo será liberado del ribosoma (6, 8).

Finalmente la proteína nativa puede sufrir diversas modificaciones sobre su estructura original, por ejemplo glicosilación, fosforilación, formación de puentes disulfuro, entre otras. A estos procesos se les conoce como modificaciones postraduccionales (3).

Puesto que la secuencia primaria de las bases en las regiones codificantes del DNA determinan las correspondientes secuencias primarias de aminoácidos en la proteína, se considera que el gen y su proteína son colineares, por lo que cualquier alteración en la secuencia de bases en el gen



resultará en una alteración de la proteína en un punto específico en su secuencia (8).

Una mutación se define como una alteración estable y heredable en el DNA que puede pasar una célula a su progeñie. Algunas mutaciones son genéticamente letales y no pueden pasar de una generación a la siguiente, mientras otras son menos deletéreas y son toleradas en la descendencia bajo condiciones permisivas (8) y pueden producirse mutaciones benéficas.

Un concepto importante para entender el papel que juegan las mutaciones en los procesos de transmisión genética es el de polimorfismo genético. Este concepto se refiere a la existencia de diferentes formas moleculares de un gen en su locus genético; a las diferentes variedades de un mismo gen se les denomina alelos (9). Para cada loci genético un individuo posee dos alelos (con excepción de algunos locus de los cromosomas X y Y en varones humanos, que presentan un solo alelo), cada uno de ellos derivado de cada progenitor. Cuando los alelos pareados son iguales se considera que el individuo es homocigoto y cuando son diferentes heterocigoto (10).

Además del polimorfismo existen tres factores genéticos que deben ser considerados cuando alguna enfermedad es transmitida genéticamente y que son: heterogeneidad, variabilidad y pleiotropismo. La heterogeneidad genética se refiere a la posibilidad de tener una misma expresión fenotípica debido a mutaciones en genes diferentes, ya sean

diferentes mutaciones en un solo locus o bien de genes mutantes en loci diferentes. La variabilidad genética está dada debido a los diferentes alelos que pueden ocupar el mismo locus. Cada alelo se expresará fenotípicamente con una actividad de la proteína más o menos diferente de acuerdo con el tipo y extensión de la mutación, así por ejemplo puede haber individuos normales con 80 o 100% de la actividad de la proteína. Por último, el pleiotropismo genético se refiere a cuando un gen o genes producen múltiples efectos, es decir, cuando afectan varios rasgos (11).

Puede haber alteraciones gruesas en la estructura o número cromosómico (aberraciones estructurales y numéricas), o puede alterarse el genoma completo (poliploidías). Por otra parte puede haber mutaciones, cuando se involucra delección, inserción o reemplazamiento de una sola o un número limitado de bases, estas son las llamadas mutaciones puntuales. Al substituir una base por otra puede ser que no cambie el aminoácido para el que codifica el codón; que cambie por uno que sea similar y no afecte la función de la proteína; que cambie por uno diferente y afecte la función de la proteína o que resulte un codón de término que bloqué desde ese punto la síntesis proteica (8).

A lo largo de la evolución de las especies, dos tipos de procesos biológicos diferentes se han llevado a cabo para favorecerla. Unos, necesarios para mantener las características propias de cada especie y otros que generan variabilidad dentro de los individuos. Los primeros procesos

se pueden englobar bajo el término de transmisión genética y los segundos bajo el de mutaciones. Desde el punto de vista evolutivo, las mutaciones son procesos esenciales para desarrollar diversidad genética que permite a las especies biológicas la adaptación al medio por selección natural, por lo mismo se espera que una mutación, respecto al carácter original o silvestre, se exprese fenotípicamente de tres formas: con igual respuesta al medio, con mejor respuesta o con mala adaptación al mismo (12).

Las enfermedades genéticas caen en una de tres categorías 1) Desórdenes cromosómicos que involucran pérdida, exceso o alteración estructural de uno o más cromosomas, que afectan muchos genes, 2) Desórdenes Mendelianos o monogénicos, que son determinados primariamente por mutación en un solo gen. se expresa clínica y bioquímicamente por alteración en la función biológica de una proteína como causa primaria, éstas son las llamadas enfermedades genicas (8). Estas enfermedades presentan patrones de herencia simple (Mendeliana) que puede clasificarse en autosómica dominante, autosómica recesiva o ligada al X y 3) Desórdenes poligénicos y desórdenes multifactoriales que son causados por interacción de genes y múltiples factores exógenos o ambientales (8).

### **Metabolismo Intermedio e Integración Metabólica.**

En las células vivas las reacciones químicas están acopladas, para así constituir las diferentes vías metabólicas. El metabolismo es una actividad celular coordinada y con propósitos definidos, en el que cooperan muchos sistemas enzimáticos. El metabolismo desempeña cuatro funciones específicas: (i) obtener energía química a partir de la degradación de los elementos nutritivos ricos en ella o de la procedente de la captura de la energía solar, (ii) convertir las moléculas nutrientes en precursores de los sillares de las macromoléculas de la célula, (iii) reunir estos sillares a fin de sintetizar proteínas, ácidos nucleicos, lípidos, polisacáridos y otros componentes celulares y (iv) formar y degradar las biomoléculas que se necesitan en la función especializada de las células (3). También se consideran reacciones bioquímicas a los procesos de transporte de compuestos a través de las membranas celulares, así como a través de la mucosa intestinal y del epitelio del túbulo renal (13).

El metabolismo comprende centenares de reacciones diferentes catalizadas por enzimas, que representan las unidades más sencillas de la actividad metabólica, cada una de las cuales promueve las etapas catalíticas secuenciales que intervienen en una vía metabólica determinada. Tales vías pueden comprender desde 2, 10 o más enzimas que actúan en forma consecutiva, de modo coordinado, en que el producto de

la primera reacción es el sustrato de la siguiente enzima y así sucesivamente. Los productos de transformación sucesivos se conocen como intermediarios metabólicos o metabolitos.

Cada una de las etapas consecutivas de estas vías, lleva a cabo un cambio químico específico, sencillo, habitualmente la transferencia, la separación o la adición de un átomo, molécula o grupo funcional específico. A través de estos cambios ordenados, etapa a etapa la biomolécula captada va siendo transformada en su producto final metabólico activo. La mayor parte de las rutas metabólicas son lineales, pero algunas son cíclicas. Habitualmente las vías metabólicas poseen ramas que conducen al exterior o al interior. El término metabolismo intermedio se emplea frecuentemente para representar las secuencias específicas de los intermediarios que intervienen en las rutas del metabolismo celular.

El metabolismo intermedio tiene dos fases: catabolismo y anabolismo. El primero es la degradación de las moléculas ricas en energía. El segundo es la biosíntesis de componentes celulares nuevos. Ambos se producen en tres fases principales. En la primera fase del catabolismo, los polisacáridos, los lípidos y las proteínas, se degradan enzimáticamente hasta sus sillares constituyentes; en la segunda fase los sillares se oxidan a acetil-CoA, como producto principal, y en la tercera fase el grupo acetilo del acetil-CoA se oxida hasta dióxido de carbono. Las rutas catabólicas convergen hacia una ruta final común, mientras que las rutas anabólicas son divergentes a fin de originar

multitud de productos biosintéticos diferentes a partir de unos pocos precursores. Las rutas catabólicas y analólicas correspondientes no son idénticas enzimáticamente, están reguladas de diferente manera y, con frecuencia, se hallan localizadas en partes diferentes de la célula. El catabolismo de las moléculas nutrientes va a la par de la conservación de algo de la energía del nutriente en forma de trifosfato de adenosina (ATP). Este último actúa como transportador de energía química desde las reacciones catabólicas hasta los procesos celulares que consumen energía: la biosíntesis, la contracción o el movimiento, el transporte a través de las membranas y la transferencia de la información genética. La energía química en forma de potencial de reducción se transporta también desde las rutas catabólicas a las anabólicas en forma de NADPH y NADH coenzima reducida (3).

El metabolismo está regulado por tres mecanismos diferentes. La primera forma de regulación, de respuesta más inmediata, es a través de la acción de las enzimas alostéricas que son capaces de cambiar su actividad catalítica en respuesta a moléculas efectoras, estimuladoras o inhibitorias. Las enzimas alostéricas se encuentran generalmente próximas o en el comienzo de una vía enzimática y catalizan la etapa limitante de la velocidad de la vía, que habitualmente es una reacción irreversible.

El segundo mecanismo de control metabólico es por regulación hormonal; las hormonas son mensajeros químicos segregados por diferentes glándulas endocrinas y

transportados por la sangre hasta el tejido u órgano blanco para estimular o inhibir alguna actividad metabólica.

El tercer nivel es la regulación genética, también llamada inducción enzimática, la cual se basa en el control de la concentración de una enzima determinada en la célula. La concentración de una enzima en un momento dado es el resultado de un balance entre su velocidad de síntesis y su velocidad de degradación. La velocidad de síntesis de algunas enzimas se acelera considerablemente en ciertas condiciones de modo que la concentración real de la enzima aumenta substancialmente. Por ejemplo en el caso de una dieta rica en carbohidratos y pobre en proteínas, se encuentran en el hígado bajas concentraciones de las enzimas que degradan a los péptidos y a los aminoácidos; pero cuando la dieta es rica en proteínas el hígado mostrará concentraciones elevadas de dichas enzimas. Por tanto, la célula hepática puede intervenir en la biosíntesis de enzimas específicas, interrumpiéndola o poniéndola en marcha, dependiendo de los nutrientes que adquiere (figura 4) (3).

#### **Nutrición.**

La célula es un sistema termodinámico abierto que requiere de nutrimentos para mantenerse, crecer, especializarse y dividirse. La nutrición es el conjunto de fenómenos implicados en la obtención y asimilación de tales nutrimentos (2).

La nutrición es fundamentalmente un proceso celular que ocurre continuamente y está determinado por factores genéticos y ambientales; entre los últimos se destaca la alimentación, factores físicos como el clima y otros de tipo biológico, psicológico y sociológico (14). Los nutrimentos que requiere la célula pueden ser de varios tipos: plásticos, que se utilizan para la formación de nuevos tejidos como las proteínas y algunos minerales; energéticos, para la producción de energía como las grasas, carbohidratos y proteínas; y reguladores, que favorecen la utilización adecuada de las sustancias plásticas y energéticas como las vitaminas y algunos minerales (15).

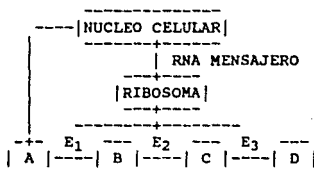


Figura 4. Regulación Genética del Metabolismo. Inducción enzimática, una concentración elevada de A puede producir un incremento en la síntesis de E1, E2 y E3 (3).



## 1.2 Errores Innatos del Metabolismo (EIM).

Sir Archibald Garrod fue el primero en establecer el concepto de "enfermedades metabólicas" congénitas. En 1908 hizo notar cuatro trastornos metabólicos (albinismo, alcaptonuria, cistinuria y pentosuria) que tienen ciertos caracteres en común. Primero, el comienzo de cada una de estas cuatro enfermedades es en los primeros días o semanas de vida; segundo, en un gran número de casos, estas afecciones son familiares; tercero, todas son relativamente benignas y no acortan la duración de la vida; y el cuarto, es la frecuencia con que estos trastornos se presentan entre los descendientes de matrimonios consanguíneos (16, 17).

Garrod observó que los pacientes con alcaptonuria excretaban grandes y constantes cantidades de ácido homogentísico, observó que esta condición tenía una distribución familiar y que, frecuentemente uno o más hermanos estaban afectados, y los padres y familiares distantes eran normales. Estas observaciones podían ser explicadas si el defecto era heredado como condición autosómica recesiva en términos de las entonces recientemente redescubiertas Leyes de Mendel.

De sus observaciones en pacientes con alcaptonuria, albinismo, cistinuria y pentosuria, Garrod desarrolló el concepto de que ciertas enfermedades surgen porque una enzima que gobierna un solo paso metabólico está reducida en su actividad o completamente perdida (8).

El postulado de Garrod de que la alcaptonuria se debía a un defecto enzimático específico fue confirmada 50 años después. En 1958, La Du y colaboradores estudiaron a las enzimas que participan en la degradación de la tirosina en biopsias de hígado de individuos normales y de pacientes con alcaptonuria, en estos encontraron una deficiencia virtualmente total de la enzima oxidasa de ácido homogentísico (18).

Los estudios de Pauling (19) y de Ingram (20) sobre la hemoglobina anormal presente en la anemia de células falciformes, demostraron que un único aminoácido está modificado en la molécula de hemoglobina (valina por ácido glutámico en la posición 6 de la cadena beta de la hemoglobina) lo que ocasiona una actividad alterada de la misma. Con esto se demostró que las enfermedades Mendelianas y por tanto, los EIM, son causados por genes mutados que producen proteínas anormales, donde las funciones de las últimas están alteradas.

La validez del concepto de Garrod fue apoyada fuertemente por los experimentos de Beadle y Tatum (21) que usaron como modelo biológico al hongo *Neurospora crassa* y formularon explícitamente la relación entre genes y enzimas. La cepa silvestre de *N. crassa* crece óptimamente en medios de cultivo simples que contienen una fuente de nitrógeno inorgánico, una fuente de carbono, sales minerales y biotina. Cuando estos cultivos se exponen a un mutágeno, se pueden obtener mutantes que no crecerán en el medio de cultivo

simple a menos que se le adicionen nutrientes específicos. De esta manera se pueden producir EIM para varias reacciones químicas cuyo producto se pueda adicionar al medio de cultivo.

El análisis sistemático de los requerimientos nutricionales específicos de los mutantes, permite definir la secuencia de reacciones en una vía metabólica y la posición de los bloqueos impuestos por deficiencias enzimáticas específicas genéticamente determinadas. Del estudio de los mutantes nutricionales de *N. crassa* y la caracterización de las deficiencias enzimáticas específicas en estas cepas, se derivó el concepto de que la función de los genes es dirigir la síntesis de enzimas específicas. El concepto de "un gen = una enzima" de Beadle y Tatum plantea que:

1. Todos los procesos bioquímicos en todos los organismos están bajo control genético.

2. Estos procesos bioquímicos se pueden resolver en una serie de reacciones individuales consecutivas.

3. Cada reacción bioquímica esta bajo el control de un solo gen diferente.

4. La mutación de un solo gen altera la capacidad de la célula para llevar a cabo una sola reacción química primaria (22).

El concepto "un gen = una enzima" sufrió varias modificaciones y finalmente se expresó como "un cistrón = un polipéptido" y se define al cistrón como la unidad funcional de DNA que especifica la estructura de una sola cadena

polipeptídica. En su expresión final, el concepto incluye a todas las proteínas independientemente de su función (8).

Rosenberg define a los EIM como "desordenes bioquímicos determinados genéticamente debidos a defectos congénitos específicos en la estructura o función de moléculas protéicas" (1).

Se conocen más de 2,000 enzimas diferentes, por lo tanto deberían existir cuando menos el mismo número de EIM. Sin embargo, solamente se conocen en la actualidad poco más de doscientos. Esto quiere decir que la mayor parte de estos defectos están aún por ser descubiertos. Probablemente algunos de ellos sean responsables de defectos en la embriogénesis, que dan lugar a abortos o sean incompatibles con la vida extrauterina. (13).

Es interesante señalar que existen bloqueos metabólicos que se originaron en ancestros del género humano y que por lo tanto todos los miembros de nuestra especie los compartimos. Tal es el caso de la incapacidad para sintetizar vitamina C, así como para la síntesis de los aminoácidos que se conocen como esenciales.

#### **Fisiopatología de los Errores Innatos del Metabolismo.**

Cada enfermedad genética resulta de una alteración primaria en la estructura del DNA. Este cambio conduce a la producción de un RNAm anormal o a un cambio en la cantidad de RNAm normal. La alteración en el RNAm produce un trastorno en la cantidad de proteína o en la estructura y función de

estas. El trastorno conduce a la interrupción de la función de células y órganos. Tres mecanismos generales de patogénesis pueden ser distinguidos.

1) Las proteínas pueden tener un efecto relativamente directo en un sistema biológico; a menudo pueden afectar funcionalmente proteínas conexas.

2) Las proteínas pueden afectar el metabolismo de otras moléculas (a menudo metabolitos pequeños) que son intermediarias en la patogénesis.

3) Proteínas que pueden regular la expresión de otros genes.

#### **Proteínas con acción directa.**

Aun en caso de que la patogénesis implique una acción directa de la proteína, estas interactúan en un sistema complejo, y pueden tener efectos secundarios en otras moléculas. Desórdenes en las cadenas protéicas de la hemoglobina pueden conducir a efectos directos en la capacidad de transportar oxígeno, o llevar a anomalías en la maduración de los eritrocitos.

#### **Proteínas que afectan el metabolismo de otras moléculas.**

La patogénesis de la mayoría de los EIM involucra efectos secundarios en el metabolismo de otras moléculas. En algunos casos la patogénesis involucra deficiencia de los productos cuya síntesis o transporte está dañado. En otros la patogénesis involucra la acumulación perjudicial de

substratos debido al daño en el metabolismo o transporte (figura 5) (8).

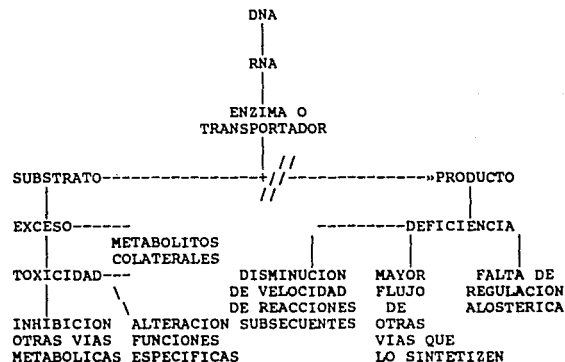


Figura 5. Fisiopatología de los EIM

Cuando el sustrato se acumula, crea un flujo metabólico alterado hacia metabolitos colaterales que usualmente no están presentes o se encuentran en concentraciones fisiológicas bajas. Tanto el sustrato como los metabolitos colaterales pueden generar toxicidad fundamentalmente por dos mecanismos: (i) inhibición de vías metabólicas y (ii) alteración de la función de algún órgano específico (8).

El primer mecanismo se puede llevar a cabo por retroalimentación (ley de acción de masas) o por modificación

sobre la cinética de otras enzimas, ya sea sobre su sitio activo y/o sus sitios alostéricos, o bien inhibición competitiva de transportadores (23) (figura 6). El segundo mecanismo puede generarse por alteración primaria de la fisiología de algún órgano en particular (por falsos neurotransmisores, síndrome colestático, etc.) o alterando inicialmente la anatomía cuando se almacenan en algún espacio subcelular y después el funcionamiento del órgano (hepatomegalia, esplenomegalia, cataratas, etc.) (24, 25).

Por otro lado, la carencia del producto de la reacción bloqueada por el EIM genera alteraciones metabólicas de tres tipos: disminución de la velocidad metabólica de las vías que lo usan como sustrato, falta de regulación de las vías que lo utilizan como modulador alostérico y aumento del flujo de metabolitos hacia vías metabólicas que lo pueden sintetizar aparte de la que está alterada por el bloqueo (8).

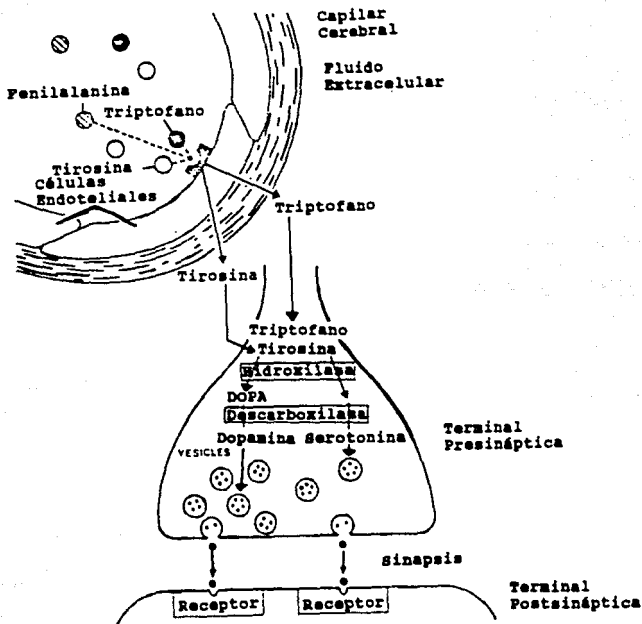


Figura 6. Posible mecanismo de interferencia por la fenilalanina de la síntesis de dopamina y serotonina. Un incremento en la concentración de fenilalanina en sangre puede limitar el transporte de tirosina y triptofano a través de la barrera hematoencefálica (23).



### **Proteínas que regulan la expresión de genes.**

Hay evidencias de que muchas hormonas y ligandos representan productos de genes reguladores, defectos en algunos de estos genes han probado que representan mutaciones en genes de control como lo es la delección de la región testículo determinante en el cromosoma Y en las mujeres XY. Esto es, hay evidencias de que la región determinante sexual codifica para una proteína que se ancla al DNA de manera secuencia específica y puede regular la transcripción. Desordenes en el receptor de andrógenos pueden probar que representan defectos en proteínas que regulan la transcripción (26).

La patogénesis de una enfermedad puede ser influenciada por la naturaleza exacta de la mutación. Una proteína puede estar totalmente ausente, puede ser producida pero no tener actividad funcional, o puede ser producida y tener propiedades funcionales alteradas. En el caso de enzimas, la actividad residual puede también resultar de la inestabilidad de la proteína. En otros casos, una cantidad reducida de proteína normal puede ser sintetizada, como en el caso de una mutación en intrones que altere el procesamiento y sólo una pequeña proporción de la molécula de RNAm sea procesada normalmente.

Frecuentemente niveles residuales de función de la proteína o actividad enzimática pueden ser correlacionados con fenotipos medios, pero la correlación entre la actividad

*in vitro* e *in vivo* frecuentemente provee un pronóstico confiable basado en resultados *in vitro* (8). Las proteínas pueden ser defectuosas en las modificaciones postraduccionales como en el caso del alelo 2 en la deficiencia de  $\alpha_1$ - antitripsina (8). Muchas proteínas son enviadas a la mitocondria, lisosomas y otros compartimientos o al espacio extracelular y puede haber mutaciones en vías que afecten los mecanismos de envío. Así una mutación en el locus de una enzima lisosomal puede llevar a la no producción de una proteína, a la producción de una proteína que nunca llega al lisosoma, o a la producción de una proteína que llega al lisosoma pero es inestable o catalíticamente débil. Proteínas no enzimáticas pueden mostrar gran variedad de defectos, tales como una tendencia marcada a la agregación o un anclaje defectuoso del ligando (8).

Como ya se mencionó, para que la enfermedad sea considerada un EIM la carencia de la actividad de la proteína debe ser, obligatoriamente, secundaria a mutaciones sobre el DNA. En este contexto, existe un grupo de enfermedades que semejan a los EIM pero que no son secundarias a mutaciones sino a carencias nutricionales y/o uso de drogas. A estas condiciones se les denomina fenocopias. Como ejemplos de las mismas tenemos a la deficiencia de biotina, dada por desnutrición, al uso de alopurinol en la Gota y a la Enfermedad Jamaicana del Vómito dada por una inhibición de la enzima glutaril-CoA deshidrogenasa por la metilenciclopropilacetil- CoA (27).

### **Clasificación de los Errores Innatos del Metabolismo.**

Actualmente se conocen un poco más de 200 EIM, que afectan tanto vías anabólicas como catabólicas y de transporte, al ser tan variados es difícil establecer un criterio de clasificación. Sin embargo, se pueden dividir en dos grupos, errores en el metabolismo de moléculas pequeñas (por ejemplo acidemias orgánicas, defectos en el ciclo de la urea, aminoacidopatías, etc.) y errores en el metabolismo de macromoléculas (enfermedades por atesoramiento) (13). O bien, clasificar a los EIM de acuerdo con el lugar en la ruta metabólica, ya sea en rutas de síntesis o de degradación, o de acuerdo al tipo de molécula cuyo metabolismo se encuentra alterado (tabla I).

### **Frecuencia de los Errores Innatos del Metabolismo.**

Los EIM de manera individual pueden considerarse, en general, como padecimientos muy raros, pero si se toma en cuenta a todos en conjunto se ve que son un problema importante de salud pública.

En la tabla II se muestra la frecuencia de los EIM más comunes.

Tabla I. Clasificación de los Errores Innatos del Metabolismo de acuerdo al tipo de molécula afectada en su ruta metabólica (28).

---

Anomalías en el metabolismo de las purinas:

- Enfermedad de Lesch-Nyhan.
- Hiperuricemia.
- Anormalidades en la síntesis de PRPD.
- Deficiencia de adenosina deaminasa.
- Xantínuria.

Anomalías en el metabolismo de aminoácidos:

- Orina de jarabe de arce.
- Acidemia propiónica.
- Acidemia metilmalónica.
- Deficiencia múltiple de carboxilasas.
- Deficiencia de 3-cetotiolasa.
- Acidemia isovalérica.
- Fenilcetonuria.
- Tirosinemia.
- Alcaptonuria.

Anomalías en el metabolismo de carbohidratos:

- Galactosemia.
- Glucogenosis I, III, IV, V, VI, VII, VIII.
- Diabetes Mellitus.
- Acidemia láctica.

Anomalías en el transporte:

- Fibrosis quística.
- Cistinosis.
- Raquitismo hipofosfatémico.
- Raquitismo dependiente de vitamina D.

Anomalías en los metales:

- Síndrome de Menkes.
- Enfermedad de Wilson.

Anomalías en el metabolismo de los lípidos:

- Hipercolesteronemia familiar.
- Acidemia mevalónica.

Anomalías del ciclo de la urea:

- Hiperamonemia I y II.
  - Citrulinemia.
  - Arginosuccinaciduria.
  - Argininemia.
- 

continua...

Tabla I. Clasificación de los Errores Innatos del Metabolismo de acuerdo al tipo de molécula afectada en su ruta metabólica (28).  
. Continuación

---

**Anomalías por almacenamiento lisosomal:**

- Glucogenosis II.
- Gangliosidosis GM I, II y III.
- Enfermedad de Tay Sachs.
- Leucodistrofia metacromática.
- Enfermedad de Nieman-Pick.
- Enfermedad de Gaucher.
- Mucopolisacaridosis.

**Anomalías endócrino-exócrinas.**

- Hiperplasia adrenal congénita.
  - Deficiencia de 5-alfa-reductasa.
  - Pseudohipoparatiroidismo.
-

Tabla II. Frecuencia de los Errores Innatos del Metabolismo más comunes (8).

Error Innato del Metabolismo	Frecuencia*
Hipercolesteronemia familiar	1 en 500
Fibrosis Quística	1 en 2500 (caucásicos)
Enfermedad de Tay-Sachs	1 en 3000 (J Ashkenazi)
Glucogenosis III	1 en 5400* (J Ashkenazi)
Hipotiroidismo congénito	1 en 6000
Cistinuria	1 en 7000
Deficiencia de 1-antitripsina	1 en 8000
Fenilcetonuria	1 en 12000
Histidinemia	1 en 17000
Iminoglicinuria	1 en 20000
Intolerancia hereditaria a la fructosa	1 en 20000-(suecos)
Mucopolisacaridosis (todos los tipos juntos)	1 en 25000
Enfermedad de Hartnup	1 en 26000
Hiperprolinemia	1 en 40000
Glucogenosis (todos los tipos juntos)	1 en 50000
Galactosemia	1 en 57000
Deficiencia de biotinidasa	1 en 60000
Deficiencia de adenosina-deaminasa	1 en 100000
Fructosuria esencial	1 en 130000-
Orina de arabe de arce	1 en 200000
Homocistinuria	1 en 200000

\* La frecuencia puede variar entre grupos étnicos por ejemplo de 1 en 500 en Dublín a 1 en 200000 en Japón para la Fenilcetonuria (29).

~ (24).

- (30).

### 1.3 Genética de los Errores Innatos del Metabolismo.

Más del 95% de los EIM son heredados en forma autosómica recesiva. Esto es, los heterocigotos portadores del gen mutante son por lo regular clínicamente sanos (13). Por esta razón, estos defectos son más frecuentes en hijos de matrimonios consanguíneos. El que los heterocigotos muestren un fenotipo normal, a pesar de poseer sólo el 50% de la actividad enzimática presente en individuos normales, indica que para un gran número de reacciones bioquímicas el organismo cuenta con una importante reserva funcional (31).

Es frecuente que un niño afectado, homocigoto para el gen mutante, nazca clínicamente sano. Su madre, aunque portadora del gen defectuoso, tiene un metabolismo normal que protege al niño durante su vida intrauterina. En muchos de estos casos es sólo después del nacimiento, cuando empieza el bebé a ingerir alimentos que aparece la alteración bioquímica, la cual posteriormente dará origen al daño orgánico (13, 31).

Cuando el modo de herencia es autosómico recesivo, los padres de individuos afectados serán necesariamente heterocigos, ambos portadores del gen mutante. Por lo tanto, cada uno de los siguientes embarazos tendrá un riesgo de 1 en 4 (25%) de dar lugar a un nuevo enfermo. En aquellos defectos en los que el modo de herencia sea recesivo ligado al X, si la madre es portadora, cada hijo varón tendrá un riesgo de 50% y la mitad de las hijas serán portadoras. En aquellas

raras enfermedades del metabolismo heredadas en forma dominante el 50% de los hijos de un individuo enfermo padecerán la enfermedad (13).

#### **1.4 Manifestaciones Clínicas de los Errores Innatos del Metabolismo.**

Dado que puede estar afectada cualquiera de las vías metabólicas es natural que las manifestaciones clínicas de los EIM sean muy diversas. Pueden presentarse, solas o en diferentes combinaciones, como afecciones sistémicas que constituyen enfermedades neonatales graves y/o cuadros de presentación periódica con vómitos persistentes, crisis convulsivas y letargo que puede evolucionar a coma. Los EIM que se asocian con estos síntomas en el periodo neonatal son las acidemias orgánicas, los defectos en el ciclo de la urea y ciertos desordenes del metabolismo de los aminoácidos (32-35). Estos síntomas se asocian con intolerancia a las proteínas, típicamente comienzan después de que se ha instituido el alimento. El intervalo entre el primer alimento proteico y las manifestaciones clínicas puede variar de horas a semanas. Inicialmente se presenta letargo, rechazo al alimento, sepsis, dificultad respiratoria; también pueden observarse anormalidades en el tono muscular y crisis convulsivas (13, 33, 34).



Además de los signos y síntomas mencionados, otras manifestaciones clínicas importantes asociadas a EIM son las siguientes:

#### **Manifestaciones Neurológicas**

Pueden presentarse alteraciones del sistema nervioso expresadas como retraso mental, convulsiones, ataxia, parálisis, alteraciones en el tono muscular, letargo y coma, así como neuropatías periféricas o trastornos de la conducta (13).

#### **Alteraciones Hepáticas**

La ictericia u otras evidencias de disfunción del hígado pueden ser el hallazgo inicial en varios EIM en el periodo neonatal, como la galactosemia. Otro EIM que ocasionalmente se relaciona con ictericia, hepatomegalia y la presencia de sustancias reductoras en orina es la intolerancia hereditaria a la fructosa (25, 30, 33, 34). Otro desorden que presenta enfermedad en el hígado en la infancia temprana es la tirosinemia hereditaria (33, 34).

Los desórdenes asociados con hepatomegalia caen en dos categorías generales: las enfermedades por atesoramiento y aquéllos asociados con daño o disfunción hepática. Ocasionalmente aparece la hepatomegalia en el periodo neonatal en enfermedades como Gangliosidosis GM tipo I, enfermedad de Gaucher, enfermedad de Niemann-Pick y enfermedad de Wolman, todas también asociadas con

esplenomegalia (13, 31, 33, 34).

#### **Manifestaciones Dermatológicas**

En algunos casos hay en piel y anexos trastornos tales como albinismo, fotosensibilidad, úlceras y cáncer de la piel; alopecia y tricorrexis nodosa. El cabello anormal, aunque frecuentemente difícil de evaluar en el recién nacido, puede ser una pista para el diagnóstico de aciduria arginosuccínica, intolerancia proteica con lisinuria y Síndrome de Menkes con cabello ensortijado (34).

#### **Manifestaciones Oculares**

Hallazgos anormales en ojos se asocian típicamente con muchos EIM, por ejemplo cataratas con galactosemia, la luxación del cristalino se ve en la homocistinuria y la deficiencia de sulfito oxidasa. En desordenes peroxisomales como el Síndrome de Zellweger y la adenoleucodistrofia neonatal se observan cambios degenerativos de la retina. Otras anomalías que pueden asociarse con EIM incluyen hipopigmentación del iris en fenilcetonuria y albinismo, mancha rojo-cereza en la enfermedad de Niemann-Pick, glaucoma congénito y opacidad corneal en la mucopolisacaridosis (13, 34).

### **Hipoglicemia**

La hipoglicemia y sus síntomas asociados son comunmente vistos en desórdenes del metabolismo de los carbohidratos o de la oxidación de ácidos grasos como la deficiencia de acil CoA de cadena larga o mediana (34).

### **Facies**

En algunos EIM, fundamentalmente en aquéllos donde se almacenan macromoléculas, el paciente presenta facies peculiar; por ejemplo el paciente con Glucogenosis I presenta "facies de muñeca" (24), mientras que algunos niños mayores con mucopolisacaridosis muestran "facies tosca" ésta última puede ser observada ocasionalmente en neonatos con Gangliosidosis GM I, deficiencia de  $\beta$ -glucuronidasa, enfermedad de células I y sialidosis infantil (33, 34).

### **Macroglosia**

La macroglosia es un hallazgo típico de la enfermedad de Pompe (Glucogenosis II), también se ha descrito en neonatos con Gangliosidosis GM I (34).

### **Diarrea**

En relativamente pocos de los EIM se presenta diarrea. Esta aparece en galactosemia, ciertos casos de fibrosis quística y en desórdenes menos familiares como la enfermedad de Wolman y la tirosinemia hereditaria (34).

## Olor Peculiar

El olor anormal en el cuerpo o en la orina, es una pista importante para el diagnóstico de algunos EIM y puede ser el hallazgo clínico más específico. Está descrito para la fenilcetonuria en la que la orina tiene un olor peculiar como rancio. En la orina de jarabe de arce la orina tiene un distintivo olor a jarabe de arce ("maple syrup") o azúcar quemada. El olor asociado con la acidemia isovalérica es muy picante y similar al de los pies sudados (33, 34).

Otras manifestaciones que pueden presentarse son miopatías, deformaciones esqueléticas y articulares; anemia y sangrado, cardiomegalia, insuficiencia cardíaca, aterosclerosis e infarto del miocardio; enfisema pulmonar, litiasis, insuficiencia renal y tubulopatías, dolor abdominal, síntomas gastrointestinales, hepatopatía y visceromegalia.

Otros EIM constituyen la base de la respuesta anormal que algunos individuos presentan a ciertos medicamentos, como en la deficiencia en la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa, donde se presenta una respuesta anormal a analgésicos, sulfamidas y drogas antimalaria (8). Los barbitúricos, sulfamidas, antibióticos y estrógenos pueden provocar crisis clínicas en pacientes con porfiria aguda intermitente (36).

Hay también errores metabólicos que parecen ser completamente benignos y no dan lugar a ninguna anomalía clínica conocida, como la pentosuria y la fructosuria

esencial (13, 30, 37).

La edad de aparición del cuadro clínico puede variar. Como se mencionó puede ser en el periodo neonatal, como en el caso de los defectos en el ciclo de la urea, algunas aminoacidopatías y las acidemias orgánicas. A veces el cuadro clínico es evidente después de unos meses de vida. Este es el caso de la fenilcetonuria, la aminoacidopatía más frecuente, que se manifiesta con retraso psicomotor aparente a los 4-9 meses, cabello claro, olor peculiar y crisis convulsivas primero mioclónicas y luego generalizadas de tipo tonico-clónico en el primer año de vida.

Otras veces la sintomatología se presenta a los pocos años de vida, como en algunas glucogenosis musculares como la Glucogenosis V (24) que se presenta generalmente en la juventud. Otros EIM se expresan clínicamente muchos años después del nacimiento, en la edad adulta, como las hipercolesteronemias familiares (31).

Desde el punto de vista bioquímico se puede interpretar que los síntomas clínicos irreversibles reflejan daños estructurales permanentes, mientras que los reversibles son debidos a defectos funcionales transitorios (38).

Otro punto importante son los antecedentes familiares, pues muchas veces se encuentra que en la familia hay miembros que presentan un cuadro clínico similar, o hubo muertes neonatales no diagnosticadas, entre otras cosas. Es también importante saber si los padres son consanguíneos, pues en estas parejas se aumenta la probabilidad de ser portadores

del mismo gen afectado y por lo tanto tener hijos homocigotos recesivos, dato importante si recordamos cerca del 95% de los EIM se heredan de manera autosómica recesiva (31).

#### **1.5 Diagnóstico de los Errores Innatos del Metabolismo.**

Para el diagnóstico de los EIM deben tomarse en cuenta dos puntos: primero que, existen EIM en los que la alteración bioquímica, responsable del daño orgánico, aparece hasta después del nacimiento y en algunos de ellos es posible evitar este daño si se instaura un tratamiento antes de que aparezca la sintomatología. Esto plantea la necesidad de hacer un tamiz de todos los recién nacidos para tener un diagnóstico temprano. El otro punto es que un grupo importante de EIM no presenta un cuadro clínico específico que dé la pauta para el diagnóstico, esta inespecificidad hace necesario el apoyo en estudios de laboratorio que forman parte del tamiz llamado de alto riesgo, realizado en una población de enfermos previamente seleccionados en base a ciertas manifestaciones clínicas (13, 31).

Lo ideal es el diagnóstico presintomático, antes de que aparezca el cuadro clínico, lo que permite en algunos casos prevenirlo o aminorarlo y en otros, planear más racionalmente la conducta reproductiva (35).

El diagnóstico presintomático está orientado a la detección precoz de la enfermedad para iniciar tratamiento cuando es posible y para otorgar asesoramiento genético (35).

Quando ya se han presentado las manifestaciones clínicas, el enfoque diagnóstico es diferente según se trate de un padecimiento crónico o de un padecimiento grave o agudo (13).

#### **Estudios de laboratorio.**

Los EIM por definición son enfermedades hereditarias en las cuales se conoce el defecto bioquímico responsable de ellas. Este conocimiento facilita diseñar estrategias diagnósticas y terapéuticas efectivas y permite determinar con más exactitud el pronóstico del paciente y los riesgos de recurrencia que tienen sus familiares.

Son pocos los EIM en los que hay una buena correspondencia entre el defecto metabólico y las manifestaciones clínicas, de manera que el laboratorio clínico resulta casi siempre indispensable para establecer y precisar el diagnóstico. Además el laboratorio es importante durante su tratamiento para cuantificar los metabolitos afectados, con el fin de mantenerlos en niveles cercanos a lo normal.

Como estas enfermedades pueden resultar de la alteración de cualquiera de los muchos procesos metabólicos que se llevan a cabo en el organismo, las metodologías necesarias para estudiarlos a todos son extremadamente variadas y no es posible en la práctica que un solo laboratorio las domine todas, lo que ha dado por resultado un proceso de especialización, tendencia que se ve reforzada por la baja

frecuencia particular de estas enfermedades.

#### **Tamiz metabólico.**

El abordaje más oportuno para el diagnóstico presintomático de los EIM lo constituyen las llamadas pruebas de tamiz.

Una definición formal describe al "tamiz" como la "identificación presuntiva de una enfermedad o defecto no reconocido, por medio de la aplicación de pruebas, exámenes u otros procedimientos que puedan aplicarse rápidamente y a un bajo costo. Las pruebas de tamiz separan a las personas de apariencia sana que probablemente no tienen estas enfermedades" (36). Este puede ser a gran escala cuando abarca toda una población (tamiz masivo) o selectivo cuando es dirigido a subgrupos de alto riesgo (35).

Aunque las pruebas de tamiz no son diagnósticas, permiten seleccionar a un grupo más pequeño de individuos con mayor probabilidad de estar afectados; en estos últimos sí resulta costeable el uso de procedimientos diagnósticos confirmatorios, de mayor costo y complejidad (13). El tamiz permite el hallazgo de casos no sólo con el objeto de realizar un estudio epidemiológico, sino también para detectar directamente a la enfermedad incipiente o establecida y dar tratamiento y asesoramiento genético.

El tamiz genético podría practicarse potencialmente a diversos niveles bioquímicos, que son determinantes de la metodología a utilizar. Estos niveles son: El gen, los



productos del gen que ha sido modificado por mutación y la función metabólica que ha sido alterada por la modificación del producto del gen (35).

El tamiz a nivel del gen, que hasta hace poco no era posible, (en ausencia de un mapa detallado del genoma humano y del conocimiento de la secuencia de nucleótidos del DNA del gen en cuestión), se vislumbra como un procedimiento realizable en un futuro cercano, gracias a los avances en las técnicas de DNA recombinante.

El tamiz que busca la modificación de la actividad o la estructura del producto del gen ha sido utilizado ampliamente para la identificación de diversos fenotipos. Por ejemplo el estudio electroforético de hemoglobinas para la búsqueda de hemoglobinopatías, la determinación de actividad modificada de la deshidrogenasa de glucosa-6-fosfato del eritrocito en sujetos susceptibles de presentar ciertas anemias hemolíticas y el estudio de la  $\alpha$ -1-antitripsina, cuya deficiencia predispone a fibrosis pulmonar (35).

El tamiz en búsqueda de anomalías a nivel de metabolitos es la forma más difundida de tamiz genético. El mejor ejemplo es el tamiz masivo para la fenilcetonuria, más de 25 millones de recién nacidos vivos han sido tamizados a este nivel en el mundo en los últimos veinte años (35). Este tipo de tamiz masivo es el llamado **TAMIZ NEONATAL**. A principios de la década de los sesenta se inició el desarrollo de los programas de selección masiva, primero para detectar precozmente, como ya se mencionó, fenilcetonuria y

más tarde abarcaron otras alteraciones, tanto en el metabolismo de aminoácidos como de azúcares, en los que se podía aplicar un tratamiento efectivo (38).

En muchos países el tamiz neonatal es un tamiz prescriptivo, es decir, que se realiza cuando existe la obligación sancionada por el Estado para practicarlo a todos los miembros de una población con el fin de detectar alguna enfermedad presintomática o establecida, con la intención de hacer una contribución directa a la salud de los individuos (39). Este mandato gubernamental debe basarse en la demostración de que el descubrimiento temprano de individuos afectados les conferirá algún beneficio (29, 35).

Wilson (39) propone que deben reunirse las siguientes condiciones para hacer prescriptivo un tamiz:

1) La condición buscada debe ser un problema importante. En el caso particular de los EIM, debemos considerar la carga acumulada de todos ellos y fundamentalmente su condición de incapacitantes (física y mentalmente). Su letalidad y el carácter de evitables de varios de ellos.

2) Debe existir un tratamiento aceptado para los pacientes con enfermedad reconocida.

3) Deben existir medios y servicios para el diagnóstico y tratamiento.

4) La historia natural de la condición buscada debe ser adecuadamente entendida.

5) Debe haber un estado latente o sintomático temprano reconocible.

6) Debe existir una prueba o examen adecuado que sea repetible, específica y sensible.

7) La prueba o examen debe ser confiable.

8) Debe existir una política convenida sobre quienes serán tratados.

9) La búsqueda de casos debe ser un proceso continuo.

10) El costo del diagnóstico temprano y tratamiento debe estar económicamente balanceado en relación al presupuesto total de la asistencia médica (29, 35).

En nuestro país participan en el Tamiz Neonatal algunas instituciones del área metropolitana y del interior. Actualmente se llevan a cabo estudios sobre aminoacidopatías (fenilketonuria, orina de jarabe de arce, tirosinemia, homocistinuria e histidinemia); deficiencia de biotinidasa e hipotiroidismo congénito. Se requieren muestras de sangre periférica embebidas en un papel filtro especial. En estas muestras se hace un estudio de inhibición bacteriana (Guthrie); se determinan aminoácidos por cromatografía de partición unidimensional en capa fina, hormona estimulante tiroidea por radioinmunoensayo y biotinidasa por espectrofotometría. Cuando uno de estos estudios resulta positivo o dudoso se requieren nuevas muestras para corroborar resultados (13, 31).

Una vez que las manifestaciones clínicas se han presentado, el enfoque diagnóstico es diferente según se trate de un padecimiento crónico, como el retraso mental, o de un padecimiento grave de presentación aguda, como las

acidurias orgánicas o los defectos del ciclo de la urea, que tienden a presentarse en forma fulminante en el período neonatal. En pacientes crónicos pueden presentarse manifestaciones inespecíficas, o bien manifestaciones que sugieran con alta probabilidad el defecto metabólico. En términos generales, en el primer grupo suele estar afectado el metabolismo de una molécula pequeña, que por su tamaño tiende a cruzar con relativa facilidad las membranas biológicas. Los segundos, clínicamente más específicos, son en su mayoría defectos del metabolismo de moléculas más grandes y complejas, como esfingolípidos o mucopolisacáridos, que se acumulan en los tejidos. Un grupo intermedio entre los dos anteriores abarca a la mayoría de las glucogenosis.

Dado que en el primero de estos subgrupos (crónico de moléculas pequeñas) existen diferentes posibilidades etiológicas, la mayoría no relacionadas a un error innato metabólico (por ejemplo, menos de un 5% de los casos de retraso mental se deben a una de estas enfermedades), conviene hacer una primera selección diagnóstica con pruebas sencillas antes de aplicar otras más complicadas y costosas. Al ser más específicas las manifestaciones en el segundo grupo (crónicos de macromoléculas), puede en estos enfermos plantearse una hipótesis diagnóstica más concreta y así utilizar de inmediato pruebas de laboratorio más informativas, como la determinación cualitativa y cuantitativa de substratos parcialmente degradados excretados en orina (cerebrósidos, sulfátidos y mucopolisacáridos) (40)

y la cuantificación de las enzimas específicas alteradas.

Una ausencia completa de actividad enzimática suele dar cuadros más graves y de inicio más temprano, mientras que una deficiencia enzimática parcial dará un cuadro crónico y tardío. En el caso de la galactosemia, muchos afectados presentan episodios agudos con sepsis en el período neonatal; otros con el mismo padecimiento mostrarán un curso crónico con retraso psicomotor, catarata y daño hepático de lenta instalación.

Debido a lo inespecífico del cuadro clínico de la mayoría de los EIM se emplean para su diagnóstico las llamadas pruebas de **TANIZ METABOLICO**. Estos estudios permiten seleccionar a casos probables, en quienes resulta justificado dedicar mayores energías y recursos para confirmar y precisar el diagnóstico.

Es importante mencionar que la primera selección la debe efectuar el clínico, sea éste médico familiar, pediatra, neurólogo, genetista, etc. en base a las manifestaciones clínicas que aparecen en la forma de solicitud de estudios metabólicos (anexo 1), con el fin de agotar los niveles diagnósticos progresivamente, es decir, aprovechar los recursos que existen en los diferentes niveles de atención para la salud (13, 31) (figura 7).

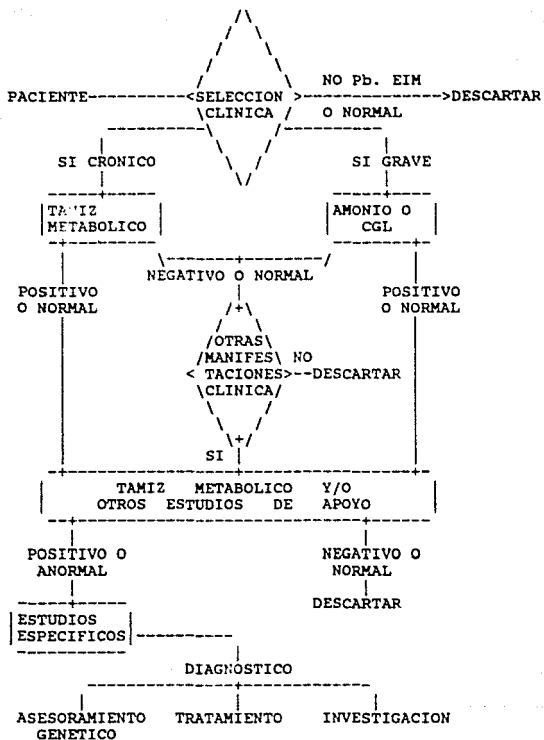


Figura 7. Diagrama de flujo del Tamiz Metabólico.

Posterior a este se debe llevar a cabo el TM en los individuos que se consideraron sospechosos de presentar un EIM por el análisis clínico y, finalmente, con datos positivos en el tamiz se deberán llevar a cabo pruebas más específicas para fundamentar un diagnóstico y un tratamiento. Un ejemplo de TAMIZ METABOLICO es el que se llevó a cabo en la Sección Clínica de la Unidad de Genética de la Nutrición del Instituto Nacional de Pediatría durante el periodo 1987-1989 y que consta de pruebas cualitativas en orina: 1) las llamadas Pruebas Químicas, para cetoácidos, tirosina, sustancias reductoras y aminoácidos azufrados; 2) de una prueba con tira reactiva para medir pH, proteínas, nítrito, urobilinógeno, billirrubina, glucosa, sangre, cuerpos cetónicos y leucocitos y 3) de una cromatografía bidimensional en capa fina de aminoácidos.

#### **Pruebas Químicas.**

Las pruebas químicas cualitativas son muy sencillas y de bajo costo, lo que permite hacerlas en gran número de pacientes. Es importante tener en cuenta que se realizarán un gran número de ellas antes de encontrar un caso positivo. Estas pruebas son de tamiz, no diagnósticas: son inespecíficas por que resultan positivas en más de una enfermedad, y aún en sujetos normales. Además dan un cierto número de resultados falsos positivos, pero en cambio son muy pocos los resultados falsos negativos, cuando el procedimiento es llevado en forma adecuada (41).

En pacientes con una o varias de las manifestaciones clínicas descritas, consideradas de riesgo y teniendo en cuenta sus condiciones (nutrición, otras enfermedades, tratamientos, etc.), se colectan de 20 a 30 ml de orina, de preferencia 2 hrs. después de un alimento rico en proteínas, con objeto de sobrecargar el metabolismo del individuo y hacer más claras y evidentes las características químicas. La orina debe congelarse inmediatamente después de ser colectada, para evitar el crecimiento de microorganismos, que alterarían los resultados. En esta orina se efectúa la búsqueda, por medio de una tira reactiva de glucosa, cuerpos cetónicos, nitrito, bilirrubina, proteína y sangre y también se mide el pH, en caso de que sea mayor a 7 y exista nitrito es indicación de contaminación bacteriana, por lo que se desecha la muestra y se pide una nueva para poder realizar las pruebas químicas correspondientes.

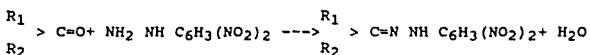
A continuación se describen las características de cada una de las pruebas químicas.

**Prueba de 2,4- dinitrofenilhidrasina (DNPH) para alfa - cetoácidos.**

Existen varios EIM asociados con un incremento en la excreción de uno o más cetoácidos en la orina. Este grupo incluye  $\alpha$ -cetoácidos aromáticos como los que se encuentran en fenilcetonuria (ac. fenilpirúvico) y tirosinosis(p-hidroxifenilpirúvico) y  $\alpha$ -cetoácidos alifáticos como los encontrados en la orina de jarabe de arce.



Reacción química.- estos compuestos reaccionan con el reactivo 2,4- dinitrofenilhidrazina. Este compuesto ha sido utilizado por muchos años como reactivo de tamiz ya que forma hidrazonas cristalinas relativamente insolubles con una variedad de compuestos carbonilados, cíclicos, alifáticos y aromáticos de importancia médica. Esta reacción procede de la siguiente manera:



Lo que da como resultado un producto insoluble, un precipitado amarillo se forma al añadir DNPH a una muestra de orina que contenga cantidades excesivas de alfa-cetoácidos. Además de los pacientes con fenilcetonuria, tirosinemia, orina de jarabe de arce e histidinemia, esta prueba es positiva en pacientes con cuerpos cetónicos en la orina como en diabetes mellitus fuera de control, hipoglicemia, acidemia metilmalónica, acidemia isovalérica, etc.

Esta prueba da resultados falsos positivos en orinas de pacientes con proteinuria.

Muchos de los resultados positivos están dados por causas no genéticas, por lo que es importante el empleo de procedimientos de laboratorio adicionales capaces de distinguir entre los compuestos reactivos.

La prueba de DNPH es positiva cuando hay cetonuria y/o

excreción de  $\alpha$ -cetoácidos. Esto último ocurre en pacientes graves con orina de jarabe de arce. En el caso de una acidemia metilmalónica, la prueba específica de color resultará francamente positiva.

Si esta prueba resulta positiva en dos muestras diferentes del paciente, los estudios que deben solicitarse a continuación son cromatografía de aminoácidos en orina y sangre y ácidos orgánicos en orina, a fin de apoyar o descartar los diferentes diagnósticos.

En el caso de que haya resultado positiva la prueba de DNPH y existan razones para pensar que no se debe a cetonuria (cuando resultó negativa en la tira reactiva) puede practicarse una cromatografía en capa fina de alfa-cetoácidos urinarios, como complemento de la cromatografía de aminoácidos urinarios (41).

Existe otra prueba la llamada de Cloruro Férrico que también identifica algunos cetoácidos que dan resultado positivo con DNPH (tabla III).

Tabla III. Errores Innatos del Metabolismo asociados con un incremento en la excreción de cetoácido. Comparación pruebas Dinitrofenilhidrazina (DNPH) y Cloruro férrico (FeCl3).

Error Innato del Metabolismo	Compuesto	DNPH	FeCl3
Fenilcetonuria.	Ac. fenilpirúvico	+	+
Orina de Jarabe de Arce.	Ac. $\alpha$ -ceto isovalérico	+	-
	Ac. $\alpha$ -ceto isocapróico	+	+
	Ac. $\alpha$ -ceto g-metilbutírico	+	-
Tirosinosis	Ac. p-hidroxifenilpirúvico	+	transitorio.
Tirosinemia	Ac. p-hidroxifenilpirúvico	+	transitorio.
Acidemia Pirúvica	Ac. pirúvico	+	-
Hipermetioninemia	Ac. p-hidroxifenilpirúvico	+	transitorio.
	Ac. $\alpha$ -ceto g-metilbutírico	+	-
	Ac. fenilpirúvico	+	+
Histidinemia	Ac. imidazol pirúvico	+	+

Modificada de Thomas y Howel, 1973 (41).

#### Prueba de Cianuro Nitroprusiato para Determinar Cistina y Homocistina.

La prueba de nitroprusiato ha probado ser un examen útil de tamiz para por lo menos tres EIM de importancia clínica. Las enfermedades metabólicas que dan resultado positivo para esta prueba son las cistinurias, la homocistinuria y una anomalía caracterizada por un marcado incremento en la

excreción de beta mercaptolactato-cisteina disulfuro.

Esta prueba fue originalmente empleada para detectar cistinurias, un grupo de defectos hereditarios en el transporte de aminoácidos. La cistinuria se asocia con defectos en la reabsorción en el tubulo renal de cistina, lisina, arginina y ornitina, los cuales se excretan anormalmente en grandes cantidades en orina (42).

El segundo desorden bien documentado que da un resultado positivo con la prueba de nitroprusiato es la homocistinuria, la forma clásica de esta enfermedad resulta de una deficiencia o ausencia de la actividad de la cistationina sintetasa (42).

El tercer desorden que da un resultado positivo con esta prueba es la beta mercaptolactato-cisteina disulfaturia.

Reacción química.- el desarrollo de un color rojo ladrillo a morado indica una reacción positiva. Cualquier compuesto con un puente disulfuro dará una reacción positiva, éstos compuestos son capaces de dar grupos sulfhidrilo libres después de la reducción por una solución de cianuro (41).

#### **Prueba de 1 Nitroso Naftol para Tirosina.**

Hay algunos desordenes clínicos asociados con una alteración en el metabolismo de la tirosina en el hígado. Estas incluyen tirosinemia neonatal, daño hepático secundario a una gran variedad de desórdenes, tirosinosis y tirosinemia con enfermedad hepatorrenal y tirosinemia que no involucra daño hepatorrenal, estas condiciones se asocian con una

marcada acumulación de tirosina y sus metabolitos.

Una de las características comunes de cada una de estas enfermedades es un marcado incremento en la concentración urinaria de uno o más metabolitos de la tirosina. Estos metabolitos incluyen ácido para-hidroxifenilpirúvico, ácido para-hidroxifenil-láctico y ácido para-hidroxifenilacético.

La reacción es específica para fenoles para-sustituidos en los que la posición orto esta libre o presenta un grupo metilo.

La reacción positiva da un color rojo-naranja (41).

#### **Prueba de Benedict para Sustancias Reductoras.**

El incremento en la excreción urinaria de cualquiera de una variedad de azúcares simples, puede resultar de algunas anomalías hereditarias en el hombre.

La prueba de Benedict puede ser utilizada para la detección de estos desórdenes, se basa en la capacidad de cantidades excesivas de estos azúcares para reducir cobre en ebullición por cortos periodos de tiempo, lo que da un precipitado color rojo ladrillo.

Las sustancias reductoras como la glucosa, xilulosa, galactosa, fructosa, lactosa, ácido glucúronico y ácido homogentísico dan un resultado positivo con esta prueba. Esta prueba de tamiz tiene el inconveniente que no diferencia entre los compuestos, así que un resultado positivo puede ser indicador de varios desórdenes hereditarios, desde la pentosuria hasta la galactosemia. La diferenciación entre

estos compuestos se lleva a cabo mediante separación cromatográfica, reacción con oxidasas específicas, etc.

La orina de pacientes que reciben Ampicilina da un color café oscuro que no se toma como reacción positiva.

El estudio que se indica a continuación en pacientes con prueba de Benedict positiva es la cromatografía de azúcares (41).

#### **Cromatografía bidimensional en capa fina de aminoácidos en orina.**

En el caso de que alguna(s) de las pruebas químicas cualitativas del tamiz metabólico resulte(n) positiva(s), se deberá volver a practicar el estudio en una nueva muestra de orina con objeto de determinar si la anormalidad es persistente. Si vuelve a presentarse en la nueva muestra, hay que solicitar cromatografía de aminoácidos urinarios, la cual ayudará a identificar al(os) aminoácido(s) elevado(s) anormalmente.

Un patrón de aminoácidos y una pequeña cantidad de orina, de acuerdo a la concentración de creatinina (ver anexo 2) se aplican en una cromatoplaque de celulosa. A continuación, se desarrolla con dos eluyentes distintos por la técnica bidimensional, se separan todos los aminoácidos. Estos se hacen visibles mediante reacción con ninhidrina y se identifican con la ayuda del dibujo de manchas del patrón. Eventualmente se pueden utilizar otras tinciones como Isatina (prolina, hidroxiprolina), Erlich (triptófano y derivados),

entre otras (38, 43).

Las anomalías se reconocen por la mayor intensidad de determinadas manchas en comparación con el cromatograma de orina normal. Para la identificación de anomalías es recomendable hacer cromatografías de muestras de orina de varios individuos aproximadamente de la misma edad , puesto que la composición cuantitativa y cualitativa de los aminoácidos en la orina depende de la edad del paciente (43, 44).

Si la cromatografía de aminoácidos urinarios resulta anormal, habrá que practicar una cromatografía de aminoácidos en sangre.

En el anexo 2 se describe el procedimiento de los estudios incluidos en el tamiz metabólico.

#### **Estudios de apoyo**

Como se mencionó, los estudios que se consideran parte del tamiz metabólico no son diagnósticos. De acuerdo con los resultados de éstos, se realizan otros estudios bioquímicos más complejos de apoyo al diagnóstico. Para realizarlos además de tomar en cuenta los resultados del tamiz metabólico deben tomarse en cuenta las manifestaciones clínicas.

Los principales estudios de apoyo al diagnóstico son la cromatografía de aminoácidos en sangre, la cromatografía gas-líquida de ácidos orgánicos en orina, la cromatografía en capa fina de  $\alpha$ -cetoácidos urinarios, la cromatografía de azúcares en orina, la determinación de amonio en plasma y la

determinación de ácido orótico en orina, y últimamente la espectroscopía de protones por Resonancia Magnética Nuclear (RMN).

#### **Cromatografía unidimensional de aminoácidos en sangre.**

La cromatografía unidimensional de aminoácidos se realiza cuando el cromatograma de aminoácidos urinarios resultó anormal, para determinar si la aminoaciduria observada es debida a un defecto en el manejo renal del aminoácido o a una anomalía sistémica en la que la elevación de un aminoácido en sangre saturó su sistema de reabsorción tubular renal. La cromatografía de aminoácidos en sangre se puede practicar en suero o en plasma o en sangre capilar colectada en un papel filtro especial (45).

#### **Cromatografía gas-líquida para ácidos orgánicos en orina.**

Este método incluye la extracción de los ácidos orgánicos de la orina con acetato de etilo, deshidratación para la extracción de los residuos y su trimetilsilización. Posteriormente se identifican los ácidos orgánicos por medio de sus índices de retención. Es una prueba de apoyo para el diagnóstico de acidemias orgánicas (46) (figura 8).

#### **Cromatografía en capa fina de $\alpha$ -cetoácidos urinarios.**

La técnica de cromatografía se emplea para el estudio de cetoácidos en orina y otros líquidos biológicos, la cromatografía se basa en la formación, extracción y



separación de las 2,4-dinitrofenilhidrazonas derivadas de los  $\alpha$ -ceto compuestos. Esta técnica puede ser utilizada en muestras de orina cuyos resultados quedaron inconclusos con las pruebas sencillas del tamiz metabólico (41).

#### **Cromatografía de azúcares.**

La separación por cromatografía en papel de los azúcares en orina depende de diferencias pequeñas en los coeficientes de partición de los azúcares. El proceso cromatográfico involucra partición contra corriente entre un complejo estacionario (papel filtro húmedo) y una fase móvil (solvente orgánico más agua). Las mezclas de solventes utilizadas son variadas, se pueden dividir en disolventes bifásicos y disolventes monofásicos, estos últimos son los más utilizados, en general se componen de agua, un disolvente orgánico miscible con el agua como la piridina o el etanol y un disolvente orgánico poco soluble en agua como el acetato de etilo o el butanol. Los reveladores para los azúcares

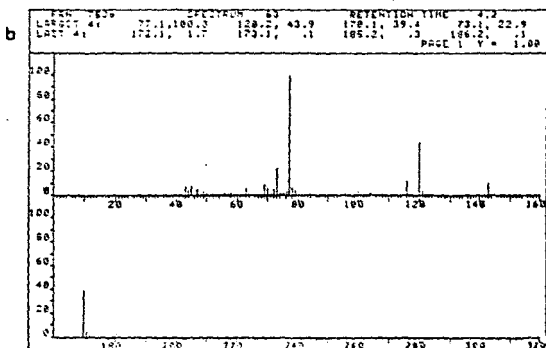
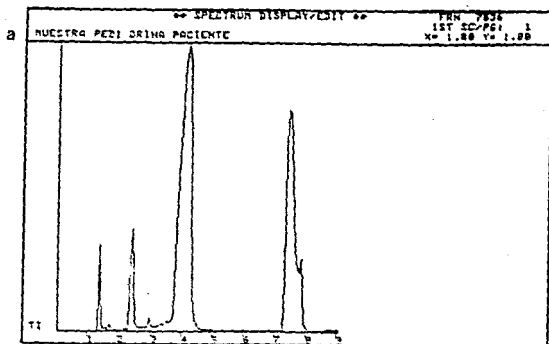


Figura 8. Cromatograma de Gas Líquido del paciente con acidemia metilmalónica. a) El pico en 4.2 representa al ácido metilmalónico b) Espectro de masa del ácido metilmalónico.

reductores pueden ser los que utilizan las propiedades reductoras del eluido, función aldehído o cetona como el nitrato de plata que da una coloración marrón; o los que forman derivados de las osas, como los derivados furfúricos que se combinan con aminas o fenoles para formar colorantes (47).

#### **Amonio en plasma.**

La determinación de amonio plasmático es de gran importancia pues existen varios EIM en los que se presentan niveles de amonio elevados. En esta técnica el amonio se aísla por adsorción selectiva sobre una resina ácida de intercambio catiónico. El amonio eluido se hace reaccionar con fenol e hipoclorito en presencia de nitroprusiato de sodio. El amonio forma un compuesto de indofenol estable, el cual se mide por espectrofotometría a 620 nm. Esta determinación es particularmente útil para detectar defectos en el ciclo de la urea (48).

#### **Acido orótico en orina.**

La cuantificación de ácido orótico en orina es una técnica colorimétrica, basada en la bromación del ácido orótico, seguido por su reducción y formación de ácido barbitúrico, el cual, con el para-dimetil amino benzaldehído (pDAB) forma el complejo 5(para-dimetilaminobenzilidina) ácido barbitúrico. Por este método se mide ácido orótico total (ác. orótico más orotidina) (49).

## **Espectroscopia de protones por RMN.**

Recientemente la RMN se utiliza para el análisis de líquidos corporales. Tiene la ventaja de no requerir un tratamiento específico de la muestra y poder determinar en ella no sólo ácidos orgánicos, sino diversas moléculas que también pueden ser parte del cuadro bioquímico del paciente (aminoácidos, urea, purinas, pirimidinas, etc.). El estudio se puede llevar a cabo en 2 ml de orina y dura aproximadamente 15 min. A diferencia de la CGL no se requiere ajustar para el análisis de la muestra, y pueda utilizarse para varios estudios (50) (figura 9).

La experiencia en el estudio de los EIM de aminoácidos y de ácidos orgánicos intermediarios, ha demostrado que la rapidez, tanto en la sospecha por parte del clínico como, por supuesto, en el estudio metabólico, son la clave del éxito en el diagnóstico y tratamiento (38).

### **Estudios específicos y de seguimiento.**

Otro punto importante del laboratorio son los estudios específicos y de seguimiento.

Los estudios específicos en general son las determinaciones de la actividad de la enzima sospechosa para dar un diagnóstico bioquímico, además de otras determinaciones como: Piruvato, lactato y de fluorometría para: Fenilalanina, glutamato, glutamina, alanina, ac. 3-hidroxi-butírico y acetoacético (en sangre) (13, 31).

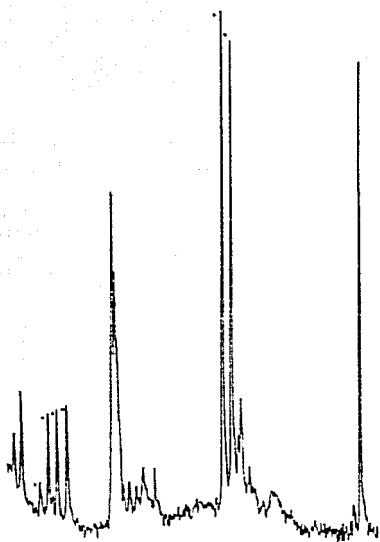


Figura 9. Espectro de Resonancia Magnética Nuclear de una muestra del paciente con acidemia metilmalónica, los picos marcados con \* representan el espectro de RMN del ácido metilmalónico.

Los estudios de seguimiento se realizan una vez diagnosticados los pacientes e iniciado el tratamiento, para ser evaluado periódicamente. Por ejemplo en el caso de niños diagnosticados con fenilcetonuria una vez instaurada la dieta se llevan a cabo controles de fenilalanina plásmatica, primero cada tercer día, luego semanales, quincenales y finalmente ya que se instaura el tratamiento, adecuado al paciente, mensualmente; la fenilalanina se valora por fluorometría, tomando muestras de sangre en papel filtro, el valor normal es 1.5 a 2 mg/100 ml. En pacientes con Glucogenosis I se evalúa su tolerancia a la glucosa por medio de curvas de tolerancia a la glucosa (31, 38, 51).

#### 1.6 Tratamiento de los Errores Innatos del Metabolismo.

##### Tratamiento

El tratamiento de los EIM se puede dividir en tres enfoques: el enfoque genético, el enzimático y el metabólico.

El enfoque a nivel genético se refiere al reemplazo o inserción de genes normales en un organismo de manera que se corrija el defecto genético, esto es posible en animales de experimentación como *Drosophila*, ratón (52) y conejo (53). Este tipo de terapia en un futuro puede estar disponible para el humano; en los últimos años se han dado aproximaciones para aplicar esta terapia a humanos, pero se deben tener

ciertas consideraciones y criterios para poder aplicarse.

Primeramente el mapa genético humano es fundamental para apoyar la terapia génica pues se requiere del conocimiento completo del gen (estructura, función y regulación) (54, 55). Así las enfermedades genéticas candidatas a la terapia génica son aquellas en las que se conoce el gen y su regulación, y que además la transfección del gen normal solucione el problema. Por ejemplo, en el caso de las hemoglobinas anormales se requiere una regulación exacta de la producción de la subunidad normal y una inhibición de la anormal, así es más sencillo el reemplazo del gen para una proteína o enzima cuyos niveles no necesiten estar exactamente regulados.

Los primeros intentos de terapia génica tienen una regulación simple del gen "siempre encendido", tres son los genes candidatos iniciales para este tipo de terapia: HGPRT, PNP y ADA (52, 56) el defecto de los tres da una sintomatología clínica de debilidad profunda. El defecto de cada uno se encuentra en la médula ósea del paciente, en los tres no hay o es mínima la enzima detectable en las células de la médula ósea del paciente homócigo para el padecimiento, hay beneficio en los tres con una pequeña cantidad de enzima producida, además de que los tres genes han sido clonados y se encuentra disponible su cDNA (52).

La ética de la terapia génica se ha discutido mucho tiempo y actualmente es punto de debate, aunque en esencia todos los observadores están de acuerdo en que puede ser ético insertar material genético en el ser humano con el fin

de corregir medicamente un defecto genético severo en un paciente, ésto es, terapia génica en células somáticas. Los intentos de corregir células germinales no son socialmente aceptados pues la modificación pasaría a la siguiente generación (52, 56).

La terapia génica de células somáticas de un paciente que sufre un defecto genético serio puede ser éticamente aceptable si se lleva a cabo bajo los mismos criterios estrictos que cubren otros nuevos y experimentales procedimientos médicos. Tres son los requerimientos que deben cumplirse:

i) el gen nuevo debe ser puesto en las células blanco correctas y debe permanecer lo suficiente para ser efectivo.

ii) el gen nuevo debe ser expresado en la célula en un nivel apropiado, y

iii) el gen nuevo no debe dañar a la célula y por extensión al organismo.

Cada vez es más cercana la posibilidad de ofrecer terapia génica a pacientes con padecimientos genéticos serios (52, 56).

El enfoque a nivel enzimático se refiere al reemplazo de la enzima que se encuentra deficiente.

Un número importante de enfermedades por herencia mendeliana que se deben a una síntesis deficiente de una proteína plasmática han sido tratados eficientemente con reemplazo proteico, como la hemofilia donde se da factor VIII



de coagulación (57). En el caso del reemplazo enzimático en los EIM existe el problema de que la enzima debe de llegar al espacio subcelular donde es activa y debe ser administrada en un vehículo adecuado para evitar una respuesta inmune desfavorable.

Los intentos más importantes que se han realizado de este enfoque terapéutico han sido sobre enfermedades donde se atesoran moléculas en espacios subcelulares, por ejemplo enfermedades por atesoramiento lisosomal. Debido a que es a los lisosomas a donde llegan macromoléculas y partículas pinocitadas y fagocitadas se puede introducir enzimas purificadas. Dentro de ellos las enzimas administradas exógenamente continúan funcionales y logran disminuir sensiblemente los depósitos excesivos del material acumulado (mucopolisacáridos, esfingolípidos, etc.) (13). Por ejemplo Hug y Shuber (58) reportaron la administración parenteral de  $\alpha$ -1,4 glicosidasa a un paciente con Glucogénesis II. Por otro lado, Brady y cols. (59) han utilizado beta-glucocerebrosidasa cristalina transportada en fantasmas de eritrocitos del propio paciente en dos casos de enfermedad de Gaucher. En ambos reportes se demuestra un ligero aumento de la actividad enzimática en los tejidos afectados y una mejora en el cuadro clínico de los pacientes. El problema que se encuentra con las enzimas lisosomales, como es el caso de la beta-glucosidasa, es que el transporte en los fantasmas de eritrocitos lleva a las enzimas a las células afectadas, pero éstas ya no se transportan adecuadamente al lisosoma donde

las condiciones de pH favorecen la actividad de la enzima.

Por otro lado existe la posibilidad de hacer trasplante de organos en algunos EIM con lo que el organo transplantado tendrá la enzima normal, ésto se ha intentado con resultados favorables en pacientes con tirosinemia hereditaria, a los que se les realizó trasplante de hígado (60)

El enfoque a nivel metabólico se basa fundamentalmente en la fisiopatología general de los EIM (figura 5). A este nivel se tienen tres diferentes modalidades terapéuticas: el control del suministro de substratos, el reemplazo de los productos y la suplementación de los precursores de las coenzimas.

Control de suministro de substratos.- existen un número importante de EIM en donde sus manifestaciones clínicas resultan del acúmulo de los substratos que no pueden fluir por la vía metabólica o por sus productos colaterales. En estos casos el tratamiento se basa en evitar en la dieta aquellos alimentos precursores de estos substratos. Se tiene mejor respuesta a estos tratamientos cuando el precursor en la dieta no es sintetizado regularmente en el organismo, como por ejemplo, cuando es de carácter esencial (aminoácidos esenciales, como fenilalanina, valina, leucina, isoleucina, metionina, etc.) o cuando pertenece a vías metabólicas secundarias (galactosa, fructosa). Los ejemplos clásicos de este enfoque son la fenilcetonuria (restricción de fenilalanina); orina de jarabe de arce (restricción de leucina, isoleucina y valina); acidemias metilmalónica y

propiónica (restricción de valina, isoleucina, metionina y treonina); galactosemia (restricción de galactosa) y fructosuria esencial (restricción de fructosa) (31).

Para poder lograr una respuesta terapéutica adecuada en las condiciones en donde se involucran moléculas esenciales se tiene que lograr una estabilización en la concentración sérica de dicha molécula de tal forma que permita el crecimiento adecuado del paciente pero no cause daño orgánico. Por ejemplo en el caso de los aminoácidos esenciales, la primera posibilidad es la de disminuir el contenido de proteínas en la dieta y seguir estrechamente la curva de crecimiento y desarrollo del paciente, así como análisis bioquímicos que indiquen el perfil metabólico del paciente, fundamentalmente aminoácidos en sangre y niveles de metabolitos colaterales tóxicos. En ocasiones la intolerancia de las proteínas en la dieta es tal, que el suministro proteico no es suficiente para el adecuado desarrollo del paciente, otro problema es cuando estos pacientes caen en estado de "stress metabólico" (infecciones, cirugías, quemaduras, etc.) caracterizado por un hipercatabolismo proteico a nivel de músculo estriado. Cuando esto sucede y pese a que el paciente se encuentre en una dieta restringida, se presentará un cuadro clínico agudo.

Cuando el paciente neonatológico y lactante tolera un suministro de proteínas por arriba de 1.5g/kg/día y se mantiene una curva de crecimiento eficiente, se considera este como el tratamiento adecuado para él (31).

Desafortunadamente las variedades graves de los EIM (por ejemplo la fenilcetonuria clásica, la orina de jarabe de arce o la acidemia metilmalónica) siempre se acompañan de una intolerancia a las proteínas en la dieta muy por abajo de 1.5g/kg/día. En estos pacientes para evitar la detención de crecimiento y desarrollo se han manufacturado productos en donde los aminoácidos tóxicos se encuentran en cantidades mínimas o sin ellos pero con una adecuada concentración de los demás aminoácidos y otros nutrientes (13, 31).

Cuando el EIM involucra intermediarios de vías metabólicas secundarias como galactosa y fructosa, el tratamiento estará encaminado a evitar en lo absoluto los precursores de dichos substratos. En este sentido en la galactosemia se evitará la ingestión de lactosa y en la fructosuria esencial de sacarosa y fructosa (25, 30).

En algunos EIM el compuesto acumulado en exceso es fácilmente sintetizado en el organismo y, por lo tanto, la restricción dietética no es efectiva para disminuir su concentración. A veces es posible emplear procedimientos para detoxificar y eliminar el compuesto ofensivo. Ejemplos de esto son el uso de Alopurinol para eliminar el ácido úrico en la gota, y la utilización de glicina en la acidemia isovalérica (13, 61).

Aumento en el suministro de productos.- cuando algunas de las consecuencias clínicas se deben a una formación deficitaria del producto de una vía metabólica, el tratamiento deberá estar dirigido a proveer, de forma exógena

al organismo de este compuesto, que se ha convertido en esencial para el paciente (13). El ejemplo de esta condición es la carencia relativa de tirosina en el paciente fenilcetonúrico. Debido a que el bloqueo enzimático en la fenilcetonuria produce una disminución en la síntesis de tirosina, esta se debe considerar esencial en la dieta del paciente con este EIM. Si no es administrada en mayor cantidad en el paciente fenilcetonúrico que en el individuo normal, se producirá un bloqueo en las vías metabólicas que la requieren como son la síntesis de proteínas, melanina y DOPA. Otros ejemplos de tratamiento por suministro de productos serían el tratamiento con cortisol en los síndromes adrenogenitales debido a la falla en la síntesis del esteroide y la administración de polímeros de glucosa (fécula de maíz) y glucosa en diferentes formas en la Glucogenosis I (24).

Suplementación de precursores de coenzimas.-Es bien conocido que muchas enzimas requieren vitaminas como cofactores y en algunos pacientes cantidades farmacológicas de alguna vitamina (esto es, muy superiores a las recomendadas ) logran corregir el defecto (13).

Una lista creciente de EIM responden clínica y/o metabólicamente a cantidades suplementarias de vitaminas específicas (62). Así se reconocen a la variedad de la enfermedad de orina de jarabe de arce que responde a tiamina y a la variedad de acidemia metilmalónica que responde a cianocobalamina (63). En ambos casos se presupone que existe

una cantidad residual de enzima, tal que, el suministro de precursores de su coenzima permite una mejor actividad enzimática.

Los mecanismos de acción de las vitaminas en este punto pueden ser debido a que: i) la apoenzima mutante tenga menor afinidad por su coenzima, ii) el cofactor establezca a la enzima que por la mutación ha perdido su estabilidad normal y iii) la enzima afectada esté normal y el defecto primario se encuentre en la biosíntesis de la coenzima a partir de su vitamina precursora (64).

#### **Asesoramiento genético**

El asesoramiento genético se maneja como un nivel preventivo, que intenta evitar la aparición de nuevos casos de EIM en una familia. El asesoramiento genético se define como la información genética, pronóstica, probabilística y de tratamiento que deberá darse a parejas que deseen procrear y en las cuales existan antecedentes de enfermedades hereditarias y/o datos que aumenten el riesgo de enfermedades hereditarias en su descendencia (consanguinidad, grupos étnicos de alta incidencia, et:) (8, 10, 13). Este enfoque está limitado en sus beneficios pues implica que debe existir el antecedente de un caso de EIM en la familia para poder realizarlo. Sólo en grupos étnicos de riesgo puede ser aplicado sin necesidad de un caso índice, pero hasta el momento solamente un porcentaje muy bajo de la población general cae dentro de estos grupos (13).

Para poder dar un adecuado asesoramiento genético primeramente debe existir un diagnóstico exacto, para saber el modo de herencia de la afección. En el caso de los EIM el diagnóstico es a nivel bioquímico tanto en el afectado como de ser posible en familiares para buscar heterocigocidad. La identificación de heterocigotos es útil por su contribución al conocimiento de los EIM. Por ejemplo, para corroborar el tipo de herencia, éste último es importante pues como ya se mencionó cerca de 95% de los EIM se heredan de manera autosómica recesiva, en este tipo de herencia el heterocigoto presenta un gen mutado y uno normal, el producto del primero puede distinguirse del producto del segundo, cualitativa o cuantitativamente. De esta forma se identifica al heterocigoto que aunque muestra alteración bioquímica, por lo general, no tiene manifestaciones clínicas (11). Actualmente se puede determinar heterocigocidad en varios EIM (tabla IV).

Al Utilizar las técnicas de Biología Molecular es posible encontrar heterocigotos en una familia con un caso índice, comparando los patrones de fragmentación del DNA del proposito con los patrones de fragmentación de los familiares.

Para detectar heterocigotos en población abierta para determinada enfermedad con las técnicas de Biología Molecular es necesario poseer la sonda (cDNA) de tal enfermedad. Hasta el momento se tienen las sondas para varias enfermedades hereditarias como la Fenilcetonuria, la Fibrosis Quística, entre otras y el número va en aumento.

Tabla IV. Errores Innatos del Metabolismo más comunes en los que es factible la detección de heterocigotos (28).

Error Innato del Metabolismo	Herencia	Estudio
Lesch-Nyhan	Ligada al X	Enzimático
Def. en 3-cetotidasa	A. Recesiva	Enzimático
Ac. Isovalérica	A. Recesiva	Enzimático
Fenilcetonuria	A. Recesiva	Pruebas Tolerancia Enzimático RFLP (65)
Homocistinuria	A. Recesiva	Enzimático
Def. en Ornitin- Transcarbamilasa	Ligada al X	Enzimático (66)
Argininemia	A. Recesiva	Enzimático
Galactosemia	A. Recesiva	Enzimático
Glucogenosis III	A. Recesiva	Enzimático
Glucogenosis VIII	Ligada al X	Enzimático (67).
Cistinosis	A. Recesiva	Enzimático
Adrenoleucodistrofia	Ligada al X	Enzimático
Enf. Sandhoff	A. Recesiva	Enzimático
Tay-Sachs	A. Recesiva	Enzimático
Enf. Wolman	A. Recesiva	Enzimático
MPS I (Hurler)	A. Recesiva	Enzimático

Continua.....



Tabla IV. Errores Innatos del Metabolismo más comunes en los que es factible la detección de heterocigotos (28).  
Continuación...

MPS II (Hunter)	Ligada al X	Enzimático
MPS III (Sn Filippo)	A. Recesiva	Enzimático Acumulación SO <sub>4</sub> .
MPS VI (Maroteaux-L.)	A. Recesiva	Enzimático
Mucopolidosis II	A. Recesiva	Enzimático
Mucopolidosis III	A. Recesiva	Enzimático
Hiperplasia Adrenal Congénita.	A. Recesiva	Haplotipos HLA

También se debe dar un pronóstico fidedigno para la enfermedad, la probabilidad de que se encuentren afectados los hijos de esa pareja, la posibilidad de llevar a cabo diagnóstico prenatal de la enfermedad, así como la posibilidad de un aborto terapéutico y el grado de disponibilidad y utilidad de posibles tratamientos (8).

#### 1.7 Investigación y Perspectivas en los Errores Innatos del Metabolismo.

El estudio de los EIM se divide en dos grandes enfoques, el médico y el básico.

El estudio médico consta de la investigación clínica y de la investigación poblacional. El estudio básico por su parte esta formado por las investigaciones genética y bioquímica.

La investigación poblacional trata de la frecuencia,

incidencia, penetrancia, etc. de los EIM tanto en población abierta como en grupos de riesgo (grupos étnicos, presencia de datos clínicos particulares, etc). Los estudios poblacionales en México son muy pocos, pues la rama de estudio de los EIM es prácticamente nueva en nuestro país. Se practica el tamiz neonatal dentro del Programa de Prevención del Retardo Mental de Origen Metabólico UNAM/SSa, y en algunos hospitales se practica el tamiz metabólico en pacientes con sintomatología sugerente de EIM. Sin embargo, hasta ahora no se conoce con certeza la frecuencia de los EIM en la población mexicana, ni cual es el tipo más frecuente, ni su incidencia (13, 31).

La investigación clínica se refiere a la búsqueda de mejores métodos analíticos para un diagnóstico más oportuno, el estudio de las condiciones particulares de cada paciente, así como el estudio de mejores medidas terapéuticas y de seguimiento en pacientes diagnosticados con algún EIM. Hasta el momento en nuestro país, el diagnóstico de los EIM es a nivel metabólico y enzimológico. Se espera que próximamente el diagnóstico pueda realizarse a nivel genético, gracias al avance en la tecnología del DNA recombinante. Una aplicación de ésta tecnología en la Medicina consiste en la utilización de detectores de genes en el diagnóstico; de hecho, ya son accesibles segmentos de DNA complementarios en forma parcial o completa para varios cientos de genes humanos bien identificados, como los de hemoglobinas, inmunoglobulinas, proteínas estructurales como la colágena, receptores

membranales y enzimas involucradas en un número creciente de EIM (68). Cuando no se tiene el segmento de DNA complementario es necesario recurrir a la identificación de sitios génicos variables situados cerca del sitio mutado (conocidos como fragmentos polimórficos de restricción o RFLP's) que pueden estar en el mismo gen responsable de la enfermedad o pueden encontrarse fuera de éste pero ligados a él (68).

En los estudios básicos, tanto genéticos como bioquímicos se han creado modelos experimentales de células de los propios pacientes y de animales de experimentación, para estudiar las repercusiones de la alteración sobre el funcionamiento celular. Los cultivos celulares de los pacientes permiten el estudio del metabolismo celular en ausencia de una reacción metabólica específica. A diferencia del uso de inhibidores o activadores exógenos los cuales no son tan específicos para las reacciones enzimáticas determinadas, el uso de células con un EIM permite estudiar con gran especificidad dicha alteración metabólica.

Desafortunadamente el uso de estas células está restringido a cultivos de fibroblastos o linfocitos ya que las demás células, en especial las del hígado son difíciles de obtener y sufren un proceso de desdiferenciación muy rápido cuando se mantienen en cultivo (38, 69). El uso de cultivo de tejidos además tiene un enfoque diagnóstico y de diagnóstico prenatal (70).

Otra posibilidad es el uso de modelos animales que, o

posean la alteración genética o se hayan manejado de tal forma que presenten una alteración metabólica lo más semejante posible al EIM en estudio (8).

## **2 Objetivos.**

### **Objetivo General.**

Evaluar la utilidad de los estudios denominados Tamiz Metabólico en la detección de Errores Innatos del Metabolismo (EIM) en pacientes pediátricos con signos y síntomas que hagan sospechar el padecimiento de algún EIM.

### **Objetivos Específicos.**

1.- Establecer la importancia de determinar grupos de riesgo dentro de los pacientes pediátricos que presenten signos y síntomas inespecíficos.

2.- Establecer la importancia de llevar a cabo el Tamiz Metabólico en tales grupos de riesgo.

3.- Conocer la contribución de los EIM a la población pediátrica incluida en los grupos de riesgo.

4.- Evaluar cada una de las técnicas incluidas en el Tamiz Metabólico y estudios de apoyo al diagnóstico de EIM.

5.- Proponer mejoras en éstas o proponer nuevas técnicas de acuerdo a la bibliografía más reciente.

6.- Proponer mejoras en la hoja de solicitud de estudios metabólicos.

## M E T O D O L O G I A

### **Tipo de estudio.**

El estudio es de tipo retrospectivo, longitudinal, observacional y descriptivo, llamado estudio de revisión de casos (71).

### **Sujetos.**

903 pacientes forman la población objetivo del estudio que se define con los siguientes criterios:

#### **Criterios de inclusión:**

Todos aquellos pacientes del INPed y otros hospitales que presenten signos y síntomas inespecíficos incluidos en la hoja de solicitud de estudios metabólicos (anexo 1), que solicitaron estudios metabólicos en la Sección Clínica de la Unidad de Genética de la Nutrición (SC-UGN) Instituto de Investigaciones Biomédicas (UNAM), Instituto Nacional de Pediatría (SSa), durante el período de revisión (enero 1987 - junio 1989).

#### **Criterios de exclusión:**

Todos aquellos pacientes pediátricos con diagnóstico diferente a EIM.

Los 903 pacientes que solicitaron un total de 1423 estudios y que cumplieron los criterios de inclusión fueron

estudiados primeramente con fines hospitalarios y administrativos, a todos ellos se les realizaron los estudios correspondientes de acuerdo al diagrama de flujo del TM (figura 7), los estudios incluidos en el TM (pruebas químicas y cromatografía bidimensional de aminoácidos) están descritos en el anexo 2.

Se capturaron en una microcomputadora todos los datos de la hoja de solicitud (anexo 1) en una base de datos diseñada con el paquete DBASE III+.

Posteriormente para los objetivos del presente estudio la estructura de la base de datos se modificó en base a las manifestaciones clínicas más frecuentes escritas en COMENTARIOS que no estaban incluidas en la hoja de solicitud utilizada durante el período de revisión en la Sección Clínica de la Unidad de Genética de la Nutrición IIBM, UNAM, INPED, SSA (anexo 1). Las manifestaciones clínicas que se incluyeron fueron las siguientes: Sepsis, Bronconeumonía, Microcefalia, Otras manifestaciones neurológicas, Talla alta, Dismorfias, Alteración estado de conciencia, Ictericia, Diarrea, Anemia, Prematurez, Alteraciones lenguaje, Problemas de atención, Irritabilidad, Autoagresividad, Agresión, Rechazo alimento, Apnea, Dificultad respiratoria, Hiperquinesia, Hipertermia, Desnutrición, Deshidratación, Hipoxia neonatal, Obesidad, Acidosis Metabólica, Glucosuria, Hipoglicemia, Hiperglicemia, Alcalosis metabólica, Hiperamonemia, Hipocalcemia, GEPI y Cardiopatías.

Tabla V. Estructura de la base de datos utilizada para la captura de la información contenida en la hoja de solicitud de estudios metabólicos (anexo 1).

Campo	Nombre	Campo	Nombre	Campo	Nombre
1	Nombre	41	Sordera	81	EEG
2	Registro	42	Acidosis metabólica	82	Inicio/progresa
3	Mun. estudio	43	Agresividad	83	Impresión diagnós
4	Fecha	44	Albino	84	Comentarios
5	Hospital	45	Alopecia	85	Tratamiento
6	Servicio	46	Ansia	86	Tipo de paciente
7	Externo	47	A. tubular renal	87	Se hizo TR
8	Edad	48	Autoagresividad	88	¿Porqué no?
9	Sexo	49	Bronconeumonía	89	Ac. orótico
10	Est. previos	50	Cardiopatía	90	Amino
11	Retraso Psicomotor	51	Desnutrición	91	Lactato
12	Leve/profundo	52	Diarrea	92	Piruvato
13	Retraso crecimiento	53	Dismorfias	93	Fenilalanina
14	Vómitos	54	Edema	94	Enzimas
15	Consanguinidad	55	Encefalopatía hepática	95	DUPH
16	Antecedentes familiares	56	Hipercemia	96	TYR
17	Colapso neonatal	57	GPI	97	CIST
18	Hepatomegalia	58	Hepatitis	98	Sus. reductoras
19	Esplenomegalia	59	Hemorragia intracraneal	99	Cromatogram ml
20	Síndrome colestático	60	Hiperkinesia	100	Hiperamoniduria
21	Ictericia	61	Hipoglicemia	101	Aminoácido 1
22	Crisis convulsivas	62	Hipoxia	102	Aminoácido 2
23	Ataxia	63	Intolerancia a la leche	103	Aminoácido 3
24	Hipotonía/hipertonía	64	Insuficiencia renal	104	Aminoácido 4
25	Neuropatía	65	Manchas peculiares en pañal	105	BAIB
26	Olor	66	Microcefalia	106	CGI
27	Manifestaciones óseas	67	Neuroinfección	107	CSAZU
28	Manifestaciones oculares	68	Prematuro	108	CR10AA
29	Manifestaciones renales	69	Raquitismo	109	CLAR
30	Manifestaciones hepáticas	70	Síndrome de Reye	110	R. Ac. prótico
31	Manifestaciones dermatológicas	71	Sepsis	111	R. Amino
32	Manifestaciones pulmonares	72	Deshidratación	112	R. Lactato
33	Manifestaciones neurológicas	73	Apnea	113	R. Piruvato
34	Manifest. músculo-esqueléticas	74	Alter. estado de conciencia	114	R. Fenilalanina
35	Manifestaciones nutricionales	75	Talla alta	115	Beutler
36	Manifestaciones infecciosas	76	Alteraciones de electrolitos	116	R. Enzimas
37	Manifestaciones de intoxicación	77	Irritabilidad	117	Dx. SC UGR
38	Alter. de aprendizaje y conducta	78	Rechazo alimentos	118	Nueva muestra
39	Facies peculiar	79	Pérdida de habilidades	119	¿Qué estudio?
40	Enclax	80	Alteraciones del lenguaje	120	Grupo

También se crearon campos para tipo de paciente y grupo. La estructura de la base de datos se muestra en la tabla V.

Se utilizaron también el paquete QUATTRO para el análisis descriptivo, elaboración de gráficas y organización de resultados y el paquete SYSTAT (72) para el análisis estadístico.

Para los objetivos del presente estudio se realizó estadística descriptiva de los datos capturados para obtener la siguiente información: Total de pacientes, total de estudios, distribución de los pacientes por hospital y por servicio, distribución por sexo, condición hospitalaria y distribución por edad.

En consideración a los objetivos de investigación se eliminaron los pacientes no valorables, es decir, todos aquellos pacientes que cumplen con los siguientes criterios de eliminación

**Criterios de eliminación:**

1) Aunque se solicitaron estudios no se realizó el Tamiz Metabólico o fue incompleto por muestra inadecuada, contaminada o insuficiente.

2) Con uno o más estudios anormales pero que no llegaron las muestras para los estudios subsecuentes.

3) No se tiene un resultado de laboratorio que pueda ayudar al diagnóstico del paciente.

4) La hoja de solicitud no presentaba todos los datos por lo que se desconocen variables independientes, por



ejemplo la edad del paciente.

Posteriormente de acuerdo a los estudios realizados y a los resultados de éstos los pacientes se dividieron para su posterior análisis

De acuerdo a sus características bioquímicas los pacientes pueden pertenecer a los siguientes grupos:

**Grupo 1.** Pacientes con EIM. Pacientes con diagnóstico bioquímico de algún EIM.

**Grupo 2.** Pacientes con alteración metabólica y varios estudios alterados cuyo diagnóstico es una alteración metabólica transitoria, donde el último estudio muestra que la alteración ya no se presenta y se descubrió la etiología de la alteración descartando una alteración hereditaria.

**Grupo 3.** Normales. Pacientes con un solo estudio normal, con dos estudios, cuyo resultado del último estudio es normal, sin demostrar alteración metabólica.

Por otra parte, conforme a las características clínicas de los pacientes se clasificaron en:

**Pacientes Graves.** Son todos aquellos pacientes internos que presentan sintomatología grave como colapso neonatal, Sx. colestático, vómitos, crisis convulsivas, alteraciones del tono muscular, acidosis metabólica, anemia, infecciones, fiebre, hemorragias, hipoglicemia, prematurez, Sx. de Reye, deshidratación y alteraciones del estado de conciencia.

También se incluyen a pacientes internados que pueden o no presentar síntomas relacionados con EIM, pero que presentan padecimientos diferentes y los estudios que se

pidieron fueron relacionados a tales padecimientos, o para valorar manejo de aminoácidos y amonio para dar alimentación parenteral.

**Pacientes Crónicos.** Pacientes externos o internos que no presentan sintomatología grave, sino que se caracterizan por presentar síntomas crónicos como retardo mental, retardo en el crecimiento y visceromegalias.

**Pacientes Asintomáticos.** Pacientes sin sintomatología a quienes se les realizaron estudios de TM y/o estudios de apoyo por resultados alterados en el Tamiz Neonatal del Programa de Prevención del Retardo Mental de Origen Metabólico (PRM).

Se llevo a cabo el análisis estadístico para los tres grupos que se formaron de acuerdo a los resultados de laboratorio: Grupo 1 (Diagnosticados), grupo 2 (Alterados) y grupo 3 (Normales), comparando sus diversas manifestaciones clínicas agrupadas en 12 indicadores, por lo que el análisis estadístico fue tomando tres variables independientes: grupo, edad y sexo y 12 variables dependientes (indicadores), las cuales fueron valoradas para establecer los grupos de riesgo, donde de acuerdo a nuestra población estudiada es más probable encontrar un paciente que presente algún EIM.

Para analizar las diversas manifestaciones clínicas de los pacientes de los grupos 1, 2 y 3 estas se agruparon en las siguientes categorías (indicadores) con sus correspondientes signos y síntomas:

- 1) Antecedentes: Consanguinidad, Antecedentes

familiares, Colapso y Prematurez.

2) Exploración general: Dismorfias, Microcefalia, Facies peculiar, Ictericia y Olor peculiar.

3) Desarrollo y Conducta: Conducta anormal, Agresividad, Autoagresividad, Irritabilidad, Pérdida de habilidades y Alteraciones del lenguaje.

4) Manifestaciones neurológicas: Retraso psicomotor, Crisis convulsivas, Ataxia, Alteraciones del tono muscular, Neuropatía, Hiperquinesia, Alteraciones del estado de conciencia, Sordera, Alteraciones en el EEG y Otras manifestaciones neurológicas.

5) Manifestaciones gastroenterológicas: Vómitos, Hepatomegalia, Esplenomegalia, Sx colestático, Diarrea, Encefalopatía hepática, Intolerancia a la leche, Rechazo a los alimentos y Otras manifestaciones hepáticas.

6) Manifestaciones oseas: Retardo crecimiento, Raquitismo, Talla alta y Otras manifestaciones oseas.

7) Manifestaciones renales: Acidosis tubular renal, Insuficiencia renal, Sx de Reye, Manchas peculiares en el pañal y Otras manifestaciones renales.

8) Manifestaciones dermatológicas: Albinismo, Alopecia y Otras manifestaciones dermatológicas.

9) Manifestaciones respiratorias: Hipoxia, Apnea y Otras manifestaciones neumológicas.

10) Manifestaciones inmunológicas: Bronconeumonía, Hipertermia, Gastroenteritis probablemente infecciosa, Hepatitis, Neuroinfección, Sepsis y Otras manifestaciones

inmunológicas.

11) Manifestaciones oculares: Cataratas y Capacidad corneal.

12) Hallazgos de laboratorio: Acidosis metabólica, Hipoglicemia y Alteraciones de electrolitos.

Se establecieron los siguientes niveles para las 3 variables independientes:

I) Grupo:

1 (Diagnósticados)

2 (Alterados)

3 (Normales)

II) Edad:

RN a 1 año

Mayor de 1 año

III) Sexo:

Masculino

Femenino

Y 12 variables dependientes (indicadores o manifestaciones clínicas), que se obtuvieron al sumar o acumular cada manifestación presentada a cada indicador:

1) Antecedentes.

2) Exploración general.

3) Desarrollo y Conducta.

4) Manifestaciones neurológicas.

5) Manifestaciones gastroenterológicas.

6) Manifestaciones óseas.

- 7) Manifestaciones renales.
- 8) Manifestaciones dermatológicas.
- 9) Manifestaciones respiratorias.
- 10) Manifestaciones inmunológicas.
- 11) Manifestaciones oculares.
- 12) Hallazgos de laboratorio.

En base a estas variables se realizó el análisis estadístico, primero intragrupo para saber si cada grupo es homogéneo y después intergrupo para determinar las interacciones entre las variables.

El análisis estadístico se realizó en una microcomputadora con el paquete SYSTAT (72), realizando dos tipos de pruebas para el análisis intragrupo e intergrupo: ANOVA (análisis de varianza) de tres vías, multivariado, con pruebas de hipótesis con el fin de determinar diferencias generales entre variables y prueba de comparación de pares de TUKEY para determinar los niveles y/o combinaciones que determinan las diferencias (73, 74).

Se realizaron las pruebas de hipótesis a través de una prueba univariada de F para determinar la existencia de diferencias en los niveles de las variables independientes dados por los indicadores. También se realizaron las pruebas de hipótesis multivariadas para relacionar de manera global a los 12 indicadores con los niveles de las distintas variables independientes.

Este análisis permitió saber si existen diferencias significativas en los distintos niveles dadas por los

indicadores, pero no discrimina cual es la interrelación de variables que produce las diferencias estadísticamente significativas. Por esta razón se realizó la prueba de matriz de comparación de TUKEY que determina cuales son las combinaciones que producen las diferencias significativas (73, 74).

El análisis estadístico ANOVA intragrupo se realizó primeramente tomando a las variables independientes edad y sexo para cada grupo por separado:

(Grupo 1) Diagnosticados

(Grupo 2) Alterados

(Grupo 3) Normales

Posteriormente se realizo la prueba de matriz de comparación TUKEY por edad para cada grupo. Se obtuvieron resultados que indican que cada uno de los grupos es homogéneo, ya que no hubo diferencias significativas intragrupo, en ninguno de los tres.

Posteriormente se realizo el análisis ANOVA intergrupo de tres vías para los 619 pacientes, tomando a las tres variables independientes: grupo, edad y sexo y a las 12 variables dependientes (indicadores).

Se realizó la prueba de matriz de comparación de TUKEY intragrupo para las variables Grupo (1, 2, 3), Edad (RN a 1 año, 1 año en adelante) y Sexo (masculino y femenino) se consideraron las combinaciones para la matriz que se muestran en la tabla VI.

Tabla VI. Combinaciones para la matriz de comparación en la prueba de TUKEY intergrupo para las variables Grupo, Edad y Sexo.

	Grupo	Edad	Sexo
1.-	1	RN a 1 año	femenino
2.-	1	RN a 1 año	masculino
3.-	1	1 año en adelante	femenino
4.-	1	1 año en adelante	masculino
5.-	2	RN a 1 año	femenino
6.-	2	RN a 1 año	masculino
7.-	2	1 año en adelante	femenino
8.-	2	1 año en adelante	masculino
9.-	3	RN a 1 año	femenino
10.-	3	RN a 1 año	masculino
11.-	3	1 año en adelante	femenino
12.-	3	1 año en adelante	masculino

Posteriormente se realizó un nuevo análisis ANOVA intergrupo de las interacciones, tomando en cuenta sólo al grupo y a la edad como variables independientes y a los 12 indicadores como variables dependientes, así como un análisis TUKEY para las variables independientes Grupo (1, 2, 3) y Edad (RN a 1 año, 1 año en adelante), la matriz de comparación se muestra en la tabla VII.

Tabla VII. Combinaciones de comparación en la prueba de TUKEY intergrupo para las variables Grupo y Edad.

	Grupo	Edad
1.-	1	RN a 1 año
2.-	1	1 año en adelante
3.-	2	RN a 1 año
4.-	2	1 año en adelante
5.-	3	RN a 1 año
6.-	3	1 año en adelante

Se realizó el análisis de TUKEY sólo considerando Grupo (1, 2, 3) existiendo la siguiente matriz de comparación:

1.- Grupo 1

2.- Grupo 2

3.- Grupo 3

También se realizó una prueba de hipótesis con el procedimiento de TUKEY para la variable Edad, la cual al solo tener arrojado resultados de pruebas T de comparación de medias.

De acuerdo a los resultados del análisis estadístico se determinaron los indicadores para delimitar grupos de riesgo de presentación de EIM.

De acuerdo a los indicadores para grupos de riesgo, a las manifestaciones clínicas más frecuentes en los pacientes



estudiados y a las manifestaciones clínicas reportadas en la bibliografía como asociadas a los EIM se propuso una nueva hoja de solicitud de estudios metabólicos (anexo 3).

Se propusieron mejoras en las técnicas que se incluyen en el TM y técnicas adicionales a las reportadas en la literatura.

## RESULTADOS Y DISCUSION

En este trabajo se presentan los resultados obtenidos a través de los estudios denominados Tamiz Metabólico durante 30 meses (enero 1987 - abril 1989) de experiencia en el Instituto Nacional de Pediatría, para evaluar la utilidad de estos estudios en la detección de EIM y determinar grupos de riesgo (pacientes con manifestaciones clínicas sospechosas de EIM) en los pacientes que presenten algunos signos o síntomas inespecíficos y que no tienen un diagnóstico adecuado o concluyente.

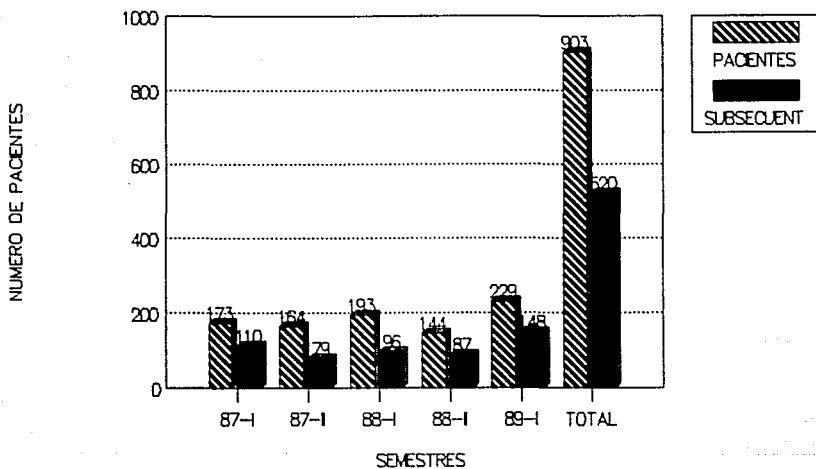
Durante el periodo de revisión se recibieron un total de 1423 solicitudes para estudios metabólicos correspondientes a 903 pacientes.

La distribución temporal de los pacientes se observa en la gráfica 1, hubo un mayor número de pacientes en los primeros semestres de 1988 y 1989, debido a que en el mes de enero se realizaron los estudios de la segunda quincena del mes de diciembre del año anterior.

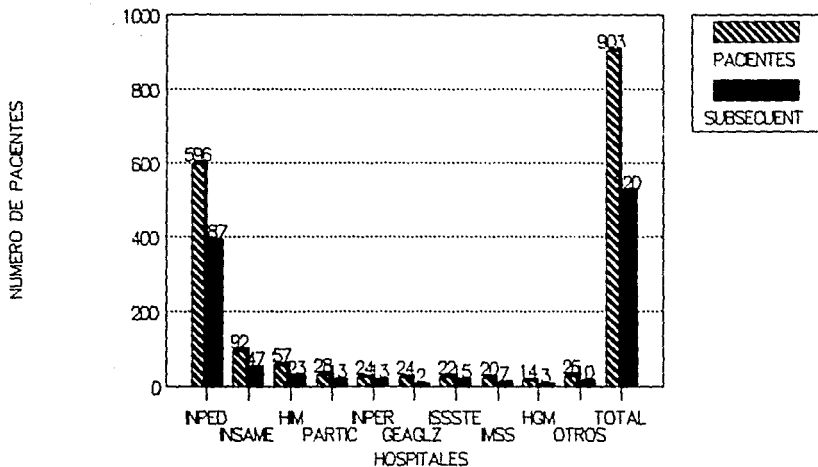
En cuanto a los estudios subsecuentes se observa un mayor porcentaje que en los semestres 87-I y 89-I.

La distribución por hospitales de estos pacientes y sus estudios subsecuentes se observa en la gráfica 2, la mayoría de los pacientes provienen del Instituto Nacional de Pediatría, hospital sede de la Unidad de Genética de la Nutrición, siguiéndole el Instituto Nacional de Salud Mental

# GRAFICA 1. DISTRIBUCION PACIENTES TEMPORAL



## GRAFICA 2. DISTRIBUCION PACIENTES HOSPITALES



y el Hospital Infantil de México. En los datos se observa que los mayores porcentajes para estudios subsecuentes son para el INSAME, INPED e ISSSTE, instituciones que cooperaban en el envío de nuevas muestras para estudios subsecuentes.

En cuanto a los servicios de origen de los pacientes se observa en la gráfica 3 que el mayor número provenía de los servicios de genética de los diferentes hospitales, por tratar particularmente los padecimientos hereditarios, seguidos los servicios pediátricos de medicina interna y urgencias donde en general se encuentran pacientes graves en quienes se puede sospechar la presencia de un EIM.

Ya que los servicios de genética (que incluyen a la UGN y al PRM) fueron los que más pacientes enviaron para estudios metabólicos se ve en la distribución de estos en los distintos hospitales (gráfica 4) que el Servicio de Genética del INPED es el que más pacientes envía para estudios metabólicos, siguiéndole la UGN.

La distribución de los pacientes de acuerdo a su condición hospitalaria fue la siguiente:

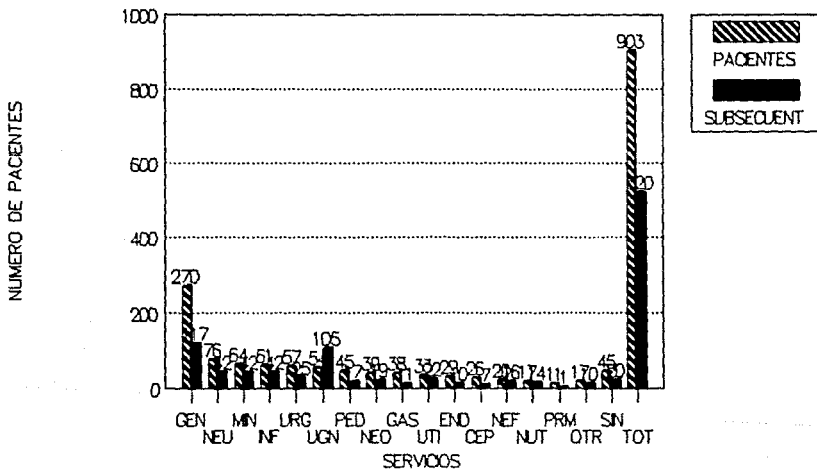
**EXTERNOS = 524            58.1%**

**INTERNOS = 379           41.9%**

**TOTAL        = 903            100.0%**

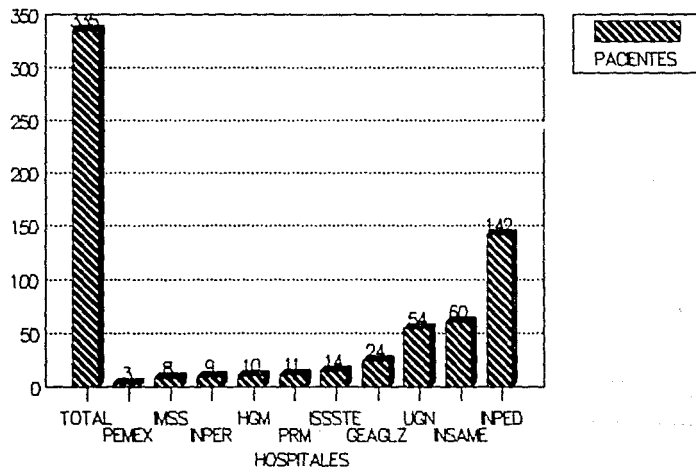
En cuanto a condición hospitalaria hay un mayor porcentaje de pacientes externos que en general presentaban

# GRAFICA 3. DISTRIBUCION PACIENTES SERVICIOS



# GRAFICA 4. DISTRIBUCION PACIENTES SERVICIOS DE GENETICA

NUMERO DE PACIENTES



síntomas crónicos.

La distribución por sexo de los pacientes fue: .

FEMENINO	=	432	47.9%
MASCULINO	=	471	52.1%
TOTAL	=	903	100.0%

No hay diferencias en cuanto a la distribución por sexo pues los porcentajes son muy semejantes, cercanos al 50% tanto para femenino como para masculino.

La distribución por edad de los pacientes fue la siguiente:.

0 Mes a 1 Mes	=	108	---
1 Mes a 3 meses	=	98	
3 Meses a 6 meses	=	62	378
6 Meses a 9 meses	=	60	
9 Meses a 1 año	=	50	---
1 año a 2 años	=	147	
2 años a 3 años	=	72	
3 años a 4 años	=	64	
4 años a 5 años	=	35	
5 años a 6 años	=	40	
6 años a 10 años	=	73	
10 años en adelante	=	70	
Se desconoce edad	=	26	
Total	=	903	
1 año en adelante	=	525	58.2%
Recien Nacidos a 1 año	=	378	41.8%
Total	=	903	100.0%



Es importante resaltar que el 42% de los pacientes son menores de un año de edad, por lo que en el análisis estadístico posterior sólo se consideraron dos niveles de la variable Edad, de RN a 1 año de edad y de 1 año de edad en adelante.

Una vez separados todos los pacientes que cumplieron con los CRITERIOS DE ELIMINACION (284 no valorables) se realizó el análisis estadístico para 619 pacientes.

En cuanto a las manifestaciones clínicas más frecuentes escritas en COMENTARIOS (anexo 1) se tienen las siguientes:

<b>Dismorfias</b>	<b>58</b>
<b>Otras manifestaciones neurológicas</b>	<b>42</b>
<b>Ictericia</b>	<b>35</b>
<b>Sepsis</b>	<b>30</b>
<b>Acidosis Metabólica</b>	<b>27</b>
<b>Alteración estado de conciencia</b>	<b>24</b>
<b>Microcefalia</b>	<b>24</b>
<b>Alteraciones lenguaje</b>	<b>20</b>
<b>Cardiopatías</b>	<b>15</b>
<b>Desnutrición</b>	<b>15</b>
<b>Problemas de atención</b>	<b>15</b>
<b>Bronconeumonía</b>	<b>14</b>
<b>Diarrea</b>	<b>11</b>
<b>GEPI</b>	<b>10</b>
<b>Hipoglicemia</b>	<b>10</b>
<b>Talla alta</b>	<b>9</b>

Dificultad respiratoria	7
Glucosuria	7
Hipertermia	7
Hiperquinesia	6
Hipoxia neonatal	6
Obesidad	5
Anemia	5
Apnea	5
Hipocalcemia	5
Deshidratación	4
Prematuros	4
Irritabilidad	4
Autoagresividad	3
Agresión	2
Hiperamonemia	2
Rechazo alimento	2
Hiperglicemia	1
Alcalosis metabólica	1

Los resultados de laboratorio en los 619 pacientes con un total de 1068 estudios se distribuyen de la siguiente manera:

	Realizados	Alterados
Tamiz Metabólico	759	229
Estudios de apoyo	309	77
Total	1068	306

Los estudios de apoyo realizados fueron los siguientes:

	Realizados	Alterados
Cromatografía de azúcares	57	11
C. unidimensional de aa en sangre	55	14
Amonio en plasma	54	14
C. líquida de alta resolución	43	13
C. de gas líquido	38	5
Beutler	22	5
Fluorometría para fenilalanina	16	9
Ac. orótico	11	2
Enzimas o c. especiales	7	2
Lactato en plasma	3	1
Piruvato en plasma	3	1
Total	309	77

De acuerdo a los siguientes valores normales:

- El amonio esta reportado en ug/100ml los valores normales son abajo de 90.2ug/100ml (48).

- El orotico esta reportado en umol/l los valores normales son:

1 a 10 años 0.3-3.3 mmol ac orotico/mol creatinina. (49)

1 a 7 años 0.5 a 6.4 umol/l (48).

- Para fluorometría de fenilalanina una concentración normal es de 2 mg/ml (51).

- El valor normal de lactato es abajo de 100 mg/ml y de piruvato 1 mg/ml (48).

En base a los resultados de laboratorio se determinaron los siguientes grupos:

Grupo 1. Pacientes con diagnostico de EIM (18 pacientes), que presentaron los resultados de laboratorio que se muestran en la tabla VIII.

Grupo 2. Pacientes con alteración metabólica transitoria no hereditaria (30 pacientes), que presentaron los resultados de laboratorio que se presentan en la tabla IX.

Grupo 3. Pacientes normales (571 pacientes), en los que el primero o el segundo estudio resultaron normales.

Tabla VIII. Resultados de laboratorio de los pacientes Diagnosticados.

Paciente	Pruebas químicas					Cromatografía de aa.					Estudios de apoyo		CRAZU
	DMPH	Tyr	Cis	Sus	Reduc	HAA	AA1	AA2	AA3	AA4	CGL		
2	-	-	1	+	-	1	GLY	ALA	MHI	GLU	2		PHFL, PKFP
3	-	-	-	-	0	GLY	ALA	SER					
4	-	-	+	-	0								
5	-	-	-	+	1	GLU							
6	-	-	-	-	0	HCT					Elev. Ac. orotico	Lactosa	
7	+	-	-	-	0	LEU	ILE						
8	-	-	-	-	0								
9	-	-	-	-	0	VAL	LEU	ILE					NI
10	-	-	-	-	0								
11	+	-	-	+	0	GLM					NI	Glucosa	
12	-	-	-	-	3	ALA							
13	-	-	-	-	0								
14	-	-	-	-	0								
15	-	-	-	-	3								
16	-	-	-	-	0								
17	+	-	-	-	0								
18	-	-	-	-	0	LEU	ILE						

Paciente	Estudios de apoyo		CLAR	Amonio	Lactato	Piruvato	Fen	Beutler	Diagnóstico
	CRIDAA								
1			NI	0	0.0	0.0	0.0	-	Tirosinemia
2			NI	0	0.0	0.0	0.0	+	Galactosemia
3			NI	0	0.0	0.0	0.0	-	Ac. Metil M.
4			NI	0	0.0	0.0	0.0	-	Cistinosis
5	GLU,CIT,NPR,SER,GLY		GLY,GLU	22	0.0	0.0	0.0	-	DCU
6			NI	0	0.0	0.0	0.0	-	DCU
7	LEU,ILE		LEU 1846.24 mmol	0	0.0	0.0	0.0	-	OJA
8	FEN,NAA		FEN elev en suero	0	0.0	0.0	14.3	-	FCU
9	NI			0	0.0	0.0	0.0	-	Glucogenosis
10				0	0.0	0.0	11.0	-	FCU
11			GLY,GLN en SPI,LCR	1	0.0	9.0	0.0	-	DCU
12				0	0.0	0.0	0.0	-	Glucogenosis
13				0	900.0	100.0	0.0	-	Alt.m.piruvat
14			GLY,TRE elevadas	0	0.0	0.0	0.0	-	Hiperglicinam
15				0	0.0	0.0	0.0	-	Cistinosis
16				0	0.0	0.0	14.0	-	FCU
17			FEN elevada	0	0.0	0.0	14.2	-	FCU
18	NI		NI	0	0.0	0.0	0.0	-	OJA

Tabla IX. Resultados de laboratorio de los pacientes con alteraciones metabólicas no hereditarias.

Paciente	Pruebas químicas					Cromatografía de aa.					Estudios de apoyo		CRIDAA
	DNPH	Tyr	Cis	Sus	Red	NAA	AA1	AA2	AA3	AA4	CGU	CRAZU	
1	-	-	-	+	0	GLY						Glucosa	
2	-	-	-	+	2							Glucosa	
3	-	-	-	+	0							Lac, Gal	
4	-	-	-	+	1							Glucosa	
5	+	-	-	+	3	CYS	CST					NI	
6	-	-	-	-	0	GLY					NI		
7	-	-	-	-	2								
8	-	-	-	-	0	GLY					Lactato		GLY
9	+	-	-	-	0	GLY	HCT				Isovaler/SOHBut		NAA
10	-	-	-	+	0	FEN	HCT	MET				NI	
11	-	-	-	+	3	GLY	GLU					NI	
12	+	-	-	+	1							NI	
13	-	-	-	+	3	ALA	TYR						NI
14	-	-	-	-	2								
15	-	-	+	-	2								
16	-	-	-	-	2								
17	-	+	-	-	0	RAM	ALA	TYR					
18	-	-	-	-	1	ALA							
19	+	-	-	-	0	GLY	RAM	ALA				NI	
20	+	-	-	-	2	MET	LEU	ILE	VAL	NI		NI	LEU, ILE, VAL, MET
21	-	+	-	+	3					NI		Glucosa	
22	-	-	-	-	2	GLY	ALA	SER					
23	-	+	-	-	3								
24	-	-	-	-	3	MHI						NI	
25	-	-	-	-	2							Glucosa	
26	+	-	-	+	0	ALA	RAM	FEN					
27	-	-	-	-	3	TYR							
28	-	-	-	-	2								
29	-	-	-	-	3	ALA	GLY	HCT					
30	-	-	-	+	1	GLY						NI	

continua...

Tabla IX. Resultados de laboratorio de los pacientes con alteraciones metabólicas no hereditarias (continuación).

Paciente	Estudios de apoyo					Enzimas	Diagnóstico
	CLAR	Amonio	Lactato	Piruvato	Fen Beutler		
1		0	0.0	0.0	0.0	-	
2		0	0.0	0.0	0.0	-	Pb.Sx.Fanconi
3		0	0.0	0.0	0.0	-	
4		0	0.0	0.0	0.0	-	
5		0	0.0	0.0	0.0	-	
6		0	0.0	0.0	0.0	-	
7	NI	0	0.0	0.0	0.0	-	
8		0	0.0	0.0	0.0	-	
9	GLT elev 4 veces	0	0.0	0.0	0.0	-	GLT NI en LCR
10		0	0.0	0.0	0.0	-	
11		0	0.0	0.0	0.0	-	Pb.Sx.Fanconi
12		0	0.0	0.0	0.0	-	
13		0	0.0	0.0	0.0	-	Pb. ATR.
14		0	0.0	0.0	0.0	-	
15		0	0.0	0.0	0.0	-	
16		0	0.0	0.0	0.0	-	
17		0	0.0	0.0	0.0	-	
18		0	0.0	0.0	0.0	-	
19		0	0.0	0.0	0.0	-	
20	RAM, MET, LYS	0	0.0	0.0	1.5	-	Pb. OJA
21		0	0.0	0.0	0.0	-	PCC, PC NI
22		0	0.0	0.0	0.0	-	
23		0	0.0	0.0	0.0	-	
24		0	0.0	0.0	0.0	-	ATR
25		0	0.0	0.0	0.0	-	Sx Fanconi
26	ILE, LEU, VAL	0	0.0	0.0	0.0	-	Pb. Alt. N, Pir
27		0	0.0	0.0	0.0	-	
28		0	0.0	0.0	0.0	-	FundamentATR
29		0	0.0	0.0	0.0	-	
30		0	0.0	0.0	0.0	-	

El cromatograma de aa o electroforesis de aa es fundamental para llevar a cabo un tamizaje adecuado, pues si comparamos cromatograma de aa alterado y pruebas químicas alteradas en pacientes diagnosticados (Tabla VIII) es más alto el número detectado si se efectúan ambas pruebas.

Según la literatura revisada (8, 40, 75, 76) las técnicas incluidas en el TM todavía se utilizan en muchos

lugares, sin embargo, al haber un desarrollo de la metodología de laboratorio se han implementado en el TM de primera línea además de las pruebas cualitativas, algunos cromatogramas, que en nuestro laboratorio se utilizan como estudios de segunda línea. Al adicionar una mayor batería de pruebas al TM podemos brindar mejor apoyo y diagnosticar un mayor número de EIM en los grupos de riesgo.

En vista de lo poco específico del cuadro clínico de muchos de los EIM y de varias de las pruebas del TM para hacer una primera selección de pacientes con riesgo de tener un EIM, es muy importante destacar la importancia de tomar en cuenta la información clínica al interpretar los resultados del TM, para decidir el curso de acción respecto a los estudios de apoyo adicionales y estudios confirmatorios.

Es necesario tener conocimiento de la alimentación y tratamiento que este recibiendo el paciente en el momento de que se colecta la muestra, ya que con frecuencia resultados anormales se deben a alimentos o a medicamentos, por lo que esta información debe ser incluida en la hoja de solicitud de estudios metabólicos. Lo más frecuente es que en la cromatografía de aa se observen manchas debidas a metabolitos de ampicilina; homocitrulina, debida a la ingesta de leche en polvo; anserina, por pollo, hiperglicinuria, causada por ingesta de ácido valproico (anticonvulsivante).

Una HAA generalizada puede ser dada por desnutrición energético-proteica en ausencia de un EIM, como parte del Sx. de Fanconi; por raquitismo en cuyo caso se acompaña de



hipofosfatemia e hiperfosfaturia; o constituir uno de los elementos del daño hepatorenal en lactantes con galactosemia, intolerancia a la fructosa o tirosinemia, padecimientos que pueden simular una hepatitis fulminante.

De acuerdo a sus manifestaciones clínicas se clasificaron a los pacientes en:

**Pacientes Crónicos:** Un total de 411 pacientes que presentaron principalmente síntomas de retardo mental y retardo en el crecimiento y visceromegalias.

**Pacientes Graves:** Un total de 200 pacientes internos que presentaron síntomas como colapso neonatal, Sx. colestático, vómitos, crisis convulsivas, alteraciones del tono muscular, acidosis metabólica, anemia, infecciones, fiebre, hemorragias, hipoglicemia, prematutez, Sx. de Reye, deshidratación y alteraciones del estado de conciencia, y pacientes internos que pueden o no presentar síntomas relacionados con EIM, pero que presentan padecimientos diferentes y los estudios que se pidieron fueron relacionados a tales padecimientos o para valorar manejo de aminoácidos y amonio para dar alimentación parenteral.

**Pacientes Asintomáticos:** Un total de 8 pacientes que no presentaron sintomatología a quienes se les realizaron estudios por resultados alterados en el Tamiz Neonatal del Programa de Prevención del Retardo Mental de Origen Metabólico (PRM).

La distribución por grupo y tipo de paciente se muestra en la tabla X.

Tabla X. Distribución de los pacientes por grupos.

T I P O	G R U P O S			
	1	2	3	Total
Cronicos	11 (61.1%)	14 (46.6%)	386 (67.6%)	411 (66.4%)
P A C I E N T E				
Graves	6 (33.3%)	16 (53.4%)	178 (31.1%)	200 (32.3%)
Asintomati	1 ( 5.6%)	0 (0.0%)	7 ( 1.3%)	8 ( 1.3%)
Total por grupo	18 (100.0%)	30 (100.0%)	571 (100.0%)	
Total	18 (2.9%)	30 (4.9%)	571 (92.2%)	619 (100.0%)

Se llevo a cabo el análisis estadístico para los tres grupos que se formaron de acuerdo a los resultados de laboratorio: Diagnosticados, alterados y normales, comparando sus diversas manifestaciones clínicas agrupadas en 12 indicadores, por lo que el análisis estadístico fue tomando tres variables independientes: grupo, edad y sexo y 12 variables dependientes (indicadores), las cuales fueron valoradas para establecer los grupos de riesgo donde de acuerdo a nuestra población estudiada es mas probable encontrar un paciente que presente algún EIM.

Del análisis ANOVA intergrupo se tienen los siguientes resultados:

Grupo 1 (Diagnosticados)

ANOVA:

Hipótesis para el efecto de EDAD

Prueba univariada de F

Variable	F	P
M. renales	4.817	0.046

Prueba multivariada

F= 6.965      DF= 12,3      Prob 0.068

La prueba de hipótesis para el efecto de la edad mostro que si hay diferencias entre las edades para la variable dependiente manifestaciones renales con una F con P menor de 0.05 y una F marginal para la prueba multivariada, por lo cual resulta un indicador importante para los pacientes menores de un año de edad. Las demás variables dependientes homogéneas.

En la hipótesis para el efecto de SEXO la prueba univariada y multivariada presento valores de F que no indican diferencias significativas. Por lo que no hay diferencias entre los indicadores dadas por el sexo.

### Prueba multivariada

F= 54.998      DF= 13,555      Prob 0.000

La prueba de hipótesis para el efecto de la edad mostro que hay diferencias entre los siguientes indicadores: manifestaciones neurológicas, manifestaciones gástricas, alteraciones del desarrollo y la conducta y hallazgos de laboratorio.

La prueba de hipótesis univariada y multivariada para el efecto del sexo no mostro diferencias significativas de los indicadores.

Al no haber efecto dado por el sexo en ninguno de los tres grupos se hizo una matriz de interrelacion TUKEY por edad para cada grupo donde se observó que cada uno de los grupos es homogéneo, ya que no hay diferencias significativas intragrupo en ninguno de los tres grupos.

Los análisis intragrupo reflejan que para cada grupo hay indicadores diferentes, para el grupo 1 el indicador de manifestaciones renales, para el grupo 2 las manifestaciones neurológicas y para el grupo 3 manifestaciones neurológicas, gastroenterológicas, de desarrollo y conducta y hallazgos de laboratorio. El resultado del grupo 1 puede deberse al hecho de que varios pacientes menores de 1 año de edad presentaron importantes manifestaciones renales.

Los resultados para el análisis intergrupo de tres vías para los 619 pacientes son los siguientes:

**ANOVA:**

**Hipótesis para el efecto de GRUPO**

**Prueba univariada de F**

<b>Variable</b>	<b>F</b>	<b>P</b>
<b>M. neurológicas</b>	<b>4.624</b>	<b>0.010</b>
<b>Antecedentes</b>	<b>4.499</b>	<b>0.011</b>
<b>M. oseas</b>	<b>4.630</b>	<b>0.010</b>
<b>M. renales</b>	<b>7.456</b>	<b>0.000</b>
<b>M. oculares</b>	<b>3.639</b>	<b>0.027</b>

**Prueba multivariada**

**F= 2.335      DF= 24,1192      Prob 0.000**

**Hipótesis para el efecto de EDAD**

**Prueba univariada de F**

<b>Variable</b>	<b>F</b>	<b>P</b>
<b>M. gastroenterológicas</b>	<b>7.119</b>	<b>0.008</b>
<b>M. renales</b>	<b>9.160</b>	<b>0.003</b>

**Prueba multivariada**

**F= 2.066      DF= 12,596      Prob 0.017**

En este análisis se observa que existen diferencias de las variables GRUPO y EDAD con respecto a las variables independientes. En el caso de GRUPO se ve que los grupos

tienen diferencias en las manifestaciones neurológicas, antecedentes, manifestaciones oseas, manifestaciones renales y manifestaciones oculares, y son homogéneos para el resto de indicadores.

En el caso de la EDAD los grupos son diferentes en los indicadores manifestaciones gastroenterológicas y renales y homogéneos para el resto de los indicadores, lo que de una manera general nos da como indicadores para niños menores de un año de edad a las manifestaciones gastroenterológicas y renales.

Mientras que el SEXO no tiene ningún efecto, siendo todos los grupos homogéneos.

Los resultados intergrupo para la matriz de comparación TUKEY fueron los siguientes.

Para las interacciones Grupo (1, 2, 3), Edad (RN a 1 año, 1 año en adelante) y Sexo (masculino y femenino). Se observan diferencias significativas en los indicadores antecedentes, manifestaciones neurológicas, oseas y gastroenterológicas dadas por las combinaciones (ver núm de combinación en la tabla VI):

M. neurológicas: (1, 3); (2, 4); (2, 6); (2, 5); (2, 9); (4, 5) y (5, 10).

M. gastroenterológicas: (1, 3); (1, 7). (1, 8), (2, 7) y (2, 8).

Antecedentes (3, 5); (4, 5).

M. oseas: (1, 2); (2, 3); (2, 4); (2, 10) y (2, 11).

Siendo homogéneos, sin variación el resto de los indicadores.

Esto es, las manifestaciones neurológicas, presentan las siguientes diferencias intergrupo: para el grupo 1 nos diferencia a la edad, da diferencias entre el grupo 1 y el grupo 2, entre el grupo 1 y el 3, y entre el grupo 2 y el 3, es decir, que las manifestaciones neurológicas diferencian al grupo 1 de los demás, o sea, distingue entre los pacientes diagnosticados con EIM y los pacientes con alteración metabólica transitoria no hereditaria y normales y da diferencias entre los menores de un año y los mayores de un año en el grupo 1. Por lo que se puede considerar como indicador para Tamiz de Alto Riesgo (TAR).

Las manifestaciones gastroenterológicas, presentan diferencias para los diagnosticados, en cuanto a la edad, y diferencia claramente a los grupos diagnosticados de normales. Por lo que se considera un indicador para TAR.

Los antecedentes, nos diferencia claramente a los grupos diagnosticados y alterados. Esto es un punto importante ya que el grupo 1 presenta EIM, es decir, alteraciones hereditarias, mientras que en el grupo 2 las alteraciones son transitorias y no hereditarias.

Las manifestaciones oseas, presentan diferencias en el grupo 1, diagnosticados, a la edad y al sexo y nos da diferencias entre el grupo de diagnosticados y el de normales. Por lo tanto se puede considerar indicador para TAR.

En síntesis, en el ANOVA y el TUKEY intergrupo para GRUPO, EDAD y SEXO se observo que las pruebas de hipótesis para el efecto de grupo y edad fueron significativas siendo no significativas para el sexo, por lo que se realizó un nuevo análisis intergrupo de las interacciones tomando en cuenta sólo al grupo y a la edad como variables independientes y a los 12 indicadores como variables dependientes, para discriminar los efectos de cualquier interacción con los de la variable sexo.

**ANOVA:**

**Hipótesis para el efecto de GRUPO**

**Prueba univariada de F**

Variable	F	P
M. neurológicas	10.904	0.000
M. gastroenterológicas	3.836	0.022
Antecedentes	9.033	0.000
M. oseas	15.786	0.000
M. renales	8.217	0.000
M. dermatológicas	3.832	0.023
M. oculares	5.067	0.006
Hallasgos de laboratorio	8.409	0.000



Prueba multivariada

F= 4.585      DF= 24,1204    Prob 0.000

Hipótesis para el efecto de EDAD

Prueba univariada de F

Variable	F	P
Exploración general	3.384	0.006
M. gastroenterológicas	24.946	0.000
M. dermatológicas	10.980	0.001
M. inmunológicas	11.044	0.001

Prueba multivariada

F= 3.861      DF= 12,602    Prob 0.000

La prueba univariada y multivariada de F para el efecto de GRUPO y EDAD nos refleja que existen diferencias entre GRUPO dadas por los indicadores manifestaciones neurológicas, oseas, gastroenterológicas, antecedentes, nefrológicas, dermatológicas, oculares y hallazgos de laboratorio.

La prueba univariada y multivariada de F para el efecto de EDAD refleja diferencias entre las distintas edades para los indicadores exploración general, manifestaciones gastroenterológicas, dermatológicas e inmunológicas.

Los resultados del análisis TUKEY fueron los siguientes.

Interacciones para GRUPO y EDAD; Grupo (1, 2, 3), Edad (RN a 1 año, 1 año en adelante), generan las combinaciones para la matriz de comparación que se muestran en la tabla

## VII.

Se obtuvieron diferencias significativas en los Indicadores manifestaciones neurológicas, gastroenterológicas, oseas, renales, antecedentes y hallazgos de laboratorio dadas por las combinaciones:

M. neurológicas: (1, 5) y (3, 5).

M. gastroenterológicas: (1, 2); (1, 4); (1, 6) y (3, 4).

Antecedentes: (1, 4); (1, 5) y (3, 5).

M. oseas: (1, 2); (1, 5); (1, 6); (2, 4); (4, 5) y (4, 6).

M. renales: (2, 6).

Hallazgos de laboratorio: (1, 2); (1, 3); (1, 5) y (1, 6).

El resto de los indicadores son homogéneos, no presentan variación.

Esto es las manifestaciones neurológicas, marca diferencias entre el grupo 1 y los grupos alterados y normales, lo cual confirma que es buen indicador para TAR.

Las manifestaciones gastroenterológicas dan diferencias para los pacientes diagnosticados menores de un año de edad con los mayores de un año de edad de su mismo grupo y de los grupos alterados y normales. Lo cual confirma que es buen

indicador par TAR.

Los antecedentes, nos da diferencias entre los 3 grupos.  
Indicador para TAR.

Las manifestaciones oseas, nos da diferencias entre la edad de los pacientes del grupo 1 y diferencias entre los grupos 1 y 2, 1 y 3 y 2 y 3. Se confirma como indicador para TAR.

Las manifestaciones renales, nos diferencia al grupo 1, diagnosticados del 3 normales en menores de un año, lo cual confirma que es muy buen indicador para TAR.

Los hallazgos de laboratorio, nos da diferencias en la edad del grupo 1 y al grupo 1 del 2 y del 3. Indicador para TAR.

El análisis de TUKEY sólo considerando GRUPO; para Grupo (1, 2, 3) con las combinaciones para la matriz de comparación que se muestran en metodología:

Se observan diferencias en los indicadores antecedentes, manifestaciones neurológicas, gastroenterológicas, renales, oseas, dermatológicas y hallazgos de laboratorio dadas por las combinaciones:

M. neurológicas: (1, 3) y (2, 3).

M. gastroenterológicas: (1, 3).

Antecedentes: (1, 3).

M. oseas: (1, 3) y (2, 3).

M. renales: (1, 3).

M. dermatológicas: (1, 2) y (1, 3).

Hallazgos de laboratorio: (1, 3).

El resto de los indicadores son homogéneos, no presentan variación.

Las manifestaciones neurológicas, diferencia a los grupos 1 y 3 y a los grupos 2 y 3, es decir, que los pacientes del grupo 3 normales tienen diferencias dadas por las manifestaciones neurológicas con los grupo 1 y 2 que son pacientes con alteraciones (diagnosticados y alterados, respectivamente).

Las manifestaciones gastroenterológicas, diferencian al grupo 1 del 3, así como los antecedentes, las manifestaciones renales y los hallazgos de laboratorio.

Las manifestaciones oseas diferencia al grupo 3 del 1 y del 2.

Las manifestaciones dermatológicas, diferencian al grupo 1 del 2 y del 3.

Para solamente la variable EDAD tenemos que los niños menores de un año de edad presentan significativamente mayor

número de manifestaciones neurológicas, gastroenterológicas y renales, indicadores para TAR, obtenidos por comparación de medias con la prueba T, ya que la prueba de TUKEY incluida en el SYSTAT, realiza las comparaciones a partir del marco estadístico que mejor se ajuste a los datos (72). Para dos niveles (menores y mayores de un año) la mejor prueba resulto ser la de T de comparación de medias.

En la tabla XI, se muestran los resultados del presente estudio y de otros estudios reportados en la literatura. Para el presente estudio se tiene que los pacientes diagnósticados presentan los siguientes EIM.

Fenilcetonuria (4 pacientes). El defecto primario en la PKU clásica es en la enzima 4-fenilalanina hidroxilasa cuyo loci se encuentra en el cromosoma 12 (77), el defecto en esta enzima produce principalmente un acúmulo de fenilalanina y una falta de tirosina, además de que las vías alternas de la fenilalanina producen altas concentraciones de los ácidos fenilpirúvico, feniláctico y fenilacético principalmente. Por la falta de tirosina hay una disminución en la síntesis de melanina, además de la disminución en la síntesis de neurotransmisores ya comentada (23). El cuadro clínico se caracteriza por el daño al sistema nervioso y la hipopigmentación de cabello, iris y piel. Es una enfermedad autosómica recesiva (28, 31, 77).

Tabla XI. Comparación de los resultados del Tamiz Metabólico del presente estudio con los resultados de otros reportados en la literatura.

Período	Pacientes	ser TM alterado	Diagnosticados	Porcentaje	Ref.
108 meses	1995	75	32 Defectos Transporte	3.75%	13
			1 Hiperfenilalaninemia benigna		
			1 Metioninemia		
			5 Defecto Piruvato		
			20 Fenilcetonuria		
			6 Homocistinuria		
			2 Orina de Jarabe de Arce		
			1 Acidemia isovalérica		
			1 Acidemia metilmalónica		
			1 Histidinemia		
			2 Hiperglucinemias transitorias		
			3 Alteración Metab. Carbohidratos		
			24 meses		
22 Ac. orgánicas					
5 Alter. Metab. Carbohidratos					
5 Atesoramiento lisosomal					
1 Desorden peroxisomal					
29 meses	1200	397	15   9 Ac. orgánicas	1.25%	75
			3 Cistinuria		
			1 Fenilcetonuria		
			1 Sx. Zellweger		
36 meses	800	35	9 Fenilcetonuria	4.37%	76
			1 Hiperfenilalaninemia benigna		
			7 Hiperglucinemias no cetósicas		
			5 Tirosinemia		
			5 Homocistinuria		
			4 Citrulinemia		
			2 Cistinuria		
1 Hiperprolinemia					
30 meses	619	204	18   1 Orina de Jarabe de Arce	2.90%	PE
			2 Cistinosis		
			2 Glucogenosis I		
			1 Galactosemia		
			1 Tirosinemia		
			1 Acidemia metilmalónica		
			1 Alter. Metab. Piruvato		
1 Hiperglucinemia no cetósica					

\* Porcentaje calculado

PE Presente estudio

Defecto en el Ciclo de la Urea (3 pacientes). El ciclo de la urea tiene el papel de prevenir la acumulación de compuestos nitrogenados tóxicos y de sintetizar arginina. Los defectos en el ciclo de la urea representan una falla en la biosíntesis de una de las enzimas del ciclo, como carbamil fosfato sintetasa, fosfato sintetasa, ornitina transcarbamilasa, arginosuccinico sintetasa y arginosuccinasa. Estos se caracterizan por signos y síntomas inducidos por la acumulación de precursores de urea, principalmente amonio y glutamina. Se hereda de forma autosómica recesiva (78).

Orina de Jarabe de Arce (2 pacientes). Resulta de defectos hereditarios en el complejo multienzimático de deshidrogenasas de -cetoácidos ramificados. Esto produce un incremento en las concentraciones de los aminoácidos ramificados y los -cetoácidos. Las principales manifestaciones clínicas son olor peculiar, ataques, ataxia, hipoxia, acidosis e hipoglicemia. Su modo de herencia es autosómico recesivo (79).

Cistinosis (2 pacientes). Es un defecto en el transporte de los aminoácidos cistina, lisina, arginina y ornitina que afectan las células epiteliales del túbulo renal y el tracto gastrointestinal, los síntomas más frecuentes son cálculos renales, cristales de cistina (80).

Glucogenosis I (2 pacientes) Es una enfermedad

autosómica recesiva que esta dada por la deficiencia de la glucosa 6-fosfatasa, enzima que normalmente esta presente en hígado, riñon e intestino. Los pacientes presentan principalmente hepatoesplenomegalia, estatura corta y facie peculiar (24).

Galactosemia (1 paciente) Actualmente se conocen tres defectos genéticos diferentes en el metabolismo de la galactosa, la alteración genética se manifiesta como una deficiencia de galactocinasa, galactosa 1-fosfato uridil transferasa o uridina difosfato galactosa epimerasa, enzimas que catalizan las primeras reacciones del metabolismo de la galactosa. El bloqueo en los tres casos ocasiona una acumulación de galactosa y de galactitol. Las manifestaciones clínicas son síndromes de toxicidad que resultan de la exposición de los pacientes a galactosa (25).

Tirosinemia (1 paciente) La tirosinemia se asocia con una deficiencia en la enzima hepática tirosina aminotransferasa, la enzima limitante del catabolismo de la tirosina. El cuadro clínico es hepatomegalia, erosión en cornea e hiperqueratosis (81).

Acidemia metilmalónica (1 paciente) El defecto en la acidemia metilmalónica esta en la metilmalonilmalonil CoA mutasa, que cataliza la conversión de metilmalonil-CoA a succinil-CoA, produciendose un acúmulo de ácido metilamalónico y formandose cuerpos cetónicos. Los síntomas



más comunes son letargo, vómitos recurrentes, dificultad respiratoria e hipotonia. Es una enfermedad autosómica recesiva (82).

Alteración en el metabolismo del piruvato (1 paciente)  
El piruvato se metaboliza a través de cuatro sistemas multienzimáticos: 1) Lactato deshidrogenasa. 2) Piruvato deshidrogenasa. 3) Alanina aminotransferasa y 4) Piruvato carboxilasa. Un defecto en el complejo de la piruvato deshidrogenasa produce lesiones quísticas en corteza cerebral, ganglio basal y tallo cerebral. Un defecto en la piruvato carboxilasa ocasiona acidosis láctica, hiperamonemia, pérdida de neuronas cerebrales por mal funcionamiento de los astrocitos (83).

Hiperglicinemia no cetósica (1 paciente) En esta enfermedad gran cantidad de glicina se acumula en los fluidos corporales. El defecto molecular es en el sistema de división de la glicina. La concentración elevada de glicina en el LCR es una característica Dx. Los principales síntomas relacionados son letargo, crisis convulsivas, vómito, rechazo a los alimentos e hipotonia (84).

## CONCLUSIONES

1.- Los mejores indicadores para diferenciar pacientes con EIM en relación a la edad, es decir, para formar grupos de riesgo son en orden de importancia: manifestaciones neurológicas, gastroenterológicas, renales, oseas, antecedentes y hallazgos de laboratorio, ya que son las que diferencian al grupo de diagnosticados del grupo de normales.

2.- Los indicadores que se mencionaron para formar los grupos de riesgo los tres primeros son útiles para sospechar un EIM, aumentando el riesgo en pacientes menores de un año de edad

3.- Entre más signos o síntomas de uno de los indicadores importantes relacionados, mayor riesgo de presentar un EIM.

4.- Esto indica que es importante llevar a cabo estudios específicos y confiables que diagnostiquen a pacientes que pertenezcan a estos grupos de riesgo.

5.- Un TM bien implementado para los grupos de riesgo debe constar además de las pruebas cualitativas llamadas PRUEBAS QUIMICAS, de pruebas cualitativas más específicas como las cromatografías bidimensional de aminoácidos o electroforesis de aminoácidos en orina.

6.- Esto es posible por el hecho de contar con indicadores para diferenciar riesgos, que reducen el número de pacientes que se incluyen en el TAR.

7.- Es importante interpretar los resultados de laboratorio en conjunto con las manifestaciones clínicas para saber cuales son los estudios de apoyo que deben realizarse para llegar a un diagnóstico adecuado.

8.- Una hoja de solicitud de estudios metabólicos debe incluir los datos clínicos para saber si se incluye al paciente en los grupos de riesgo, datos sobre alimentación y tratamiento, ya que sirve de comunicación entre el clínico y el laboratorio. Estos dos aspectos que deben evaluarse juntos para diagnosticar a los EIM.

9.- La hoja de solicitud es importante como comunicación entre el clínico y el laboratorio de estudios metabólicos y como hoja que da información de las manifestaciones clínicas relacionadas con los EIM

10.- Las alteraciones bioquímicas o metabólicas transitorias pueden interpretarse como defectos en polipeptidos, mientras que las alteraciones irreversibles pueden interpretarse como alteraciones en proteínas estructurales.

11.- El hallazgo de 18 Errores Innatos del Metabolismo en 619 pacientes seleccionados es decir, un 2.9% confirma la importancia de una sistematización para la determinación de pacientes con riesgo para la posibilidad de un diagnóstico oportuno.

12.- Mucho se ha discutido sobre la utilidad del Tamiz Neonatal (29), y de si realmente el costo-tiempo-beneficio es

favorable, de ahí la importancia de implementar los criterios para incluir a pacientes en un TAR puede ayudar a detectar EIM tempranamente en pacientes menores de un año de edad con enfermedad o síntomas neonatales agudos o graves, incluidos en los indicadores.

13.- Comparando los resultados del presente estudio con otros estudios reportados en la literatura (tabla XI), observamos que para el tiempo que duro el estudio y comparandolo con la referencia 13 tuvimos un porcentaje mayor de pacientes diagnosticados, en cambio si comparamos con la referencia 76, el porcentaje es menor, aunque el estudio de la referencia 76 se realizó en Kuwait donde la consanguinidad es cercana al 50%, y si recordamos que la mayoría de los EIM se heredan de forma Autosomica Recesiva este punto es muy importante.

14.- En los pacientes diagnósticados para nuestra población de estudio el EIM más frecuente fue la PKU.

## P R O P U E S T A S

Los GRUPOS DE RIESGO para sospecha de presentar algun EIM deben formarse por pacientes que presenten una o más de las siguientes manifestaciones en orden de importancia:

manifestaciones neurológicas  
gastroenterológicas  
manifestaciones renales  
manifestaciones oseas  
antecedentes familiares  
hallazgos de laboratorio.

Solo alguna de ellas o asociadas, en pacientes de cualquier edad, teniendo mayor riesgo para mayor numero de manifestaciones clínicas asociadas.

Establecer para todos los pacientes de RN a 1 año de edad que lleguen con cualquiera de las manifestaciones indicadas para grupo de riesgo principalmente las manifestaciones neurológicas, gastroenterológicas, renales y oseas la realización de un Tamiz Metabólico de Alto Riesgo (TAR).

El tener un TM bien establecido y que dé buenos resultados en distintos hospitales y/o en diferentes servicios donde generalmente se reciban pacientes menores de un año de edad con sintomatología grave e inespecifica que los hacen candidatos para GRUPOS DE RIESGO para presentar EIM

puede ayudar a detectar oportunamente EIM.

En base a las manifestaciones clínicas más frecuentes de acuerdo a la literatura y a los indicadores para grupos de riesgo se proponen las siguientes modificaciones a la hoja de solicitud quedando la nueva hoja de solicitud que se muestra en el anexo 3.

a) Desglosar los antecedentes familiares y otros antecedentes en ANTECEDENTES:

- RPM Familiar.
- EIM familiar.
- Abortos maternos.
- Hermanos fallecidos tempranamente.
- Sufrimiento fetal.
- Prematurez.
- Cuadro similar familiar.

b) En DESARROLLO:

- Conducta anormal.
- Perdida de habilidades.

c) Manifestaciones neurológicas en NEUROLOGIA:

- Separar hipotonía e hipertonia.
- Mioclonias.
- Letargo.
- Coma.

d) Agregar: ALTERACIONES CARDIACAS.

SEPSIS

DESNUTRICION GI, GII, GIII

e) Incluir en EXPLORACION GENERAL:

- Complexión peculiar.
- Dismorfias menores.
- Dismorfias mayores.
- Ictericia.

f) Manifestaciones oculares en OFTALMOLOGIA:

g) Ampliar manifestaciones renales en NEFROLOGIA:

- Insuficiencia renal.
- Acidosis tubular renal.
- Mancha peculiar en pañal.
- Otras manifestaciones renales.

f) En GASTROENTEROLOGIA:

- Diarrea.
- Constipación.
- Intolerancia alimentaria.

g) Manifestaciones cutaneas en DERMATOLOGIA:

- Dermatitis.
- Pelo poco usual.
- Hipopigmentación.
- Hiperpigmentación.

h) Ampliar manifestaciones oseas en M.OSEAS:

- Deformaciones.
- Raquitismo.
- Otras manifestaciones oseas.

i) Agregar LABORATORIO:

- Acidosis respiratoria.
- Acidosis metabólica.
- Hipoglicemia.
- Cetoacidosis.
- Brecha anionica aumentada.
- Hiperamonemia.
- Cetonuria.
- Bicarbonaturia.
- Glucosuria.



## B I B L I O G R A F I A

- 1.- Bondy, Ph.K. Introducción. En: *DUNCAN Enfermedades del metabolismo*. Bondy, Ph.K. y Rosenberg, L.E. Tomo I. España: Salvat Editores, 1979: 1.
- 2.- Trémolières, J. Fisiología de la nutrición. En: *Nutrición y Metabolismo*. Trémoliers, J. et al. Colección Patología Médica Núm. 11. Barcelona: Editorial Espaxs, 1974: 7.
- 3.- Lehninger, A.L. *Biochemistry*. Nueva York: Worth Publishers Inc.: 1980: 1064.
- 4.- Watson, J.D. y Crick, F.H.C. A structure for deoxyribose nuclei acid. *Nature* 1953; 171: 737.
- 5.- Watson, J.D.; Hopkins, N.H.; Roberts, J.W.; Steitz, J.A. y Weiner, A.M. *Molecular biology of the gene*. Estados Unidos: The Benjamin/Cummings Publishing Company Inc.: 1987: 1163.
- 6.- Alberts, B.; Bray, D.; Lewis, J.; Raff, M.; Roberts, K. y Watson, J.D. *Molecular Biology of the Cell*. 2a ed. Nueva York: Garland Publising Inc.: 1989: 1219.
- 7.- Crick, F. Central dogma of molecular biology. *Nature* 1970; 227: 561.

- 8.- Beaudet, A.L.; Scriver, Ch.R.; Sly, W.S.; Valle, D.; Cooper, D.; McKusick, V. y Schmidke, J. Genetics and biochemistry of variant human phenotypes. En: *The metabolic basis of inherited disease*. Scriver, Ch.R.; Beaudet, A.L.; Sly, W.S. y Valle, D. Nueva York: McGraw Hill, 1989: 3.
- 9.- Johnson, G.B. Enzyme polymorphism and metabolism. *Science* 1974; 184: 28.
- 10.- McKusick, V.A. *Mendelian inheritance in man. Catalog of autosomal dominant, autosomal recessive and X-linked phenotypes*. 8th ed. Baltimore: The Johns Hopkins University Press: 1988: 1626.
- 11.- Guizar-Vázquez, J. *Genética clínica*. México: Ed. El Manual Moderno: 1988: 511.
- 12.- Gardner, E.J. *Principles of genetics*. Nueva York: John Wiley and Sons Inc: 1975: 622.
- 13.- Velázquez, A. Experiencias en la prevención y tratamiento de los errores innatos del metabolismo. En: *Caminos en la Biología Fundamental*. Martuscelli, J.; Palacios de la Lama, R. y Soberon, G. México: Dirección General de Publicaciones. UNAM, 1984: 263.
- 14.- Durán, V.E.; Casanueva, E.; Bourges, R.H.; Stivalet, H.E.; Suárez, J. y Ochoa, G.H. Glosario de términos para la orientación alimentaria. *Cuadernos de nutrición* 1988; 11 (6): 1.

- 15.- Icaza, S.J. y Béhar, M. *Nutrición*. México: Ed. Interamericana: 1961: 250
- 16.- Hsia, D.Y.Y. *Errores innatos del metabolismo*. 1a ed. México: Editorial Interamericana: 1961: 365
- 17.- Garrod, S.C. Family influences on A.E. Garrod's thinking. *J Inher Metab Dis* 1989; 12 (supl.1): 2.
- 18.- La Du, B.N.; Zannoni, V.G.; Laster, L. y Seegmiller, J.E. The nature of the defect in tyrosine metabolism in alcaptonuria. *J Biol Chem* 1958; 230: 251.
- 19.- Pauling, L.; Itano, H.A.; Singer, S.J. y Wells, I.C. Sickle cell anemia, a molecular disease. *Science* 1949; 110: 543.
- 20.- Ingram, V.M. Gene mutations in human haemoglobin: the chemical difference between normal and sickle cell haemoglobin. *Nature* 1957; 180: 326.
- 21.- Beadle, G.W. y Tatum, E.L. Genetic control in biochemical reactions in *Neurospora*. *Proc Natl Acad Sci USA* 1941; 27: 499.
- 22.- Beadle, G.W. Genes and chemical reactions in *Neurospora*. *Science* 1959; 129: 1715.

- 23.- Güttler, F. y Lou, H. Dietary problems of phenylketonuria: Effect on CNS transmitters and their possible role in behaviour and neuropsychological function. *J Inher Metab Dis* 1986; 9 (supl 2): 169.
- 24.- Hers, H.G.; Van Hoof, F. y De Barsey, T. Glycogen storage diseases. En: *The metabolic basis of inherited disease*. Scriver, Ch.R.; Beaudet, A.L.; Sly, W.S. y Valle, D. Nueva York: McGraw Hill, 1989: 425.
- 25.- Segal, S. Disorders of galactose metabolism. En: *The metabolic basis of inherited disease*. Scriver, Ch.R.; Beaudet, A.L.; Sly, W.S. y Valle, D. Nueva York: McGraw Hill, 1989: 453.
- 26.- Griffin, J.E. y Wilson, J.D. The androgen resistance syndromes: 5  $\alpha$ -reductase deficiency, testicular feminization and related disorders. En: *The metabolic basis of inherited disease*. Scriver, Ch.R., Beaudet, A.L., Sly, W.S. y Valle, D. Nueva York: Mc Graw Hill, 1989: 1919.
- 27.- Goodman, S.I. y Frerman, F.E. Organic acidemias due to defects in lysine oxidation: 2-ketoadipic acidemia and glutaric acidemia. En: *The metabolic basis of inherited disease*. Scriver, Ch.R.; Beaudet, A.L.; Sly, W.S. y Valle, D. Nueva York: McGraw Hill, 1989: 845.
- 28.- Nyhan, W. L. y Sakati, N. A. Diagnostic Recognition of Genetic Disease. Filadelfia: Lea & Febiber: 1987: 754.

- 29.- Sardharwalla, I.B. y Wraith, J.E. A clinicians view of the mass screening of the newborn of inherited diseases: Current practice and future considerations. *J Inher Metab Dis* 1989; 12 (supl 1): 55.
- 30.- Gitzelmann, R.; Steinmann, B. y Van Den Berghe, G. Disorders of fructose metabolism. En: *The metabolic basis of inherited disease*. Scriver, Ch.R.; Beaudet, A.L.; Sly, W.S. y Valle, D. Nueva York: McGraw Hill, 1989: 399.
- 31.- Arias-Mendoza, F. y Jiménez-Sánchez, G. Errores Innatos del Metabolismo. En: *Medicina interna pediátrica*. Loredó-Abdalá, A. México: Nueva Editorial Interamericana, 1990: 389.
- 32.- O'Brien, D.; FRCP y Goodman, S.I. The critically ill child: Acute metabolic disease in infancy and early childhood. *Pediatrics* 1970; 46: 620.
- 33.- Burton, B.K. y Nadler, H.L. Clinical diagnosis of the inborn errors of metabolism in the neonatal period. *Pediatrics* 1978; 61: 398.
- 34.- Burton, B.K. Inborn errors of metabolism: The clinical diagnosis in early infancy. *Pediatrics* 1987; 79: 359.
- 35.- Rodríguez, M. y Velázquez, A. Diagnóstico presintomático de enfermedades hereditarias. *Gaceta Médica de México* 1986; 122: 129.

- 36.- Rosenberg, L.E. Errores congénitos del metabolismo. En: *DUNCAN Enfermedades del metabolismo*. Bondy, Ph.K. y Rosenberg, L.E. Tomo I. Barcelona: Salvat Editores, 1979: 33.
- 37.- Hiatt, H.H. Pentosuria. En: *The metabolic basis of inherited disease*. Scriver, Ch.R.; Beaudet, A.L.; Sly, W.S. y Valle, D. Nueva York: McGraw Hill, 1989: 481.
- 38.- Ugarte, M. *Detección, prevención e investigación de la etiología molecular del retraso mental de metabolopatías congénitas*. España: Premio "Reina Sofía" de Investigación en Materia de Prevención de la Subnormalidad: 1982: 84.
- 39.- Wilson, J.M.G. y Junger, G. *Principles and practice of screening for disease*. Ginebra: WHO Public Health Papers 68: 1968:
- 40.- Blom, W.; Huijmans, J.G.M. y Van den Berg, G.B. A clinical biochemist's view of the investigation of suspected inherited metabolic disease. *J Inher Metab Dis* 1989; 12 (supl 1): 64.
- 41.- Thomas, G.H. y Howel, R.R. *Selected screening test for genetic metabolic diseases*. Chicago: Year Book Medical Publishers: 1973: 101.
- 42.- Mudd, S.H., Levy, H.L. y Skovby, F. Disorders of transsulfuration. En: *The metabolic basis of inherited disease*. Scriver, Ch.R.; Beaudet, A.L.; Sly, W.S. y Valle, D. Nueva York: McGraw Hill, 1989: 693.

43.- Shin, V.E. *Laboratory techniques for the detection of hereditary metabolic disease*: Cleveland: CRC Press: 1973:

44.- Krafczyk, F.; Helger, K.; Lang, H. y Bremer, H.J. *Clin Chem Acta* 1971; 35: 345.

45.- Efron, M.L.; Young, D.; Moser, H.W. y Mac-Cready, R.A. A simple chromatographic screening test for the detection of disorders of amino acid metabolism. A technic using whole blood or urine collected on filter paper. *N Engl J Med* 1964; 270: 1378.

46.- Tanaka, K.; West-Dull, A.; Hine, D.G.; Lynn, T.B. y Lowe, Th. Gas chromatographic method of analysis for urinary organic acid. II. Description of the procedure, and its application to diagnosis of patients with organic acidurias. *Clin Chem* 1980; 26: 1847.

47.- González, M.S. y Peñaloza, C.I. *Técnicas de biomoléculas*. México: ENEP Iztacala. UNAM: 1985: 210.

48.- Bachman y Colombo. *Eur J Pediatr* 1980; 134: 109.

49.- Harris y Oberhelzer *Clin Chim* 1980; 26: 473.

50.- Iles, R.A., Chalmers, R.A. y Hind, A.J. Methylmalonic aciduria and propionic acidemia studied by proton nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Clin Chim Acta* 1986; 173: 173

- 51.- Phillips, R.E. y de Botton, R. A simplified determination of blood phenylalanine using samples collected on paper. A clinical laboratory procedure from G.K. Turner Associates. Inc.
- 52.- Anderson, W.F. Prospects of human gene therapy. *Science*. 1984; 226: 401.
- 53.- Wilson, J.M.; Johnston, D.E.; Jefferson, D.M. y Mulligan, R.C. Correction of the genetic defect in hepatocytes from the Watanabe heritable hyperlipidemic rabbit. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1988; 85: 4421.
- 54.- Davis, K. The application of DNA recombinant technology to the analysis of the human genome and genetic disease. *Hum Genet* 1981; 58: 351.
- 55.- McKusick, V.A. The morbid anatomy of the human genome: A review of gene mapping in clinical medicine. Part IV. *Medicine* 1988; 67: 1.
- 56.- Verma, I.M. Gene therapy. *Sci Amer* 1990; 263: 34.
- 57.- Palomares-Martinez, B.R. y Gerzo-Rivera, F. Hemofilia. En: *Introducción a la medicina interna*. Martín-Abreu, L. México: Editorial Mendez Cervantes, 1989: 18.48.
- 58.- Hug, G. y Shubert. Lysosomes in Type II Glycogenosis changes during administration of extract from *Aspergillus niger*. *J Cell Biol* 1967; 35: C1.



- 59.- Brady, R.O.; Pentchev, P.G.; AEGA, Hibbert, S.R. y Dekadan, A.S. Replacement therapy for inherited enzyme deficiency: use of purified glucocerebrosidase in Gaucher's disease. *N Engl J Med* 1974; 291: 989.
- 60.- Paradis, K.; Weber, A.; Seidman, E.G.; Laroche, J.; Garel, L.; Lenaerts, C. y Roy, C.C. Liver transplantation for hereditary tyrosinemia: The Quebec experience. *Am J Hum Genet* 1990; 47: 338.
- 61.- Velázquez, A. y Prieto, E. Glycine in acute management of isovaleric acidemia. *Lancet* 1980; 1: 313.
- 62.- Rosenberg, L.E. Inherited aminoacidopathies demonstrating vitamin dependency. *N Engl J Med* 1969; 281: 145.
- 63.- Hsia, D.Y.Y.; Lilljequist, A.Ch. y Rosenberg, L.E. Vitamin B12-dependent methylmalonic aciduria: Aminoacid toxicity, long chain ketonuria and protective effect of vitamin B12. *Pediatrics* 1970; 46: 497.
- 64.- Scriver, C.R. Vitamin B12 dependency and cobalt-dependent metabolism. *Pediatrics* 1970; 46: 493.
- 65.- Woo, S.L. Molecular basis and population genetics of phenylketonuria. *Biochemistry* 1989; 28: 1.
- 66.- Haan, E.A.; Danks, D.M.; Grimes, A. y Hoogenraad, N.J. Carrier detection in ornithine transcarbamylase deficiency. *J Pediatr* 1978; 93: 75.

- 67.- Besley, G.T.N. Phosphorylase B kinase deficiency in glycogenesis type VIII: Differentiation of different phenotypes and heterozygotes by erythrocyte enzyme assay *J Inher Metab Dis* 1987; 10: 115.
- 68.- Velázquez, A. y Soberon, G. Impacto de la biología molecular en la medicina. *La Rev Invest Clin* 1986; 38: 441.
- 69.- Seegmiller, J.E. Newer developments in tissue culture: further aid in the study of inborn errors of metabolism. En: *The cultured cell and inherited metabolic disease*. Harkness, R.A. y Cockburn, F. Londres: MTP Press Limited, 1977: 187.
- 70.- Boyer, S.; Zobot, M.T.; Mathieu, M.; Cotte, J.; Deguerry, C. y Genoud, J. A human cell strain bank: Interest for the prenatal diagnosis of metabolic diseases. *J Inher Metab Dis* 1981; 4: 155.
- 71.- Mendez, R.I.; Namihira, G.D.; Moreno, A.L. y Sosa de Martínez, C. *El protocolo de investigación. Lineamientos para su elaboración y análisis*. México: Ed. Trillas: 1984: 210.
- 72.- Wikinson, L. *SYSTAT: The system for statistics*. Evarston: Ed. SYSTAT Inc: 1984: 823.
- 73.- Yamame, T. *Estadística*. México: Ed. HARLA: 1979: 771.
- 74.- Siegel S. *Estadística no paramétrica*. México: Ed. Trillas: 1978: 346.

- 75.- Stockler, S.; Klopff, M.; Pokits, P.; Erwa, W.; Kurz, R. y Paschke, E. A simple concept for the screening of amino- and organic acidurias. *J Inher Metab Dis* 1988; 11: 332.
- 76.- Yadav, G.C. y Reavey, P.C. Aminoacidopathies: A review of 3 years experience of investigations in a Kuwait Hospital. *J Inher Metab Dis* 1988; 11: 277.
- 77.- Scriver, Ch. R.; Kaufman, S. y Woo, S. The hyperphenylalaninemias. En: *The metabolic basis of inherited disease*. Scriver, Ch.R.; Beaudet, A.L.; Sly, W.S. y Valle, D. Nueva York: McGraw Hill, 1989: 495.
- 78.- Brosilow, S.W. y Horwich A.L. Urea cycle enzymes. En: *The metabolic basis of inherited disease*. Scriver, Ch.R.; Beaudet, A.L.; Sly, W.S. y Valle, D. Nueva York: McGraw Hill, 1989: 629.
- 79.- Danner, D.J. y Elsas, L.J. Disorders of branched chain aminoacids and keto acid metabolism. En: *The metabolic basis of inherited disease*. Scriver, Ch.R.; Beaudet, A.L.; Sly, W.S. y Valle, D. Nueva York: McGraw Hill, 1989:
- 80.- Segal, S. and Thier, S.O. Cystinuria. En: *The metabolic basis of inherited disease*. Scriver, Ch.R.; Beaudet, A.L.; Sly, W.S. y Valle, D. Nueva York: McGraw Hill, 1989: 2479.

81.- Goldsmith, L.A. y Laberge C. Tyrosinemia and related disorders. En: *The metabolic basis of inherited disease*. Scriver, Ch.R.; Beaudet, A.L.; Sly, W.S. y Valle, D. Nueva York: McGraw Hill, 1989: 547.

82.- Rosenberg, L.E. y Fenton, W.A. Disorders of propionate and methylmalonate metabolism. En: *The metabolic basis of inherited disease*. Scriver, Ch.R.; Beaudet, A.L.; Sly, W.S. y Valle, D. Nueva York: McGraw Hill, 1989: 821.

83.- Robinson, B.H. Lactic acidemia. En: *The metabolic basis of inherited disease*. Scriver, Ch.R.; Beaudet, A.L.; Sly, W.S. y Valle, D. Nueva York: McGraw Hill, 1989: 869.

84.- Nyhan, W.L. Nonketotic hyperglycinemia. En: *The metabolic basis of inherited disease*. Scriver, Ch.R.; Beaudet, A.L.; Sly, W.S. y Valle, D. Nueva York: McGraw Hill, 1989: 425.

## A N E X O S

El anexo 1 es la forma de solicitud utilizada durante el período de revisión.

El anexo 2 describe las técnicas de las pruebas incluidas en el Tamiz Metabólico, es decir, a las pruebas químicas y a la cromatografía bidimensional de aminoácidos en orina.

El anexo 3 muestra la solicitud de estudios metabólicos propuesta en este trabajo.

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS  
 U.N.A.M.  
 UNIDAD DE GENÉTICA DE LA NUTRICIÓN,  
 SECCIÓN CLÍNICA DE METABOLISMO,  
 INSTITUTO NACIONAL DE PEDIATRÍA, S.S.A.

SERVICIO \_\_\_\_\_ CAMA \_\_\_\_\_ EDAD \_\_\_\_\_ FECHA \_\_\_\_\_  
 MUESTRA:  ORINA  PLASMA  SUERO  SANGRE EN PÁPEL FILTRO,  
 ORINA DE 24 HORAS  SANGRE HEPARINIZADA  
 ¿HAN SOLICITADO PREVIAMENTE ESTOS ESTUDIOS?  SI  NO

DATOS CLÍNICOS

- |                                                 |                                                |                                                |
|-------------------------------------------------|------------------------------------------------|------------------------------------------------|
| <input type="checkbox"/> Retraso psicomotor:    | <input type="checkbox"/> Manif. neurológicas:  | <input type="checkbox"/> Manif. oculares:      |
| <input type="checkbox"/> leve o modelado        | <input type="checkbox"/> convulsiones          | <input type="checkbox"/> mancha roja cereza    |
| <input type="checkbox"/> profundo               | <input type="checkbox"/> neuropatía            | <input type="checkbox"/> degeneración          |
| <input type="checkbox"/> Retraso de crecimiento | <input type="checkbox"/> ataxia                | <input type="checkbox"/> retineana             |
| <input type="checkbox"/> Vómitos recurrentes.   | <input type="checkbox"/> hipo/hipertonía       | <input type="checkbox"/> cataratas             |
| <input type="checkbox"/> Consanguinidad de      | <input type="checkbox"/> Manif. cutáneas:      | <input type="checkbox"/> dislocación de        |
| los padres.                                     | <input type="checkbox"/> angioqueratoma difuso | <input type="checkbox"/> cristalino            |
| <input type="checkbox"/> Antecedentes familia-  | <input type="checkbox"/> alopecia              | <input type="checkbox"/> opacidad corneal      |
| res (especifique)                               | <input type="checkbox"/> litiasis renal.       | <input type="checkbox"/> Facies tosca.         |
| <input type="checkbox"/> Colapso neonatal.      | <input type="checkbox"/> olor peculiar.        | <input type="checkbox"/> Sordeza.              |
| <input type="checkbox"/> Hepatomegalia.         | <input type="checkbox"/> Manif. óseas          | <input type="checkbox"/> Hipertrofia gingival. |
| <input type="checkbox"/> Esplenomegalia.        | (especifique)                                  |                                                |
| <input type="checkbox"/> Hepatopatía en menor   |                                                |                                                |
| de un año (especifique)                         |                                                |                                                |

Edad de inicio \_\_\_\_\_ La alteración es progresiva:  sí  no.  
 Otros datos clínicos y comentarios \_\_\_\_\_

Impresión diagnóstica \_\_\_\_\_

Tratamiento que está recibiendo \_\_\_\_\_

1. ERRORES INNALOS DEL METABOLISMO DE MOLECULAS PEQUEÑAS:

DETERMINACIONES EN ORINA:

- Tamiz metabólico.
- Activo brótico.
- Cromatografía de azúcares.
- Cromatografía de fenoles.
- Cromatografía de indoles.
- Activo homogénesico.
- Otras.
- Ácidos orgánicos en orina.

NOTA: Las muestras de orina y sangre para tamiz se obtendrán después de 24 horas después de la muestra.

○ DETERMINACIONES EN PLASMA:

- |                                           |                                        |                                    |
|-------------------------------------------|----------------------------------------|------------------------------------|
| <input type="checkbox"/> Amonio.          | <input type="checkbox"/> Lactato.      | <input type="checkbox"/> Piruvato. |
| <input type="checkbox"/> Triptófano.      | <input type="checkbox"/> Tirosina.     | <input type="checkbox"/> Glicina.  |
| <input type="checkbox"/> Hidroxibutirato. | <input type="checkbox"/> Acetoacetato. | <input type="checkbox"/> Otras.    |
- Determinación cuantitativa de aminoácidos en plasma.

○ DETERMINACIONES EN GOTA DE SANGRE EN PAPEL FILTRO:

- |                                                                  |                                        |
|------------------------------------------------------------------|----------------------------------------|
| <input type="checkbox"/> Cromatografía de aminoácidos en sangre. | <input type="checkbox"/> Fenilalanina. |
| <input type="checkbox"/> Prueba de Beutler (galactosemia).       | <input type="checkbox"/> Drotinidasa.  |
- Otras.

II. ERRORES INVÁLIDOS DEL METABOLISMO DE MACROMOLECULAS:

METABOLITOS EN ORINA DE 24 HORAS:

- Mucopolisacáridos totales.
- Determinación cualitativa y cuantitativa de mucopolisacáridos.
- Otros.

○ ENZIMAS LISOSOMALES EN SUERO:

- Hexosaminidasas A y B (Gangliosidosis GM<sub>2</sub>).
- Arilsulfatasa A (Leucodistrofia metacromática).
- Arilsulfatasa B (Mucopolisacaridosis VII).
- Fosfatasa ácida (Enfermedad de Gaucher).
- Alfa-galactosidasa (Enfermedad de Fabry).
- Beta-glucuronidasa (Mucopolipidosis II y III, Mucopolisacaridosis VIII).
- Alfa-manosidasa (Manosidosis).
- Idurónico sulfatasa (Mucopolisacaridosis II).
- Otras.

○ ENZIMAS LISOSOMALES EN CELULAS Y TEJIDOS:

- Glucosa-6-fosfatasa (Glucogenosis II).
- Maltasa ácida (Glucogenosis III).
- Beta-galactosidasa ácida (Gangliosidosis GM<sub>1</sub>).
- Beta-glucosidasa (Enfermedad de Gaucher).
- Fosfodiesterasa IV (Enfermedad de Niemann-Pick).
- Neuraminidasa (Mucopolisacaridosis I).
- Alfa-L-fucosidasa (Fucosidosis).
- Alfa-iduronidasa (Mucopolisacaridosis I).
- Otras.

## ANEXO 2

### TECNICAS INCLUIDAS EN EL TAMIZ METABOLICO.

#### PRUEBAS QUIMICAS

##### PRUEBA DE 2-4 DINITROFENILHIDRAZINA (DNPH) PARA ALFA-CETOACIDOS

Tubo 1: 1 ml de agua destilada (blanco).

Tubo 2: 1 ml de Á-cetoglutarico 100 mg% (estándar) .

Tubo 3: 1 ml de orina (problema) .

1.- Añadir a cada tubo 1ml de 2-4 dinitrofenilhidrazina (DNPH).

2.- Agitar .

Nota: Un precipitado amarillo indica resultado positivo .

#### REACTIVOS

1.- DNPH .

a) Acido clorhídrico 1 N :8.33 ml de HCl en 100 ml de agua destilada.

b) Se disuelve 0.7 gr. de 2-4 dinitrofenilhidrazina en 100 ml de HCl 1 N (41).



**PRUEBA DE 1-NITROSO-2 NAFTOL PARA TIROSINA .**

Tubo 1: Blanco.

Tubo 2: Estandar.

Tubo 3: Problema.

- 1.- Añadir a cada tubo 1 ml de ácido nítrico 2.63 N.
- 2.- Añadir a cada tubo 1 gota de nitrito de sodio.
- 3.- Añadir a cada tubo 0.1 ml de 1 nitroso 2 naftol.
- 4.- Agitar.
- 5.- Poner en el tubo 1 15 gotas de agua destilada.
- 6.- Poner en el tubo 2 15 gotas de tirosina.
- 7.- Tubo 3: 15 gotas de orina.
- 8.- Agitar.

Nota: Un color rojo naranja indica resultado positivo.

**REACTIVOS**

- 1.- Acido nítrico 2.63 N

10 ml de ácido nítrico en 50 ml de agua destilada.

- 2.- Nitrito de sodio al 2.5%

Se disuelve 2.5 gr. de nitrito de sodio en 100 ml de agua destilada.

- 3.- 1 nitroso 2 naftol al 0.1%.

100 mg. de 1 nitroso 2 naftol en 95 ml de etanol y llevarlo a 100 ml con agua destilada. Se guarda a 4 ° C.

- 4.- Solución estándar de tirosina .

150 mg de tirosina en 100 ml de agua destilada . Se guarda a 4 ° C (41).

#### PRUEBA DE NITROFERRICIANURO PARA CISTINA Y HOMICISTINA

Tubo 1: Blanco. 1 ml agua destilada.

Tubo 2: Estandar. 1 ml de cistina 100 mg l

Tubo 3: Problema. 1 ml de orina.

1.- Añadir a cada tubo una gota de hidróxido de amonio concentrado.

2.- Agregar 0.4 ml de cianuro de sodio a cada tubo.

3.- Agitar y dejar reposar de 3 a 5 min.

4.- Añadir a cada tubo 2 gotas de nitroprusiato de sodio (nitroferricianuro de sodio).

Nota: un color rojo granada indica resultado positivo.

#### REACTIVOS

1.- Cianuro de sodio al 5% en agua (peso/volumen).

Disolver 5 g de cianuro de sodio en una pequeña cantidad de agua, aforar con etanol al 95% hasta 100 ml.

2.- Nitroprusiato de sodio al 5% en agua.

Disolver 0.2 - 0.5 g de nitroprusiato de sodio en un pequeño volumen de agua y aforar a 10 ml con etanol al 95% (41).

**PRUEBA DE BENEDICT PARA SUSTANCIAS REDUCTORAS.**

Tubo 1: Blanco. 1 ml de agua destilada.

Tubo 2: Estandar. 1 ml de glucosa 100 mg %

Tubo 3: Problema. 1 ml de orina.

1.- Añadir 1 ml de reactivo de Benedict a cada tubo.

2.- Poner a ebullición en Baño María por 3 a 5 min.

Nota: un precipitado rojo ladrillo indica resultado positivo.

**REACTIVOS**

1.- Reactivo de Benedict.

a) Disolver 17.3 g de sulfato cúprico pentahidratado en 100 ml de agua caliente.

b) Disolver 173 g de citrato de sodio y 100 g de carbonato de sodio anhidro en 800 ml de agua. Calentar.

c) Mezclar las dos soluciones cuando esten frías y diluir con agua a un volumen final de 1000 ml (41).

manera:

- 1.- Poner resina en agua destilada agitar 10' decantar.
- 2.- Agitar la resina en NaOH 2 M 60' decantar.
- 3.- Lavar con agua destilada hasta pH 7.
- 4.- Agitar con HCl 2 M 10' decantar.
- 5.- Agregar HCl 2 M recién preparado y agitar 3 hrs. decantar.
- 6.- Lavar con agua destilada hasta que no se detecte cloruro, la prueba se hace con nitrato de plata (se pone un poco de nitrato de plata en agua destilada, se agita y se le pone unas gotas del agua en que se esta lavando la resina, si no se precipita esta lista para desalar).

Se utilizan columnas de vidrio de 0.9 x 30cm, cada una con un reservorio de 100 ml, son llenadas aprox. 8cm de altura con la resina pero antes se le pone una cama de fibra de vidrio en el fondo, la columna es después lavada con agua destilada, una vez empacadas las columnas con la resina se le pasa 50 ml de agua destilada. Para la orina se aplica una alícuota que contenga 2 mg de creatinina. Si el pH de la orina esta arriba de 6 se acidifica antes de la aplicación con unas cuantas gotas HCl 1 M. Después de lavar con 50 ml de agua destilada los aminoácidos, se eluyen con 15 ml de hidroxido de amonio 2 M, goteando aproximadamente 5-6 gotas por minuto, esto último se retiene en un vaso de precipitado.

Evaporar el hidroxido de amonio. Una vez seca la muestra se le agrega 0.5 ml de agua destilada y es cuando se aplica la muestra para los cromatogramas (43)

**CROMATOGRAFIA BIDIMENSIONAL DE AMINOACIDOS EN ORINA.**

- 1.- Determinación de creatinina en las muestras.
  - 2.- Desalado de muestras de orina.
  - 3.- Secado de las muestras.
  - 4.- Dilución en 1 ml de agua destilada de cada una de las muestras.
  - 5.- Aplicación de 10 microlitros de cada muestra.
  - 6.- Elución en el primer sistema :  
Piridina, Acetona, Hidroxido de sodio, Agua destilada.  
45:30:12.5:12.5 ml.
  - 7.- Secado de cromatofolios.
  - 8.- Elución en el segundo sistema:  
Isopropanol, Acido Fórmico, Agua destilada.  
80:10:10 ml.
  - 9.- Secado de cromatofolio.
  - 10.- Tinción de los cromatofolios en la solución:  
Ninhidrina, Isatina, 2-4 Lutidina, Acetona.  
0.25g:0.005g:1 ml:100 ml
- Desarrollo de color aprox.30' (43, 44)

