

76
24



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA



EXAMENES PROFESIONALES
FAC. DE QUIMICA

**“DIAGNOSTICO, TRATAMIENTO Y PREVENCION
DE LOS ERRORES CONGENITOS DEL METABOLISMO
DE AMINOACIDOS”**

**TRABAJO MONOGRAFICO DE ACTUALIZACION
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE :
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO
PRESENTA :
ANA LILIAN ROMERO NOCHEBUENA**

1988

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



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

	Página
I. INTRODUCCION	1
II. MARCO TEORICO	15
III. METABOLISMO DE AMINOACIDOS	27
IV. AMONOACIDOS AROMATICOS	38
4.1 Fenilalanina	39
4.2 Tirosina	49
4.3 Triptófano	74
V. AMINOACIDOS AZUFRADOS	83
5.1 Metionina	84
5.2 Cisteína	94
VI. AMINOACIDOS CON CADENA LATERAL ALIFATICA	104
6.1 Aminoácidos ramificados	105
6.2 Glicina	124
6.3 Alanina	128
VII. AMINOACIDOS CON CADENA LATERAL CARGADA	131
7.1 Histidina	132
7.2 Acido glutámico	136
7.3 Lisina	142
7.4 Arginina	147
VIII. IMINOACIDOS	151
8.1 Prolina	152
IX. CONSEJO GENETICO	157
X. DISCUSION Y CONCLUSIONES	161

XI. APENDICE	165
11.1 Métodos generales	166
11.2 Métodos confirmatorios	169
11.3 Métodos específicos	184
11.4 Diagnóstico prenatal	210
11.5 BIBLIOGRAFIA	215

CAPITULO I

INTRODUCCION

INTRODUCCION

La herencia está controlada por los cromosomas, ya que en ellos están contenidos los genes que son las estructuras portadoras de los caracteres hereditarios, éstos son transmitidos a la descendencia a partir de los progenitores, suministrando cada uno un gen para un carácter específico, es decir, hay un par de genes para cada carácter hereditario. Pueden existir diversidad de formas de un mismo gen que son llamadas alelos (1).

Las leyes que rigen la herencia fueron primeramente postuladas por Mendel hacia el año de 1865. Mendel trabajó con siete caracteres individuales de la planta del chícharo y de esta forma postuló sus dos leyes sobre la herencia.

La primera ley la encontró al observar cómo se transmitía un sólo carácter a la descendencia, realizó diversas cruzas de plantas de semillas redondas con plantas de semillas rugosas y observó que la primera generación (F1) tenía sólo semillas redondas, después hizo cruzas de miembros de F1 entre sí y vio que la segunda generación (F2) tenía tanto semillas redondas como semillas rugosas en una relación de 3:1, respectivamente. Lo mismo hizo con los otros seis caracteres y en todos los casos se presentaba un rasgo en la totalidad de F1 y en el 75% de F2 y un rasgo que aparentemente desaparecía en F1, pero reaparecía en F2 en un 25%. Así pues, llamó dominante al rasgo que aparecía en la totalidad de F1 y recesivo al que se presentaba en F2 en una proporción del 25%. De estos experimentos Mendel concluyó que la separación de los pares de genes para ser transmitidos a la descendencia se realiza en forma independiente (2) (figura 1).

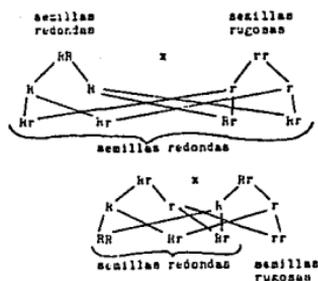


Figura 1. Representación esquemática de los experimentos que condujeron a la primera ley de Mendel. La "R" representa al carácter dominante redondo y la "r" representa al carácter recesivo rugoso. En F1 toda la descendencia fue redonda y en F2 75% fue de semillas redondas y 25% de semillas rugosas.

Posteriormente, Mendel observó la transmisión de dos caracteres simultáneamente: cruzó plantas de semillas redondas y amarillas con plantas de semillas rugosas y verdes, observó que en F1 sólo hubo semillas redondas amarillas. Al hacer cruces entre F1 obtuvo en la segunda generación cuatro tipos diferentes de semillas: redondas amarillas, redondas verdes, rugosas amarillas y rugosas verdes en proporción de 9:3:3:1, respectivamente. De aquí concluyó que los pares de alelos distintos se comportaban en forma independiente unos de otros, ya que si estuvieran ligados todas las semillas amarillas hubieran sido redondas y todas las semillas verdes hubieran sido rugosas; de esta forma llegó a la segunda ley (3) (figura 2).

RRYY redonda amarilla	x	rryy rugosa verde	→ RrYy	F1	redonda amarilla
RY		Ry	rY	ry	F2
RRYY	x	RRYY	rrYY	rrYY	4 redondas amarillas
RrYy	x	RRYY	rrYY	rrYY	2 redondas verdes
RrYy	x	RrYy	rrYY	rrYY	2 rugosas amarillas
RrYy	x	RrYy	rrYy	rrYy	1 rugosa verde

figura 2. Representación esquemática de la segunda ley de Mendel. Se observa la transmisión simultánea de color y forma. "Y" representa el color dominante amarillo y "y" representa el color recesivo verde. En F1 todas las semillas fueron redondas: en F2 se presentan semillas redondas amarillas, redondas verdes, rugosas amarillas, rugosas verdes en relación 9:3:3:1, respectivamente.

Morgan y sus colaboradores demostraron que la ley de la segregación independiente no es universal y que en algunos cruzamientos de dos o más pares de genes existen ciertas limitaciones a la libre segregación. Morgan trabajó con la mosca de la fruta, Drosophila melanogaster que tiene cuatro pares de cromosomas y observó que cuando dos o más genes coexisten en el mismo cromosoma se transmiten en forma ligada y no en forma independiente, (genes ligados). Estudios adicionales demostraron que el ligamento se puede romper por el fenómeno de recombinación genética, entre pares de cromosomas homólogos, que tiene lugar durante la meiosis. Los resultados obtenidos por Mendel se debieron a que los siete caracteres que observó se encontraban en cromosomas diferentes (4). Estos estudios han dado las bases para el conocimiento de la transmisión de la herencia en los seres humanos.

El número de cromosomas en el humano es de 46, agrupados en pares, de los cuales 22 pares son autosomas y un par es de cromosomas sexuales. Los cromosomas sexuales en la mujer son XX y en el varón son XY. Estos

cromosomas se transmiten mediante herencia mendeliana (figura 3).

Las células somáticas contienen 46 cromosomas y se denominan diploides, mientras que las células germinativas o gametos tienen sólo un representante de cada par, es decir, 23 cromosomas y se denominan haploides. Las células somáticas se reproducen por mitosis, en la que se mantiene el número cromosómico de 46. Los gametos se forman durante la meiosis, en la que el número diploide normal se reduce a la mitad, quedando células haploides. Al unirse un gameto femenino (óvulo) con un gameto masculino (espermatozoide), ambos haploides, dan origen a un cigoto o huevo diploide, que tiene la información genética heredada tanto del padre como de la madre (5).

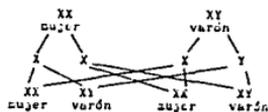


Figura 3. Transmisión del sexo. Existe 50% de probabilidad de tener un hijo varón y 50% de probabilidad de que sea mujer.

La información genética contenida en los cromosomas se encuentra codificada en la molécula de ácido desoxirribonucleico (ADN), el cual consta de dos cadenas de polinucleótidos plegadas sobre sí formando una hélice regular. Cada cadena contiene un gran número de nucleótidos y se mantienen unidas por puentes de hidrógeno entre bases nitrogenadas complementarias que pueden ser de dos tipos: a) púricas: adenina (A) y guanina (G) y b) pirimídicas: timina (T) y citocina (C). A se une a T mediante dos puentes de hidrógeno y T se une a G mediante tres puentes de hidrógeno.

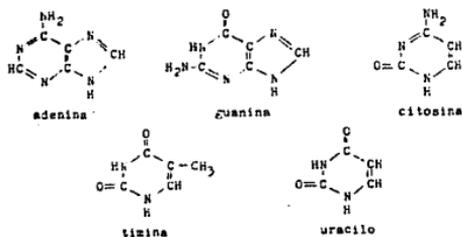


Figura 4. Estructura molecular de las bases nitrogenadas.

Existe otro ácido nucleico: el ácido ribonucleico (ARN) que consta de una sola cadena de polinucleótidos. En el ARN la T es reemplazada por otra base pirimídica: el uracilo (U).

La información genética contenida en el ADN es transcrita a las moléculas de ARN mensajero (ARNm), por medio de enzimas polimerasas. El ARNm que lleva la información en secuencias de tripletes de bases llamados codones, se dirige a los ribosomas, formados por una subunidad pequeña y otra grande que contienen moléculas de ARN ribosomal (ARNr) y gran cantidad de proteínas. En los ribosomas se lleva a cabo la síntesis proteica.

Las proteínas se sintetizan a partir de los distintos aminoácidos existentes en el citoplasma, donde también se encuentra el ARN de transferencia (ARNt), del cual existe al menos uno para cada aminoácido. Cada tipo de ARNt se caracteriza por tener una triada de bases nitrogenadas (anticodón), que corresponden a un aminoácido en particular.

Los aminoácidos son primeramente activados, ésto es, son esterificados a su correspondiente ARNt en presencia de ATP y Mg^{2+} por las enzimas aminoacil-ARNt-sintetasas, formándose el correspondiente aminoacil-

ARnt, AMP y PPI (figura 5).



Figura 5. Reacción de esterificación de aminoácidos.

El ARNm, que es portador del mensaje genético y el primer aminocil-ARnt se unen a la subunidad menor del ribosoma en un proceso que requiere proteínas específicas, (factores de iniciación) ATP y Mg²⁺. La subunidad ribosómica mayor se une entonces para formar un ribosoma funcional. La cadena polipeptídica se prolonga por adición secuencial de nuevos restos aminoacilo que son enzimáticamente transferidos desde los ésteres aminocil-ARnt, con un anticodón específico al ARNm complementario al codón que tiene el ARNm, para esto son necesarias proteínas o factores de elongación. Después de la formación de cada enlace peptídico, el ribosoma se desplaza a lo largo del ARNm en dirección 5'---->3' para situar al siguiente codón en posición y que entre un nuevo aminocil-ARnt, este proceso requiere energía proporcionada por la hidrólisis de ATP. Cuando el ribosoma se mueve al siguiente codón, el ARnt es expulsado y reemplazado por un nuevo resto aminocil-ARnt que corresponde al nuevo codón. El ARnt que fue expulsado puede ser esterificado con otro aminoácido (6) (figura 6).

La cadena polipeptídica se completa cuando se llega a un codón de terminación (tabla 1), liberándose el producto del ARnt y del ribosoma por la acción de factores de liberación. De esta manera los aminoácidos quedan alineados en el orden especificado por la distribución de triadas en el ARNm que a su vez fue determinado por la ordenación de bases en el

ADN. La tabla 1 muestra el código genético, con los aminoácidos especificados por cada codón (7).

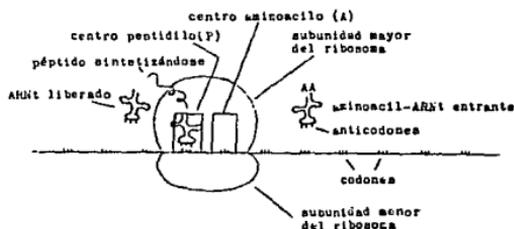


Figura 6. Síntesis proteica.

Tabla 1. El código genético.

		Segundo nucleótido					
		A o U	G o C	T o A	C o G		
A o U	AAA UUU	AGA UCU	ATA UAU	ACA UGU	A o U		
	AAG UUC	AGG UCC	ATG UAC	ACG UGC	G o C		
	AAT UUA	AGU UCA	AUA UAA	ACU UGA	T o A		
G o C	AAC UUG	AGC UCG	AUG UAG	ACC UGG	C o G		
	GAA GUU	GGA CCU	GTA CAU	GCA CGU	A o U		
	GAG GUC	GGG CCC	GUG CAC	GCG CGC	G o C		
T o A	GAT GUA	GGT CCA	GTT CAA	GCT CGG	T o A		
	GAC GUG	GGC CCG	GTC CAG	GCC CGC	C o G		
	TAA ADU	TGA ACU	TTA AAU	TCA AGU	A o U		
C o G	TAG AUC	TGG ACC	TTC AAC	TCC AGC	G o C		
	TAT AUA	TCT ACA	TTT AAA	TCT AGA	T o A		
	TAC AUC	TGC ACC	TTC AAG	TCC AGG	C o G		
C o G	CAA GUU	CGA CCU	CTA CAU	CCA CGU	A o U		
	CAG GUC	CGG CCC	CUG CAC	CCG CGC	G o C		
	CAT GUA	CGT CCA	CTT CAA	CCT CGG	T o A		
C o G	CAC GUG	CGC CCG	CTC CAG	CCC CGC	C o G		

Los genes, en los organismos eucariotes, no constituyen una secuencia continua de bases en el ADN, sino que consisten en regiones de secuencias codificadoras divididas en forma regular por espaciadores intercalados. Así, las secuencias codificadoras son llamadas "exones" y los espaciadores

intercalados se denominan "intrones". Con excepción de los genes de las histonas, los genes para proteínas están, por regla general, interrumpidos de esta manera. De este modo el primer ARNm es más largo que el ARNm maduro. Se estima que sólo el 10% del ARNm sale del núcleo como ARNm maduro funcional. El resto es degradado a mononucleótidos. Debido a la diversidad de copias de genes y a la presencia de los intrones, el ARNm nuclear es muy heterogéneo y se le denomina ARNm-hn (ARNm-heterogéneo-nuclear). La maduración del ARNm requiere de procesos de escisión-unión que eliminan los intrones y reúnen los segmentos codificadores o exones (8).

Existen situaciones en las que se producen cambios en la secuencia de bases del ADN, mutaciones, lo que altera la información genética de diversas maneras (9). Existen diferentes tipos de mutaciones, dentro de los que pueden mencionarse los siguientes:

- a) Mutaciones puntuales en las que cambia una sola base en algún lugar del genoma. Este tipo de mutaciones puede ser de varias clases: mutaciones silenciosas, son aquellas en las que ocurren cambios en el genoma y sin embargo, no se manifiesta físicamente (fenotípicamente). Mutaciones con sentido equivocado (miss-sense), en este caso un aminoácido es sustituido por otro en un sitio de una proteína particular. Mutaciones sin sentido (non-sense), en que se generan codones de terminación en cualquier momento de la síntesis proteica, lo que puede producir una proteína incompleta.
- b) Reversiones, suceden cuando una segunda mutación en el mismo sitio de la primera corrige el cambio producido.
- c) Supresiones, se producen cuando una segunda mutación en un lugar

distinto de la primera corrige los efectos fenotípicos de la primera mutación.

- d) Mutaciones por cambio de fase, en este caso se intercala en el genoma una o más moléculas, que ocasionan un defasamiento de la lectura del código.

Las mutaciones pueden ser espontáneas o inducidas artificialmente y son debidas a factores físicos, químicos o biológicos.

Dentro de los factores físicos destacan las radiaciones, especialmente las de menor longitud de onda, como las radiaciones ultravioleta que producen dímeros entre timinas adyacentes en la misma cadena del ADN.

Dentro de los agentes químicos que causan mutaciones se encuentra una amplia variedad de compuestos, de los que se pueden mencionar la hiroxilamina (NH_2OH), que hidroxila la C, ocasionando que se aparee con A y no con G. El ácido nitroso (HNO_2) causa desaminación oxidativa sobre A, C y G ocasionando que A se aparee con C, C con A y G con T. Los alquilantes como el metilsulfonato ($\text{CH}_3\text{SO}_3\text{CH}_2\text{CH}_3$), el dietilsulfonato ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{SO}_3\text{CH}_2\text{CH}_3$), etc. alquilan las bases nitrogenadas, ocasionando un desconocimiento de dicha base, que es eliminada enzimáticamente del ADN y en su lugar puede ser incorporada cualquier otra base. Los derivados de acridina se intercalan entre las bases, produciendo mutaciones por cambio de fase. Otros agentes químicos sacan bases del ADN, es decir, producen deleciones, éstas pérdidas ocasionan cambios en la lectura del código genético (10).

De los agentes biológicos destacan las mutaciones por virus y transposones que se insertan en el ADN produciendo alteraciones en el

genoma, dependiendo de la región donde se inserte.

Los trastornos debidos a mutaciones pueden ser de tipo monogénico, en el que se afecta un sólo gen o multifactoriales en que se ven afectados varios genes. En el presente trabajo se trataran trastornos monogénicos, que pueden transmitirse a la descendencia mediante herencia mendeliana. Estos trastornos pueden clasificarse en autosómicos dominantes, autosómicos recesivos y ligados al cromosoma X.

Los padecimientos autosómicos dominantes son aquéllos que se manifiestan clínicamente en el estado heterocigoto, ésto es, cuando se tiene un gen normal y el alelo correspondiente en el cromosoma homólogo es anormal (alelo mutante). El gen mutante se localiza en alguno de los 22 autosomas y tanto hombres como mujeres pueden estar afectados. Como los alelos se segregan independientemente durante la meiosis, existe 50% de riesgo de que el hijo de un heterocigoto herede el gen mutante o el gen normal.

Son características de los padecimientos autosómicos dominantes que cada individuo afectado tenga por lo menos un progenitor afectado, un individuo afectado puede tener hijos normales e hijos afectados en la misma proporción, los hijos normales de un individuo afectado sólo tendrán hijos normales (en caso de que el otro progenitor también sea normal), hombres y mujeres estarán afectados en igual proporción, se observa transmisión vertical del padecimiento a través de generaciones sucesivas, sobretodo cuando la mutación no altera la capacidad reproductora.

En toda enfermedad autosómica dominante una cierta proporción de personas afectadas deben su anormalidad a una mutación de "novo" o fresca

más que a una mutación heredada. La mayoría de estos padecimientos presentan variabilidad en la expresión clínica y fenómeno de penetrancia.

Puesto que los trastornos dominantes implican un tipo de producto génico que con una deficiencia del 50% es capaz de producir un síndrome clínico en los heterocigotos, es probable que las mutaciones comprendan anomalías en dos clases de proteínas: 1) aquellas que regulan vías metabólicas complejas, como receptores de membrana y enzimas cantidad limitante controladas por retroalimentación y 2) proteínas estructurales clave.

Los padecimientos autosómicos recesivos son aquellos que sólo son aparentes en el estado homocigoto, es decir, cuando ambos alelos en un locus genético son genes mutantes. El gen mutante se localiza en uno de los 22 autosomas y tanto hombres como mujeres pueden ser afectados.

La herencia autosómica recesiva tiene como características que cuanto más raro es el gen mutante mayor es la posibilidad de que individuos afectados sean producto de matrimonios consanguíneos, es decir, son heterocigotos. La posibilidad de tener hijos normales es del 25%, de tener hijos afectados del 25% y de tener hijos portadores del gen recesivo del 50%. Si un individuo afectado y un heterocigoto tienen descendencia, ésta simulará un padecimiento autosómico dominante, es decir, con posibilidades del 50% de tener hijos normales o afectados. Si tienen hijos dos individuos con el mismo padecimiento recesivo todos sus hijos resultarán afectados. El cuadro clínico de estos padecimientos tiende a ser más uniforme que en los dominantes.

En los trastornos autosómicos recesivos generalmente se ven afectadas proteínas con actividad enzimática y puesto que se requieren los dos

alelos afectados para que haya expresión clínica, los heterocigotos, que tienen un alelo normal y un alelo mutante, no muestran signos de la enfermedad, debido a que tienen 50% de la actividad enzimática normal.

En los padecimientos ligados al cromosoma X, el riesgo clínico y la gravedad difieren en ambos sexos. Puesto que la mujer presenta dos cromosomas X, puede ser homocigota o heterocigota para un gen mutante y el carácter puede mostrar una herencia dominante o recesiva. Los varones sólo poseen un sólo cromosoma X, por lo tanto, es de esperarse que manifiesten la enfermedad siempre que hereden el gen mutante, independientemente de que éste se comporte como un carácter dominante o recesivo en la mujer. No existe transmisión de hombre a hombre, puesto que todos los padres heredan su cromosoma Y a sus hijos varones. Por otra parte, un hombre heredará su único cromosoma X a sus hijas. Por lo tanto el patrón familiar de la herencia es muy variado. Así pues, si en la mujer tiene una expresión dominante, es decir, se necesita un solo cromosoma X alterado para que haya manifestaciones clínicas; las características de la transmisión serán: los hijos varones de madres afectadas y padres sanos tienen 50% de posibilidades de estar afectados al igual que las hijas. Los hijos de madres y padres afectados tienen 50% de posibilidades de estar afectados, en tanto que todas las hijas resultarán afectadas. Por lo general los varones están más severamente afectados e incluso la mutación puede ser letal.

Si se necesitan ambos cromosomas X en la mujer para que haya expresión clínica, el padecimiento es de carácter recesivo, las características serán: los hijos de madres afectadas y padres normales estarán todos afectados, en tanto que todas las hijas serán portadoras

heterocigotas, los hijos y las hijas de madres y padres afectados estarán todos afectados. Puesto que es suficiente un único alelo mutante para la expresión de los padecimientos ligados al X, la consanguinidad no aumenta la probabilidad de la expresión en los varones, a diferencia de las enfermedades autosómicas recesivas (11).

Con este trabajo se pretende proporcionar material accesible y actualizado acerca de los errores innatos del metabolismo de aminoácidos, que pueda servir tanto para aprendizaje como para consulta y profundización en el tema. Así como de facilitar algunas de las técnicas empleadas en el diagnóstico.

CAPITULO II

MARCO TEORICO

MARCO TEORICO

Los errores congénitos del metabolismo son enfermedades que se producen como consecuencia de una mutación que altera el código genético, lo que ocasiona la síntesis de una proteína anómala que puede no ser funcional o ver disminuída su función.

El concepto de error congénito del metabolismo fue dado por Garrod en 1906, al estudiar un reducido grupo de enfermedades -alcaptonuria, cistinuria, albinismo, pentosuria- intuyendo que se producían por alteraciones en su "metabolismo". Hay que resaltar el gran mérito de Garrod al hablar de "enfermedad del metabolismo" en una época en que todo lo conocido sobre genética eran las leyes de Mendel, la bioquímica no existía como tal y las técnicas analíticas en medicina eran de lo más rudimentario. Posteriormente a lo expuesto por Garrod, Johansen en 1911 introdujo el concepto de genotipo como base de la herencia y como sustrato a nivel celular del fenotipo del individuo. Aproximadamente en 1941 Beadle y Tatum establecen el concepto "un gen-un enzima" y exponen sus ideas sobre el control genético de todas las reacciones bioquímicas. El concepto de "un gen-un enzima" fue después ampliado a "un gen-una cadena polipeptídica". Otro concepto importante fue el de "enfermedad molecular" establecido en 1947 por Pauling, al estudiar la anemia de las células falciformes. El concepto de enfermedad molecular se ha extrapolado a todos los errores congénitos del metabolismo dado que todos se deben a la alteración de una molécula. Así en la actualidad el término de error congénito del metabolismo se emplea para toda enfermedad en que haya alteración de un gen. Cuando una mutación afecta a un gen estructural se sintetizará una proteína anómala, lo que afectará su función en mayor o

menor grado, dependiendo de la región donde se produce la mutación. Si la mutación afecta a genes reguladores la consecuencia será un defecto en la síntesis de una o varias enzimas, pudiendo ser una síntesis disminuida o bien una síntesis sin control (12).

Si la proteína alterada no tiene funciones enzimáticas, la enfermedad es producida por alteración de la función propia de la proteína. Dentro de esta denominación destacan cuatro grupos:

1. El grupo de las hemoglobinopatías. Las cuales se presentan como consecuencia de una mutación puntual en una de las cadenas de la molécula de hemoglobina, el nuevo aminoácido que ha entrado en la cadena puede tener una polaridad diferente y según la posición que tenga en el seno de la molécula va a producir cambios en el alosterismo, con lo cual se puede alterar su correcta función y aparecer una patología asociada.

Hasta la fecha se conocen con detalle poco más de 300 hemoglobinopatías, de las cuales 100 originan una patología evidente. En algunos casos la alteración de la molécula de hemoglobina podrá originar inestabilidad de la proteína o cambios en la forma de los eritrocitos lo que conducirá a una anemia hemolítica, en otros casos se podrá producir una situación de mayor afinidad por el oxígeno con la consiguiente menor oxigenación de los tejidos y la instauración de una policitemia compensadora o un estado oxidado de la molécula (metahemoglobina), lo que origina cuadros de cianosis crónica. Todas estas posibilidades condicionan que las patologías de las hemoglobinas sean muy variadas y difíciles de generalizar (13).

2. Talasemias, son un grupo de anemias microcíticas hipocrómicas hereditarias de diversa gravedad. Son el resultado de diferentes mutaciones que producen una alterada calidad o cantidad del ARNm que conduce a una deficiente síntesis de las cadenas polipeptídicas de la hemoglobina.

Existen dos grandes tipos de talasemias, ya sea que afecten a las cadenas α o β de la hemoglobina. Las β -talasemias son las más frecuentes en nuestro país (14).

3. Otro grupo es el formado por déficit de proteínas plasmáticas. Las patologías que más se presentan en estos casos son por deficiencia de inmunoglobulinas. Cuando se presenta este trastorno el individuo suele fallecer en los primeros años de vida por un problema infeccioso. Se han descrito también procesos patológicos asociados a déficit de proteínas plasmáticas diferentes al grupo de las inmunoglobulinas, uno de los más conocidos es el síndrome de Wilson. El cual se origina por déficit de ceruloplasmina la cual es una proteína que transporta cobre, éste al no ser fijado pasa con mayor facilidad a los tejidos donde alcanza niveles tóxicos. El déficit de proteína transportadora de Tirosina (TGB) puede originar un síndrome de hipotiroidismo congénito al no fijarse la tiroxina y ser fácilmente eliminada por vía renal. Finalmente, hay que citar el posible déficit de la fracción gamma del complemento, cuya patología estará asociada a los mecanismos inmunitarios y, por lo tanto, con los procesos infecciosos (15).

4. Otro grupo de gran interés bioquímico y genético lo constituye el formado por alteraciones genéticas que afectan los sistemas de

transporte a través de membranas. La mayoría de los nutrientes: carbohidratos, aminoácidos, componentes lípidos, son introducidos a la célula no por simple difusión, sino mediante un sistema bien integrado que tiene mecanismos específicos de transporte, en los cuales existe diferente grado de especificidad y donde son piezas fundamentales las proteínas transportadoras. En los mecanismos de transporte pueden existir dos grandes grupos, los que funcionan a través de gradiente y no precisan de aporte energético y los que pueden funcionar a contragradiente y requieren aporte energético acoplado al sistema, que en general se produce por hidrólisis enzimática de ATP.

Una mutación genética que condicione la alteración de una determinada proteína transportadora podrá alterar la actividad del sistema de transporte de determinados metabolitos a través de la membrana. Estas pueden afectar teóricamente a cualquier órgano o tejido, sin embargo por razones obvias de accesibilidad, donde primero se han detectado anomalías genéticas de este tipo es a nivel renal -eliminación anómala de metabolitos por la orina- o a nivel intestinal -déficit de absorción de determinados metabolitos- (16).

En la tabla 2 se listan algunas patologías asociadas al déficit de proteínas no enzimáticas.

Tabla 2. Patología asociada a proteínas no enzimáticas.

- Hemoglobinopatías
- Talasemias
- Déficit de proteínas plasmáticas
 - Inmunoglobulinas {
 - IgA
 - IGM
 - IgG
 - Combinación de varias
 - Otras proteínas plasmáticas {
 - Albumina
 - Ceruloplasmina
 - α_1 -antitripsina
 - Déficit de TGB
 - Déficit de complementos
- Proteínas transportadoras. Sistemas de transporte
 - Nivel renal {
 - Cistinuria
 - Iminoglicinuria
 - Hartnup
 - Glucosuria renal
 - Diabetes insípida nefrogénica
 - Trastornos asociados a Ca/P/ vitamina D
 - Nivel renal/intestinal {
 - Cistinuria
 - Enfermedad de Hartnup

Cuando la proteína alterada tiene funciones enzimáticas, su alteración podría bloquear un determinado paso de una vía metabólica, ocasionando la acumulación de metabolitos previos al bloqueo y defecto de síntesis de los metabolitos, pueden también ponerse de manifiesto metabolitos de vías alternativas previas al bloqueo, que en condiciones normales no se detectan, produciéndose enfermedades con diferentes manifestaciones clínicas. En este caso la enfermedad no es producida por la proteína en sí, sino por la toxicidad que en el metabolismo celular

pueden tener los metabolitos acumulados, así como las consecuencias nocivas que puede tener el defecto de la síntesis de los metabolitos previos al bloqueo, así mismo, pueden producirse dependencias vitamínicas.

Si los metabolitos acumulados son insolubles en medio acuoso, se acumularán en el interior de la célula debido a su escasa posibilidad de ser eliminados por la orina, originándose una patología por acumulación.

Los errores congénitos que producen una acumulación de sustancias insolubles originan siempre patologías más o menos graves; sin embargo, los bloqueos metabólicos en los que los metabolitos acumulados son hidrosolubles, es decir, eliminables por vía renal, no necesariamente producirán una patología evidente.

Se encuentran errores congénitos del metabolismo con patología evidente en prácticamente todas las vías metabólicas; así pueden observarse alteraciones en el metabolismo de carbohidratos, aminoácidos, bases púricas y pirimidínicas, porfirias, bilirrubinas, esteroides y ácidos grasos. En la tabla 3 se listan algunos de los padecimientos asociados a déficit de actividad enzimática (17).

Pudiendo estar afectada cualquiera de las vías metabólicas es natural que las posibles manifestaciones clínicas de los errores congénitos del metabolismo sean muy variadas. Pueden presentarse solas o combinadas afecciones sistémicas constituyendo enfermedades neonatales graves y cuadros de presentación periódicos. Son frecuentes 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 en la conducta. Puede haber manifestaciones oculares del tipo de la ceguera, cataratas, luxación del

cristalino, cristales en la córnea u opacidades corneales. Otras manifestaciones que pueden presentarse son miopías, deformaciones esqueléticas y articulares, anemia y sangrado, cardiomegalia, insuficiencia cardiaca, arteroesclerosis e infarto del miocardio; efisema pulmonar, litíasis, insuficiencia renal y tubulopatías; dolor abdominal, síntomas gastrointestinales, hepatopatía y viceromegalias. En algunos casos en piel y anexos existen trastornos como el albinismo, fotosensibilidad, úlceras, cáncer de la piel, alopecia, tricorrexis nodosa. Otros errores congénitos del metabolismo constituyen la base de la respuesta anormal a ciertos medicamentos (18).

Los errores congénitos del metabolismo se heredan en forma mendeliana, más del 95% de estos trastornos son heredados en forma autosómica recesiva.

Existen estudios de laboratorio para seleccionar pacientes que posiblemente tengan alguno de estos trastornos, tales estudios consisten en dos tipos de tamiz de selección; un tamiz metabólico de recién nacidos, que permite un diagnóstico temprano y la iniciación del tratamiento, así como la iniciación de estudios epidemiológicos. Y otro tipo de tamiz llamado de "alto riesgo" en el cual se selecciona al paciente en base a ciertas manifestaciones clínicas, las cuales se listan en la tabla 4 (19).

Posteriormente en los pacientes seleccionados se realizan pruebas bioquímicas a fin de tener un diagnóstico presuntivo del trastorno (ver apéndice). Finalmente los casos sospechosos se comprueban por medio de técnicas específicas.

Tabla 3. Algunas patologías asociadas a déficit de actividad enzimática.

-Metabolismo de aminoácidos	{ Fenilcetonuria Histidinemia Iminodipeptiduria
-Metabolismo de carbohidratos	{ Fructosuria Galactosemia Glucogenosis
-Metabolismo de ácidos grasos	{ Acidemia isovalérica Acidemia β -metilcrotónica Trastornos en el metabolismo de vitamina B12
-Metabolismo de esteroides	{ Hiperplasia adrenal congénita Deficiencia de sulfatasa Trastornos de hormonasíntesis tiroidea
-Metabolismo de bases púricas y pirimídicas	{ Síndrome de Lesch-Nyhan Déficit de adenosildeaminasa Xantinuria
-Metabolismo de porfirinas	{ Porfiria eritropoyética Coproporfiria hereditaria Porfiria variegata
-Metabolismo de bilirrubina	{ Síndrome de Crigler-Najjar Síndrome de Gilbert Síndrome de Rotor

Tabla 4. Criterios para la selección de pacientes en base a su fenotipo

Retraso psicomotor

Vómitos recurrentes

Colapso neonatal (Lactante menor de un mes con letargo, hipotonía, dificultades respiratorias y rechazo de los alimentos)

Convulsiones

Ataxia

Cataratas o luxación del cristalino

Daño hepático de etiología desconocida, iniciada en el primer año de vida

Olor peculiar

Litiasis renal

Raquitismo resistente a vitamina D

Posteriormente en los pacientes seleccionados se realizan pruebas bioquímicas a fin de tener un diagnóstico presuntivo del trastorno (ver apéndice). Finalmente los casos sospechosos se comprueban por medio de técnicas específicas (20).

Una vez establecido el diagnóstico se procede a dar el tratamiento adecuado por medio de técnicas específicas. Existen varias formas de tratamiento. Se tiene el tratamiento por eliminación del sustrato, ya que la deficiencia o falta de actividad de una enzima ocasiona la acumulación del sustrato en el organismo.

El tratamiento por suplementación del producto se prescribe a fin de compensar la formación deficitaria del producto metabólico de una vía bloqueada. En algunos casos el compuesto es fácilmente sintetizado por el organismo y por lo tanto la restricción dietética no es efectiva para disminuir su concentración, por lo que se recurre a otros enfoques, que no siempre son efectivos. A veces es posible emplear procedimientos para detoxificar y eliminar el compuesto nocivo.

En algunos casos es posible corregir el defecto enzimático al reactivar una enzima deficiente, administrando dosis suprafarmacológica de la vitamina que actúa como cofactor de la enzima defectuosa. En ciertos casos se ha empleado la terapia por reemplazo enzimático.

Para algunos trastornos existe la posibilidad del diagnóstico prenatal y la detección de portadores.

Debido a que los errores congénitos del metabolismo son consecuencia de mutaciones y dado que la forma de transmisión de estas enfermedades es hereditaria, la prevención está dirigida al asesoramiento genético (21).

La frecuencia de los errores congénitos del metabolismo individualmente no es muy alta, pero en conjunto constituyen un grupo importante de enfermedades infantiles. Además, hay que considerar que la frecuencia de estos padecimientos se eleva muchísimo si se consideran tanto los casos nacidos como los no llegados a término. Se desconoce su frecuencia en la población mexicana y en otras entidades similares aunque no es mayor que la observada en poblaciones de origen europeo. Se ha mostrado que muchos de estos trastornos metabólicos tienen una frecuencia de 1 en 100,000 nacimientos su frecuencia como grupo es de aproximadamente 1 en 1,000. Suponiendo una frecuencia similar en la

República Mexicana, cada año nacerán cerca de 2,500 niños afectados con una de estas enfermedades.

En el Distrito Federal los errores congénitos del metabolismo se diagnostican, estudian y tratan en la Unidad de Genética de la Nutrición del Instituto Nacional De Pediatría (INP), que trabaja en colaboración con el Instituto de Investigaciones Biomédicas de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), la cual cuenta con una área de investigación y una área clínica. Esta unidad se ha convertido en un centro de concentración para estos padecimientos, no sólo para el Distrito Federal, sino también para varias entidades del interior de la República.

En esta unidad, que empezó a funcionar en 1974, se han realizado varios programas de detección de estos trastornos, que han permitido detectar y tratar satisfactoriamente algunos padecimientos (22).

CAPITULO III

METABOLISMO DE

AMINOACIDOS

METABOLISMO DE AMINOACIDOS

Los aminoácidos son las unidades estructurales básicas de las proteínas. Tienen una agrupación tetrahédrica cuyo centro es un átomo de carbono unido a cuatro grupos diferentes, un grupo carboxílico, un grupo amino, un átomo de hidrógeno y un radical que difiere de uno a otro aminoácido. Este grupo confiere actividad óptica a los aminoácidos. Las dos formas especulares son los isómeros "D" y "L" (figura 7). Solamente los aminoácidos con configuración "L" son constituyentes de proteínas.

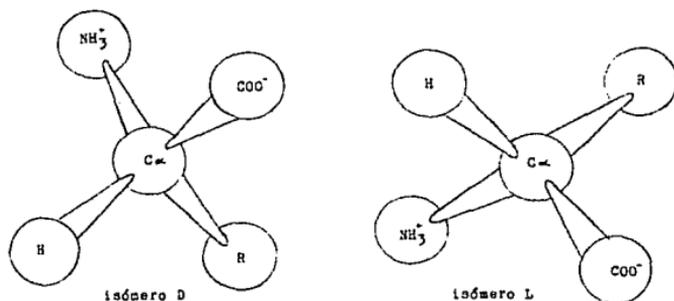


Figura 7. Configuración de los isómeros "D" y "L" de aminoácidos.

Existen 20 aminoácidos constituyentes de proteínas. La variedad de funciones en las que intervienen las proteínas es el resultado de su diversidad y gran número, debido a los distintos ordenamientos de los 20 aminoácidos, (tabla 5).

Algunos aminoácidos especiales se encuentran en proteínas. Estos están formados por modificaciones de algún aminoácido común después de que ha sido incorporado a la cadena polipeptídica, por ejemplo: el colágeno tiene hidroxiprolina, que es el derivado hidroxilado del aminoácido Pro.

Se han descrito otros aminoácidos distintos del grupo de los 20 básicos o sus derivados, pero no se han observado como constituyentes de proteínas.

Los enlaces peptídicos de las proteínas se forman con la unión del grupo carboxílico de un aminoácido con el grupo amino de otro.

De los 20 aminoácidos constituyentes de proteínas el hombre sólo puede sintetizar 10 los que no puede sintetizar se denominan esenciales y tienen que ser suministrados por la dieta. En la tabla 5 se muestran los aminoácidos esenciales y no esenciales.

Tabla 5. Conjunto básico de los 20 aminoácidos, en que se señalan los esenciales y los no esenciales.

No esencial		Esencial	
Alanina	(Ala)	Arginina	(Arg)
Asparagina	(Asn)	Histidina	(His)
Aspartato	(Asp)	Isoleucina	(Ile)
Cisteína	(Cis)	Leucina	(Leu)
Glutamato	(Glu)	Lisina	(Lis)
Glutamina	(Gln)	Metionina	(Met)
Glicina	(Gli)	Fenilalanina	(Fen)
Prolina	(Pro)	Treonina	(Trn)
Serina	(Ser)	Triptófano	(Trp)
Tirosina	(Tir)	Valina	(Val)

La cadena lateral confiere características propias a cada aminoácido. Así se tienen aminoácidos con cadena lateral alifática, dentro de los que se encuentran la Glí, la Val, la Leu y la Ile. Dos aminoácidos, la Ser y la Trn tienen una cadena lateral hidroxilica alifática. Existen tres aminoácidos aromáticos la Fen, la Tir y el Trp. Otros aminoácidos muestran cadena lateral cargada a pH fisiológico; la Lis, la Arg y la His tienen carga positiva, el Asp y el Glu tienen carga negativa. Los derivados no cargados de estos dos aminoácidos son la Asn y la Gln, que contienen un grupo terminal amino en vez de un grupo carboxílico. Los aminoácidos Met y Cís contienen un átomo de azufre en su cadena lateral. Finalmente se tiene la Pro, que propiamente no es un aminoácido sino un iminoácido, pues contiene un grupo amino secundario en vez de uno primario (23).

La biosíntesis de aminoácidos no esenciales es común para algunos aminoácidos y se producen por reacciones relativamente sencillas.

El Glu presente en cantidades apreciables en gran número de proteínas, es primordial en la biosíntesis de varios aminoácidos, En la mayoría de los aminoácidos no esenciales sus grupos α -amino derivan del Glu. Por otra parte el Glu es sintetizado a partir de α -cetoglutarato y NH_4^+ (figura 8).

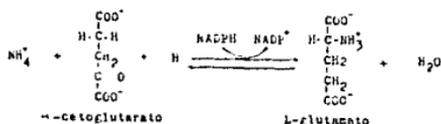


Figura 8. Síntesis del Glu a partir de α -cetoglutarato y NH_4^+ . La reacción es catalizada por la glutamato deshidrogenasa que puede utilizar NADPH o NADH como reductor.

La Ala y el Asp son sintetizados a partir de sus α -cetoácidos correspondientes en reacciones catalizadas por transaminasas, actuando el piridoxal fosfato como coenzima y en las que el Glu es donador del grupo α -amino (figura 9).

La Gln es sintetizada a partir de Glu y de NH_4^+ en una reacción catalizada por la glutamina sintetasa, con energía proporcionada por la hidrólisis de ATP.

La asparagina se sintetiza mediante una vía similar a partir de Asp (figura 10).

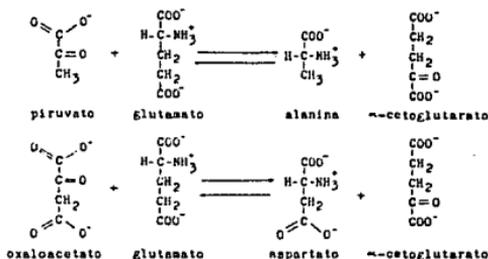


Figura 9. Síntesis de Ala y Asp a partir de Glu.

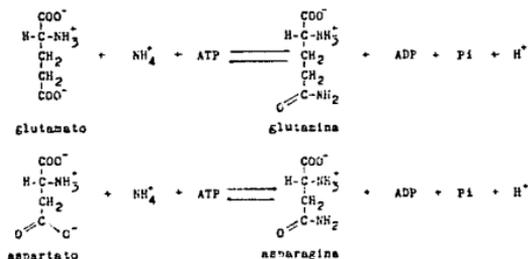


Figura 10. Síntesis de Gln y Asn a partir de Glu y Asp, respectivamente.

La Pro es sintetizada a partir de Glu mediante una reducción de su grupo carboxílico hasta un aldehído. La ciclización con pérdida de agua libera Δ^1 -pirrolina-carboxilato, que es reducida hasta Pro (figura 11).

La Ser se sintetiza a partir de 3-fosfoglicerato, que es un intermediario en la glucólisis. El primer paso es una oxidación hasta 3-fosfohidroxipiruvato, el cual es transaminado hasta 3-fosfoserina y ésta es hidrolizada para dar lugar a Ser (24) (figura 12).

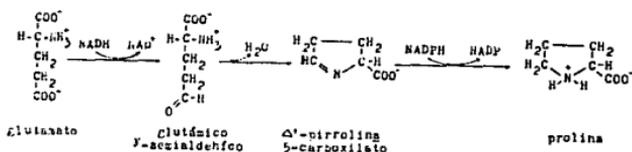


Figura 11. Síntesis de Pro.



Figura 12. Síntesis de Ser a partir de 3-fosfoglicerato.

Otra alternativa posible en la síntesis de Ser es que la oxidación y la transaminación del 3-fosfoglicerato sea precedida por la hidrólisis del grupo fosfato (figura 13).

La Gli deriva de la Ser mediante una reacción compleja que es catalizada por la serina transhidroximetilasa, con participación de dos coenzimas; piridoxalfosfato y tetrahidrofolato. El enlace entre el carbono α y β es labilizado siguiendo la forma de una base de Schiff entre la Ser y

el piridoxalfosfato. El átomo de carbono es transferido hasta el tetrahidrofolato, un transportador de unidades de átomo de un carbono (figura 14).

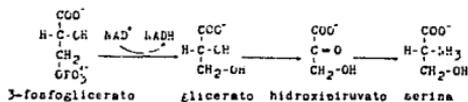


Figura 13. Síntesis alternativa de la Ser.



Figura 14. Síntesis de Gli a partir de Ser.

La homocisteína es un intermediario en la síntesis de la cistina, además de ser un precursor en el ciclo del metilo activado. La unión de la Ser y de la homocisteína da lugar a la cistationina. Esta reacción es catalizada por la cistationina sintetasa con piridoxalfosfato como coenzima. La cistationina es desaminada y dividida en Cis y α -cetobutirato por la cistationinasa, que es otra enzima que usa piridoxalafosfato como coenzima (figura 15).

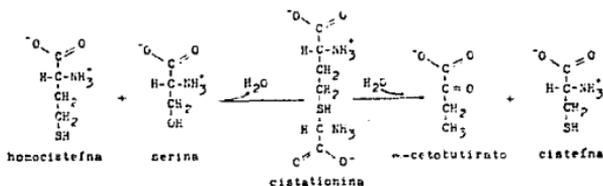


Figura 15. Síntesis de Cis a partir de Ser.

Finalmente la Tir proviene de la hidroxilación de Fen en una reacción catalizada por la fenilalanina hidroxilasa (25) (figura 16).

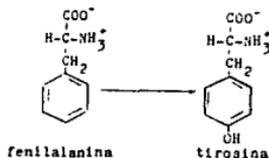


Figura 16. Síntesis de Tir a partir de Fen.

La biosíntesis de aminoácidos es regulada por retroinhibición o control "feedback", en la que la concentración del aminoácido es la señal que regula la síntesis del mismo. Esto es, una concentración alta de un aminoácido inhibe una o más enzimas que intervienen en su síntesis. Cuando la concentración disminuye se estimula la síntesis del aminoácido (26).

Los aminoácidos además de ser constituyentes de proteínas y péptidos, sirven como precursores de muchos tipos de moléculas con funciones biológicas importantes. Las purinas y pirimidinas son derivadas en parte de los aminoácidos. La esfingosina, un intermediario en la síntesis de esfingolípidos, procede de la Ser. La histamina, un potente vasodilatador, deriva de la His. La tiroxina es un precursor de las hormonas tiroxina y epinefrina, así como también de la melanina, que es un pigmento polimérico. La serotonina, un neurotransmisor y el anillo nicotinamida del NAD^+ son sintetizados a partir del triptófano. La Gln proporciona el grupo amida de la nicotinamida. Las porfirinas son sintetizadas a partir del succinil CoA.

El exceso de aminoácidos necesarios para la síntesis de proteínas y

otras biomoléculas, no puede ser almacenado en la célula, como sucede con los ácidos grasos y la glucosa, ni tampoco pueden ser excretados. Dicho excedente de aminoácidos es utilizado como combustible metabólico. La mayoría de los grupos amino de los aminoácidos sobrantes son convertidos en urea, mientras que sus esqueletos carbonados son transformados en acetylCoA, acetoacetylCoA, o uno de los intermediarios del ciclo de la ácido cítrico. Así pues, los ácidos grasos, cuerpos cetónicos y la glucosa pueden formarse a partir de dichos aminoácidos (27).

La degradación de aminoácidos la realizan los mamíferos principalmente en el hígado. El grupo α -amino de muchos aminoácidos es transferido al α -cetoglutarato, por medio de transaminasas, para formar Glu, el cual es desaminado oxidativamente liberando NH_4^+ , reacción catalizada por la glutamato deshidrogenasa en la que interviene NAD^+ o NADP^+ (figura 17).

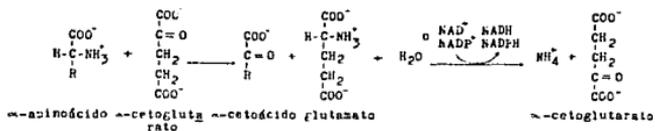


Figura 17. Transferencia del grupo α -amino a α -cetoglutarato.

La Ala, que también es abundante en los tejidos de los mamíferos, interviene en la transferencia de un grupo amino hasta el piruvato (figura 18).



Figura 18. Transferencia del grupo amino a piruvato.

La Ser y la Trn pueden ser desaminadas directamente por reacciones catalizadas por serina deshidrogenasa y treonina deshidrogenasa (figura 19).

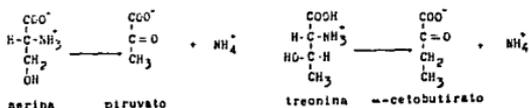


Figura 19. Desaminación de Ser y Trn.

El NH_4^+ que se produce en las reacciones de desaminación, es utilizado en la biosíntesis de compuestos nitrogenados, el excedente es transformado en urea y posteriormente excretado.

La urea es sintetizada mediante el ciclo de la urea (figura 20).

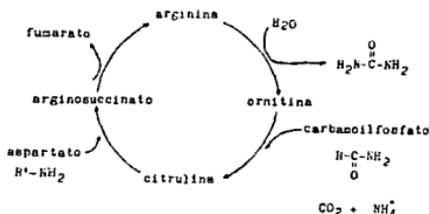


Figura 20. Ciclo de la urea.

Uno de los átomos de nitrógeno proviene del NH_4^+ , mientras que el otro proviene del Asp. El átomo de carbono proviene del CO_2 . La ornitina es el transportador de los átomos de carbono y nitrógeno en el ciclo de la urea (figura 21).

La síntesis de fumarato a partir del ciclo de la urea es importante, ya que liga el ciclo de la urea con el ciclo del ácido cítrico.

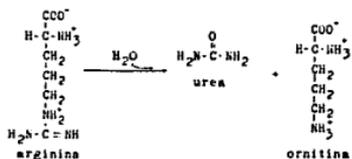


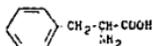
Figura 21. Síntesis de urea.

El fumarato es hidratado a malato, el cual es oxidado a oxalacetato. Este intermediario clave puede tener varios destinos: puede ser transaminado hasta Asp, puede convertirse en glucosa por vfa de la gluconeogénesis, o bien, puede unirse a acetilCoA para formar citrato, (28).

CAPITULO IV
AMINOACIDOS AROMATICOS

AMINOACIDOS AROMATICOS

Fenilalanina.



Trastornos en el metabolismo de fenilalanina.- Las enfermedades producidas por trastornos en el metabolismo de la fenilalanina son conocidas como hiperfenilalaninemias, ya que en todas se presentan niveles elevados de Fen en sangre, aunque debidos a diferentes causas. La fenilcetonuria clásica es, no sólo la hiperfenilalaninemia más común, sino también la aminoacidopatía más frecuente y la más estudiada.

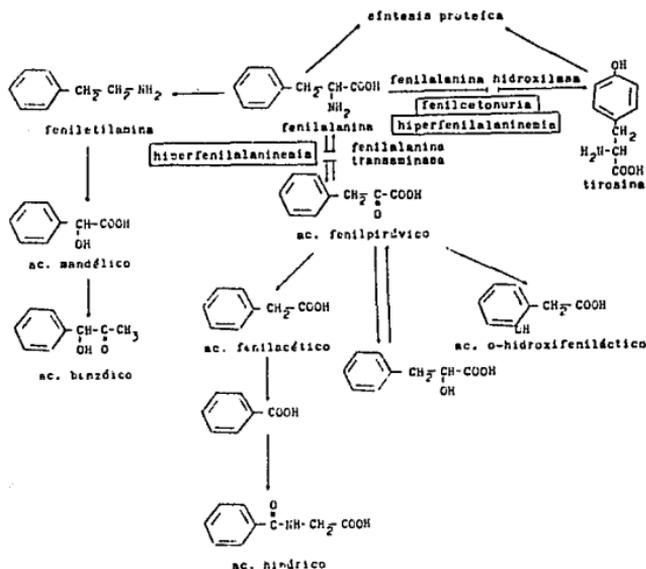


Figura 22. Vías en el metabolismo de Fen. Las anomalías congénitas se exponen en forma de barras que cruzan las flechas de reacción. El nombre del defecto o defectos asociados se incluyen en el recuadro más próximo.

Fenilcetonuria.- Este trastorno fue primeramente descrito por Folling hacía 1934 (29) al observar la excreción de grandes cantidades de ácido fenilpirúvico en 10 pacientes que mostraban deficiencia mental. Folling designó este trastorno como oligofrenia fenilpirúvica, nombre que ha caído en desuso. El término fenilcetonuria, empleado en la actualidad fue introducido por Penrose y Quastel, debido a la excreción aumentada del ácido fenilpirúvico y otras fenilcetonas, aunque el tratamiento puede detener temporalmente la eliminación de estos metabolitos (30).

En condiciones normales la Fen dietética que no se utiliza para la síntesis proteica es degradada por vía de la Tir, (figura 22). La conversión de Fen a Tir es mediada por la enzima fenilalanina hidroxilasa. En 1953 Jervis demostró que la fenilalanina hidroxilasa del hígado de los pacientes fenilcetonúricos era inactiva. En ausencia de actividad de la enzima, la concentración de Fen en sangre aumenta y para su degradación se activa la vía alternativa del ácido fenilpirúvico que normalmente tiene un flujo reducido. La Fen es transaminada a ácido fenilpirúvico por la enzima fenilalanina transaminasa y degradada a otros metabolitos que junto con el exceso de Fen son eliminados por la orina, (figura 22).

En los mamíferos la conversión de Fen a Tir es irreversible. Kaufman y Levenberg encontraron que la fenilalanina hidroxilasa puede ser fraccionada en dos componentes proteínicos diferentes en su estabilidad al calor (31). La enzima I, la fracción lábil al calor, que fue encontrada en hígado, riñones y páncreas pero no en cerebro, es deficiente en la fenilcetonuria, se ha encontrado que existe en forma de dos isoenzimas en el hígado fetal humano (32,33). La enzima II, estable al calor, dihidropteridina reductasa, está presente en cantidades normales. La

hidroxilación de Fen también requiere niacín-adenín-dinucleótido fosfato reducido, (NADPH), hierro reducido, oxígeno y una dihidrobiopterina. El cofactor es convertido a tetrahydropteridina en una reacción catalizada por la dihydropteridina reductasa. La tetrahydropteridina reducida participa directamente en la hidroxilación de Fen y la adición de pteridina reducida, oxígeno y Fen a la enzima ocurren secuencialmente, (34) (figura 23).

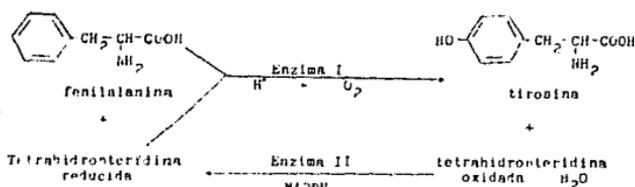


Figura 23. Mecanismo de hidroxilación de Fen. El factor termolábil, enzima I, es deficiente en la fenilcetonuria. La enzima II, tetrahydropteridina, convierte la tetrahydropteridina oxidada en su forma reducida.

Debido a la deficiencia parcial del cofactor y probablemente también a la fracción II, la actividad de la fenilalanina hidroxilasa en el hígado fetal es menor que en el adulto. La actividad de la enzima alcanza los niveles normales hasta el tercero o doceavo día después del nacimiento, pero hasta entonces los niveles de Fen en el suero son algo mayores que en los adultos o infantes de mayor edad. Este efecto es más pronunciado en los infantes prematuros.

Manifestaciones clínicas.- Los niños afectados por la fenilcetonuria parecen normales al nacer, aún durante el primer año de vida hay pocas evidencias del trastorno. Después del primer año, las características

clínicas empiezan a hacerse más evidentes. En la fenilcetonuria no tratada los niveles hemáticos de Fen se elevan rápidamente en el período neonatal pudiendo alcanzar niveles de 60 a 80 mg/dl, estas concentraciones anormales producen casi siempre lesiones del cerebro que se está desarrollando. No se conoce claramente el mecanismo por el cual se producen dichas lesiones, por razones también desconocidas algunos enfermos escapan al retraso mental (35).

El niño afectado puede presentar manifestaciones clínicas de detención del desarrollo del cerebro a los cuatro meses de edad y eventualmente, puede aparecer retraso mental moderado o grave con conducta esquizoide. Estos niños tienen bajo peso al nacer, existe un incremento de la frecuencia del vómito en la primera infancia y en algunos infantes se ha sugerido estenosis pilórica. Se han reportado alteraciones en la piel, dientes y huesos, microcefalia que está más marcada en los pacientes con bajo grado de desarrollo intelectual. Maxilares prominentes con una consecuente anchura de los espacios interdistingales. Presentan un olor característico atribuido a la presencia de ácido fenilacético, especialmente notorio en los pacientes con hiperhidrosis (36).

La deficiencia en la pigmentación de piel, cabello y ojos es una característica de los enfermos fenilcetonúricos, los pacientes presentan una complexión más clara que el resto de sus hermanos que no están afectados por el trastorno. Miyamoto y Fitzpatrick han sugerido que esta deficiencia en la pigmentación se debe a la inhibición de la tirosinasa, enzima que cataliza la oxidación de Tir a dihidroxifenilalanina (DOPA), por los niveles altos de Fen. La DOPA es un precursor de la melanina que pigmenta piel, ojos y cabello (37) (figura 24).

La mayoría de los enfermos presentan cambios neurológicos típicos que van paralelamente desarrollados con el grado de retraso mental, presentan un cociente intelectual menor de 50. Paine ha reportado ataques convulsivos en 26 % de sus pacientes y Jervis ha reportado 418 pacientes con este tipo de convulsiones (38). Los ataques generalmente comienzan entre los 6 y los 18 meses de edad y se detienen espontáneamente antes de la edad adulta. La mayoría de los pacientes tienen patrones electroencefalográficos anormales. Por lo general son pacientes temerosos, hipercinéticos e irritables, aunque algunos pueden mostrar un comportamiento apenado, tímido y ansioso. Los pacientes con alto grado de afectación muestran gran temor a la oscuridad.

La mayoría presenta hipertonicidad muscular, aunque en algunos casos se ha presentado hipotonía, otros muestran reflejos anormales de los tendones, movimientos anormales de cuerpo, también se han reportado temblores en las manos, que en ocasiones se pueden extender a otras partes del cuerpo (39).

Los niños nacidos de madres fenilcetonúricas pueden ser retrasados mentales, aún cuando sean solamente heterocigotos para ese carácter, debido al daño sufrido dentro del útero. La incidencia del retraso mental en la descendencia parece estar correlacionada con el grado de elevación de Fen y de eliminación de ácido fenilpirúvico en la madre. La incidencia de abortos espontáneos en estas madres es alta (35).

Herencia.- La fenilcetonuria se hereda en forma autosómica recesiva.

Diagnóstico.- Para realizar un diagnóstico presuntivo se pueden hacer pruebas de tamiz metabólico, en las que se incluye cromatografía en capa fina de sangre, a fin de medir la concentración de Fen o cromatografía de

orina para detectar ácido fenilpirúvico (40). La prueba de FeCl_3 puede emplearse también como método cualitativo para detectar ácido fenilpirúvico en orina, sin embargo, el límite de detección de este método es de 0.5 mg/ml y se han reportado casos de pacientes con fenilcetonúria que no fueron detectados con esta prueba, (41) por lo que es más confiable medir la concentración de Fen sanguínea mediante el ensayo de inhibición bacteriana de Guthrie (42).

Debe tomarse en cuenta que al momento del nacimiento los niveles de Fen en sangre son normales o ligeramente aumentados, la Fen no aparece en orina hasta que los niveles en plasma llegan a 30 mg/dl y el ácido fenilpirúvico aparece en orina cuando la concentración sanguínea de Fen es de 15 mg/dl, por lo que la toma de muestra para el diagnóstico no debe realizarse inmediatamente después del nacimiento. Además, se sugiere que los pacientes con resultados negativos sean reexaminados mediante pruebas en orina 4 a 6 semanas después del nacimiento (43).

El diagnóstico se confirma por medición química de Fen en sangre que puede realizarse por métodos espectrofluorométricos (44).

La fenilalanina hidroxilasa no se expresa en fibroblastos, por lo que el diagnóstico prenatal por análisis enzimático en fluido amniótico no es posible. Sin embargo, se puede realizar diagnóstico prenatal y detección de portadores por análisis del ADN, utilizando tecnología de ADN recombinante (45) (para información sobre los métodos de diagnóstico consultar apéndice o referencias).

Tratamiento.- El tratamiento de la fenilcetonuria se ha llevado a cabo por medio de una dieta regular baja en Fen (30 a 35 mg/Kg/día). Debido a que la Fen es un aminoácido esencial, no puede disminuirse más su

concentración en la dieta, pues se ha observado que esto produce serias complicaciones, tales como: crecimiento pobre, hepatoesplenomegalia, infecciones repetidas, hipoglicemia, erupciones cutáneas, diarrea, tetargia, anorexia y anemia (46).

Es importante iniciar el tratamiento lo más pronto posible, ya que una vez iniciado el daño cerebral, éste es irreversible. Para esto es necesario también establecer el diagnóstico lo más temprano posible (47).

Se cuenta en la actualidad con preparados comerciales de leche que contienen cantidades pequeñas de Fen, pero cantidades normales de los otros aminoácidos, con adición de carbohidratos y grasas, para el tratamiento durante el periodo neonatal y la primer infancia.

Existe controversia acerca de la edad de terminación del tratamiento, algunos han sugerido que sea a los 4 años, sin embargo, los pacientes así tratados han mostrado disminución intelectual, en otros pacientes se ha suprimido la terapia hasta los 6 u 8 años, pero no se tienen reportes del desarrollo posterior de estos pacientes (48).

Las mujeres fenilcetonúricas requieren un tratamiento durante el embarazo para mantener dentro de límites aceptables sus niveles de Fen, teniendo en cuenta que el aminoácido es necesario para el crecimiento y desarrollo del feto. Existen preparados comerciales para estos casos con la cantidad apropiada de Fen (49, 50).

Otras hiperfenilalaninemias.- Se han reportado otros tipos de hiperfenilalaninemias, en uno de ellos los infantes son asintomáticos al nacer y son detectados por tamiz metabólico para detección de fenilcetonuria. Los pacientes con frecuencia son manipulados como

fenilcetonúricos. Se sospecha que estos individuos no necesitan una dieta especial y que no hay riesgo de incremento de la deficiencia neurológica o retraso mental. Sin embargo, en algunos pacientes la Fen se encuentra elevada en suero en las primeras semanas de vida, cuando se desarrolla el cerebro, por lo que se presume tengan más riesgo de daño cerebral, en estos casos se puede recomendar una dieta baja en Fen.

No se ha reportado cual es el defecto metabólico en estos casos.

La forma de herencia es autosómica recesiva (51).

Otra variante de hiperfenilalaninemia es la debida a deficiencia de transaminasa, en este caso la anomalía de estos pacientes no puede ser detectada excepto por un tamiz metabólico para hiperfenilalaninemia. La maduración retardada de la hiperfenilalana transaminasa puede producir aumento de la Fen en sangre, pero estos niños no pueden producir ácido fenilpirúvico, debido al bloqueo metabólico, (figura 22), aún cuando sus niveles sanguíneos de Fen se aproximan a 30 mg/dl. Estos datos pueden servir para diferenciar de otras hiperfenilalaninemias. Los pacientes alcanzan niveles normales cuando no son expuestos a una dieta alta en proteínas.

El trastorno se hereda en forma autosómica recesiva (52).

Otra variante, debida a deficiencia de dihidropteridina reductasa, ha sido reconocida recientemente. Se apreció por dificultades en la alimentación a los pocos días del nacimiento, chock, ataques convulsivos progresivos en el periodo neonatal, retraso aparente del desarrollo a los 5 meses de edad y los síntomas no responden a restricción dietética de Fen. A los 18 meses de edad se ha perdido virtualmente todo movimiento y la conciencia. El electroencefalograma es toscamente anormal, el

crecimiento físico es normal a pesar de la deficiencia neurológica global (53).

Se han reportado pacientes con esta deficiencia en los cuales el curso de la enfermedad fue distinto. Kaufman demostró el defecto enzimático en hígado, cerebro y fibroblastos cultivados. Se administró ácido ascórbico en un intento por proveer una reducción enzimática de la dihidropteridina, sin beneficio aparente. Se ha observado que la tetrahydrobiopterina no entra fácilmente en el cerebro de la rata. Se presume que las deficiencias neurológicas son debidas a una deficiencia secundaria en la formación de neurotransmisores, tales como: dopamina, epinefrina, norepinefrina y serotonina. Kaufman y sus colaboradores han sugerido que los sustratos provistos que no requieren hidroxilación, tales como 5-hidroxitriptofano y DOPA, ofrecen un potencial de acceso más esperanzador. Este hecho está basado en que la dihidropteridina reductasa es requerida para la hidroxilación de Tir y Trp, (54,55) (figura 23).

Danks y sus colaboradores han reportado un paciente similar al que trataron con grandes dosis graduadas de tetrahydrobiopterina intravenosa. Observaron una caída en los niveles séricos de Fen, no hubo respuesta a la administración oral, que pudo ser el resultado de una falla en la absorción gastrointestinal o degradación del compuesto lábil. La administración intravenosa disminuyó los niveles de Fen en sangre, por lo tanto, la tetrahydrobiopterina puede funcionar como un cofactor "in vivo" (56).

La transmisión de esta variante se realiza en forma autosómica recesiva.

Se ha reportado otro tipo de hiperfenilalaninemia en el cual el

paciente tiene hiperfenilalaninemia y síntomas clínicos que no responden a la restricción dietética de Fen. Se pensó que el primer paciente tenía deficiencia de la dihidropteridina reductasa, siguiendo la demostración de Kaufman, pero secundariamente el paciente mostró actividad normal de la fenilalanina hidroxilasa hepática, la dihidropteridina reductasa, la fenilalanina hidroxilasa estimulada con proteína y la tetrahidrobiopterina (57).

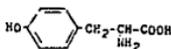
Siguiendo la sugerencia de Kaufman, Bartolomé y Byrd trataron este paciente, el cual tenía un bloqueo indefinido pero funcional de la dihidropteridina reductasa, con DOPA, L-5-dihidrotriptófano y carbidopa, durante 9 meses con este régimen el niño mejoró progresivamente.

Pocos casos de este tipo se han reportado, en uno de ellos los derivados de biopterina en suero y orina fueron anormales. La reducción de la cantidad de éstos derivados puede ser estimada por una reducción en 7,8-dihidrobiopterina comparada con la de individuos normales. Un modelo similar se encontró en el paciente de Kaufman.

La forma de herencia es autosómica recesiva (58).

En otras situaciones tales como aciduria metilmandélica, aciduria p-hidroxifenilacética, tirosinemia neonatal y tirosinemia hereditaria se observan niveles elevados de Fen en sangre (59).

Tirosina



Trastornos en el metabolismo de la tirosina.- Entre las enfermedades del metabolismo de Tir destacan las hipertirosinemias, la alcaptonuria, el albinismo y la hawkinsinuria. Dentro de las hipertirosinemias se han descrito varias subclasificaciones para los mismos trastornos, en el presente trabajo se clasificarán de la siguiente manera: Tirosinemia neonatal, tirosinosis Medes, hipertirosinemia persistente o síndrome de Richner-Hanhart, tirosinemia hereditaria o tirosinosis Sakai y tirosinemia asociada con enfermedad hepática.

Dentro del metabolismo de la Tir existe un estado caracterizado por la excreción urinaria de la Tir, ácido p-hidroxifenilpirúvico, ácido feniláctico y ácido fenilacético conocido como tirosiluria, que puede estar acompañado de diversas manifestaciones clínicas (60).

Tirosinemia neonatal.- Se ha estimado que el 30% de los infantes prematuros y un 10 % de los que llegan a término muestran niveles elevados de Tir en el suero, esto se cree que se debe a que las enzimas que catalizan los primeros pasos del metabolismo de la Tir, especialmente la p-hidroxifenilpiruvato oxidasa, que cataliza el paso del ácido p-hidroxifenilpirúvico a ácido homogentísico, (figura 24) no están adecuadamente desarrollados al nacer, (61, 62). Algunas veces puede corregirse el defecto con la administración de vitamina C, (63) ya que se ha observado en experimentos con animales, que esta vitamina protege la p-hidroxifenilpiruvato oxidasa y la previene de inhibición por el sustrato,

por ésto en algunos casos de escorbuto se ha observado tirosiluria. En la actualidad, este trastorno ha sido revisado por Scriber y Rosenberg, quienes han observado que la tirosinemia neonatal generalmente desaparece a las pocas semanas del nacimiento, aunque en algunos casos persiste durante varios meses.

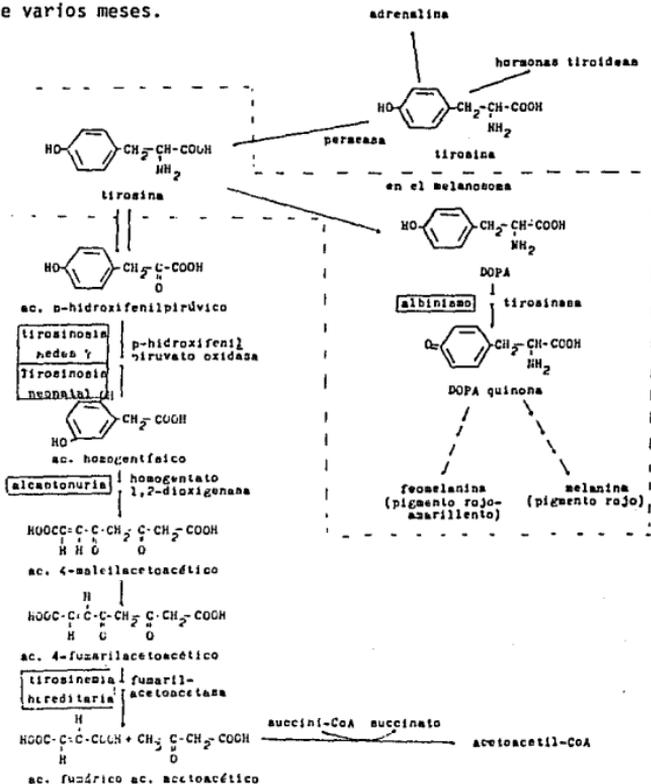


Figura 24. Vías en el metabolismo de la Tir, en las que se marcan los defectos enzimáticos por bloqueo de las flechas de reacción y junto se indica el nombre del defecto. En el caso de defectos no probados se adiciona un signo de interrogación.

Una reducción de la ingestión de proteínas de 2 a 3 g/Kg/día puede corregir esta condición, así como también una dosis extra de vitamina C, (64).

Mamunes ha reportado casos en los que la tirosinemia neonatal no es inocua, se le ha asociado con letargia (62) desarrollo motriz deficiente y daño en el desarrollo intelectual, se ha observado que los síntomas mejoran al corregirse la tirosinemia.

Los niños afectados por este trastorno muestran una elevación secundaria de Fen en el suero, la cual responde a una disminución de proteínas en la dieta (64).

Tirosinosis Medes.- En 1932 Grace Medes observó el único caso descrito de tirosinosis, el cual se excretan grandes cantidades de ácido p-hidroxifenilpirúvico en la orina y una pequeña cantidad de ácido p-hidroxifeniláctico, excepto al poner al paciente bajo una dieta rica en Tir, que aumentó la concentración urinaria de ácido p-hidroxifeniláctico. Medes propuso que el defecto enzimático se encontraba en los primeros pasos del catabolismo de la Tir y aunque no se demostró, se pensó que se trataba de una deficiencia en la actividad de la p-hidroxifenilpiruvato oxidasa hepática, puesto que se excretaban grandes cantidades de ácido p-hidroxifenilpirúvico y al administrar ácido homogentísico, aún en grandes cantidades, era totalmente metabolizado, así que se pensó que el defecto tendría que estar entre estos dos pasos (65) (figura 24). Meister propuso que el ácido fenilpirúvico, que es catalizado por la misma enzima, es reducido por la lactato deshidrogenasa del músculo.

Otros autores también han reportado defectos enzimáticos en los

primeros pasos del catabolismo de la Tir, sin embargo, no están de acuerdo con la localización del defecto propuesto por Medes.

No pudo evidenciarse ningún síntoma con relación al defecto metabólico.

Por ser éste el único caso reportado no se tienen datos acerca de la forma de herencia, diagnóstico o tratamiento (66).

Hipertirosinemia persistente o síndrome de Richner-Hanhart.- Es un padecimiento raro, pocas veces descrito en la literatura, se han reportado algunos pacientes que mantienen un tipo de tirosinemia sin enfermedad hepática o renal (67). Bajo un régimen dietético normal muchos de ellos tienen concentraciones de Tir en sangre de 20-50 mg/dl y presentan datos clínicos comunes, por eso se han clasificado en este grupo. Sin embargo, no se ha demostrado que todos tengan la misma anomalía bioquímica.

Se excretan por la orina grandes cantidades de Tir y p-hidroxifenilpiruvato (68).

Se ha reportado que esta enfermedad se produce por una deficiencia de tirosina aminotransferasa hepática, la excreción de p-hidroxifenilpiruvato, el producto de la enzima faltante, ha sido explicado por transaminación por la isoenzima mitocondrial, aspartato aminotransferasa, en tejido extrarrenal y extrahepático que no tienen actividad de p-hidroxifenilpiruvato oxidasa (69, 70).

Esta isoenzima mitocondrial que puede transaminar Tir sólo a altas concentraciones, puede ser separada a partir de tirosina aminotransferasa en virtud de su alto punto isoeléctrico (71). En algunos casos se ha medido la actividad de esta enzima en el citosol del hígado y se ha

reportado ausencia total (72). La tirosina aminotransferasa está presente en el hígado fetal humano desde el final del primer trimestre de vida. Sin embargo, la actividad es baja en el hígado fetal humano y en el hígado de infantes prematuros.

El grado de tirosinemia de estos pacientes es generalmente mayor que en los pacientes con tirosinosis hereditaria con enfermedad hepatorenal.

Manifestaciones clínicas.- Este síndrome está caracterizado por retraso mental, nistagmos, hiperqueratosis palmar y plantar, nubliamiento ocular, erosiones y ulceraciones dendríticas de la córnea. La gran concentración de Tir en suero ocasiona depósito de cristales de Tir en los ojos y en la córnea, esto y la posible activación lisosomal producen inflamación en la córnea y en la piel. Algunos pacientes presentan microcefalia, anomalías congénitas y trastornos neurológicos (73, 74).

Herencia.- Este síndrome se hereda en forma autosómica recesiva.

Diagnóstico.- Después de realizar el tamiz metabólico para aminoácidos, a fin de orientar el diagnóstico, pueden hacerse pruebas para detectar la concentración de Tir en sangre y orina y medir la concentración de ácido p-hidroxifenilpirúvico (75). Una persistente tirosinemia, aún en dietas bajas en Tir es característica de esta condición.

La medición de la actividad de la tirosina aminotransferasa hepática confirma el diagnóstico (76). (Para información sobre los métodos de diagnóstico consultar apéndice o referencias).

Tratamiento.- Una dieta pobre en Tir puede corregir la anomalía bioquímica y produce la curación de las lesiones oculares y cutáneas, (77).

Tirosinemia hereditaria o tirosinosis Sakai.- En 1956 Baber hizo la primer descripción de tirosinemia hereditaria al observar un paciente con cirrosis hepática congénita, defectos tubulares renales con aminoaciduria característica y raquitismo resistente a vitamina D (hipofosfatémico), (78). Sakai y colaboradores en 1959 reportaron otro paciente con síntomas clínicos similares y con producción de aciduria p-hidroxifeniláctica, al examinar el metabolismo de Tir encontraron hipertirosinemia, tirosiluria y baja actividad de la p-hidroxifenilpiruvato oxidasa hepática. Por lo que se pensó que el defecto se debía a inactivación de esta enzima, sin embargo se ha planteado que no es este el defecto primario de la enfermedad, puesto que en otros trastornos como en la tirosinemia neonatal en que la actividad de la enzima no ha madurado no se presenta daño hepatorenal, además se han reportado niveles bajos de otras enzimas del metabolismo de Tir y de otras vías catabólicas como la de la Met. Se han postulado varios bloqueos metabólicos, un reporte más reciente de Berger y colaboradores indica que el defecto se debe a deficiencia en la actividad de la fumarilato acetoacetasa, enzima que cataliza el paso de ácido fumarilacetoacético a ácido fumárico y ácido acético (79, 80) (figura 24).

Manifestaciones clínicas.- Los primeros síntomas son fallas en el desarrollo, vómitos, diarrea, distensión del abdomen, disnea, combinados con edema, ascitis, raquitismo y hepatoesplenomegalia, en algunos casos se ha presentado retraso mental moderado a grave, sin que sea un hallazgo típico de este desorden.

La enfermedad puede cursar en forma aguda crónica. En la forma aguda los síntomas aparecen en el primer mes de vida y resulta ser fulminante, hay falla hepatorenal, degeneración de grasa hepática, frecuentemente

asociada con fibrosis hepática extra o intralobular. Hay manifestaciones hemorrágicas graves como melena, hematesis, hematuria y equimosis, posteriormente siguen ascitis, ictericia, letargo, coma y muerte que generalmente sobreviene entre los 3 y 8 meses de vida. Si el paciente logra sobrevivir sufre una enfermedad hepato renal crónica, con un comienzo más tardío y un lapso de vida más largos con o sin exacerbaciones agudas; cursa con cirrosis nodular, síndrome de Fanconi e hiperglicemia, los hepatomas son comunes. La orina de estos pacientes presenta el olor característico de la Met (81, 82, 83).

Dentro de los hallazgos principales de laboratorio se tiene el raquitismo combinado con hipofosfatemia e hipofosfaturia debidas a la reducción de la reabsorción tubular del fósforo. Otros signos de disfunción renal son glucosuria, proteinuria e hiperaminoaciduria. Se han encontrado cristales de Tir en la médula ósea. Los valores de bilirrubina directa e indirecta están aumentados, los de fosfatasa alcalina y colesteroína total muy disminuidos. Son frecuentes la hipoproteinemia e hipoprotrombinemia, las transaminasas GTP y GOT están sólo ligeramente aumentadas. Son comunes grados variables de hipoglicemia y alteraciones raquíticas. En la fase crónica están usualmente presentes trombocitopenia y leucopenia. Desde el punto de vista anatomopatológico las principales alteraciones son la cirrosis hepática y la dilatación de los túbulos renales.

Gentz y sus colaboradores han reportado algunos pacientes con aumento de la excreción urinaria de ácido δ -aminolevulínico con porfobilinógeno y porfirias normales o ligeramente aumentadas, encontraron alta actividad de la δ -aminolevulinato sintetasa en el tejido del hepatoma, sugiriéndola

como una causa del incremento urinario del ácido δ -aminolevulínico. En otros casos se ha reportado tirosinemia con deficiencia de δ -aminolevulinato dehidratasa con síntomas similares a porfiria aguda intermitente. También se han observado metioninemia y fructosuria en algunos pacientes (84).

La excreción de ácidos p-hidroxifenólicos, especialmente el ácido p-hidroxifeniláctico están marcadamente aumentados.

En el estado agudo no sólo hay incremento de Tir y Met, sino también de hidroxiprolina, Pro, Ala, cistationina, Fen, etanolamina e His.

La aminociduria del estado agudo es similar a la del estado crónico, sólo que más pronunciada.

Herencia.- Se ha reportado que tanto la forma aguda como la forma crónica se heredan en forma autosómica recesiva.

Diagnóstico.- Después de realizar el tamiz metabólico para aminoácidos y encontrar aumento en la concentración de Tir pueden realizarse pruebas para poner de manifiesto tirosinemia, tirosiluria, aminoaciduria generalizada, glucosuria, proteinuria, hiperfosfaturia y para medir la concentración de ácido p-hidroxifenilacético en orina, que junto con la cirrosis hepática son característicos del estado crónico. En el estado agudo el diagnóstico es más difícil bioquímica y clínicamente. La fructosemia y deficiencia de fructosa 1.6-difosfatasa pueden parecer relacionadas con tirosinemia hereditaria e hipetirosinemia asociada con enfermedad hepática, por lo que es necesario diferenciar entre estas condiciones por pruebas de carga de fructosa, galactosa, ácido ascórbico y Fen (86).

Para establecer un diagnóstico definitivo puede medirse la actividad

de la fumarilacetoacetasa (86a). (para información sobre los métodos de diagnóstico consultar apéndice o referencias).

Tratamiento.- El tratamiento con restricción de Tir y Fen en la dieta ha contrarrestado la lesión tubular renal, resultando exitoso sobretodo en la enfermedad crónica con desaparición de la hipofosfatúria, hiperaminoaciduria, glucosuria y proteinuria. Con frecuencia es curado el raquitismo y el paciente empieza a crecer con mejoramiento general y desaparición de la acidosis y la ascitis. En los casos agudos no se ha observado buena respuesta a esta terapia (87, 88).

Tirosinemia asociada con enfermedad hepática.- En algunos casos de enfermedad hepática se ha encontrado reducción de la capacidad para metabolizar Tir y otros aminoácidos. Scriver y Rosenbegr han puntualizado que el escorbuto, hipertiroidismo, fibrosis quística y otros desórdenes metabólicos pueden reducir la tolerancia a Tir y producir hipertirosinemia o tirosiluria.

La inhibición de las enzimas del metabolismo de Tir, especialmente la p-hidroxifenilpiruvato oxigenasa, puede ser debida a causas indirectas. En la hipertirosinemia asociada con enfermedad hepática existen varios defectos específicos, se presenta fructosemia, galactosemia, cirrosis y hepatitis como principales fallas clínicas. Existe un incremento en la concentración sanguínea de Tir y Met, se excretan por la orina otros metabolitos de acuerdo a la condición y existe tirosiluria (89).

Alcaptonuria.- Este trastorno del metabolismo de la Tir se caracteriza por la acumulación en el cuerpo y la excreción en la orina de

grandes cantidades de ácido homogentísico y sus productos de oxidación, lo que produce oscurecimiento de la orina, por polimerización del ácido homogentísico.

Se tienen reportes en la literatura de los siglos XVI y XVII de personas que presentaban oscurecimiento de la orina, tales personas pudieron haber tenido alcaptonuria. En 1859 Boedecker y Veber hicieron el primer diagnóstico de alcaptonuria, al observar que las propiedades reductoras de la orina alcaptonúrica eran diferentes a las de la glucosa, dos años después, Boedecker dió el nombre de "alkapton" a la sustancia reductora, debido a la observación de que los alcalis aceleraban el oscurecimiento de la orina, de aquí se derivó el nombre de alcaptonuria. En 1891 Wolkow y Baumann identificaron la sustancia reductora como ácido homogentísico por su similitud con el ácido gentísico (ácido 2,5-dihidroxibenzóico). Posteriormente en 1905 Garrod designó este trastorno como un error congénito del metabolismo, que se debía a la ausencia de una enzima específica, esta suposición se confirmó en 1958 por ensayo bioquímico directo de preparaciones de hígado alcaptonúrico. Así en la actualidad se sabe que el trastorno se debe a la ausencia de la oxidasa del ácido homogentísico, que normalmente se encuentra en hígado y riñones y que cataliza la conversión del ácido homogentísico a ácido maleilacetacético, (figura 24). La enzima requiere además la presencia de oxígeno, hierro y grupos sulfhidrilo para abrir el anillo aromático del ácido homogentísico. La ausencia de la enzima ocasiona la acumulación y la excreción de ácido homogentísico en la orina, que después de cierto tiempo se torna oscura por la polimerización del ácido homogentísico al contacto con el oxígeno del aire (90).

Este trastorno es relativamente frecuente en la población de Eslovaquia, donde existe un alcaptonúrico por cada 25,000 habitantes, (91).

Manifestaciones clínicas.- La manifestación más característica es el oscurecimiento de la orina, aunque esto generalmente se presenta en la infancia, en algunos casos la orina oscura no se observa hasta el segundo o tercer decenio de vida.

El ácido homogentísico se acumula y polimeriza en los cartílagos y otros tejidos mesenquimatosos, ocasionando el oscurecimiento de estas áreas, tal condición es conocida como ocronosis alcaptonúrica, las partes más comunmente afectadas son: esclerótica, orejas, mejillas y nariz, esta pigmentación se pone de manifiesto hacia la mitad de la vida. El pigmento depositado es presumiblemente un polímero derivado del ácido homogentísico, aunque su estructura exacta no se ha determinado todavía. En piel y cartílago de mamíferos existe una enzima que cataliza la polimerización del ácido homogentísico a un pigmento parecido al ocronótico (92).

La degeneración del cartilago pigmentado conduce a la artritis en un 50% de los pacientes de edad avanzada, lo cual es una manifestación permanente en un estado de alcaptonuria prolongado. La artritis es más severa en hombres que en mujeres, aunque la incidencia de la alcaptonuria es aproximadamente igual en ambos sexos. Los rayos X revelan degeneración y densa calcificación de los discos lumbares, así como calcificación del cartilago de la oreja, también se ven afectadas las articulaciones de hombros y caderas. Las articulaciones largas muestran cambios degenerativos osteoartríticos como depósito de calcio, más comunmente en

los músculos de los tendones alrededor de las articulaciones. Las articulaciones menores muestran pocas o ninguna anomalía. Algunas revisiones indican alta incidencia de enfermedad cardiovascular en pacientes alcaptonúricos. Haiya y sus colaboradores reportaron un caso de dos generaciones sucesivas con tetralogía de Fallot asociada con alcaptonuria. También se ha reportado ruptura de los discos intervertebrales, prostatitis y cálculos renales (93).

Se han reportado casos de alcaptonuria intermitente con desaparición espontánea de las características del trastorno, sin embargo se duda que una enfermedad congénita como esta, pueda presentar un curso intermitente y se piensa que la excreción del ácido homogentísico fué debida a otras causas (90).

Herencia.- este trastorno se transmite mediante herencia autosómica recesiva.

Diagnóstico.- Existen varias pruebas de laboratorio para detectar ácido homogentísico en orina, aprovechando sus propiedades reductoras. La orina de pacientes alcaptonúricos da reacción positiva con los reactivos de Fehling y Benedict (94) también reduce una solución amoniacal de nitrato de plata en frío (95). La reducción de plata en papel fotográfico ha sido usada como una prueba cualitativa y cuantitativa (96). Estas pruebas proporcionan un diagnóstico presuntivo que junto con las manifestaciones clínicas pueden proporcionar el diagnóstico de la enfermedad, que puede confirmarse por cromatografía en papel directa de la orina o del producto obtenido por extracción de la orina acidificada con éter. La excreción de ácido homogentísico puede ser determinada colorimétricamente (97).

Los rayos X también pueden emplearse para observar la pigmentación y calcificación de los cartílagos (98) (para información sobre los métodos de diagnóstico consultar apéndice o referencias).

Tratamiento.- En la actualidad no se cuenta con un tratamiento efectivo que corrija el trastorno. El tratamiento se dirige a prevenir o a corregir la ocronosis y la artritis.

Se han reportado algunas medidas, tales como restricción de la ingestión de Fen y Tir, sin embargo, no se puede hacer una restricción prolongada de estos aminoácidos, ya que la Fen es un aminoácido esencial y la Tir proviene de éste. La administración de grandes cantidades de ácido ascórbico puede prevenir la deposición del pigmento ocronótico, sin embargo, no corrige el defecto metabólico.

Existen otras formas de tratamiento, tales como administración de levadura de cerveza, insulina, extractos adrenocorticales, vitamina B₁₂ fenilbutazona, pero en ningún caso se ha observado que sea una terapia efectiva.

Existe la posibilidad de sintetizar un compuesto químico que pueda reemplazar a la enzima deficiente, pero aun no está disponible (99).

Albinismo.- Existen varios tipos de albinismo, entre los que se encuentran; el albinismo oculocutáneo del cual se han descrito 10 variantes, albinismo ocular del que existen 4 variantes y albinoidismo que puede ser oculocutáneo u ocular y un tipo inmunodeficiente.

Albinismo oculocutáneo.- En todas las variantes existe ausencia o reducción congénita de la pigmentación de ojos, piel y cabello, acompañada

por hipoplasia de la fovea, nistagmos, fotofobia y disminución de la agudeza visual. Las 10 variantes descritas son: albinismo oculocutáneo tirosinasa negativo, albinismo oculocutáneo tirosinasa positivo, síndrome de Chediak-Higaski, síndrome "cross", albinismo oculocutáneo caf, albinismo oculocutáneo "rofuscus", albinismo oculocutáneo autosómico dominante, síndrome "bads" y albinismo mutante amarilla (99).

Albinismo oculocutáneo tirosinasa-negativo.- Es la forma clásica de albinismo descrita por Garrod en 1906, también conocido como albinismo diseminado, albinismo completo, albinismo y albinismo I. Los pacientes con este defecto no presentan pigmento en piel, ojos y cabello, los diferentes tipos raciales muestran características fenotípicas similares, todos tiene el cabello blanco, la piel rosa claro, el iris gris o azul, existe percepción de un reflejo rojo por una incompleta melanización del fondo de ojo, lo que da la apariencia de un ojo rosa. Son frecuentes errores de refracción, nistagmos severo y fotofobia. Aproximadamente un 90% presenta estrabismo de mayor o menor severidad. La exposición a la luz solar puede acentuar el nistagmos y el estrabismo y puede colorear las puntas del cabello de amarillo claro, lo cual se ha explicado por un cambio en la configuración de la queratina. Se detecta la acumulación de nevus por un manchado púrpura-rojizo en la piel. La agudeza visual generalmente es de 20/200 y puede empeorar con la edad. Los heterocigotos tienen menos de la mitad de la actividad de la tirosinasa. Existe una gran susceptibilidad a padecer neoplasias. En algunos casos se han reportado cataratas y fibrosis pulmonar difusa (100).

El defecto en la pigmentación se debe a una falla en la formación de la melanina por falta de actividad de la tirosinasa (figuras 24 y 25).

Este tipo de albinismo se puede presentar en todos los grupos raciales variando su incidencia. Se ha reportado una alta incidencia en Camerún y en Nigeria.

Los niveles séricos de Tir son normales, así como los de la hormona estimulante de β -melanocitos (101).

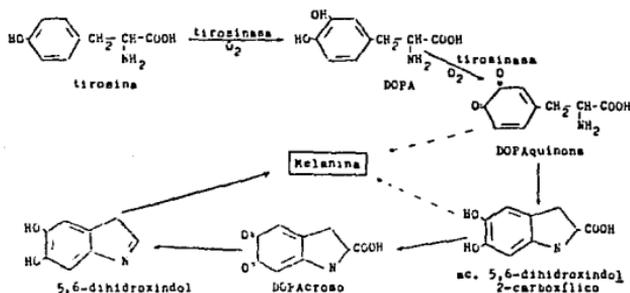


Figura 25. Síntesis de melanina.

Albinismo oculocutáneo tirosinasa-positivo.- Este trastorno también es conocido como albinismo incompleto, albinoidismo y albinismo II. Los pacientes con este trastorno generalmente presentan algo de pigmentación, clínicamente detectable, existe actividad de tirosinasa en todas las edades. El color del cabello puede ser blanco, amarillo o rojo y se va oscureciendo con la edad, el color de la piel se encuentra entre blanco, crema o rosa. Puede haber presencia de nevos pigmentados, presentan moderada susceptibilidad a padecer neoplasias. El color de los ojos puede ser azul, amarillo o café, dependiendo de la edad y grupo racial. El reflejo rojo puede estar presente en adultos de raza oscura. Existe

nistagmos y fotofobia moderados. La agudeza visual en los niños es severamente defectuosa, en los adultos puede ser menos grave. El nivel de T_{ir} en el suero es normal o un poco disminuído, el nivel de la hormona estimulante de los melanocitos es normal. Se ha reportado heterogeneidad en pacientes con este tipo de albinismo.

El defecto básico en este caso no se conoce (102).

Síndrome de Hermansky-Pudlak.- Este tipo de albinismo presenta un defecto en la segunda fase de agregación de las plaquetas, lo que trae como consecuencia sangrado prolongado, también se ha asociado con fibrosis pulmonar y en algunos casos desarrollo de colitis granulomatosa. También se le conoce como albinismo con diástésis hemorrágica. Hay acumulación de un material ceroide en el sistema reticuloendotelial, mucosa oral y orina. La expresión fenotípica de este desorden es variable de acuerdo a la edad y al grupo racial del paciente. El color del cabello varfa de blanco-rojizo a rojo o cafe, el color de la piel es blanco grisáceo o muy cercano a la pigmentación normal. Existen nevos pigmentados y hay cierta susceptibilidad a padecer neoplasias. El color de los ojos puede varfar de azul a cafe. No hay transiluminación del iris, aunque en algunos casos puede presentarse efecto "cartwheel". Puede presentarse un reflejo rojo en los caucásicos pero no en las razas oscuras, existe fotofobia y nistagmos moderados, la agudeza visual es normal o ligeramente disminuída. Hay presencia de cuerpos citoplasmático en monocitos. No se ha reportado la causa de este defecto (103).

Síndrome de Chediak-Higashi.- Este síndrome está caracterizado por un albinismo oculocutáneo parcial, frecuentes infecciones piogénicas y cantidad anormal de gránulos en leucocitos y otras células granuladas.

Los afectados por este síndrome muestran variación en el color del cabello de rubio a café con un matiz grisáceo. El color de la piel es rosado, hay presencia de nevos pigmentados. Existe moderada susceptibilidad a padecer neoplasias. El color de los ojos va de azul a café oscuro. Puede presentarse efecto "cartwheel", el reflejo rojo está presente en los infantes y disminuye después de los 5 años de edad. Pueden presentarse nistagmos y fotofobia de manera moderada. La agudeza visual es normal o ligeramente disminuida.

El trastorno puede presentar una fase acelerada en que se manifiestan fiebre, ictericia, hepatoesplenomegalia, pancitopenia, infiltrado diseminado de linfocitos. Las etapas clínicas de esta fase pueden presentarse al poco tiempo de nacer o pueden retrasarse por años, pero invariablemente conducen a la muerte.

La fisiopatología del proceso permanece desconocida (104, 105).

Mutante amarilla.- Este trastorno también es conocido como albinismo Amish. Los albinos de este tipo tienen el cabello amarillo-rojizo o amarillo-café y un ligero efecto de bronceado con la exposición a la luz solar. La expresión fenotípica varía de acuerdo al grupo étnico. Los caucásicos al nacer parecen no tener pigmento, se parecen a los albinos tirosinasa-negativos, el cabello es blanco, pero gradualmente se torna amarillo brillante entre las 6 semanas y los 6 meses de edad. Aproximadamente al mismo tiempo la piel cambia a un color crema oscuro, frecuentemente con numerosos nevos pigmentados y el cabello puede variar de amarillo a rojo-café. En la mitad de la infancia el iris está pigmentado y a los 3 años hay un efecto "catwheel" en la transiluminación. Siempre hay presencia de fotofobia y nistagmos, las fallas son menos

severas que las observadas en los tipo tirosinasa-positivo. En los albinos con mutante amarilla de grupo racial negro se puede detectar una cantidad ligera de pigmento retinal por examen fundoscópico, que puede estar ausente en los pacientes caucásicos. El reflejo macular está ausente o disminuido. Hay ausencia de actividad de la tirosinasa (106).

Síndrome "cross".- Los pacientes con este tipo de albinismo oculocutáneo muestran un color de cabello blanco o ligeramente rubio, el color de la piel va del rosa al rosa muy claro, se encuentran presentes nevos pigmentados, el color de los ojos es gris-azul, se han reportado cataratas, ceguera y oligofrenia, microftalmía, fibromatosis, atetosis, y fibromatosis ganglionar.

Se ha reportado actividad de la tirosinasa.

No se ha reportado el defecto metabólico (107).

Albinismo café.- Esta variante está caracterizada por un pigmento café claro en la piel, el cabello es café claro a beige, los iris varían de azul a café. El pigmento retinal está reducido, hay un pequeño cambio en el pigmento de piel y ojos con la edad. El pigmento generalizado en la piel mostró ser efectivo en la reducción a la sensibilidad de los rayos solares y muy pocos pacientes con albinismo café muestran queratosis maligna. Hay efecto "cartwheel". El reflejo rojo está presente en niños y puede estarlo en adultos, pueden encontrarse nistagmos y fotofobia, la agudeza visual es de 20/30 a 20/100.

Albinismo Rufous.- Este tipo de albinismo fue descrito por Pearson y sus colaboradores, fue estudiado con detalle en nativos de Nueva Guinea, Africa y en negros americanos. El color de los ojos es parecido al caoba rojizo y el color de la piel varía de un caoba-rojo profundo a un rojo

rufos. Las iris pueden ser rojizas a pardas con ligera translucencia. Cerca del 80% de los pacientes tienen nistagmos moderados. Se presenta una leve fotofobia, los rangos de agudeza visual se encuentran entre 20/20 a 20/100 (108).

Albinismo oculocutáneo autosómico dominante.- En esta forma de albinismo, descrita por Frenk y Calme, el color del cabello puede ser blanco o blanco con un ligero tamiz rojo, el color de la piel es blanco o crema con ligeros nevus pigmentados. El iris es gris a gris-azul, con marcada translucencia. Se presenta nistagmos y fotofobia con severidad semejante a la del tipo tirosinasa-positivo. La agudeza visual se encuentra en el rango de 20/70 a 20/200. Ultraestructuralmente, la piel y el cabello contienen numerosos melanocitos normales y no se observa anomalía estructural del melanosoma. Frenk y Calme sugirieron que la actividad de la tirosinasa estaba incrementada en algunas regiones del aparato de Golgi y en premelanosomas en estado I (110).

Síndrome Bards (albinismo oculocutáneo con sordera de tipo sensorineural).- Los pacientes con este tipo de albinismo muestran un color de cabello blanco con algunas áreas pigmentadas, el color de la piel es blanco con pequeñas máculas melanizadas. Se cree que puede haber gran susceptibilidad a padecer neoplasias en piel. El color de los ojos es gris-azul. Puede haber reflejo rojo presente en niños y adultos, hay nistagmos y fotofobia, el rango de agudeza visual se encuentra entre 20/300 a 20/400⁺. No hay melanocitos en cabello y piel.

Existe una profunda sordera de tipo sensorineural, probablemente debida a falla de elementos neuronales embrionarios que migran al tímpano del oído.

Herencia.- excepto el albinismo oculocutáneo autosómico dominante, todas las variantes se heredan en forma autosómica recesiva (111).

Albinismo ocular.- Los pacientes con alguna forma de albinismo ocular tienen iris hipopigmentadas, nistagmos, fotofobia y disminución de la agudeza visual. Las variantes que se pueden presentar son: síndrome de Nettleship, síndrome Forius-Ericksson, albinismo ocular autosómico recesivo y el síndrome de lentigos y sordera.

Albinismo ocular ligado al cromosoma X, (síndrome de Nettleship).- Los pacientes con este tipo de albinismo ocular tienen color de cabello normal o ligeramente claro, el color de la piel es normal, el iris presenta transluminación en los varones, en la mujer es diáfano, hay nistagmos y fotofobia, la agudeza visual es moderada o severamente reducida, entre un rango de 20/50 a 20/400. Los hombres se ven más severamente afectados, En mujeres portadoras hay mosaicismo en la retina debido a efecto de lionización del cromosoma X.

Herencia.- La forma de herencia de este síndrome es recesiva ligada al cromosoma X (99).

Síndrome de Forius-Ericksson.- En este caso el color de cabellos y piel son normales, se presentan nevos pigmentados, no hay susceptibilidad a padecer neoplasias. El reflejo rojo está presente en los pacientes masculinos. Hay presencia de nistagmos y fotofobia, la agudeza visual está ligeramente disminuída. Los varones presentan protatonfa, las mujeres no muestran mosaicismo retinal.

Herencia.- La forma de herencia es recesiva ligada al cromosoma X (112).

Albinismo ocular autosómico recesivo.- El color de piel y cabellos es normal. Hay presencia de nevos pigmentados. En el varón se presenta el reflejo rojo. Están presentes nistagmos y fotofobia. La agudeza visual puede ser severamente afectada en el rango de 20/60 a 20/400+ (113).

Síndrome de léntigos y sordera.- Las personas afectadas tienen disminución de la agudeza visual, fotofobia, nistagmos, iris traslucientes, estrabismo, errores refractivos hipermetrópicos y fondo de ojo albinótico con hipoplasia de la fovea. Además los pacientes tienen múltiples pecas cutáneas que histológicamente han mostrado contener macromelanosomas, los cuales están ausentes en la piel normal. Los pacientes tienen sordera congénita y anomalías del vestíbulo del oído.

Herencia.- La forma de herencia de esta variante es autosómica recesiva (99).

Albinooidismo.- Los pacientes con anomalías en la pigmentación, sin nistagmos o disminución de la agudeza visual son referidos como albinooides. Esta rara forma de hipopigmentación ocular y oculocutánea sólo ha sido descrita en algunas familias. Los pacientes tienen el cabello ligeramente blanco o teñido de rojo. La piel es rosa-blanca y desarrolla eritema con una corta exposición a la luz solar. Los iris son azules y traslucientes. Está presente un reflejo foveal.

En esta clasificación también se incluyen a las personas con albinismo parcial en las que hay ausencia cutánea localizada de melanina sobre algunas partes del cuerpo.

Herencia.- Esta condición se hereda mediante un rasgo autosómico dominante.

Albinismo oculocutáneo punteado.- Un sólo caso de este trastorno fue descrito por Bersma y Kaiser-Kupfer en el cual los pacientes fueron rubios y tuvieron un defecto moderado en la agudeza visual de 20/30, pupilas dilatadas y anisocoria, el umbral cono-central fue elevado. Los iris mostraron un tipo punteado de transiluminación y un patrón punteado similar de ventanas en el epitelio pigmentado de la retina, que fue encontrado con angiografía fluorescente.

Herencia.- La condición se hereda mediante un rasgo autosómico dominante (114).

Síndrome de Gricelly, (enfermedad de hipopigmentación e inmunodeficiencia).- Gricelly y sus colaboradores descubrieron la asociación de dilución pigmentaria con frecuentes infecciones piogénicas, hepatoesplenomegalia, neutropenia, trombocitopenia y evidencia de inmunodeficiencia. El paciente fue tratado como albino con síndrome de Chediak-Higashi por su historia de repetidas infecciones y cabello gris plateado. Este paciente tenía la piel pálida, algunas veces con un matiz grisáceo y cabello gris plateado. No presentaba fotofobia, nistagmos, ni algún tipo de albinismo ocular, por otra parte otro paciente mostró manchas despigmentadas en la retina. Los pacientes tienen un número adecuado de linfocitos T o B pero tienen hipogammaglobulinemia y deficiencia en la producción de anticuerpos, son incapaces de mostrar retraso de la hipersensibilidad de la piel o de rechazar injertos de piel. Los leucocitos no estimulan normalmente a los linfocitos y no pueden producir células citotóxicas durante la mezcla de reacción de leucocitos. Los linfocitos T no son capaces de producir un efecto cooperador en la

maduración de los linfocitos B. No hay anormalidades morfológicas de granulocitos de los cuales la actividad bactericida está sólo moderadamente reducida. Hay elevación de leucocitos polimorfonucleares con "capping" de receptores de concanavalina A. Brambilla y sus asociados reportaron una hemofagocitosis incrementada de macrófagos en médula ósea.

Herencia.- Esta condición se hereda mediante un rasgo autosómico recesivo (115).

Diagnóstico.- Se cuenta con la prueba de inhibición de los bulbos capilares, que sirve para hacer un diagnóstico diferencial entre los tipos tirosinasa-positivos y tirosinasa-negativos (116). La identificación del tipo variante se realiza por medio de los signos clínicos mostrados en piel, cabello y ojos.

Se cuenta con un método para la detección de heterocigotos del tipo tirosinasa-negativo (117).

Otras formas de diagnóstico diferencial consisten en estudiar radioautográficamente la tirosinasa en tejidos seguida de incubación con Tir marcada con ^{14}C . También se puede visualizar la formación directa de pigmento con los sustratos Tir o DOPA. Cualquiera de estas pruebas es ejecutada convenientemente usando el fólculo piloso que puede ser incubado directamente después del corte del cabello (118) (para información sobre los métodos de diagnóstico, consultar apéndice o referencias).

Tratamiento.- Es importante evitar la radiación solar y el uso de filtros solares en los casos con propensión a desallorar cáncer de piel. El uso de lentes teñidos puede ayudar en los casos de fotofobia. Se puede sugerir el uso de cosméticos cuando hay estrabismo aunque la visión no es

mejorada.

El tratamiento también se dirige a corregir las anomalías de cada caso. Así en los pacientes con síndrome de Hermansky-Pudlack se administran drogas para evitar la agregación de plaquetas. Condiciones como el síndrome de Gricelly no tienen tratamiento específico (99).

Hawkinsinuria.- Esta enfermedad representa una clase de desórdenes distintos, en los que el mecanismo de patogénesis parece deberse a la acumulación de un compuesto que produce la enfermedad por reacción con una variedad de constituyentes del organismo y que al mismo tiempo reacciona con glutatión conduciendo al aminoácido característico: ácido (2-L-citein-s-il-1,4-dihidroxilo-hex-5-en-1-il)acético, que es denominado hawkinsin, que se excreta por la orina junto con ácido 4-hidroxifenilpirúvico y ácido 4-hidroxifenilacético. Se han observado también grandes cantidades de ácido piroglutámico en orina. Se ha postulado que el defecto molecular se localiza en la hidroxifenilpiruvato dioxigenasa, aunque su actividad no se ha medido directamente (119) (figura 26).

Manifestaciones clínicas.- En el primer paciente se reporto tirosinemia transitoria prolongada, severa acidosis metabólica, prominente falla en el desarrollo, falta de peso, desarrollo de palidez y respiración acidótica y acelerada. La madre de este paciente y cuatro miembros más de la familia tuvieron el desorden pero fueron asintomáticos.

Un segundo paciente presentó síntomas similares al suspenderse la alimentación materna, además presentó vómitos, irritación, taquipnea y se notó un olor peculiar (120).

Herencia.- La forma de herencia es autosómica dominante.

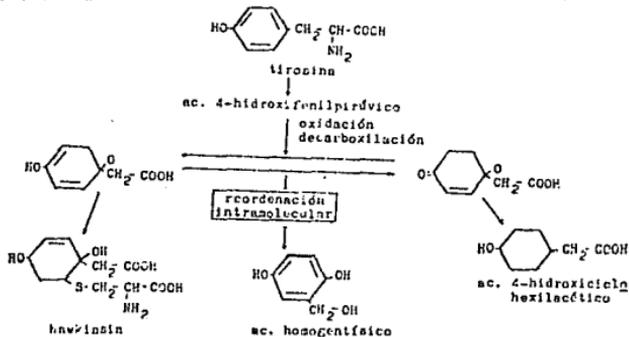


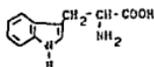
Figura 26. Formación de ácido homogentísico a partir de ácido 4-hidroxi-fenilpirúvico, sitio del bloqueo metabólico y mecanismos postulados para la formación de los metabolitos encontrados en este desorden.

Diagnóstico.- La excreción de hawkinsin en orina puede ponerse de manifiesto por electroforesis de alto voltaje o por cromatografía en capa fina o en papel (121). Se puede confirmar la presencia del compuesto usando cromatografía y espectrometría de masas del derivado trimetilsilil, (122) (consultar apéndice o referencias).

Tratamiento.- La historia de miembros asintomáticos en familias afectadas sugiere que una prolongada alimentación materna puede proteger a los pacientes. El ácido ascórbico, que es efectivo en remover las concentraciones de Tir, puede proteger a la enzima 4-hidroxi-fenil-piruvato dioxigenasa.

El segundo paciente descrito fue tratado con leche materna y 1000 mg/día de ácido ascórbico con lo que los síntomas fueron abatidos, el paciente mejoró en su desarrollo, el olor inusual desapareció y posteriormente pudo tolerar una alimentación normal (123).

Triptófano



Trastornos en el metabolismo del triptófano.- Se encuentran asociados a defectos en el metabolismo del Trp los siguientes trastornos: triptofanemia, quinureninuria, hidroxiquinureninuria, hidroxiquinureninuria dependiente de piridoxina, indicanuria, aciduria glutárica tipo I y enfermedad de Hartnup.

Triptofanemia.- Se ha reportado el caso de un niño oligofrénico con enanismo que presentaba un exantema pelagroide, con triptofanemia y triptofanuria sin aminoaciduria generalizada o indicanuria. Se piensa que el defecto metabólico se localiza en el paso de Trp a formilquinurenina, (figura 27).

Herencia.- La consanguinidad de los padres y la sospecha de un trastorno similar en dos primos indican herencia autosómica recesiva (124).

Quinureninuria.- Se ha reportado una anomalía en cuatro generaciones en una familia, consistente en un bloqueo parcial de la enzima quinurenina hidroxilasa, (Figura 27). Aún cuando uno de los pacientes tenía esclerodermia, los otros miembros de la familia estaban sanos. Cantidades anormales de quinurenina y otros metabolitos del Trp próximos a la hidroxiquinurenina se excretan por la orina antes y después de la administración de Trp. La piridoxina no modificaba los patrones de excreción de los metabolitos del Trp. Las características fenotípicas de la familia afectada sugirió una forma de herencia autosómica dominante. Se

puede detectar ácido quinurénico en orina mediante espectrofotometría, (125, 126). (para información sobre estos métodos, consultar apéndice).

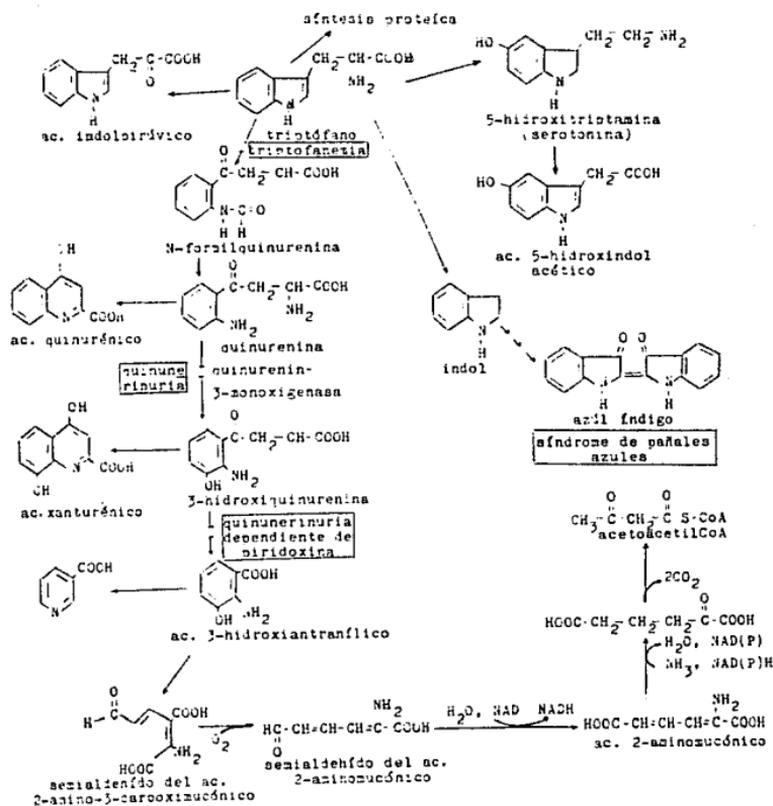


Figura 27. Vías del metabolismo del Trp, en donde se enmarcan los defectos metabólicos.

Herencia.- Las características fenotípicas de la familia afectada sugieren herencia autosómica dominante.

Hidroxiquinureninuria.- Se ha descrito un defecto en la ruta del Trp consistente en una falta de actividad de la enzima quinurerinasa. En este trastorno se excretan cantidades anormales de quinurenina, 3-hidroxiquinurenina y ácido xanturénico (figura 27). Si no se administra una dieta rica en ácido nicotínico se desarrollan signos parecidos a la pelagra. Uno de los enfermos padecía ligera oligofrenia y cefaleas migrañosas. El tratamiento con piridoxina no altera el cuadro de excreción de los metabolitos del Trp pero alivia las cefaleas (124).

Herencia.- Se ha sugerido herencia autosómica recesiva.

Hidroxiquinureninuria dependiente de piridoxina.- Los niños con dependencia de piridoxina son retrasados mentales. Después de una sobrecarga de Trp, excretan los mismos metabolitos del Trp, principalmente el ácido xanturénico, por lo cual también se le ha denominado aciduria xanturénica. El fosfato de piridoxal es la coenzima para muchas enzimas que intervienen en el metabolismo de los aminoácidos, incluyendo la quinurerinasa. Mientras que dosis bajas de vitamina B₆ corrigen las anomalías de los casos deficitarios, son necesarias dosis altas para tratar el estado de dependencia. En la dependencia a piridoxina se ha demostrado "in vitro" que existe un defecto en la enzima quinurerinasa que influye sobre la capacidad para unirse con la coenzima.

La excesiva eliminación de hidroxiquinurenina y ácido xanturénico, corregida por la piridoxina, se ha observado en cinco pacientes no

relacionados entre sí y diagnosticados de enfermedad granulomatosa crónica. Puede detectarse la excreción urinaria de ácido xanturénico e hidroquinurénico por espectrofotometría, (125, 126, 127) (para información sobre estos métodos consultar apéndice o referencias).

Indicanuria.- Este trastorno se produce cuando el Trp se absorbe deficientemente en el tubo digestivo y ahí es convertido bajo la acción bacteriana en indol. El indol es absorbido, oxidado, sulfatado y excretado, (figura 27). La indicanuria se observa cuando existe estasis intestinal, como en el estreñimiento o en el síndrome del "asa-ciega", aparece también en la enfermedad de Hartnup en la que el Trp se absorbe deficientemente, y en la fenilcetonuria. En el síndrome "de los pañales azules", también se presenta indicanuria, además de hipocalcemia, nefrocalcinosis y deriva su nombre del hecho que el indicán es oxidado a un compuesto azul cuando se expone al aire (128).

Aciduria glutárica tipo I.- El ácido glutárico es un intermediario de la degradación de Trp, Lis e hidroxilisina. La figura 28 muestra las vías metabólicas involucradas en la biosíntesis del ácido glutárico.

Se presenta una aciduria glutárica masiva. Las cantidades reportadas son 1.06-21.63 mg/mg de creatinina y 0.37-1.68 mg/mg de creatinina. El ácido glutárico presentó valores de 0.1-0.6 mg/dl y 0.8-3.8 m/l. El ácido glutárico normalmente no se detecta en suero ni en orina. Gregersen y colaboradores encontraron ácido 3-hidroxiglutarónico y ácido glutacónico en la orina de estos pacientes. La concentración de proteínas en líquido cefalorraquídeo fue de 66 mg/dl, hubo niveles elevados de deshidrogenasa

láctica y creatinina cinasa en suero.

Se ha reportado que el defecto molecular se debe a una deficiencia de glutaril CoA deshidrogenasa. En algunos pacientes la ausencia de actividad fue total, en otros con cierto grado de actividad parece haber menor afectación (129) (figura 28).

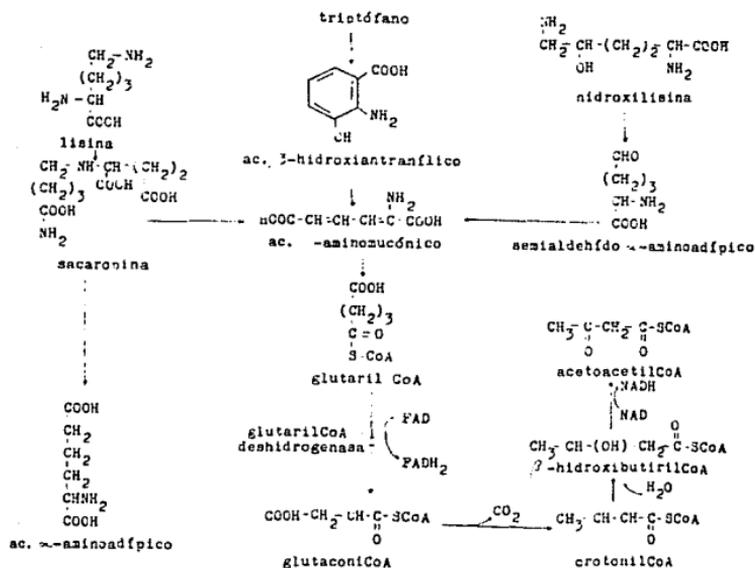


Figura 28. Vías metabólicas de la biosíntesis del ácido glutárico.

Manifestaciones clínicas.- Se reportaron dos hermanos, una niña, de dos años, con desarrollo normal hasta los tres meses, cuando apareció

irritabilidad y deterioro neurológico progresivo. Al año de edad presentó espasticidad, postura tensa en el cuello, puños apretados y no podía levantar o girar la mano al estar en postración. En su hermano el deterioro neurológico empezó a los siete meses. A los dos años los hallazgos físicos fueron iguales a los de su hermana. A los 7 años presentó gesticulaciones, opistotonos, distonía y atetosis. El rango de concentración de bicarbonato en suero fue de 62 mg/dl. El nivel sérico de creatinina cinasa fue normal (130).

Gregersen y sus colaboradores han reportado otros dos hermanos con aciduria glutárica tipo I que mostraron parálisis cerebral distónica, movimientos involuntarios coreiformes, el hermano mayor presentó ataxia y su electroencefalograma fue anormal, a los 8 años pudo caminar con apariencia mental normal e ir a la escuela. Su hermano a los 4 años no era capaz de sentarse. En ambos hermanos el pH y la concentración de bicarbonato en sangre fueron normales. Se han reportado otros pacientes con distonía y severo deterioro de la frecuencia motriz que los condujo a la invalidez.

El desorden es progresivo y conduce a la muerte. Los cambios histológicos del cerebro son similares a los observados en la corea de Huntington (131).

Goodman ha reportado pacientes con concentraciones de aminoácidos en plasma, orina y líquido cefalorraquídeo normales. Los pacientes de Gregersen mostraron una modesta elevación en la concentración plasmática de Lis y excreción urinaria de ácido α -aminoadípico, también mostraron un sustancial incremento en la excreción de ácido α -cetoglutarico (130).

Herencia.- Este trastorno muestra un tipo de herencia autosómico

recesivo.

Diagnóstico.- La detección de una aciduria glutárica masiva, con determinación principalmente de ácido glutárico, ácido glutacónico y ácido 3-hidroxi glutárico y deficiencia de glutaril CoA deshidrogenasa, establecen el diagnóstico, (132) (consultar apéndice o referencias).

Tratamiento.- Una dieta baja en Trp y Lis conduce a una disminución de un tercio en la excreción urinaria de ácido glutárico.

La restricción de proteínas en la dieta a 4.1-1.6 g/Kg de peso corporal y tratamiento con riboflavina, la coenzima de la glutaril CoA deshidrogenasa, conducen también a una reducción sustancial de la aciduria glutárica. Una moderada mejoría clínica fue reportada.

Tres pacientes fueron tratados con ácido 4-amino-3-(4-clorofenil) butírico (boresal), que es un análogo del ácido γ -aminobutírico (GABA), ya que sugirieron que la sintomatología mostraba un defecto en la función del ganglio basal, sitio de la mayor concentración de GABA y GABA sintetasa y puesto que el ácido glutárico inhibe la síntesis de GABA, propusieron al boresal para la terapéutica. El tratamiento con 2 mg/Kg de peso de la droga conduce a una considerable mejoría en los síntomas y a un incremento en la capacidad funcional de los pacientes. Ninguno de ellos fueron tratados tempranamente.

Los autores han recomendado el uso combinado de dietas bajas en proteínas y la administración de riboflavina y boresal para el tratamiento de este trastorno, sobretodo en los pacientes diagnosticados tempranamente (133).

Enfermedad de Hartnup.- Es un trastorno que involucra un defecto en el sistema de transporte a nivel de membrana, a través de la mucosa intestinal y de los túbulos renales de aminoácidos monoaminocarboxílicos que comparten un sistema común de transporte en los que se incluye al Trp. Existe una aminoaciduria masiva más significativa que la cantidad total de aminoácidos excretados. Los aminoácidos libres que se excretan 5 a 20 veces arriba de lo normal son Ala, Ser, Trn, Asn, Gln, Val, Leu, Ile, Fen, Tir, His, Gli y Trp. La aminoaciduria es de origen renal, debida a un defecto en la reabsorción tubular, siendo éste el signo más característico de los pacientes con enfermedad de Hartnup. Aunque también se excretan cantidades elevadas de aminoácidos en las heces, por defectos en el transporte de la mucosa intestinal, por lo cual los niveles de aminoácidos en plasma son excepcionalmente bajos (134).

Las bacterias descomponen el Trp que no se absorbe, produciendo derivados indólicos e indoxílicos que se absorben, neutralizan y excretan por la orina en cantidades anormalmente grandes (135).

En la mayoría de los pacientes se observa precozmente fotosensibilidad cutánea. Las zonas de la piel que normalmente están descubiertas se vuelven ásperas y rojas tras una moderada exposición al sol. Aparecen también signos de pelagra, puede presentarse en ataxia cerebelosa con signos de afectación de los haces piramidales. Durante un proceso febril puede desarrollarse ataxia sin exantema. El curso clínico es variable, pueden alternarse graves trastornos cutáneos y nerviosos con periodos de remisión completa durante muchos años. La familia original Hartnup presentó oligofrenia, sin embargo, en los demás casos reportados no se ha observado (136).

Herencia.- La enfermedad es transmitida en forma autosómica recesiva.

Diagnóstico.- La única falla constante en este trastorno es la excreción de aminoácidos libres y en esto puede basarse el diagnóstico, obteniéndose un patrón de excreción característico, empleando sistemas simples de cromatografía bidimensional en papel o en capa fina (137).

La excreción indólica no es constante, por lo cual no puede ser una prueba de base para el diagnóstico, pero puede ser útil una prueba de carga de L-triptófano (70 mg/Kg de peso), acompañada por una cromatografía de muestras seriadas (138), posteriormente debe confirmarse midiendo la excreción de aminoácidos (139).

La excreción fecal de aminoácidos se estudia por electroforesis/cromatografía bidimensional en papel de extractos fecales apropiados (140).

Debe realizarse diagnóstico diferencial con la pelagra (140a), (consultar apéndice o referencias).

Tratamiento.- Debido a que la absorción intestinal de Trp y la excreción urinaria están alteradas, la síntesis de ácido nicotínico se ve disminuída, por lo que se suministran grandes dosis de nicotinamida (40 a 200 mg/día), lo que ha permitido remisión prolongada de las manifestaciones neurológicas y cutáneas. No obstante, remisiones similares pueden ocurrir sin ningún tratamiento. En vista de la elevada pérdida urinaria de aminoácidos, una dieta rica en proteínas, pero libre de Trp resulta benéfica. Los inhibidores de monoaminooxidasa están contraindicados (141).

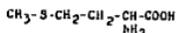
El pronóstico de la enfermedad es bueno, ya que la mejoría puede venir con la edad (142).

CAPITULO V

AMINOACIDOS AZUFRADOS

AMINOACIDOS AZUFRADOS

Metionina



Trastornos en el metabolismo de metionina.- Dentro de los desórdenes del metabolismo de Met se han descrito: las homocistinurias, que incluyen deficiencia de cistationina sintetasa, deficiencia de la síntesis de cobalamina y deficiencia de N⁵⁻¹⁰-metilén tetrahidrofolato reductasa. Y las hipermetioninemias que involucran deficiencia de metionina adenosil-transferasa y deficiencia de cistationina β -sintetasa.

Homocistinurias.- Son tres trastornos bioquímica y clínicamente diferentes. Cada uno se caracteriza por aumento en sangre y en orina de homocisteína. La forma más común se produce por una marcada disminución en la actividad de la cistationina β -sintetasa, enzima que cataliza la conversión de Met en Cis, un paso clave en la vía de la transulfuración. Las otras dos formas son el resultado de la alteración de la conversión de homocisteína a Met.

Deficiencia de cistationina β -sintetasa.- La deficiencia de esta enzima determina el aumento de la concentración sérica de Met y homocisteína y una reducción en las concentraciones de Cis y cistina, así como la excreción de grandes cantidades de homocisteína y otros compuestos tóxicos poco comunes en la orina (143).

El átomo de azufre del aminoácido esencial Met se transfiere finalmente a la Cis por medio de la vía de la transulfuración. En uno de los pasos de esta vía, la homocisteína se une a la Ser para formar cistationina, reacción que es catalizada por la cistationina β -sintetasa,

enzima dependiente de piridoxal (144) (figura 29).

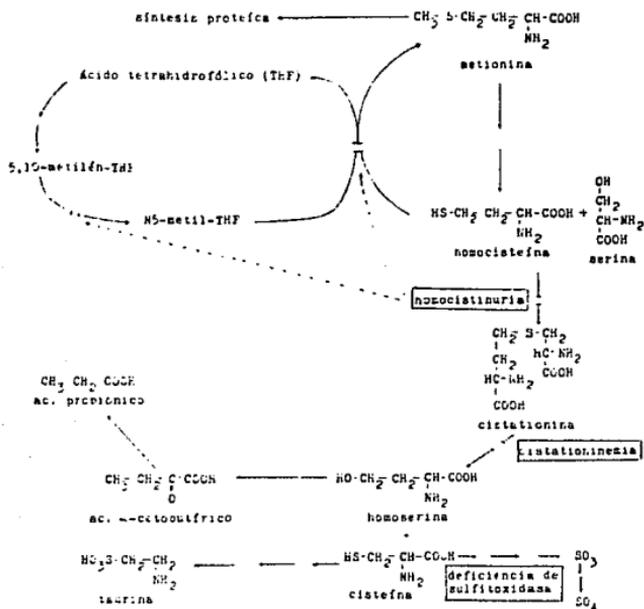


Figura 29. Vías metabólicas de los aminoácidos azufrados.

La homocistefina y la Met se acumulan en las células y líquidos del cuerpo, alterando la síntesis de Cis. Aproximadamente en la mitad de los pacientes no existe actividad de la sintetasa en hígado, cerebro, leucocitos y cultivo de fibroblastos. En el resto de los pacientes los tejidos presentan 1 a 5% de la actividad normal. Los portadores

heterocigotos de este rasgo no muestran anomalías químicas en los fluidos corporales pero tienen una reducción en la actividad de la sintetasa en los tejidos (145).

Manifestaciones clínicas.- Más del 95% de los pacientes presentan luxación del cristalino, que aparece entre los 3 y 4 años de edad y frecuentemente se produce glaucoma, así como también deterioro de la agudeza visual. El retraso mental se presenta en menos de 50% de los casos, frecuentemente acompañado de trastornos en la conducta. El cerebro normal contiene grandes cantidades de cistationina, se ha observado que el cerebro de pacientes homocistinúricos que han fallecido carece completamente de este compuesto, lo que podría tener una relación causal con el retraso mental. La osteoporosis es un hallazgo radiológico común pero rara vez produce enfermedad clínica. Las complicaciones vasculares son graves, probablemente iniciadas por daño del endotelio vascular y son la causa principal de morbi-mortalidad. En el primer decenio de vida se puede producir la oclusión de las arterias coronaria, renal y cerebral, con infarto del tejido. Muchos pacientes mueren de enfermedad vascular antes de los 30 años. Estas complicaciones pueden exacerbarse por los procedimientos angiográficos.

La homocisteína interfiere en el cruzamiento normal del colágeno, lo que probablemente tiene efecto en las complicaciones oculares, esqueléticas y vasculares (146, 146a).

La alteración del colágeno en el ligamento suspensorio del cristalino y en la matriz ósea puede explicar las luxaciones del cristalino y la osteoporosis. Similarmente la interferencia en el metabolismo normal de las sustancias en las paredes de los vasos sanguíneos puede predisponer a

La diátesis trombótica venosa y arterial. Los accidentes cerebrovasculares recurrentes, secundarios a la enfermedad trombótica, también pueden explicar el retraso mental, pero no se han descartado efectos químicos directos sobre el metabolismo de las células cerebrales.

Dentro de este trastorno destacan dos grupos de pacientes: los que responden al tratamiento con piridoxina y los que no responden a dicho tratamiento (147).

Herencia.- Este trastorno se transmite mediante un rasgo autosómico recesivo. La enfermedad es común en Irlanda donde se tiene una incidencia de 1 en 40000 nacimientos, pero es rara en el resto del mundo.

Diagnóstico.- Los signos clínicos pueden orientar el diagnóstico. Una forma simple de demostrar el aumento en la excreción urinaria de compuestos que contienen azufre es la prueba del cianuro-nitroprusiato, la prueba también da resultado positivo en disulfidurias como la cistationuria, β -mercaptolactato cistinuria, que pueden diferenciarse por cromatografía en capa fina utilizando como reactivo revelador cianuro-nitroprusiato o una modificación de la solución de yodo platinado (148). Se puede emplear electroforesis en papel a alto voltaje (149). Es importante el análisis posterior de la orina por dos rutas secuenciales de cromatografía en papel para dar una evaluación cualitativa y semicuantitativa de todos los aminoácidos incluyendo la homocistina (150).

Para confirmar y cuantificar los aminoácidos encontrados se puede usar un sistema de cromatografía en columna (151).

La deficiencia de cistationina β -sintetasa es confirmada por la demostración de la disminución de su actividad. El ensayo puede realizarse en biopsia de hígado o con linfocitos estimulados con fitohemaglutina,

(152).

Existe la posibilidad de realizar diagnóstico prenatal y detección de portadores heterocigotos (153) (consultar apéndice o referencias).

Tratamiento.- La administración de grandes cantidades de piridoxina puede proporcionar distinto grado de mejoría en algunos pacientes, en otros aún cantidades masivas de piridoxina no producen ningún cambio bioquímico. En tales pacientes el control puede efectuarse con una dieta baja en Met y suplementada con cistina.

Las fracturas patológicas debidas a osteoporosis son tratadas por procedimientos ortopédicos convencionales. Los trastornos vasculares son tratados con medicamentos apropiados, como el dipiridamol que ha ayudado a disminuir el tiempo de vida de la plaquetas (154).

Deficiencia de N⁵⁻¹⁰-metilentetrahidrofolato reductasa.- En esta forma de homocistinuria las concentraciones de Met en los líquidos corporales son normales o están disminuídas, porque la deficiencia de N⁵⁻¹⁰-metilentetrahidrofolato reductasa determina el deterioro de la síntesis de N⁵-metilentetrahidrofolato, un cofactor, donador de grupos metilo, para la formación de Met a partir de homocisteína. Por lo tanto, la actividad de la reductasa controla tanto la síntesis de Met como la generación de tetrahidrofolato. Esta serie de reacciones es crítica para la síntesis normal de ADN y ARN. Un defecto importante de la reductasa produce secundariamente una deficiencia en la actividad de la metilén transferasa y alteración en la conversión de homocisteína a Met.

Manifestaciones clínicas.- En la mayoría de los pacientes se altera el funcionamiento del sistema nervioso central. Las manifestaciones

clínicas varían grandemente con la edad. Se ha observado letalidad en la infancia.

Aunque se desconoce el mecanismo de la alteración del sistema nervioso central, las explicaciones más probables son la deficiencia de Met y el deterioro de la síntesis de ácidos nucleicos. Los pacientes más afectados muestran profundo retraso del desarrollo y atrofia cerebral. Otros pacientes manifiestan profundos trastornos de conducta durante el segundo decenio de vida. En otros se ha observado retraso mental moderado. Probablemente las manifestaciones clínicas reflejen la gravedad de la deficiencia de la reductasa. Pueden presentarse debilidad muscular proximal y otros signos neurológicos (155).

Herencia.- El trastorno se hereda mediante un rasgo autosómico recesivo.

Diagnóstico.- La determinación de concentraciones aumentadas de homocisteína en los líquidos corporales y concentraciones normales o disminuidas de Met sugiere esta entidad (156). En algunos pacientes está disminuida la concentración sérica de folato. La confirmación del diagnóstico requiere el análisis de la actividad de la reductasa en extractos de tejidos, tales como cerebro, hígado y cultivo de fibroblastos, (157) (consultar apéndice o referencias).

Tratamiento.- Aunque la experiencia terapéutica es limitada, se informó de un adolescente con psicosis catatónica que respondió tanto bioquímica como clínicamente a la administración de folatos (5 a 10 mg/día). Cuando se suspendió el folato la conducta empeoró. Esta observación sugiere que el diagnóstico temprano y la administración de folato pueden prevenir los trastornos neurológicos o psiquiátricos. Otro

paciente mostró buena respuesta a la terapia con Met, vitamina B₆, vitamina B₁₂ y ácido fólico (158).

Deficiencia de la síntesis de cobalamina.- En esta forma de homocistinuria se refleja también una alteración de la conversión de homocisteína a Met. El defecto principal está en la síntesis de cobalamina que se requiere para la metilén-tetrahidrofolato:homocisteína-metiltransferasa. También se acumula ácido metilmalónico en los líquidos corporales porque también está alterada la síntesis de una segunda coenzima: adenosil cobalamina, que se requiere para la isomerización de la metilmalonil CoA a succinil CoA.

Como en la deficiencia de N⁵,¹⁰-metilentetrahidrofolato reductasa, este trastorno afecta la remetilación de la homocisteína. El defecto preciso, responsable de la alteración en la síntesis de metil cobalamina no se conoce, pero involucra un paso temprano en la activación lisosómica o citosólica de la vitamina precursora. Los estudios genéticos de células somáticas indican que existen dos lesiones diferentes subyacentes a la deficiencia en la formación de coenzima.

Manifestaciones clínicas.- El primer paciente encontrado murió a las seis semanas de vida, después de que se detuvo bruscamente su desarrollo. En otros niños afectados las manifestaciones clínicas son variadas, unos han presentado anemia megaloblástica y pancitopenia, otros alteraciones neurológicas-espinocerebrales significativas (159).

Herencia.- La forma de herencia de este trastorno es autosómica recesiva.

Diagnóstico.- Los signos químicos como homocistinuria, aciduria

metilmalónica e hipermetioninemia, pueden ayudar a sospechar del trastorno (160). Aunque estos hallazgos pueden presentarse en otras entidades como en la anemia perniciosa de inicio juvenil o tardío, en la que existe una disminución en la absorción intestinal de cobalamina, esta es normal en los pacientes con deficiencia en la síntesis de cobalamina. El diagnóstico definitivo depende de la demostración de la alteración en la síntesis de cobalamina en células en cultivo (161) (consultar apéndice o referencias).

Tratamiento.- El tratamiento en los niños afectados, con suplemento de cobalamina (1 a 2 mg/día) parece promisorio. La excreción de homocisteína y metilmalonato disminuye a valores cercanos a lo normal, las deficiencias hematológicas y neurológicas también disminuyen en grados variables (162).

Deficiencia de metionina adenosiltransferasa hepática.- Se ha observado desde 1974 infantes con hipermetioninemia específica y persistente asociada a deficiente actividad de metionina adenosiltransferasa en hígado. El plasma de estos pacientes contenía también concentraciones altas de sulfóxidos de Met y la orina presentó una concentración incrementada de Met y cantidad anormal de ácido α -ceto- γ -metiltiobutírico. La actividad de metionina adenosiltransferasa fue de 8 a 18% del valor control en extractos de hígado ensayados a altas concentraciones de Met. Las formas de la enzima presentes en tejidos no hepáticos aparentemente no están afectadas, por lo que se ha sugerido un control genético distinto.

Manifestaciones clínicas.- Por lo general el daño enzimático es

parcial y los pacientes no están muy afectados clínicamente. Sin embargo, se han reportado anomalías ultraestructurales inespecíficas en el retículo endoplásmico y otras membranas del hígado. Los pacientes han sido detectados en programas neonatales, por lo que se estima que todavía pueden desarrollar anomalías clínicas (163).

Herencia.- El patrón de herencia de esta condición aún no se conoce.

Diagnóstico.- Puede ponerse de manifiesto la hipermetioninemia por medio del tamiz metabólico para aminoácidos. El diagnóstico puede confirmarse por medición de la actividad enzimática en hígado (164) (consultar apéndice o referencias).

Deficiencia de γ -cistationinasa.- Este trastorno fue descubierto hacia 1959 por Harris y colaboradores, al observar una excreción aumentada de cistationina en la orina (mayor a 2 mmol/día) en una paciente de 64 años con retraso mental. Otros pacientes mostraron patrones similares, por lo que al principio se pensó que el retraso mental estaba asociado con el defecto genético, sin embargo, después se descubrió que su presencia era fortuita.

Harris propuso un defecto en la γ -cistationinasa, enzima que cataliza la conversión de cistationina a Cys y α -cetoglutarato, (figura 29). Esta propuesta fue confirmada por Frimpter en ensayos enzimáticos directos de extracto de hígado.

Los pacientes acumulan cistationina en los fluidos y tejidos corporales y excretan, además de grandes cantidades de cistationina, cantidades sustanciales de N-acetilcistationina (165).

Manifestaciones clínicas.- Las manifestaciones de este trastorno son

variables. Se han presentado convulsiones, hipoplasia genital, acromegalia, trombocitopenia, cálculos urinarios, diabetes insípida nefrogénica y diabetes mellitus juvenil. Existen pacientes que no responden al tratamiento con piridoxina en los cuales el defecto bioquímico suele ser más completo (166).

Herencia.- la forma de herencia es autosómica recesiva.

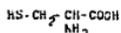
Diagnóstico.- La detección de una elevada cistationinuria puede hacer sospechar del trastorno. El aminoácido puede ponerse de manifiesto mediante cromatografía bidimensional en papel empleando ninhidrina como revelador o por cromatografía unidimensional usando yodo platinado (167).

La cistationinuria puede estar presente en tirosinemia del recién nacido, que desaparece después de 3 meses, en asociación con enfermedad hepática, ganglioblastoma o hepatoblastoma, deficiencia de vitamina B₆ y en tirotoxicosis. El diagnóstico se confirma por medición de la actividad de γ -cistationinasa en extractos de hígado, análisis enzimático de líneas celulares linfoides o de fibroblastos de piel cultivados (168).

La γ -cistationinasa no está presente en el hígado fetal normal, sino hasta después del nacimiento, por lo que no se puede hacer diagnóstico prenatal, (consultar apéndice o referencias).

Tratamiento.- Probablemente se trata de un desorden benigno. Aún no existe un tratamiento específico. Existen pacientes que responden favorablemente a la administración de piridoxina, con dosis de 100 mg o más de hidruro de piridoxina /día, puede indicarse también dieta baja en Met. Los pacientes que no responden a la piridoxina pueden ser tratados únicamente por restricción de Met en la dieta (169).

Cisteína



Trastornos en el metabolismo de cisteína.- Dentro de los errores congénitos del metabolismo de cisteína destacan: cistinosis, cistinuria, déficit de sulfitoxidasa, β -mercaptolactato-cisteína disulfiduria y taurinuria.

Cistinuria.- Es un desorden del transporte de aminoácidos que afecta las células del epitelio del túbulo renal y el tracto gastrointestinal e incluye un grupo de aminoácidos: cistina, Lis, Arg, ornitina y disulfuro mixto de Cis-homocisteína. Clínicamente el problema surge de la acumulación de cistina, que es el menos soluble del grupo y que precipita en la orina formando cálculos. Este defecto fue uno de los 4 estudiados por Garrod (170, 171).

La cistina y los aminoácidos dibásicos parecen compartir una Km baja, en un sistema de alta afinidad, el cual es, probablemente, defectuoso en los riñones cistationúricos.

El defecto en el transporte intestinal conduce a decarboxilación bacteriana de Lis, Arg y ornitina con producción de piperidina, pirrolina y cadaverina, agmatina y putrecina, que también son eliminadas por la orina (172).

Manifestaciones clínicas.- La manifestación característica es la formación de cálculos de cistina que precipitan en la orina ácida, los cálculos formados llevan a la obstrucción, infección e insuficiencia renal. También se le ha asociado con anomalías en el sistema nervioso central. Se afectan ambos sexos, pero los problemas tienden a ser más

graves en el sexo masculino, posiblemente a causa de las diferencias en la anatomía del tracto urinario (173).

Herencia.- La forma de herencia es, presumiblemente, autosómica recesiva.

Diagnóstico.- El procedimiento más simple es el examen del sedimento urinario, preferiblemente en la primer orina de la mañana (174) los cristales típicos son planos de forma hexagonal. Se puede emplear la prueba del cianuro-nitroprusiato como procedimiento de selección química. Posteriormente puede emplearse cromatografía en capa fina o electroforesis de alto voltaje a fin de detectar cistina. La cuantificación de cistina se puede realizar por procedimientos colorimétricos (175). La cromatografía de intercambio iónico cuantitativa es el procedimiento más sofisticado en la detección de cistina (176) (consultar apéndice o referencias).

Tratamiento.- La terapia se dirige a evitar la formación de cálculos, ya sea por restricción dietética para reducir la producción y excreción de cistina o convirtiéndola en un compuesto más soluble. Una vez que se ha formado el cálculo, la terapia se dirige a disolverlos, ya sea por irrigación o por litotomía. El trasplante renal está indicado cuando hay destrucción de los riñones por la cistinuria.

Para la terapia dietética se han propuesto dietas bajas en Met. Sin embargo su empleo ha dado resultados variables, que van desde la desaparición de la cistinuria mientras el paciente está bajo la dieta hasta la obtención de pocos o ningún resultado favorable (177).

Para alterar la solubilidad de la cistina, se intenta aumentar el pH urinario por arriba de 7.5, incrementando el volumen de la orina por aumento en la ingestión de líquidos y administrando bicarbonato, citrato e

inhibidores de la anhidrasa carbónica. Aunque esta forma de terapia es teóricamente razonable, prácticamente se han observado pocos efectos benéficos (178).

Algunos pacientes que han sido tratados con los métodos anteriormente descritos, desarrollarán nuevamente cálculos y muchos requerirán terapia para corregir la obstrucción del tracto urinario. Para estos pacientes Crawhall, Scowen y Watts sugirieron el uso de D-penicilamina (δ -dimetil cisteína), que puede producir la mezcla cistina-penicilamina, que es significativamente más soluble que la cistina. La administración de 1 a 2 g/24h, puede mantener la excreción de cistina por abajo de 200 mg/g de creatinina, nivel en el que la formación de cálculos es mínima. El uso de este medicamento no ha resultado ser inocuo, algunos pacientes han desarrollado reacciones alérgicas, casos más severos incluyen el desarrollo de un síndrome nefrótico y pancitopenia. También se han reportado proteinuria, epidermólisis, trombocitosis, hipoguesia y excreción de zinc y cobre en la orina. Debido a las desventajas de esta terapia su uso se ha restringido a los casos en que la terapia convencional ha fallado o en los que se presenta más de una forma de enfermedad por cálculos de cistina (179, 180).

Otra droga que puede ser de utilidad es la mercaptopropionilglicina que puede ser más efectiva en una reacción de intercambio de disulfuro que conduce a la mezcla mercaptopropionil glicina-cistina, disminuyendo así la solubilidad de la cistina. Se han presentado efectos secundarios como erupción en piel, fiebre, náuseas y reblandecimiento de las heces fecales.

En algunos casos la administración oral o intravenosa de Gln reduce la excreción de cistina, sin embargo, no todos los pacientes responden

favorablemente (181).

Para el tratamiento de los cálculos ya formados se puede emplear irrigación del tracto urinario por catéteres uretrales puestos por nefrostomía subcutánea con soluciones de N-acetil-penicilamina, D-penicilamina y tromotiamina, que son efectivos de una semana a varios meses. Hay que tener presente las medidas ascépticas necesarias para evitar infecciones (182).

Para algunos pacientes en los que los cálculos producen dolor intratable, puede estar indicada la extracción quirúrgica de dichos cálculos, sin embargo, esta práctica puede reducirse por diagnóstico y tratamiento correctos.

En los pocos casos en que la cistinuria ocasiona falla renal crónica el trasplante renal puede ser efectivo. Se ha reportado excreción normal de aminoácidos por 3 1/2 años después del trasplante (183).

Cistinosis.- La cistinosis se caracteriza bioquímicamente por un alto contenido intracelular de cistina, que se almacena en los lisosomas, lo que da como resultado deposición de cristales de cistina en córnea, conjuntiva, médula ósea, nódulos linfáticos, leucocitos y órganos internos. No se conoce el producto génico que conduce a la acumulación de cistina (184).

Se han reportado tres variantes de esta enfermedad: la forma nefropática infantil, que es la más estudiada, otra completamente benigna y finalmente un tipo intermedio de la enfermedad.

Manifestaciones clínicas.- Los niños con cistinosis parecen normales al nacimiento y durante los primeros meses de vida. Las primeras

manifestaciones de la enfermedad, generalmente son producidas por defecto en la reabsorción tubular renal de agua, con la consecuente poliuria y polidipsia que conduce a deshidratación y fiebre recurrente, esta última es uno de los signos más constantes de la enfermedad. Aproximadamente al año de edad los niños muestran retraso en el crecimiento, casi siempre permanecen por debajo de la 3a. percentila en tamaño y peso. Presentan también raquitismo, acidosis y otras evidencias producidas por las anomalías tubulares renales, como incremento de la excreción de glucosa, aminoácidos, fosfato y potasio.

Algunos pacientes muestran episodios recurrentes de postración aguda, debilidad y colpaso cardiovascular que puede conducir a una muerte temprana y repentina. Estos síntomas pueden precipitarse por administración de glucosa intravenosa.

En esta enfermedad se presentan grandes cambios en los electrolitos del suero debido a falla renal y muchos de los síntomas se han relacionado con una profunda hipocalemia.

Aunque el desarrollo mental parece normal, recientemente se ha hecho aparente que muchos pacientes desarrollan hidrocefalia. El daño glomerular progresa de una manera esporádica pero irreversible, puede permanecer estable por muchos meses o aún años, seguida por periodos de total y rápido deterioro que parece no estar relacionado con ningún factor bioquímico o ambiental.

La mayoría de los niños cistinóticos tienen el cabello rubio y pigmentación más clara que sus padres. En los primeros años muchos de ellos desarrollan severa fotofobia. Los exámenes oftalmológicos con biomicroscopio con lámpara de hendidura descubren opacidades refráctiles

dispersas homogéneamente en la córnea y en la conjuntiva. Se han identificado cristales de cistina en la periferia de la córnea, al principio solo 1/3 a 2/3 de la región de la córnea está afectada pero con el tiempo la región entera es involucrada. Los cristales de cistina son típicos de todas las formas de cistinosis, éstos aparecen antes de las manifestaciones clínicas de cistinosis nefropática, pero no están presentes al nacimiento. Además la forma nefropática infantil presenta una nefropatía periférica característica (185).

La cistinosis benigna fue primeramente descrita en 1957 por Cogan y colaboradores, desde entonces se han reportado muchos casos. En esta variante existen depósitos de cristales en la córnea, médula ósea y leucocitos, pero no inhabilitan al paciente, no existe daño renal y los pacientes viven normalmente hasta la vida adulta. Se diagnóstica la enfermedad sólo cuando se realizan exámenes oftalmológicos debido a otras causas, que ponen de manifiesto los cristales de cistina, sin embargo el contenido medio de cistina no es elevado (186).

La cistinosis variante intermedia se ha descrito más recientemente. Los pacientes con esta variante difieren de aquellos con cistinosis benigna en que padecen disfunción renal y difieren de los pacientes con la forma nefropática infantil en que el inicio de la enfermedad es más tardío y la insuficiencia renal progresa más lentamente. La edad de inicio de los síntomas varía entre los 18 meses y los 17 años. Los pacientes muestran material cristalino en córnea, conjuntiva y médula ósea, también han mostrado incremento de la concentración de cistina en leucocitos y fibroblastos de piel cultivados. Se presenta fotofobia, retinopatía y en algunos casos disminución del crecimiento. Todos estos síntomas son menos

severos que en la forma nefropática infantil.

Es posible que esta variante sea el resultado de dobles heterocigotos, es decir, un padre con el gen para la forma nefropática infantil y otro con el gen para cistinosis benigna (187).

Herencia.- Se ha reportado herencia autosómica recesiva para las 3 variantes.

Diagnóstico.- Los hallazgos de laboratorio, (glucosuria, aminoaciduria, aciduria orgánica, excreción elevada de fosfato, acidosis hiperclorémica, proteinuria, orina alcalina con elevado contenido de ión amonio), pueden hacer sospechar tanto de cistinosis como de síndrome de Fanconi. Sin embargo, en la cistinosis existen cristales de cistina en varios tejidos del organismo que pueden ponerse de manifiesto fácilmente en córnea y médula ósea (188). La córnea puede ser normal al examen macroscópico y oftalmológico, sin embargo el examen de lámpara de hendidura revela infinidad de cuerpos refringentes (189). En algunos casos los cristales pueden observarse en leucocitos de sangre periférica, pero pueden demostrarse con mayor frecuencia en aspirados de médula ósea, en tejido de nódulos linfáticos o en biopsia de riñón. Deben evitarse las técnicas de fijación o de tinción que disuelven los cristales de cistina. Mediante examen fundoscópico pueden observarse irregularidades granulosas en la retina a las 5 semanas de vida, esta observación antecede en muchos meses al hallazgo de cristales (190).

Existe la posibilidad de diagnóstico prenatal mediante la estimación del contenido de cistina libre en leucocitos de sangre periférica y de fibroblastos de piel que es 5 a 6 veces superior al contenido normal, (191) (consultar apéndice o referencias).

Tratamiento.- En los estados tempranos de la cistinosis nefropática un suministro adecuado de flúidos puede corregir la acidosis metabólica y el déficit de potasio. Los pacientes con inicio tardío de la enfermedad pueden ser tratados en forma similar a los de la forma nefropática infantil, los pacientes con cistinosis benigna no requieren tratamiento. La acidosis y la hipocalcemia pueden corregirse por el uso de citrato de sodio y potasio, se cuenta con preparados comerciales que suministran 2g de ácido cítrico, 3 g de citrato de sodio y 3.3 g de citrato de potasio por cada 30 ml. El raquitismo en muchos casos puede ser corregido por la administración de 10,000 a 15,000 unidades al día de vitamina D, algunos pacientes son más fácilmente tratados con dihidrotacisterol, 1,25-dihidroxicolecalciferol. La hidroclorotiazida también ha sido útil en el tratamiento del raquitismo cistinótico. Cuando se presentan enfermedades infecciosas que causan diarrea en pacientes cistinóticos es necesario suministrar flúidos por vía intravenosa (192).

El uso de drogas específicas, tales como: penicilamina, detrietol y cisteamida han mostrado ser benéficos para pacientes cistinóticos. Agentes reductores como el ácido ascórbico pueden ser de utilidad. Pueden emplearse, junto con otra forma de terapia, dietas bajas en contenido de aminoácidos azufrados. Finalmente existe la posibilidad de trasplante renal para aquellos casos en los que el daño nefropático haya sido tal, que ha ocasionado disfunción renal (193, 194, 195).

Déficit de sulfitoxidasa.- En la fase final del catabolismo de cistina se forma en riñón y se excreta por orina sulfato inorgánico. Se ha reportado una condición en la que no hay actividad de la sulfitoxidasa que

tiene como consecuencia la excreción urinaria de grandes cantidades de sulfito, tiosulfato y S-sulfo-L-cisteína con ausencia de sulfato, (figura 29).

Las manifestaciones clínicas de esta enfermedad son: oligofrenia, luxación de los cristalinos y anomalías neurológicas.

Herencia.- El defecto se hereda presumiblemente en forma autosómica recesiva (196).

Diagnóstico.- La excreción urinaria de sulfito se pone de manifiesto por el método de Kutter y Humbel (197) (consultar apéndice o referencias).

β -mercaptolactato-cisteína disulfiduria.- El disulfuro de β -mercaptolactatocisteína es un derivado de la Cis en el que uno de los dos grupos amino es sustituido por un grupo hidroxilo. Este compuesto se ha encontrado en elevadas concentraciones en la orina de un enfermo oligofrénico producto de una unión entre hermanos. No hubo otras anomalías de aminoácidos. El trastorno se descubrió mediante la prueba del nitroprusiato cuando se investigaba una cistinuria (198).

Un resultado positivo en la prueba del cianuronitroprusiato, sin cistinuria ni homocistinuria, es indicativo de este padecimiento (199).

Taurinuria.- La taurina se elimina normalmente por la orina como un intermediario en la oxidación de Cis, (figura 29). Se ha reportado en algunas familias, con camptodactilia, excesiva eliminación de taurina debida a un gen dominante.

Diagnóstico.- Puede determinarse la concentración urinaria de taurina mediante cromatografía de intercambio iónico (200) (consultar

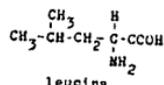
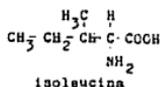
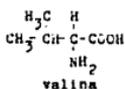
apéndice o referencias).

CAPITULO VI
AMINOACIDOS CON CADENA
LATERAL ALIFATICA

AMINOACIDOS CON CADENA LATERAL ALIFATICA

Dentro de los aminoácidos con cadena lateral cargada se encuentran 3 aminoácidos ramificados: Val, Leu e Ile que coinciden en algunos puntos de su metabolismo, por lo que los trastornos en su metabolismo se tratarán juntos.

Aminoácidos ramificados



Trastornos en el metabolismo de aminoácidos ramificados.- Dentro del metabolismo de los aminoácidos ramificados destacan los siguientes trastornos enfermedad de la orina del jarabe de arce, hipervalinemia, aciduria isovalérica, aciduria glutárica tipo II, aciduria etilmalónica-adípica, deficiencia de 3-metilcrotonil CoA carboxilasa, deficiencia de 3-hidroxi-3-metilglutaril CoA liasa, deficiencia de 3-cetotiolasa, acidemia propiónica y acidemia metilmalónica, algunos de los cuales son comunes con la ruta de los ácidos grasos,(figura 30).

Enfermedad de la orina del jarabe de arce.- Este trastorno está caracterizado por la excreción de orina que expelle un olor muy parecido al jarabe de arce. La sangre y la orina contienen cantidades aumentadas de los aminoácidos ramificados: Val, Leu e Ile. Es muy característico que la orina contenga cantidades aumentadas de los cetoácidos derivados de estos aminoácidos.

Se sabe que el defecto radica en la descarboxilación oxidativa de los cetoácidos (201), (figuras 30 y 30a).

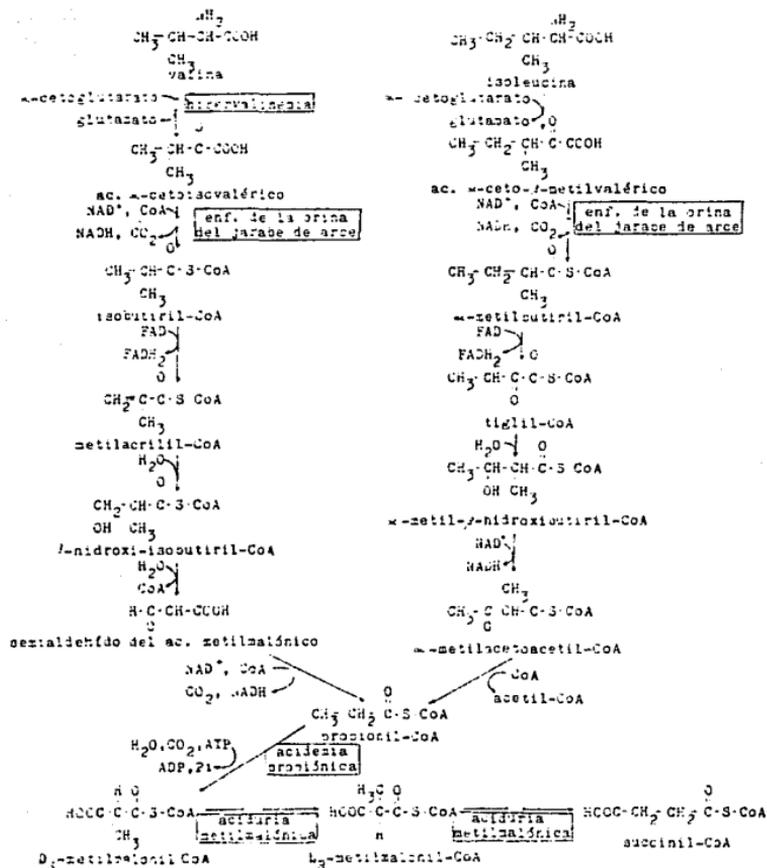


Figura 30. Vías metabólicas de Val e Ile.

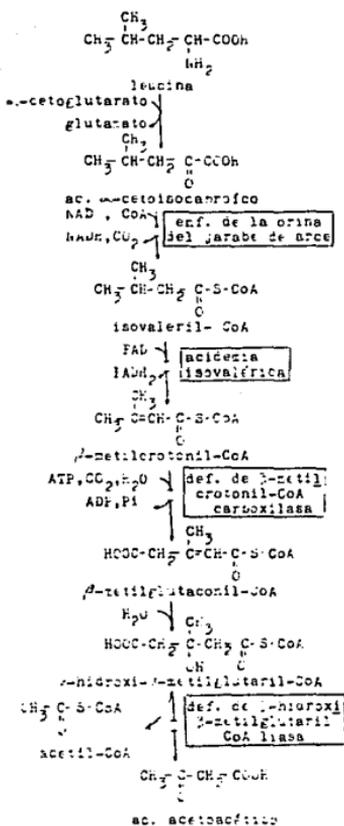


Figura 30a. Vías metabólicas de Leu.

Se han reconocido 5 variantes para esta enfermedad: la forma clásica, la forma intermitente, la forma intermedia, la forma con respuesta a la tiamina y la deficiencia de dehidrolipoildeshidrogenasa.

Manifestaciones clínicas.- Forma clásica. Los niños con la forma clásica de la enfermedad parecen normales al nacimiento, pero a los pocos días empiezan a mostrar fallas en el desarrollo, dificultades al alimentarse, vómitos recurrentes, signos neurológicos tales como convulsiones y rigidez generalizada que aparecen rápidamente, posteriormente aparecen estupor, hipotonía, y respiración irregular hasta llegar a letargia, coma y finalmente a la muerte. Las infecciones con frecuencia apresuran el período terminal. Si los pacientes no tratados sobreviven a las primeras semanas se presentarán anomalías en el electroencefalograma, severo retraso psicomotor, postura distónica generalizada y en algunos casos ptosis lateral, oftalmoplegia y diplegia facial con moderada a severa hipoglicemia (202).

Forma intermitente.- En esta variante niños que al parecer estaban sanos, desarrollan repentinamente signos de la enfermedad, que generalmente aparecen entre los 12 y los 24 meses de vida, que por lo general son provocados por infecciones del oído o del tracto respiratorio superior, por vacunación, cirugía o un incremento repentino de proteínas en la dieta. Los pacientes se vuelven irritables, atáxicos y progresivamente letárgicos. El olor a jarabe de arce es típicamente notorio durante estos episodios, en que hay elevación de aminoácidos ramificados y sus correspondientes cetoácidos en sangre y en orina, durante las remisiones las concentraciones de estos metabolitos son normales en los líquidos corporales. A pesar del curso intermitente de la

enfermedad, cuando los síntomas se presentan pueden llegar a ser fatales, se han reportado algunos niños que murieron durante un severo episodio acidótico. El desarrollo psicomotor tiende a ser normal durante las remisiones.

La actividad de la decarboxilasa de cadena ramificada está reducida en los leucocitos, pero no tanto como en la forma clásica de la enfermedad (203).

Forma intermedia.- En esta variante del trastorno la sintomatología es menos intensa que en la forma clásica. La concentración sanguínea elevada de aminoácidos y cetoácidos ramificados persiste en una dieta no restringida, el olor a jarabe de arce puede o no estar presente. Existe un moderado retraso mental, hiperuricemia, leve anemia y ligera acidosis sistémica, no se ha observado anomalía neurológica focal, aunque se reporta ligera hipotonía generalizada, no se notaron ataques, ataxia, ni vómitos excesivos. La evaluación de la actividad de la decarboxilasa de aminoácidos ramificados "in vivo" da resultados intermedios entre los tipos clásico e intermitente (204).

Forma con respuesta a la tiamina.- En esta variante de la enfermedad el defecto se encuentra en el locus de la enzima para el cofactor pirofosfato de tiamina, que interviene en la decarboxilación oxidativa de todos los α -cetoácidos. La variante fue observada en un paciente con olor a jarabe de arce, cantidades excesivas de aminoácidos y cetoácidos ramificados se detectaron en sangre y en orina (205).

Deficiencia de dihidrolipoildeshidrogenasa.- La reacción de decarboxilación oxidativa de los aminoácidos ramificados, es compleja, como se muestra en la figura 32 y en ella interviene un complejo

enzimático formado por las enzimas piruvato decarboxilasa, dihidrolipoil-transacetilasa y dihidrolipoildeshidrogenasa. Cuando esta última es deficiente se presenta acumulación de aminoácidos y cetoácidos ramificados en el cuerpo, acidosis láctica y aciduria cetoglutárica. La actividad de las otras enzimas del complejo es normal (206) (figura 31).

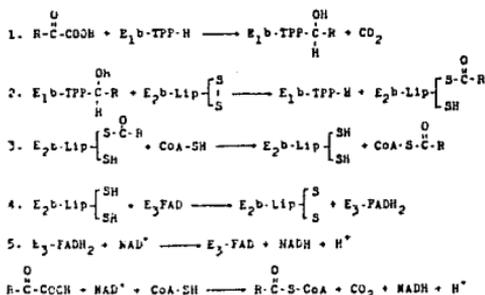


figura 31. Secuencia de reacciones catalizadas por el complejo de la deshidrogenasa de cetoácidos ramificados, donde E1b representa la decarboxilasa de cetoácidos, R la cadena acilo, TPP tiamina pirofosfato, E2b dihidrolipoil transacetilasa, Lip ácido lipoico, E3 dihidrolipoil deshidrogenasa y FAD flavín adenín dinucleótido.

Herencia.- La forma de herencia de esta enfermedad, con todas sus variantes, es autosómica recesiva.

Diagnóstico.- El olor de la orina a jarabe de arce es casi siempre la primer pista para orientar el diagnóstico. Aunque no se sabe a que se debe este olor, pues no se debe a la alta concentración de aminoácidos o cetoácidos ramificados.

Se cuenta con métodos analíticos y métodos celulares para el diagnóstico. Dentro de los métodos analíticos se cuenta con la prueba de

dinitrofenilhidrazina y la prueba del cloruro férrico, que son útiles de manera presuntiva, puesto que no son muy sensibles (207). Anteriormente se empleaba la cromatografía en capa fina para la determinación de dinitrofenilhidrazinas de aminoácidos ramificados, pero la resolución y la sensibilidad no eran muy satisfactorios, por lo que se ha sustituido por el empleo de cromatografía gaseosa auxiliada por espectrometría de masas para la determinación de los cetoácidos derivados de los aminoácidos con cadena lateral ramificada (208).

Los estudios celulares implican la determinación de CO_2 marcado con ^{14}C liberado de aminoácidos y cetoácidos ramificados marcados en cultivo de fibroblastos de piel o en cultivo de leucocitos. Se ha observado que se obtienen resultados más consistentes empleando cultivos de fibroblastos y empleando aminoácidos marcados (209).

Se había descrito la posibilidad de diagnóstico prenatal midiendo la concentración de aminoácidos y cetoácidos ramificados en fluido amniótico, sin embargo, se han reportado casos de embarazos afectados en los que estas determinaciones resultaron normales. Por lo que, se aconseja no emplear este método (210) (consultar apéndice o referencias).

Tratamiento.- Ha sido un poco difícil establecer el tratamiento para este trastorno, ya que involucra tres aminoácidos esenciales. Se han reportado varias formas de tratamiento. Dents y Westall han reportado el empleo de dietas bajas en los 3 aminoácidos ramificados que han producido disminución en la concentración sanguínea de aminoácidos ramificados y sus correspondientes cetoácidos, a valores casi normales, el paciente tratado ganó peso, pero no mejoró clínicamente. Posteriormente Westall empleó dietas sintéticas con mezcla de aminoácidos libres de los 3 aminoácidos

ramificados adicionando fuentes naturales de proteína, con lo que obtuvo mejoría bioquímica y clínica, (211). Snyderman y sus colaboradores emplearon tratamientos similares al de Westall, desde entonces se han descrito variantes de estas dietas y en la actualidad están disponibles preparados comerciales para este propósito. Se han reportado algunos riesgos al emplear estos preparados, como la disminución de ácido fólico, por el uso de preparados vitamínicos y algunos episodios hiperclorémicos debido a la gran cantidad de cloro en las sales de los aminoácidos que se emplean.

Puede emplearse el tratamiento con tiamina, para el tratamiento de la variante que responde a tiamina, con 10 mg/día de hidrocloreuro de tiamina y algunos casos leves de la forma intermitente también han mostrado respuesta al tratamiento con 10 a 1000 mg de hidrocloreuro de tiamina al día (212).

Hipervalinemia.- Sólo ha sido reportado un caso en la literatura de hipervalinemia. El trastorno se caracterizó por una elevación de 5 a 10 veces la concentración sanguínea de Val.

Al observar la ausencia de ácido 2-isovalérico, se pensó que había un defecto en la transaminasa que cataliza el paso de Val a ácido α -cetoisovalérico (figura 30). Los estudios realizados empleando Val como donador de grupos amino no revelaron actividad de transaminasa, mientras que la actividad correspondiente fue normal empleando Leu e Ile como donadores.

Se sabe que los aminoácidos de cadena lateral ramificada comparten la actividad de las mismas transaminasas, por lo que los hallazgos

bioquímicos de esta condición han sido explicados mediante dos hipótesis: una que señala que una mutación puede conducir a la síntesis de una variante común de transaminasas, capaz de catalizar la transaminación de Leu e Ile, pero no de Val y otra que sostiene la existencia de transaminasas específicas para Val que aún no se han identificado.

Herencia.- El trastorno se hereda, presumiblemente, en forma autosómica recesiva (213).

Diagnóstico.- El defecto puede demostrarse por ensayo de transaminasa en leucocitos periféricos (214) (consultar apéndice o referencias).

Tratamiento.- El paciente reportado fue tratado con una dieta baja en Val y con piridoxal fosfato (30 a 60 mg/día). Después de 9 meses con una dieta restringida en Val cesó el vómito, aumentó el peso y la hiperactividad disminuyó. La concentración sérica de Val descendió al rango normal. El tratamiento con piridoxal fosfato no causó cambios significativos en la concentración sanguínea de Val (215).

Acidemia isovalérica.- Es un trastorno del metabolismo de la Leu en el que el paciente expele un olor semejante a "pies sudados" y que es debido a la presencia de ácidos grasos de cadena corta en sangre. Durante los episodios agudos de la enfermedad el ácido isovalérico se eleva en un rango de 35 a 50 mg/dl (más de 500 veces el valor normal), esta concentración disminuye cuando los síntomas agudos se disipan. El ácido 3-metilcrotonico, el metabolito siguiente en la degradación de Leu, se eleva durante los episodios agudos, por lo que se ha postulado que el bloqueo metabólico está localizado en este punto, catalizado por la enzima isovaleril CoA deshidrogenasa (figura 30a). Algunos pacientes, además, han

presentado isovalerilglicina y ácido 3-hidroxisovalérico en la orina (216).

Manifestaciones clínicas.- La enfermedad puede tener dos cursos clínicos: el agudo y el crónico intermitente. En el curso agudo, los niños afectados parecen normales al nacimiento, pero a los pocos días presentan aumento en la frecuencia del vómito y rechazo a los alimentos. Generalmente son hipertérmicos, pueden presentar retraso mental, se vuelven letárgicos, cianóticos y caen en coma que casi siempre es letal. En muchos casos la causa de muerte es una severa cetoacidosis, una diástesis hemorrágica o una infección. Si los pacientes logran superar la etapa fulminante del período neonatal mediante un tratamiento adecuado, la enfermedad tendrá un curso crónica intermitente. Secundariamente algunos pacientes han mostrado moderadas a severas anomalías hematólogicas; tales como leucopenia, trombocitopenia y pancitopenia, esta última se ha observado durante las crisis agudas debidas a detención de la maduración de precursores hematopoyéticos (217).

En la forma intermitente crónica se presentan episodios de vómito, letargía, coma, cetoacidosis y olor característico a pies sudados, estos síntomas son menos severos que en la forma aguda. Tales episodios pueden ser disparados por infecciones del tracto respiratorio superior o por sobrealimentación con proteínas. A pesar de los episodios cetoacidóticos la mayoría de los pacientes con esta forma de la enfermedad alcanzan un desarrollo psicomotor normal.

Herencia.- Se ha sugerido una forma de herencia autosómica recesiva (218).

Diagnóstico.- Puede emplearse cromatografía de muestras de orina para

seguir el curso agudo o realizarse cromatografía en columna de suero destilado, para evitar la volatilización del ácido isovalérico (219). Sin embargo, es más confiable emplear una columna cromatográfica con empaque de doble revestimiento con una fase estacionaria y ácido fosfórico (220).

También se puede medir la liberación de CO_2 marcado con ^{14}C a partir de (2- ^{14}C)leucina o ácido (1- ^{14}C)isovalérico en cultivo de fibroblastos de piel (221).

El diagnóstico se confirma por medición de la actividad de la isovaleril CoA deshidrogenasa en mitocondrias aisladas de fibroblastos de piel (222) (consultar apéndice o referencias).

Tratamiento.- Se han probado varios tipos de tratamientos entre los que destacan la infusión parenteral de glucosa y bicarbonato de sodio durante los ataques acidóticos. La restricción de Leu en la dieta a 115-120 mg/Kg de peso corporal, en algunos pacientes ha reducido la frecuencia de episodios agudos. La restricción de proteínas en la dieta a 1.5-2 g/Kg/día ha dado mejores resultados (223).

Krierger y Tamaka probaron la administración de Gli a fin de disminuir los ataques acidóticos. Administraron Leu (125 mg/Kg) y de Gli (250 mg/Kg) simultáneamente con lo que obtuvieron disminución de la concentración de ácido isovalérico en suero y mayor eliminación de isovaleril Gli por la orina. Cohn y sus colaboradores trataron a otros pacientes con Gli (250 mg/Kg/día) por vía nasogástrica, lo cual dió una respuesta bioquímica drástica con la declinación de la concentración de isovalerato en suero y orina a menos de 1 mg/dl en 3 días, la respuesta clínica se observó 3 a 4 días después. Los pacientes salieron del estado hipotónico de coma en que se encontraban; después de la remisión de los

síntomas clínicos los fueron tratados con Gli oral (800 mg/día) y con una dieta de 1.5 g/Kg/día de proteína y 80 kcal/Kg/día, con lo cual han tenido un desarrollo normal (224).

Aciduria glutárica tipo II.- En este padecimiento se ven afectadas varias rutas metabólicas en las que se incluyen los aminoácidos ramificados, Lis, hidroxilisina, Trp y ácidos grasos, por alteraciones en un paso catalizado por una acil CoA deshidrogenasa, (figura 32).

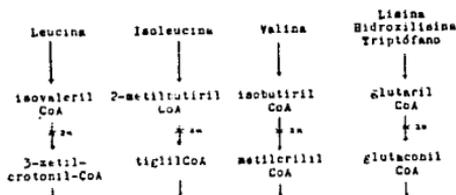


Figura 32. Rutas metabólicas afectadas por la aciduria glutárica tipo II.

La excreción urinaria de ácidos grasos de cadena corta se encuentra elevada, especialmente los ácidos isobutírico, n-butanóico, 2-metilbutírico, isovalérico y 11-hexanóico. También se eleva la excreción de ácidos dicarboxílicos tales como etilmalónico, adípico y especialmente se incrementa la excreción del ácido glutárico hasta valores de 85.7 $\mu\text{mol/mg}$ de creatinina, de aquí el nombre de la enfermedad. Se incrementan también otros ácidos de 8 y 10 carbonos e hidroxiaácidos como el láctico, 2-hidroxi-butírico, 3-hidroxi-butírico, 2-hidroxiisovalérico y 2-hidroxi-glutárico.

Se sabe que las reacciones enzimáticas alteradas son las catalizadas

por todas las deshidrogenasas para diferentes acil CoAs, sin embargo, el defecto enzimático preciso se desconoce (225).

Manifestaciones clínicas.- Se han descrito pocos pacientes con este trastorno, los cuales han desarrollado severa acidosis e hipoglicemia a las pocas horas del nacimiento. A pesar del tratamiento con infusiones de glucosa y bicarbonato la hipoglicemia aumentó. Presentaron un fuerte olor a pies sudados y también han mostrado hipotermia, convulsiones y muerte aproximadamente a los 3 días de vida.

Herencia.- Los estudios familiares han sugerido herencia recesiva ligada al X, pero aún no es un dato determinante (226).

Diagnóstico.- Una severa hipoglicemia de etiología desconocida, con acidosis y sin la concomitante cetosis puede hacer sospechar de la enfermedad (227). El diagnóstico definitivo se realiza por cromatografía de orina, con identificación de ácidos orgánicos apoyada por espectrometría de masas (228) (consultar apéndice o referencias).

Tratamiento.- Se intentó tratar algunos pacientes con Gli y bicarbonato para reducir la hipoglicemia y la acidosis, sin embargo, los pacientes murieron a los 3 días de nacer. Aún no se ha reportado un tratamiento eficaz (229).

Aciduria etilmalónica-adípica.- En este trastorno se ven afectados los mismos pasos que en la aciduria glutárica tipo II, sólo que la expresión bioquímica es diferente. En este caso se excreta gran cantidad de ácido etilmalónico, ácido adípico y hexanoilglicina. La cantidad eliminada de ácido glutárico no es alta y con frecuencia no es detectable (230).

Manifestaciones clínicas.- Se reportó el caso de una niña que

presentó a las 7 semanas episodios repetidos de vómito, letargia y coma acompañada por acidosis e hipoglicemia. Los síntomas aparecieron después de una ingesta oral pobre. Al año de edad presentó un ataque de gastroenteritis que fue enfatizado por letargia. A los 4 años se presentó un episodio de vómito, convulsiones y coma con severa hipoglicemia.

Herencia.- Este trastorno se hereda en forma autosómica recesiva, (231).

Diagnóstico.- Se diagnostica mediante los mismos procedimientos que se emplean en la aciduria glutárica tipo II.

Tratamiento.- La paciente descrita ha sido tratada con dieta baja en grasa y alta en carbohidratos, la excreción de ácido etilmalónico permaneció esencialmente igual pero la excreción de otros ácidos orgánicos disminuyó notablemente. Durante este tratamiento la paciente presentó 4 episodios de vómito y letargia, pero en ninguno hubo acidosis o hipoglicemia (232).

Deficiencia de 3-metilcrotonil CoA carboxilasa.- En este trastorno del metabolismo de Leu, la β -metilcrotonil CoA no puede ser convertida a β -hidroxi- β -metilglutaril CoA por acción de la enzima 3-metilcrotonil CoA carboxilasa que fija CO₂ y emplea biotina como cofactor, (figura 30a). La deficiencia de actividad de la enzima conduce a la eliminación por vía renal de grandes cantidades de ácido β -metilcrotonílico conjugado con Gli y la eliminación de ácido 3-hidroxi-valérico. Además, algunos pacientes eliminaban ácido láctico, ácido pirúvico y tigililglicina (233).

Manifestaciones clínicas.- Se han reportado muy pocos casos, en uno de ellos, el paciente presentó síntomas neurológicos a los 4 1/2 años, Su

crecimiento fue normal, pero el desarrollo motor fue retrasado, presentó hipotonía, ataxia de los músculos esqueléticos, ausencia de los reflejos de los tendones, fibrilación de la lengua, su aspecto clínico era similar al de la atrofia muscular infantil (enfermedad de Werdnig-Hoffmann). Fue notado un olor peculiar parecido al de la orina del gato macho, sin embargo, no presentó acidosis, este paciente no respondió al tratamiento con biotina. En otro caso se presentó grave acidosis y cetosis con erupción eritematosa en las articulaciones y en los glúteos, este paciente respondió favorablemente a la administración de biotina.

Herencia.- Se ha sugerido herencia autosómica recesiva (234).

Diagnóstico.- Puede hacerse análisis de los metabolitos excretados en la orina por cromatografía, la detección de ácido 3-hidroxisovalérico y 3-metilcrotonilglicina establecen el diagnóstico (235) (consultar apéndice o referencias).

Tratamiento.- El paciente con respuesta a la biotina fue tratado con 10 mg de biotina con lo cual eliminó completamente la acidosis, la cetosis, los metabolitos de Leu y la erupción (236).

El otro paciente fue tratado con una dieta baja en Leu y suplementada con 0.25 mg de biotina/día, aunque la excreción urinaria de 3-hidroximetilisovalerato y 3-metilcrotonilglicina disminuyó, no hubo mejoría clínica y el paciente murió después de 3 meses.

Deficiencia de 3-hidroxi-3-metilglutaril CoA liasa.- En esta enfermedad se excretan por la orina grandes cantidades de ácido 3-metilglutacónico, ácido 3-hidroxisovalérico y ácido 3-metilglutárico. Tal anomalía bioquímica se debe a un bloqueo en el último paso del

catabolismo de Leu en el que interviene la enzima 3-hidroxi-3-metilglutaril CoA liasa (237) (figura 30a).

Manifestaciones clínicas.- Los niños afectados por el trastorno parecen normales al nacimiento, a los pocos días empiezan a presentar severos episodios de vómito, cianosis, hipotonía, letargia y acidosis metabólica, extrema hipoglicemia (1.8 a 7.2 mg/dl), algunos pacientes han muerto durante uno de estos episodios, en otros la consecuencia ha sido daño cerebral causando hemiplejía y movimientos coreoatetoides.

Herencia.- Aunque no se ha precisado bien, se sugiere herencia autosómica recesiva (238).

Diagnóstico.- La detección de ácido 3-metilglutacónico, ácido 3-hidroxisovalérico y ácido 3-metilglutárico pueden orientar el diagnóstico, que se confirma con la medición de la actividad enzimática en fibroblastos (239) (consultar apéndice o referencias).

Tratamiento.- Algunos pacientes responden bien al tratamiento con una dieta restringida en proteínas a 2 g/kg/día (240).

Deficiencia de 3-cetotiolasa.- Esta condición involucra la enzima que cataliza el último paso del catabolismo de Ile, la deficiencia de esta enzima conduce a la formación de propionil CoA y acetil CoA. Aunque no ha sido caracterizada se piensa que dicha enzima es la 3-cetotiolasa. En esta condición la eliminación urinaria de 2-metil-3-hidroxi-butarato, 2-metilacetoacetato y butanona se encuentran incrementadas (241).

Manifestaciones clínicas.- Han sido variables, unos pacientes han presentado episodios cetoacidóticos severos, otros han muerto durante episodios febriles, vómito, hiperventilación y ataques. Otros más han

presentado ataques de letargia y vómito a las 12 semanas de vida, retraso en el desarrollo, neutropenia, trombocitopenia, hiperglicinemia, hiperglicinuria e hiperamonemia. Un paciente más fue reportado con hiperglicinuria, pero sin hiperglicinemia.

Herencia.- Se ha sugerido herencia autosómica recesiva (242).

Diagnóstico.- Se puede realizar cromatografía en orina para determinar la excreción de ácidos orgánicos (243) (consultar apéndice o referencias).

Tratamiento.- La restricción moderada de proteínas en la dieta y el tratamiento de los episodios cetoacidóticos permite un desarrollo normal en los pacientes (244).

Acidemia propiónica.- Este trastorno se debe a deficiencia de la propionil CoA-carboxilasa, lo que produce acumulación de ácido propiónico (figura 30). La concentración de aminoácidos ramificados, Trn y Met se eleva en plasma, ocasionando la aparición de ataques acidóticos, durante los cuales aparecen en la orina 2-butanona y otras cetonas derivadas del metabolismo de la Ile (245).

Manifestaciones clínicas.- Se presenta grave acidosis y cetosis en los primeros días de vida. Más tarde aparecen retraso en el desarrollo físico y mental, osteoporosis, trombocitopenia y neutropenia periódica, episodios de vómito que junto con la cetoacidosis parecen estar relacionados con la cantidad de proteínas ingeridas. Algunos pacientes han muerto durante un episodio cetoacidótico.

Herencia.- Se ha sugerido herencia autosómica recesiva para esta condición (246).

Diagnóstico.- El desarrollo de cetosis o cetoacidosis en el período neonatal puede hacer sospechar de esta condición. Las determinaciones de ácido propiónico en sangre y orina y los estudios de la actividad de propionil CoA-carboxilasa en leucocitos y fibroblastos establecen el diagnóstico definitivo (247).

Se puede realizar diagnóstico prenatal por medición de la actividad enzimática en cultivo de células de fluido amniótico (248) (consultar apéndice o referencias).

Tratamiento.- Una dieta baja en proteínas o una dieta selectiva con reducción de los aminoácidos precursores del ácido propiónico disminuye la frecuencia y gravedad de los brotes clínicos y produce aumento de los neutrófilos circulantes. Los episodios cetoacidóticos se pueden tratar por administración parenteral de bicarbonato de sodio. Algunos pacientes han mostrado buena respuesta al tratamiento con biotina, la coenzima de la enzima afectada (249).

Aciduria metilmalónica.- En esta condición se eliminan grandes cantidades de ácido metilmalónico en la orina, de 240 a 5700 mg/día (valor normal 5 mg/día) y se eleva su concentración sanguínea a valores de 2.6 a 34mg/dl lo mismo que en el líquido cefalorraquídeo.

Existen 4 formas de la enfermedad. Las dos variedades más frecuentes se relacionan con la enzima metilmalonil CoA mutasa, que convierte la L-metilmalonil CoA en succinil CoA. Esta enzima requiere para su correcta actividad 5'-desoxiadenosil cobalamina. Se han encontrado formas con y sin respuesta a la cobalamina. La tercera forma es debida a un defecto en el metabolismo de la vitamina B₁₂, en el que la cobalamina no puede

convertirse en la forma desoxiadenosil ni en la forma metilada. En este caso están afectados tanto el metabolismo de homocisteína como el del metilmalonato. La cuarta forma se relaciona con la enzima metilmalonil CoA racemasa, que metaboliza las formas D y L del metilmalonato (250, 251) (figura 30).

Manifestaciones clínicas.- Se ha reportado bajo aumento de peso, vómitos, acidosis metabólica, letargia, deshidratación e hipotonía muscular.

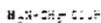
Herencia.- Los estudios familiares han sugerido herencia autosómica recesiva (252).

Diagnóstico.- Se puede detectar metilmalonato por análisis colorimétricos en orina o por cromatografía líquido-gas en suero y orina, (253). La deficiencia de cobalamina puede ser excluida por medición directa de su concentración en suero. La confirmación del diagnóstico y de la etiología depende de estudios de laboratorio más elaborados en cultivos celulares (254).

El diagnóstico prenatal se puede establecer por medición de metilmalonato en líquido amniótico y en la orina materna a la mitad del primer trimestre y por estudios de la actividad de la mutasa y del metabolismo de cobalamina en cultivo de células de líquido amniótico (255) (consultar apéndice o referencias).

Tratamiento.- Una restricción de proteínas en la dieta o restricción de los aminoácidos precursores de metilmalonato con suplemento de cobalamina, 1 a 2 mg/día de cianocobalamina o hidroxicobalamina, puede ayudar a reducir los síntomas clínicos y bioquímicos de la enfermedad (256).

Glicina



Trastornos en el metabolismo de glicina.- Dentro de los trastornos que afectan el metabolismo de Gli destacan la hiperglicinemia no cetónica y la hipersarcosinemia.

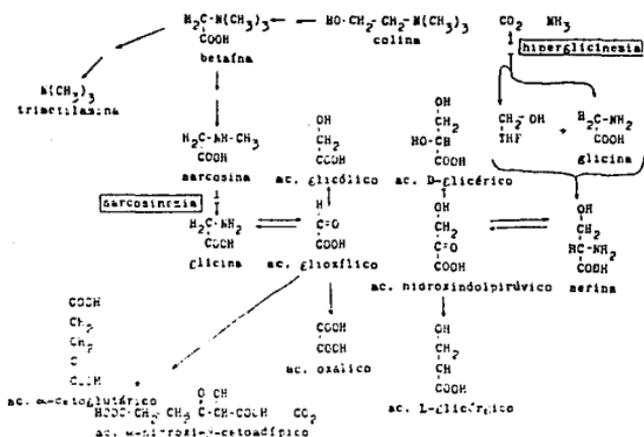


Figura 33. Vías metabólicas de la Gli.

Hiperglicinemia no cetónica.- En esta condición se excretan cantidades elevadas de Gli en los fluidos corporales, no se ha demostrado la presencia de ácidos grasos en sangre o en orina.

Esta enfermedad fue detallada por Gerritsen y colaboradores. El sitio del bloqueo metabólico se encuentra en la reacción de desdoblamiento de Gli a CO_2 , NH_3 e hidroximetiltetrahydrofolato. Ya que este último

compuesto reacciona con otra molécula de Gli para formar Ser, la conversión de Gli en Ser también está alterada (figura 33).

La concentración de Gli en sangre se eleva hasta valores de 6.9 a 9.3 mg/dl. La concentración de Gli en líquido cefalorraquídeo varía entre 1.0 y 1.7 mg/dl (valor normal 0.1 mg/dl). La excreción de Gli en la orina puede estar aumentada, se puede excretar entre 1 y 3 g/día (valor normal 0.1 g/día ó 0.2 mg/ml de creatinina) (257).

Manifestaciones clínicas.- Los pacientes con hiperglicinemia no cetónica son retrasados mentales, apáticos, no ganan peso y tienen ataques convulsivos, no obstante, no presentan episodios de acidosis o cetosis. Se ha reportado un caso de hiperamonemia en un paciente.

Herencia.- La forma de herencia es autosómica recesiva (258).

Diagnóstico.- El estudio de la acumulación de ácidos orgánicos, especialmente ácido propiónico y ácido metilmalónico y la elevada concentración de Gli en sangre permite orientar el diagnóstico. La concentración elevada de estos metabolitos en sangre, orina y fluido cerebroespinal establecen el diagnóstico (259) (consultar apéndice o referencias).

Tratamiento.- No se ha encontrado tratamiento efectivo. Sin embargo, se han probado varios tipos de terapia con algunos efectos positivos. Durante el periodo neonatal se puede obtener una mejoría temporal con transfusión o diálisis peritoneal. La concentración de Gli puede disminuir con una dieta restringida en proteínas o por administración de benzoato de sodio, no obstante, esto no parece alterar el curso de la enfermedad. La administración de N⁵-formiltetrahydrofolato y la administración de Met para proveer grupos de un carbono, puede reducir la concentración de Gli

en plasma, pero, por otro lado, la Met puede llegar a ser tóxica para el organismo.

El tratamiento con estrignina, que puede bloquear los efectos glicinérgicos de inhibición postsináptica, ha proporcionado un modesto logro en el tratamiento de esta condición (260).

Hipersarcosinemia.- Este trastorno se descubrió al evidenciar concentraciones aumentadas de N-metilglicina (sarcosina) tanto en sangre como en orina de dos hermanos afectados.

El defecto metabólico se encuentra en la actividad del complejo de la sarcosina dehidrogenasa; un sistema enzimático que convierte sarcosina en Gli y una unidad de un carbono. La sarcosina es derivada de dimetilglicina, la cual a su vez deriva de la betaína. Esta serie de reacciones constituyen parte del ciclo de 1-carbono, (figura 33).

La sarcosina deshidrogenasa no parece ser una enzima esencial activa en humanos (261).

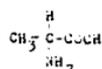
Manifestaciones clínicas.- Existen considerables variaciones en los síntomas físicos y mentales de los individuos afectados por esta condición. Uno de los pacientes originalmente descrito era retrasado mental, no presentó buen desarrollo físico, tenía dificultades en la deglución y falleció a los 14 meses de edad. Otro enfermo presentó hepatoesplenomegalia y metamorfosis adiposa de hígado. Otro paciente más, de 10 años tenía inteligencia normal, estatura corta y contractura de los músculos de los miembros inferiores.

Herencia.- El patrón de herencia es, presumiblemente, autosómico recesivo (262).

Diagnóstico.- El diagnóstico de este trastorno se establece por determinación de incremento en la concentración sanguínea y urinaria de sarcosina y etanolamina (263). Al parecer no existe actividad de la sarcosina deshidrogenasa en fibroblastos de sujetos normales, por lo que el diagnóstico prenatal no puede realizarse por estudios enzimáticos en cultivo de células de líquido amniótico (264) (consultar apéndice o referencias).

Tratamiento.- Existe poca información con respecto al tratamiento, pero puede intentarse la restricción de GII en la dieta.

Alanina



Trastornos en el metabolismo de alanina.- Se han identificado dos desórdenes en el metabolismo de Ala: la hiper- β -alaninemia y la deficiencia de carnosinasa en suero que también involucra a la His (figura 34).

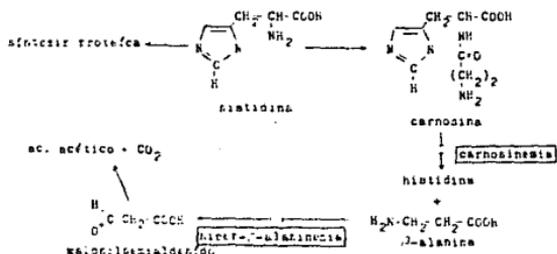


Figura 34. Vías metabólicas de β -alanina e His

Hiper- β -alaninemia.- En este trastorno se excretan por la orina grandes cantidades de β -alanina, ácido γ -aminobutírico, taurina y ácido β -aminobutírico. Las concentraciones de β -alanina y ácido γ -aminobutírico también se incrementan en plasma y líquido cefalorraquídeo.

La causa más probable de este trastorno es un defecto en la oxidación de β -alanina, debido a disminución de la actividad de la transaminasa que cataliza el paso de β -alanina a semialdehído malónico (265) (figura 34).

Manifestaciones clínicas.- Se ha reportado un paciente con letargia, somnolencia y ataques epilépticos.

Herencia.- Se sugiere herencia de tipo autosómico recesivo (266).

Diagnóstico.- Se puede emplear cromatografía de orina de acuerdo al

sistema de Dent, para detectar β -alanina y ácido γ -aminobutírico (267) (consultar apéndice o referencias).

Tratamiento.- No se ha encontrado un tratamiento eficaz. La piridoxina parece disminuir temporalmente la acumulación de β -alanina, aunque no se ha observado mejoría clínica (268).

Carnosinemia (deficiencia de carnosinasa en suero).- Este trastorno se caracteriza por persistente carnosinuria, eliminación urinaria de anserina y deficiencia de carnosinasa en suero y tejidos. Un paciente ha presentado una carnosinemia persistente y aumento del décuplo de homocarnosina en líquido cefalorraquídeo, a pesar del régimen dietético libre en carnosina.

El defecto radica en la enzima carnosinasa que normalmente hidrolisa la carnosina a His y β -alanina (269) (figura 34).

Manifestaciones clínicas.- Se ha reportado retraso mental, ataques mioclónicos, retraso psicomotor, acompañados por anomalías electroencefalográficas no específicas. Entre los hallazgos patológicos se encuentran degeneración axonal en nervios periféricos, demielinación del tracto piramidal y del tracto cerebelar, pérdida neuronal en la corteza cerebral y deterioro en células musculares.

Herencia.- El patrón de herencia no es claro, los estudios parecen sugerir herencia autosómica recesiva, sin embargo existen datos por los que no se puede excluir herencia recesiva ligada al X (270).

Diagnóstico.- Puede realizarse cromatografía bidimensional en orina para detectar carnosina y anserina (271). Para distinguir entre verdadera carnosinemia y la relativamente común carnosinemia producida por comer

grandes cantidades de carne, el paciente puede ser alimentado con carne de pollo como fuente de anserina. Si la orina de este paciente contiene 1-metilhistidina, fácilmente detectable, la deficiencia de carnosinasa es excluida. Si este compuesto no se detecta y hay presencia de anserina se trata de una deficiencia en la actividad de la carnosinasa. Esto también diferencia el trastorno de la carnosinemia producida por imidazoluria en niños con el síndrome de Spielmeier-Vogt (272).

El diagnóstico se confirma por análisis de la actividad de carnosinasa en suero (273) (consultar apéndice o referencias).

Tratamiento.- Se puede probar una terapia por reemplazo enzimático y eliminación de carnosina en la dieta (274).

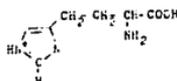
CAPITULO VII

AMINOACIDOS CON CADENA

LATERAL CARGADA

AMINOACIDOS CON CADENA LATERAL CARGADA

Histidina



Trastornos en el metabolismo de histidina.- El metabolismo de His está interconectado con el metabolismo de β -alanina y del ácido fólico. La carnosinemia, descrita dentro del metabolismo de Ala, se ha considerado en algunos casos dentro del metabolismo de His. Los trastornos que se considerarán en este trabajo serán: histidinemia y síndromes por deficiencia de formiminotransferasa.

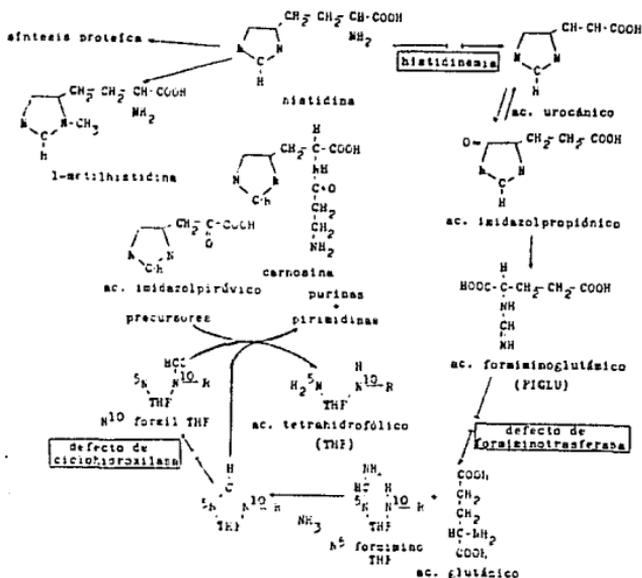


Figura 35. Vías del metabolismo de His.

Histidinemia.- En este padecimiento se acumulan grandes cantidades de His en los fluidos del cuerpo. Se han reportado concentraciones de His en plasma hasta valores de 5 a 18 mg/dl (valor normal 1 mg/dl). Cantidades aumentadas de His también se encuentran regularmente en la orina. Se han encontrado también concentraciones elevadas de Ala en sangre, disminución de la concentración de serotonina y niveles bajos de plaquetas.

El trastorno se debe a disminución en la actividad de la histidasa en hígado y en piel, esta enzima normalmente convierte la His en ácido urocánico. Cuando la His no puede ser convertida en ácido urocánico se transforma en ácido imidazolpirúvico. Se ha encontrado que la excreción de este ácido se encuentra entre 26 y 264 mg/día con un promedio de 155 mg/día. Como consecuencia del bloqueo metabólico los pacientes histidinémicos no eliminan ácido urocánico, que normalmente se elimina en pequeñas cantidades por la orina (275) (figura 35).

Manifestaciones clínicas.- Algunos pacientes muestran trastornos en el lenguaje, retraso en el desarrollo y otros retraso mental, sin embargo, algunos pacientes no muestran anomalías clínicas.

Herencia.- La histidinemia es transmitida por un rasgo autosómico recesivo (276).

Diagnóstico.- Se requiere elevada concentración de His para el diagnóstico. Se puede realizar un tamiz metabólico para aminoácidos por cromatografía en orina, donde una histidinuria hará sospechar del trastorno (277), también puede emplearse electroferograma de la orina o la prueba del cloruro férrico (278). El diagnóstico se confirma por medición de la actividad de histidasa en hígado o en epitelio córneo (279). Puesto que esta enzima no se expresa en fibroblastos el diagnóstico prenatal no

puede realizarse por cultivo de células obtenidas por amniocentesis (280) (consultar apéndice o referencias).

Tratamiento.- No se tiene un tratamiento eficaz, sólo se indica la restricción de His en la dieta para disminuir los niveles de His en los fluidos del cuerpo, aunque no las anomalías clínicas (281).

Síndromes por deficiencia de formiminotransferasa.- Los pacientes que se han reportado con deficiencia en la actividad de formiminotrasferasa, enzima que cataliza el paso de ácido formiminoglutámico (FIGLU) a N^5 -formimino tetrahidrofolato y ácido glutámico (figura 35), constituyen dos grupos diferentes tanto química como clínicamente.

Uno de ellos es el grupo de Arakawa y colaboradores que han reportado pacientes con retraso físico y mental, atrofia cortical con dilatación de los ventrículos cerebrales, electroencefalograma anormal e incremento en la excreción urinaria de FIGLU después de una carga oral de His, aunque las concentraciones de folato y cobalamina en suero fueron normales.

A pesar de que los análisis directos establecieron la pérdida parcial de la actividad enzimática, hubo suficiente actividad residual para elevar el volumen de FIGLU proveniente del catabolismo de His. Una posible explicación para este defecto ha sido considerar la relación que existe entre formiminotransferasa y ciclodeamidasa, ambas enzimas responsables de recuperar el 1-carbono. La ciclodeamidasa cataliza el paso de N^{5-10} -metilpentahidrofolato a N^{10} -formiltetrahidrofolato (figura 35). Se propuso que la actividad de ambas enzimas estaba asociada a la misma proteína y que un defecto en la primera enzima produjo una considerable pérdida en la actividad de la ciclodeamidasa (282).

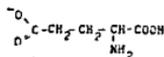
Neiderwieser y colaboradores han descrito otros pacientes con incremento en la excreción urinaria de FIGLU, algunos de ellos con un leve retraso en el lenguaje. En estos pacientes la excreción de FIGLU no fue alterada por sobredosis oral de ácido fólico, cobalamina, Ser o Gli, pero la excreción disminuyó con la reducción de His de la dieta (283).

Perry y asociados describieron otros pacientes con excreción aumentada de FIGLU en la orina, algunos con hipotonía generalizada y retraso en el desarrollo del lenguaje.

Otros pacientes similares estudiados por Russell y colaboradores exhibieron conducta hiperkinética asociada con electroencefalograma difuso, retraso en el lenguaje, excreción masiva de FIGLU, histidinemia, hipemetioninemia, moderada histidinuria y excreción de dipéptidos de His, carnosina y anserina (284).

Los pacientes descritos por Neiderwieser, Perry y Russell representan un defecto genético muy relacionado y resulta de una severa deficiencia en la actividad de formiminotransferasa lo que causa la excreción de cantidades masivas de FIGLU. Este defecto no representa efectos secundarios serios (285)

Acido glutámico



Trastornos en el metabolismo del ácido glutámico.- el ácido glutámico es un compuesto clave en el metabolismo de aminoácidos, junto con el glutatión participa en la formación de dipéptidos por medio de la síntesis cíclica en el túbulo renal y en las vellosidades intestinales, esta síntesis es conocida como ciclo γ -glutamil. Dentro de los trastornos del ciclo γ -glutamil se encuentran la aciduria piroglutámica también conocida como oxoprolinuria, la deficiencia de γ -glutamilcisteína sintetasa eritrocítica, deficiencia de γ -glutamil transpeptidasa sérica y la deficiencia de 5-oxoprolinasa, (figura 36). La aciduria γ -hidroxibutírica, puede considerarse como otro trastorno del metabolismo del ácido glutámico, independiente del ciclo γ -glutamil, (figura 36).

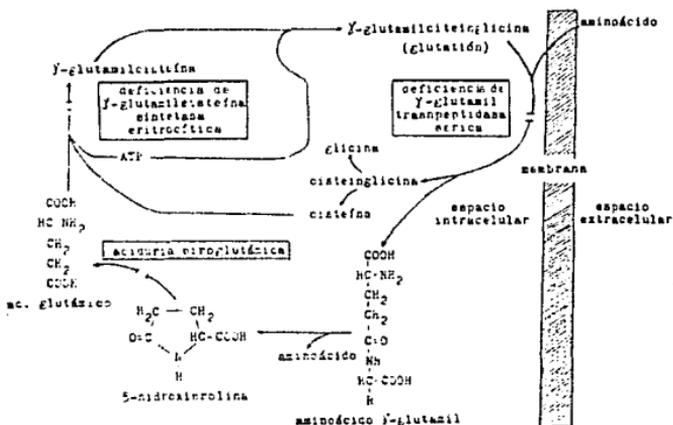


Figura 36. Ciclo γ -glutamil

Aciduria piroglutámica (5-oxoprolinuria).- Este trastorno resulta de la deficiencia de glutatión sintetasa que normalmente regula su propia síntesis por inhibición de γ -glutamilcisteína sintetasa, la deficiencia fue encontrada en eritrocitos, placenta y cultivo de fibroblastos de piel. La deficiencia de la enzima conduce a una formación incrementada de γ -glutamilcisteína que es convertida a 5-oxoprolina por acción de la δ -glutamil ciclotransferasa. La sobreproducción de 5-oxoprolina excede la capacidad de la 5-prolinasa a convertir su sustrato a Glu, por lo que el exceso de 5-oxoprolina es excretado por la orina (286) (figura 36).

Manifestaciones clínicas.- Una falla consistente en este desorden es la acidosis metabólica. En el primer paciente reportado el desorden fue detectado a lo 16 años cuando el paciente fue operado de una hernia hiatal. La acidosis metabólica puso en peligro la vida del paciente en el periodo postoperatorio. El paciente era retrasado mental, hipertónico, espástico y con alteraciones del tracto piramidal, la coordinación de movimientos estaba alterada. Otro paciente desarrolló severa acidosis metabólica a los 3 días de vida, que fue corregida con infusiones intravenosas de álcali, hubo exacerbaciones acidóticas cuando se suspendía la terapia alcalina, no hubo otras anomalías. Una hermana del paciente desarrolló persistente acidosis después de 4 horas de vida. En otro caso se presentó irritabilidad, vómito, problemas respiratorios y opistotonos a las 22 horas de vida.

Se han reportado otros pacientes con niveles reducidos de glutatión en eritrocitos, muchos han presentado incrementó en hemólisis, otros han presentado anomalías en el sistema nervioso central.

Herencia.- El desorden se transmite por un rasgo autosómico recesivo

(287).

Diagnóstico.- Este desorden se diagnostica por medición de la concentración de ácido piroglutámico en orina y determinación de la actividad de la glutatión sintetasa en eritrocitos, placenta o cultivo de fibroblastos de piel (288) (consultar apéndice o referencias).

Tratamiento.- La acidosis aguda puede ser tratada con infusión parenteral de bicarbonato de sodio. La acidosis crónica se trata oralmente con bicarbonato de sodio. La reducción de la ingestión de proteínas en la dieta no reduce la excreción de ácido piroglutámico (289).

Deficiencia de glutatión sintetasa sin aciduria piroglutámica.- Se han reportado varios pacientes con anemia hemolítica y cantidades reducidas de glutatión en eritrocitos. Estos pacientes no presentan aciduria piroglutámica. El trastorno está asociado con síntesis de glutatión sintetasa inestable, la actividad de la enzima es aparentemente suficiente en muchos tejidos, pero no sucede así en los eritrocitos donde no se lleva a cabo síntesis proteica (290).

Deficiencia de γ -glutamilcisteína sintetasa.- En este desorden se ven disminuidos los niveles de glutatina en eritrocitos hasta valores menores al 3% del valor normal. La actividad de γ -glutamilcisteína sintetasa es marcadamente deficiente (291) (figura 36).

Manifestaciones clínicas.- Los pacientes tienen un síndrome de anemia hemolítica, degeneración espinocerebral, neuropatía periférica y aminoaciduria.

Herencia.- Este trastorno presumiblemente se transmite en forma

autosómica recesiva (292).

Diagnóstico.- El diagnóstico se establece por medición del contenido de glutatión en leucocitos de sangre periférica y determinación de la actividad de la γ -glutamilcisteína sintetasa en eritrocitos (293) (consultar apéndice o referencias).

Tratamiento.- El tratamiento puede dirigirse a corregir la anemia hemolítica. Por el momento no se ha reportado tratamiento eficaz (294).

Deficiencia de γ -glutamil transpeptidasa (glutacionuria).- En este padecimiento existe una excreción urinaria incrementada y aumento en los niveles plasmáticos de glutatión. También se ha observado cistinuria y γ -glutamilcisteinuria. El trastorno se debe a deficiencia en la actividad de la γ -glutamil transpeptidasa (glutacionasa) en suero, leucocitos y fibroblastos (295) (figura 36).

Manifestaciones clínicas.- Los pacientes descritos con este desorden han sido retrasados mentales, algunos con problemas de conducta. El electroencefalograma reveló disritmia generalizada.

Herencia.- Se sugiere herencia autosómica recesiva (296).

Diagnóstico.- Puede establecerse el diagnóstico por medición de la concentración de glutatión, γ -glutamilcisteína, ácido piroglutámico (297) y determinación de la actividad enzimática en leucocitos y fibroblastos (298) (consultar apéndice o referencias).

Tratamiento.- No se han reportado formas de terapia (299).

Deficiencia de 5-oxoprolinasa.- Los pacientes con este trastorno excretan ácido piroglutámico en la orina en un rango de 29 a 71 mM/dfa y

tienen concentraciones aumentadas de 5-oxoprolina en sangre y orina. El trastorno se debe a un defecto en la actividad de la 5-oxoprolinasa (300) (figura 36).

Manifestaciones clínicas.- Dos de los pacientes reportados, que eran hermanos, presentaron enterocolitis y urolitiasis. Otro paciente fue una madre asintomática descubierta por estudios realizados en la familia de una niña prolinémica. Ninguna de estas personas presentó anomalías en la glutatión sintetasa eritrocítica, no presentaron hemolisis, acidosis o anomalías neurológicas.

Herencia.- Se ha sugerido herencia autosómica recesiva (301)

Diagnóstico.- La determinación de la concentración de 5-oxoprolina en sangre y orina, además de la presencia de ácido piroglutámico en orina pueden orientar el diagnóstico (302) que se confirma por medición de la actividad enzimática en leucocitos y fibroblastos (303) (consultar apéndice o referencias).

Tratamiento.- No ha sido descrita alguna forma de tratamiento (304).

Aciduria γ -hidroxibutírica.- En este desorden se excretan cantidades elevadas de ácido γ -hidroxibutírico, que se encuentran en el rango de 1500 a 3000 μ M/g de creatinina, también se excreta semialdehído succínico (44 a 89 μ M/g de creatinina) y ácido 3,4-dihidroxibutírico. El ácido γ -hidroxibutírico también se eleva en el líquido cefalorraquídeo. El defecto molecular se encuentra en la enzima succinilsemialdehído deshidrogenasa que convierte succinilsemialdehído en ácido succínico (305) (figura 37).

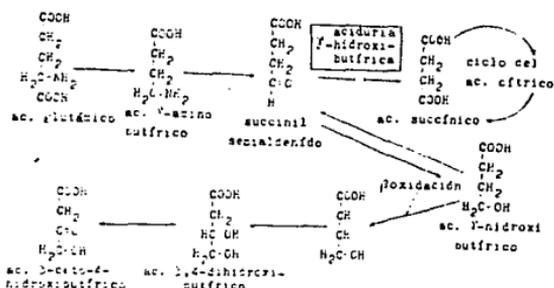


Figura 37. Ruta metabólica del ácido glutámico.

Manifestaciones clínicas.- El primer paciente reportado, un niño de 20 meses, mostró retraso en el desarrollo motriz y mental, no podía permanecer de pie, hablar o caminar. Entre los 6 y 12 meses presentó episodios convulsivos, el examen reveló ataxia y marcada hipotonía. El electroencefalograma fue anormalmente difuso. La tomografía computarizada del cerebro reveló un grado moderado de atrofia muscular. Otros pacientes han sido descritos con ataxia y retraso mental.

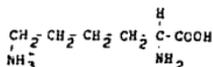
Herencia.- El desorden se hereda en forma autosómica recesiva (306).

Diagnóstico.- Puede detectarse el patrón de expresión de ácidos orgánicos usando cromatografía y espectrometría de masas (307).

El diagnóstico se confirma por medición de la actividad enzimática en linfocitos (308) (consultar apéndice o referencias).

Tratamiento.- No se ha desarrollado un tratamiento efectivo. En animales el uso de anticonvulsivos ha prevenido o corregido los cambios en el electroencefalograma y ha disminuido los niveles de ácido γ -aminobutírico en cerebro. Aún no se utiliza esta terapia en humanos.

Lisina



Trastornos en el metabolismo de lisina.- Dentro de los trastornos del metabolismo de Lis se encuentran las hiperlisinemias, la aciduria α -cetoadípica- α -aminoadípica y la aciduria hiperdibásica. Las hiperlisinemias son un grupo de tres desórdenes. En uno de ellos existe un defecto en la actividad de la Lis α -cetogluturato reductasa, en otro de ellos el paciente tiene defecto en la actividad de la Lis α -cetogluturato reductasa y en la sacaropina deshidrogenasa. En el tercer desorden existe deficiencia en la actividad de la sacaropina deshidrogenasa con actividad normal de la lisina- α -cetogluturato reductasa (figura 38).

Hiperlisinemias.- En los tres tipos de hiperlisinemia existe elevada concentración de Lis en sangre y orina. En los pacientes con deficiencia en la α -cetogluturato reductasa los niveles de Gli en sangre se encuentran en el rango de 10 a 23 mg/dl y en orina son de 3.5 mg/mg de creatinina, también se ha detectado en la orina de estos pacientes e-N-acetilisina. En los pacientes con deficiencia de α -cetogluturato reductasa y sacaropina reductasa el nivel sanguíneo de Lis se encuentra en el rango de 9 a 19 mg/dl, en estos pacientes la concentración de sacaropina en sangre y en orina se ve muy incrementada, por lo que a esta variante también se le ha designado como sacaropinuria, los niveles de sacaropina en sangre han sido de 0.69 mg/dl y en orina de 208 mg/24horas. También han mostrado elevación en la concentración de sacaropina en líquido cefalorraquídeo a

edad adulta, laxitud de ligamentos y otras, pero no se ha observado relación con las anomalías metabólicas. Por otra parte, se han reportado pacientes con hiperlisinemia sin anomalías clínicas.

Herencia.- Las 3 variantes se heredan en forma autosómica recesiva (311).

Diagnóstico.- Los trastornos son sospechados por incremento en la concentración de Lis al realizar cromatografía en papel o electroferograma de alto voltaje en orina para investigación de aminoácidos (312). Posteriormente deben realizarse análisis cuantitativos en orina y sangre para diferenciar entre las 3 variantes (313). Se debe hacer diagnóstico diferencial con hiperlisinemia debida a intoxicación por amoníaco, lo cual puede hacerse por sobrecarga oral con Lis, los pacientes con intoxicación mostrarán ataques de vómito y coma. El diagnóstico se confirma por medición de la actividad enzimática en cada caso (314) (consultar apéndice o referencias).

Tratamiento.- Existe controversia sobre si dar o no tratamiento en las hiperlisinemias. Sin embargo, se ha considerado prudente reducir la ingestión de Lis en la dieta, sobretodo en los pacientes que se han diagnosticado antes de la aparición de datos clínicos (315).

Aciduria α -cetoadípica- α -aminoadípica.- En este trastorno se excretan grandes cantidades de ácido α -aminoadípico en la orina (84 a 240 mg/24horas), la concentración en plasma se encuentra entre 0.55 y 1.01 mg/dl. El ácido α -cetoadípico también se excreta en grandes cantidades (99 a 392 mg/l), la concentración en suero ha sido de 0.55 a 0.92 mg/dl. También se excretan en orina grandes cantidades de ácido α -

hidroxiacládico, ácidó α -hidroxibutírico, ácidó glutárico y ácidó α -hidroxiglutárico. El defecto molecular se localiza en la enzima deshidrogenasa del ácidó α -cetoacládico que cataliza el paso del ácidó α -cetoacládico a glutaril CoA (316) (figura 38).

Manifestaciones clínicas.- No se sabe si las anomalías que presentan algunos pacientes se deben al defecto bioquímico, pues se han reportado pacientes asintomáticos. Las manifestaciones que se han observado han sido retraso en el desarrollo físico y mental, hipotonía, edema en el dorso de manos y pies, convulsiones, dificultad en el lenguaje.

Herencia.- Esta condición parece heredarse en forma autosómica recesiva (317).

Diagnóstico.- Puede medirse la concentración de ácidos α -aminoacládico y α -cetoacládico en orina (318) (consultar apéndice o referencias).

Tratamiento.- No se ha reportado un tratamiento específico, pero es claro que la disminución de Lis en la dieta puede ayudar a reducir la cantidad relevante de sus metabolitos excretados por la orina (319).

Hiperaminoaciduria dibásica.- Este desorden resulta de una reducción en la reabsorción tubular renal de aminoácidos dibásicos, ornitina, Arg y Lis. Se elevan los niveles séricos de transaminasa, aldolasa, deshidrogenasa láctica y fosfatasa alcalina. Existe un patrón característico subnormal de los niveles de Lis, Arg, ornitina, Leu y Tir en plasma. La excreción urinaria de Lis, ornitina, Arg y citrulina se incrementa. En algunas ocasiones se ha observado aciduria orótica, hipermetioninemia, hiperamonemia e incremento de la concentración sérica de ferritina y tiroxina (320).

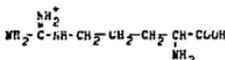
Manifestaciones clínicas.- Se presenta intolerancia a la ingestión de proteíñas, manifestándose por dificultades en la alimentación, vómitos, diarrea, crecimiento deficiente, letargia, convulsiones y coma asociados con hiperamonemia. Pueden presentarse retraso mental, hepatoesplenomegalia, osteoporosis, opacidad del cristalino, debilidad muscular, anemia normocrómica, neutropenia y trombocitopenia.

Herencia.- La forma de herencia de este trastorno es autosómica recesiva (321).

Diagnóstico.- El diagnóstico se basa en la detección de aminoaciduria dibásica sin cistinuria, daño en la absorción intestinal de aminoácidos dibásicos e intolerancia a las proteíñas (322) (consultar apéndice o referencias).

Tratamiento.- La reducción de proteíñas en la dieta y suplemento con Arg corrige la hiperamonemia e hipermetioninemia y mejora el crecimiento, pero puede causar diarrea por defectos en la absorción renal o intestinal y tiende a agravar la hipolisinemia y la lisinuria e incrementa la aciduria orótica. Sin embargo, un aumento en la cantidad de citrulina y Lis parece ser más efectivo en la corrección del patrón anormal de aminoácidos dibásicos (323).

Arginina



Trastornos en el metabolismo de arginina.- La Arg es un aminoácido importante por su participación en el ciclo de la urea. Existen trastornos en todas las enzimas que intervienen en este ciclo, sin embargo, solo se describirán dos: la aciduria arginosuccínica y la argininemia, que son los defectos más relacionados con Arg, (figura 39).

Aciduria arginosuccínica.- Es uno de los defectos del ciclo de la urea que más se presentan. El ácido arginosuccínico es excretado en grandes cantidades por la orina. El defecto se debe a deficiencia en la actividad de la arginosuccinato liasa que catalisa el paso de ácido arginosuccínico a Arg (figura 39). Los grados de deficiencia varían en los tejidos, el hígado es el más afectado (324).

Manifestaciones clínicas.- Se presentan tres tipos de aciduria arginosuccínica: el tipo neonatal, el subcutáneo y el de inicio retardado.

En el tipo neonatal los síntomas empiezan a los pocos días del nacimiento con angustia respiratoria, dificultades en la alimentación, vómitos, taquipnea, letargia, hipotonía, edema periorbital, convulsiones hipotermia, ictericia, hepatomegalia e hipercloremia. Muchos de estos pacientes murieron en el período neonatal.

En la forma subcutánea se han observado anorexia, vómitos, convulsiones, hepatomegalia que aparece en la infancia y pronunciado retraso físico y mental.

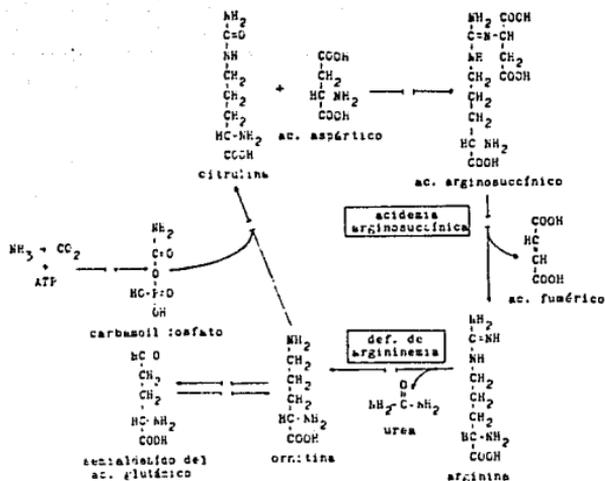


Figura 39. Vías metabólicas de la urea. Sólo se enmarcan los defectos que involucran directamente a la Arg.

En la forma de inicio tardío se ven síntomas similares a los de la forma subcutánea pero menos severos, con inicio después del periodo neonatal. La falla predominante es el aparente retraso psicomotor en el primero o segundo año de vida. Los primeros síntomas incluyen irritabilidad y episodios de vómito. Son frecuentes convulsiones y anomalías en el electroencefalograma. Algunas veces se ha observado ataxia con fiebre, letargia y tricomplex nodosa.

Herencia.- Esta condición se hereda en forma autosómica recesiva (325).

Diagnóstico.- El diagnóstico está basado en la detección colorimétrica de grandes cantidades de ácido arginosuccínico y sus

anhídridos en plasma y orina y la detección de los niveles de ácido arginosuccínico en líquido cefalorraquídeo superiores a los sanguíneos. La observación microscópica del cabello puede ser de ayuda, se observan nódulos a lo largo del pelo de pacientes con aciduria arginosuccínica (326).

Puede realizarse diagnóstico prenatal estudiando el metabolismo de citrulina marcada en células de fluido amniótico, la contaminación con micoplasma puede causar resultados erróneos. Se prefiere para el diagnóstico prenatal el uso de fibroblastos por tener una actividad superior (327) (consultar apéndice o referencias).

Tratamiento.- El tratamiento más benéfico ha resultado ser una reducción de proteínas en la dieta con suplementación de Arg. En algunos casos ha resultado exitosa la suplementación de todos los aminoácidos esenciales (328).

Argininemia.- Es de los desórdenes del ciclo de la urea menos frecuentes. Existe acumulación de Arg en sangre y en algunos casos también de ornitina. El trastorno se debe a deficiencia de la actividad de la arginasa, enzima que cataliza el paso de Arg a ornitina con formación de una molécula de urea (figura 39). También se elevan los niveles de transaminasas en suero y se presenta una moderada hiperamonemia (329).

Manifestaciones clínicas.- Se ha reportado irritabilidad, retraso en el desarrollo en la primera infancia, espasticidad de las extremidades inferiores que puede causar displejia espástica, hiperactividad, vómitos, ataxia, ataques coreoatetoides progresivos, psicosis y severo retraso mental, algunas veces con microcefalia.

Herencia.- La forma de herencia es autosómica recesiva (330).

Diagnóstico.- El diagnóstico puede hacerse por medición de la actividad de la argininasasa en eritrocitos y en hígado (331).

El diagnóstico prenatal se puede realizar por medición de la actividad enzimática en eritrocitos fetales obtenidos por amnioscintesis o por amnioscopia (332) (consultar apéndice o referencias).

Tratamiento.- Se ha tratado exitosamente a niños afectados incluyendo en la dieta una mezcla de aminoácidos esenciales (2 g/Kg/día), excluyendo Arg e incluyendo cistina y Tir como única fuente de aminoácidos durante 4 meses. Un paciente tratado con benzoato de sodio (250 mg/Kg/día) y 0.5 g de protefna/Kg/día mostró un control bioquímico satisfactorio (333).

CAPITULO VIII

IMINOACIDOS

IMINOACIDOS

Prolina



Trastornos en el metabolismo de prolina.- Se han descrito 4 padecimientos metabólicos que involucran al iminoácido Pro: la hiperprolinemia tipo I, la hiperprolinemia tipo II, la hidroxiprolinemia y la iminodipeptiduria, (figura 40).

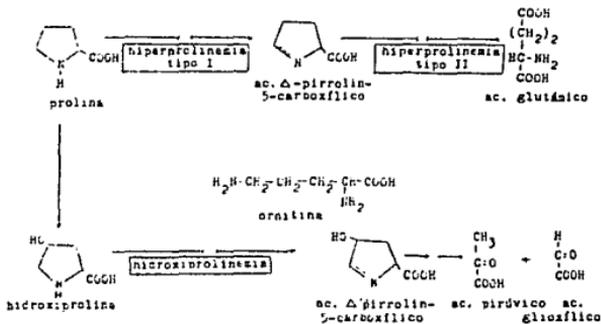


figura 40. Vías del metabolismo de iminoácidos, donde se enmarcan los defectos metabólicos.

Hiperprolinemia tipo I.- Los pacientes con este trastorno tienen concentraciones de Pro en plasma muy elevadas de 6 a 21 mg/dl (valor

normal 1.2 a 5.4 mg/dl), excreción urinaria de Gli elevada y prolinuria que se presenta cuando la concentración de Pro en plasma excede 9 mg/dl. La Pro puede permanecer normal o ligeramente elevada en líquido cefalorraquídeo. El trastorno se debe a deficiencia en la actividad de la prolina oxidasa, que cataliza el paso de Pro a ácido D'-pirrolín-5-carboxílico (334) (figura 40).

Manifestaciones clínicas.- Se han reportado disfunción cerebral, anomalías renales, nefropatía y sordera. En algunos casos se ha presentado retraso mental y hematuria.

Herencia.- El trastorno se hereda en forma autosómica recesiva (335).

Diagnóstico.- La identificación de grandes cantidades de Pro en sangre puede proveer el diagnóstico, así como la demostración de hiperprolinemia:hiperprolinuria. Se puede emplear cromatografía de intercambio iónico o un método colorimétrico (336) (consultar apéndice o referencias).

Tratamiento.- Una reducción severa en la ingestión de proteínas puede producir reducciones significativas en los niveles de Pro en plasma y reducir algunas anomalías clínicas (337).

Hiperprolinemia tipo II.- En este trastorno los pacientes tienen concentraciones de Pro en plasma superiores a los pacientes con el tipo I, generalmente tienen niveles entre 20 y 40 mg/dl. Se excretan por la orina en cantidades incrementadas ácido pirrolíncarboxílico, hidroxiprolina, Gli, ácido D-pirrolín-3-hidroxi-5-carboxílico. En algunos pacientes se ha observado la excreción de N-(pirrolín-2-carboxil)-Gli. La concentración de Pro en líquido cefalorraquídeo se incrementa a valores de 1.03 mg/dl (valor normal 0.60 mg/dl). El defecto molecular se localiza en

la enzima D-pirrolín-5-carboxilato deshidrogenasa que convierte al ácido D-pirrolín-5-carboxílico a glutamyl- γ -semialdehído (338) (figura 40).

Manifestaciones clínicas.- Se ha reportado retraso mental y ataques en algunos pacientes, sin embargo otros han mostrado pocas evidencias de esta enfermedad.

Herencia.- La forma de herencia es autosómica recesiva (339).

Diagnóstico.- Este tipo de hiperprolinemia se diagnostica por la excreción de D-pirrolín-5-carboxilato en orina, mediante reacción con o-aminobenzaldehído y ácido tricloroacético en alcohol. El ácido D-pirrolín-3-dihidroxi-5-carboxílico también reacciona con estos compuestos, por lo que los casos positivos deben analizarse después por cromatografía en columna para distinguir entre los dos compuestos (340) (consultar apéndice o referencias).

Tratamiento.- La restricción de Pro en la dieta puede ser de utilidad, aunque no se han reportado los efectos de esta terapia (341).

Hidroxiprolinemia.- Se han observado grandes cantidades de Pro en sangre 1.5-6.5 mg/dl, aproximadamente 20 a 40 veces el valor normal y en orina 285-550 mg/día. Las cantidades de Gli y Pro fueron normales y no se detectó ningún otro producto del metabolismo de hidroxiprolina. El defecto molecular no ha sido identificado, pero se presume que se trate de deficiente actividad de la hidroxiprolina oxidasa debido a la ausencia de metabolitos de Pro en la orina (342) (figura 40).

Manifestaciones clínicas.- Se ha reportado retraso mental, hematuria, piuria microscópica, riñones pequeños, corta estatura, hiperactividad y agresividad. Se ha pensado que el retraso mental en este trastorno puede

ser un hallazgo fortuito.

Herencia.- El trastorno se hereda en forma autosómica recesiva (343).

Diagnóstico.- Se puede medir la concentración de hidroxiprolina en los fluidos del cuerpo por métodos cromatográficos o colorimétricos (344). El análisis cuantitativo se obtiene por elución en cromatografía de intercambio iónico. La presencia de hidroxiprolina no constituye un diagnóstico definitivo, ya que hidroxiprolinuria e hidroxiprolinemia son normales en un grado modesto en el periodo postnatal. El examen del patrón de péptidos y la relación de la excreción péptidos/hidroxiprolina puede clarificar la naturaleza de la hidroxiprolinuria (345) (consultar apéndice o referencias).

Tratamiento.- Aún no se cuenta con una terapia eficaz, se ha observado que una dieta libre en hidroxiprolina no disminuye su concentración en los fluidos del cuerpo (346).

Iminopeptiduria.- En este trastorno existe una excreción incrementada de iminopéptidos. La glicina-prolina es uno de los compuestos que se excretan en mayor cantidad. La relación urinaria de prolina/hidroxiprolina generalmente está incrementada. Este trastorno se debe a disminución en la actividad de la prolidasa (347).

Manifestaciones clínicas.- Se han reportado úlceras recurrentes en piernas, dermatitis crónica, esplenomegalia, dermatosis eritematosa en cara, palmas y plantas de los pies, laxitud en los ligamentos, osteoporosis de los huesos largos, abdomen prominente, ptosis y protosis ocular, suturas craneales prominentes y esplenomegalia.

Herencia.- La forma de herencia parece ser autosómica recesiva (348).

Diagnóstico.- La determinación de Pro, hidroxiprolina e iminopéptidos, especialmente glicilprolina, en orina pueden orientar el diagnóstico, que se confirma por medición de la actividad de la prolidasa en eritrocitos o leucocitos (349) (consultar apéndice o referencias).

Tratamiento.- No hay información de tratamiento disponible (350).

CAPITULO IX

CONSEJO GENETICO

PREVENCIÓN: CONSEJO GENÉTICO

En toda enfermedad, pero especialmente en las enfermedades de origen genético, la prevención desempeña un papel muy importante. Ya que no se conoce con certeza el factor que desencadena una mutación, en las enfermedades metabólicas congénitas la prevención se concentra en el consejo genético.

El consejo genético es una práctica encaminada a informar y asesorar a las parejas portadoras de genes anormales, sobre el riesgo de transmitir la enfermedad a su descendencia, las limitaciones que puede causar dicha enfermedad, cómo diagnosticarla y la terapia que se puede ofrecer.

Puede darse el consejo genético en diferentes momentos, uno de ellos puede ser cuando la pareja ya ha tenido un hijo enfermo o mortinato o con historia de abortos de repetición o esterilidad. Considerando que las enfermedades autosómicas recesivas son las que se presentan con mayor frecuencia, si una pareja ya ha tenido un hijo enfermo, esto los define como portadores y el riesgo en una nueva gestación es del 25%, en estos casos se trata siempre de la indicación de una probabilidad. Esto debe indicarse a la pareja e informar que en caso de un nuevo embarazo existen formas de detección antenatal que pueden orientar el diagnóstico de la enfermedad. Otro momento del consejo genético, es cuando por medio del diagnóstico prenatal, se tiene información de un feto afectado, no se trata, como en el caso anterior, de una probabilidad aunque tampoco de una certeza total, puesto que las posibilidades de error no son tan bajas como a veces se estima, la frecuente superposición de los valores normales y anormales de las sustancias en estudio, que muestran algunas enfermedades, puede dificultar la interpretación de resultados (351).

En la actualidad existe la tendencia de asociar el diagnóstico prenatal con el aborto selectivo, esto es, en caso de encontrar un niño afectado, eliminar la enfermedad por medio del aborto. Sin embargo, algunos genetistas han manifestado su preocupación por la posibilidad de que la generalización de las manipulaciones genéticas del tipo de análisis prenatal seguido de aborto, puede provocar cambios perjudiciales en la calidad y diversidad de la dotación genética humana.

Motulsky y Neel han demostrado que los programas de análisis prenatal y aborto selectivo pueden provocar un inesperado aumento en la frecuencia de los genes responsables de algunas enfermedades, ésto aunado con la posibilidad de error de la determinación prenatal y considerando que la mayoría de los trastornos descritos cuentan con una terapia eficaz, si se administra a tiempo, sugiere el empleo del diagnóstico prenatal como herramienta para la detección temprana de las enfermedades congénitas para su posterior terapia, esto es, cuando se ha confirmado el diagnóstico después que el niño haya nacido. El genetista debe indicar lo anterior con toda veracidad, para que la pareja tome su propia decisión libre y responsable (352).

Por último se tiene el consejo genético en el caso de que, por medio de las técnicas de tamiz metabólico y detección neonatal, se ha diagnosticado un niño enfermo en parejas que ya hayan tenido o no hijos afectados. El asesor genético debe indicar la presencia de la enfermedad en el paciente, así como ofrecer la terapia disponible.

Cualquiera que sea el momento en que es solicitado el consejo genético, se debe tratar de reducir el significado de la enfermedad a sus proporciones reales, así como también reducir la tensión y en particular

el sentido de culpabilidad que muchas veces se presenta en los cónyuges, subrayando la frecuencia de afecciones de este tipo y su origen accidental en algunos casos y sobretodo se deberá ofrecer la terapia disponible, así como la orientación del enfermo hacia las estructuras de apoyo apropiadas, para que el afectado pueda tener una vida lo más normal posible, sin olvidar que todos tienen derecho a la vida y que salvaguardarla es la función principal de todos los que intervienen en el campo de la medicina. (353).

CAPITULO X

DISCUSION Y CONCLUIONES

DISCUSION Y CONCLUSIONES

Los errores congénitos del metabolismo representan enfermedades genéticas que, individualmente tienen una incidencia baja, pero como grupo representan un causa importante de morbi y mortalidad infantil, así como de abortos espontáneos. El hecho de que estas enfermedades sean hereditarias, provoca aumento de la incidencia con el tiempo, por lo cual hay que prestarles la atención debida y cosidero que el presente es un momento oportuno para ello, pues aunque no es alta la frecuencia de estos trastornos comparada con la de otras enfermedades, en los últimos años se ha visto un aumento en la incidencia de algunos de estos padecimientos.

El presente trabajo ha mostrado que los errores congénitos del metabolismo de aminoácidos tienen una expresión clínica variable, algunos de ellos ocasionan retraso mental y otras minusvalías psíquicas y físicas de mayor o menor gravedad, otros muestran signos clínicos leves. Todos ellos, afortunadamente, cuentan con una forma de diagnóstico y la mayoría con una terapia, que si bien, no siempre corrige el defecto metabólico, si proporciona una vida prácticamente normal a los pacientes. Sin embargo, hay que tomar en cuenta que para que el tratamiento sea eficaz debe iniciarse lo más pronto posible, por lo que es necesario que todas las personas que pueden intervenir en este campo. (médicos, enfermeras, químicos, psicólogos, etc.) tengan un conocimiento adecuado acerca de estos trastornos y estén concientes y preparados para detectar cuando una enfermedad puede ser un error congénito del metabolismo. Puesto que en ocasiones algunos de estos trastornos no se detectan como tales, dándose otro curso al tratamiento, que no tiene efecto terapéutico en el paciente y cuando finalmente se detecta que se trataba de un trastorno del

metabolismo ya es tarde o a veces ni siquiera se llegan a detectar, por falta de conocimientos en el médico la mayoría de los casos. Precisamente uno de los objetivos de este trabajo ha sido el de proporcionar material disponible para información y consulta de estos padecimientos, así como algunas de las técnicas de diagnóstico. También debe de saberse adonde se pueden remitir los pacientes encontrados, en el caso del Distrito Federal, el centro dedicado a diagnosticar y tratar estos trastornos es la Unidad de Genética de la Nutrición del Instituto Nacional de Pediatría.

El diagnóstico prenatal ha permitido la detección tanto de algunas enfermedades congénitas, como la detección de portadores, con lo que se ha podido tratar dichos padecimientos a tiempo, así como ofrecer el consejo genético apropiado. En la actualidad existe la tendencia de asociar el consejo genético apoyado en el diagnóstico prenatal, con el aborto, en los casos positivos. Sin embargo, no considero que sea lo más adecuado, ya que, como ya se indicó, esta práctica puede producir un aumento en la incidencia de algunos genes defectuosos. Otro punto a considerar es el factor error en las determinaciones, esto es, que no siempre un resultado positivo indica que un feto este afectado, por lo que puede estarse abortando un individuo totalmente sano, por lo tanto pienso que el diagnóstico prenatal sólo se justifica en miras al posterior tratamiento de la enfermedad y no a la eliminación del individuo afectado. Además de que el derecho a la vida es inherente de la naturaleza humana y no de las condiciones de salud del individuo.

En la actualidad las técnicas empleada en biología molecular han avanzado mucho, por lo que las perspectivas de diagnóstico y tratamiento son muy esperanzadoras de manera que pronto será posible no sólo el

diagnóstico prenatal de la mayoría o de todas las enfermedades congénitas y de otro tipo, sino también de corregir el trastorno a nivel molecular, insertando el gen normal mediante ingeniería genética. Esto ya se ha logrado efectuar con éxito para el restablecimiento del color normal de los ojos en Drosophila melanogaster mutada y para corregir el enanismo congénito en ratones con niveles reducidos de hormona del crecimiento, por lo que no hay razones para dudar que estos enfoques resulten igualmente exitosos en el humano.

CAPITULO XI

APENDICE

APENDICE

I.- Métodos generales:

A.- Tamiz metabólico.- El tamiz metabólico se realiza en orina, obtenida 2 horas después de la ingesta de alimentos ricos en proteínas, que incluyan leche. Una vez colectada la orina debe congelarse rápidamente para evitar contaminación microbiana. Para el desarrollo del tamiz primero se determina la concentración de creatinina que debe ser superior de 0.3 mg/dl, de no ser así, debe solicitarse una nueva muestra. Las pruebas que incluye el tamiz metabólico son: dinitrofenilhidrazina, cianuro nitroprusiato, nitrosonaftol, Benedict y la búsqueda, por medio de tira reactiva, de cuerpos cetónicos, bilirrubina, proteínas, sangre y medición del pH urinario. De estas pruebas solo se describirán las que se emplean para aminoácidos.

Los casos positivos deben volver a analizarse, si la anomalía persiste se realizan estudios confirmatorios y pruebas específicas, a fin de establecer un diagnóstico definitivo.

PRUEBA DE DINITROFENILHIDRAZINA

Esta prueba se utiliza para determinar la excreción de α -cetoácidos y cuerpos cetónicos, que se observa en situaciones como fenilcetonuria, enfermedad de la orina del jarabe de arce, tirosinemia, acidemia pirúvica, histidinemia, acidemia metilalónica, acidemia isovalérica.

Principio:

Los compuestos cetónicos reaccionan con 2,4-dinitrofenilhidrazina dando un precipitado amarillo o amarillo blanquecino de la hidrazona correspondiente.

Reactivos:

1. Estándar: ácido α -cetoglutarico (Sigma, USA) 100 mg% a 4°C.
2. Reactivo de dinitrofenilhidrazina. Disolver 0.7 mg de 2,4-dinitrofenilhidrazina (Merk o Sigma, USA) en 250 ml de ácido clorhídrico 1.0 N usando calentamiento, enfriar y guardar en frasco ámbar a temperatura ambiente.

Procedimiento:

1. En un tubo poner 1.0 ml de agua; en otro, 1.0 ml de solución estándar; en otro, 1.0 ml de orina.
2. A cada uno de los tubos agregar 1.0 ml del reactivo de dinitrofenilhidrazina.

Resultado:

Si en 5 minutos aparece un precipitado amarillo, la prueba es positiva.

PRUEBA DEL CIANURONITROPRUSIATO

Esta prueba es útil para detectar pacientes con cistinuria, homocistinuria y β -mercaptolactatocisteina disulfiduria.

Principio:

Los compuestos con grupos sulfhidrilo libres reaccionan con cianuronitroprusiato produciendo un compuesto colorido rojo.

Reactivos:

1. Estándar cistina (Sigma, USA), 100 mg% a 4°C.
2. Hidróxido de amonio concentrado (J.T. Baker) a temperatura ambiente.
3. Nitroprusiato de sodio (nitroferricianuro de sodio; J.T. Baker) al 5% a temperatura ambiente.
4. Cianuro de sodio al 5% en agua destilada.

Procedimiento:

1. En un tubo poner 1.0 ml de agua; en otro, 1.0 ml de solución estándar; en otro 1.0 ml de orina.
2. Poner a cada tubo una gota de hidróxido de amonio.
3. Añadir 0.4 ml de cianuro de sodio a cada tubo.
4. Dejar reposar por 3 a 5 minutos.
5. Agregar a cada tubo una gota de nitroprusiato de sodio.

Resultado:

Si aparece un color rojo granada la prueba es intensamente positiva (4⁺). Es negativa si el color es amarillo.

PRUEBA DEL NITROSONAFTOL

Esta prueba es útil para determinar la excreción de tirosina y sus metabolitos, ácido p-hidroxifenilpirúvico, ácido p-hidroxifeniláctico, ácido p-hidroxifenilacético, que aparecen en la orina en las diferentes variedades de tirosinemia.

Principio:

Los fenoles p-sustituídos que tienen la posición orto libre o con un grupo metilo reaccionan con nitroso-2-naftol produciendo un color rojo característico.

Reactivos:

1. Estándar: tirosina (Sigma, USA) 100 mg a 4°C.
2. Ácido nítrico (J.T. Baker) 2.63 N a temperatura ambiente.
3. Nitrito de sodio (J.T. Baker) al 2.5% a 4°C en agua destilada.
4. 1-nitroso-2-naftol (Lastman Organic Chemicals) al 0.1%. Disolver 100 mg en etanol al 95% y aforar a 100 ml. Guardar a 4°C en frasco ámbar. Descartar a los 2 meses.

Procedimiento:

1. En cada uno de tres tubos, poner 1.0 ml de ácido nítrico.
2. Agregar una gota de nitrito de sodio.
3. Añadir 0.1 ml del reactivo de nitrosoaftol.
4. Agregar al primer tubo 0.15 ml de agua al segundo 0.15 ml de orina y al tercero 0.15 ml de estándar.
5. Mezclar bien y observar.

Resultado:

Si dentro de los primeros 5 minutos aparece un color rojo vivo, la prueba es intensamente positiva (4⁺). Si el color permanece amarillo la prueba es negativa.

B.- Métodos confirmatorios. Estos métodos se emplean cuando el resultado de alguna prueba del tamiz metabólico ha sido positiva e incluyen cromatografía en papel, en capa fina y de intercambio iónico y electroforesis de alto voltaje. Se describirán primero las técnicas generales y posteriormente su aplicación en la determinación de aminoácidos.

CROMATOGRAFIA

Principio:

Las moléculas pueden ser separadas por su solubilidad en dos fases (cromatografía en papel, gas-líquido, en capa fina), con un factor de adsorción introducido en el material de soporte o por su estado iónico en relación al estado iónico del material de soporte (resinas de intercambio aniónico o catiónico).

Los componentes de todas las cromatografías incluyen separación y visualización de compuestos. La selección del método de separación depende del tamaño de la molécula, la solubilidad en solventes polares y no polares, la naturaleza iónica, propiedades de adsorción, volatilidad, etc.

Cromatografía en Papel Unidimensional

Preparación del papel:

Se pueden usar muchos tipos de papel, pero se recomienda el uso de papel Whatman 3 MM con longitud de 57 cm. El papel es usado como lo proporciona el fabricante, aunque en ciertas separaciones se puede lavar con los solventes propios del procedimiento. El papel es cortado en zigzag en un extremo para permitir al solvente gotear cuando el solvente frontal haya alcanzado la parte inferior del papel, (sistema descendente). La manera de manejar el papel y colocar las muestras se señala en la figura 1. Las muestras son aplicadas con una separación de una pulgada entre ellas y 2 pulgadas por debajo de la línea del papel. Los compuestos de referencia se localizan en cualquier extremo del papel.

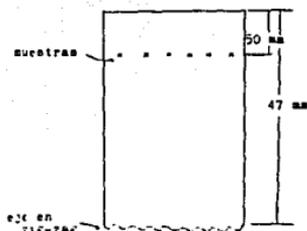


Figura 1. Preparación del papel para cromatografía unidimensional. Las muestras son espaciadas 2 cm. y se apartan 50 mm del ancho del papel.

Solvente:

La mezcla de solventes debe saturar el ambiente de todo el cromatograma antes de introducir el papel. En el caso de sistemas separados en dos fases las direcciones son dadas según la fase esté colocada a través del tanque o en el fondo del mismo. La temperatura en el cromatograma y en el ambiente exterior circundante debe ser constante.

Procedimiento:

1. Aplicar la muestra en el papel de modo que la mancha tenga un diámetro menor de 5 mm. Usar una corriente de aire o de nitrógeno, caliente o frío (según la estabilidad del compuesto), para acelerar el secado del solvente. Es aconsejable cubrir el papel dejando expuesta solo el área de aplicación de la muestra, a fin de minimizar la contaminación.
2. Colocar una mecha en un extremo del papel y meter en la cubeta. Poner una barra soporte para mantener el papel fijo y desarrollar el sistema en relación al solvente frontal (Rf) o en relación al movimiento del compuesto conocido (Rt).
3. Remover el papel del cromatograma y secar rápidamente (con aire tibio si lo permite la estabilidad del compuesto) para remover los solventes.
4. Teñir el papel rociando o goteando un reactivo que pueda detectar el compuesto desado. Es aconsejable observar el cromatograma bajo luz ultravioleta de corta y larga longitud de onda antes y después de teñir.

Nota.- La obtención de movilidades similares con o sin la mezcla de los materiales auténticos, no constituye una prueba inequívoca de identidad.

Cromatografía en Papel Bidimensional

Preparación del papel:

El papel (47 x 57 cm) se marca como lo muestra la figura 2. Después de la primera fase del desarrollo (I), la mecha original (2 pulgadas de papel) y el extremo que contiene los compuestos de referencia, se cortan. Una nueva mecha se une en el extremo que tuvo los compuestos de referencia.

Procedimiento:

1. Aplicar la muestra y el compuesto de referencia (C1) en el lugar mostrado en la figura 3. Después del desarrollo de la fase (I) secar rápidamente el solvente.
2. Preparar el papel para el desarrollo de la segunda fase y aplicar los compuestos de referencia (C2) como lo muestra la figura 3.
3. Desarrollar la segunda fase (II) y una vez terminada secar al aire rápidamente.
4. Teñir el cromatograma y la zona de referencia de la fase (I).

Electroforesis y Cromatografía en Papel

El papel, que es del mismo tamaño que el usado en la cromatografía bidimensional, se marca en el lugar de aplicación de las muestras en una línea de 4 pulgadas y paralela al extremo angosto. La localización de la muestra en esta línea puede ser 1/3 de la longitud del papel al ánodo. El papel en la primer fase es tratado de la misma manera que en la electroforesis de alto voltaje, después del desarrollo se seca al aire rápidamente y se cromatografía en la segunda fase en un ángulo de 90 grados a la dirección de electroforesis.

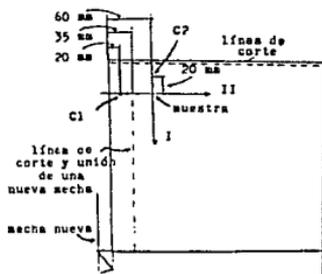


Figura 2. Preparación del papel para cromatografía bidimensional. La primera dimensión (I) se desarrolla con la mecha localizada en la parte superior del papel, después de desarrollado se corta la mecha y la línea. El extremo izquierdo que contiene el estándar-1 (C1) se corta y se une otra mecha en la posición indicada. El estándar-2 se aplica en la posición C2 y se desarrolla el cromatograma perpendicularmente a la primera dirección.

CROMATOGRAFIA EN CAPA FINA

Material y reactivos:

1. Cromatoplaque de celulosa de 20 x 10 cm.
2. Isopropanol al 70%
3. Soluciones patrón de aminoácidos: 0.5 mg/ml.

Sistema:

n-Butanol/acetona/ácido acético/agua = 35:35:10:20.

Revelador:

En 100ml de etanol al 70% se disuelven 200 mg de ninhidrina y 100 mg de isatina.

Nota.- Para cada cromatoplaque se necesitan 10 ml de esta solución y adicionados extemporáneos de 0.1 ml de colidina.

Procedimiento:

1. Sobre un vidrio de 20.5 cm se coloca, a 1 cm aproximadamente de uno de los bordes, una tira de papel adhesivo, por ambos lados. Sobre dicho papel se depositan discos de 6 mm de diámetro, distantes 1 cm entre sí, de los patrones y las muestras, obtenidos con una perforadora.

2. Se coloca el vidrio sobre la cromatoplaqa, de tal forma que los discos queden en contacto con la celulosa, se sujetan con dos gomas y se introducen en un tanque cromatográfico de 22 x 22 x 10 cm que contiene isopropanol.
3. Se saca la cromatoplaqa, dejando las muestras 12 minutos más en contacto con la placa, para que sea total la elución de aminoácidos de los discos a la superficie de celulosa. Se quitan las gomas, se separa el vidrio que soporta los discos y se deja secar la placa.
4. Se desarrolla el movimiento ascendente unidimensional en el sistema n-butanol/acetona/ácido acético/agua, durante 1 hora dos veces consecutivas.
5. Al terminar el desarrollo cromatográfico se seca la placa con aire frío hasta la eliminación total del disolvente. Se tiñe con el revelador y se introduce en una estufa a 120°C durante 3 minutos.

Resultado:

Comparar el corrimiento de las muestras con el de los patrones conocidos y observar la tabla de colores producidos en la técnica de teñido secuencial.

CROMATOGRAFIA DE INTERCAMBIO IONICO

Preparación de la columna y la resina:

1. Las resinas de intercambio aniónico y catiónico son cargadas antes de usar. La resina se lava con un ácido fuerte (generalmente HCl 2M), luego con agua y por último con un álcali fuerte (generalmente NaOH 2 M). La operación se repite, lavando hasta que el agua no sea muy ácida o alcalina. El estado iónico de la resina es determinado por los materiales usados, por ejemplo: si la última solución empleada para lavar una resina de intercambio aniónico (Dowex 1) fue NaCl la resina quedará clorada (Dow 1, Cl⁻) y en el caso de una resina de intercambio catiónico, ésta quedará de la forma (Dow 50, Na⁺).
2. En algunas ocasiones la muestra a aplicar requiere que la columna sea equilibrada con el amortiguador de la muestra. Por esto se hace la resina y el amortiguador se pasa a través de la columna hasta que la composición del efluente sea la misma del amortiguador (en parámetros tales como pH, concentración del ion específico, etc.).

Procedimiento:

1. Aplicar la muestra en la parte superior de la columna, mantener la superficie anterior de la resina en el líquido.
2. Lavar la columna con agua o un amortiguador especificado para remover todos los componentes que no se adhirieron a la resina.

3. Eluir la columna por medio de gradiente, usando la solución especificada y colectar las fracciones a la velocidad específica de descenso.
4. Seguir el proceso, determinar la presencia del compuesto por medio de reacciones, espectrofotometría, radioactividad, actividad enzimática, etc.

ELECTROFORESIS DE ALTO VOLTAJE

Principio:

Las moléculas cargadas o ionizadas migran por un material de soporte amortiguado en un gradiente de potencial. La movilidad depende de las características de la molécula, como carga neta, tamaño, conformación; de funciones externas, como la viscosidad y capacidad (composición y tipo) del material de soporte; de la fuerza iónica del amortiguador, de la temperatura y del gradiente de potencial. El material de soporte puede ser papel, fibra de vidrio, gel (sílica, agar, etc) y polímeros sintéticos (acetato de celulosa, poliacrilamida, etc.). El amortiguador se selecciona por su rango óptimo para las condiciones de separación.

La electroforesis de alto voltaje se define como el proceso que requiere un gradiente de potencial superior a 20 volts/cm.

Reactivos:

1. Amortiguador: piridina: piridina/ácido acético/agua = 2:8:90 a pH de 3.8.
2. Equipo: sistema Vanguard de alto voltaje.
3. Refrigerante (Varsol -Standard Oil Company-): mantener a una temperatura constante en la celda.

Procedimiento:

1. Aplicar la muestra (0.1 mol de cada aminoácido, péptido, etc.) al papel en una línea perpendicular a la longitud y localizada a 1/2 de la longitud del papel al ánodo.
2. Aplicar el amortiguador al papel con un pincel, remover el exceso con papel filtro.
3. Colocar el papel en el soporte.
4. Colocar el soporte en la celda de alto voltaje, de tal manera que los extremos del papel hagan puente entre el electrodo y el amortiguador.
5. Aplicar un gradiente de potencial superior a 20 volts/cm y mantener por el tiempo necesario. Los aminoácidos se separan en 20-30 minutos.
6. Remover el soporte de la celda y secar el papel rápidamente al aire.
7. Teñir con el reactivo apropiado para los compuestos a identificar.

Nota.- El gradiente de potencial empleado en la electroforesis de alto voltaje produce calor que puede ser eliminado por refrigeración en el medio de intercambio de calor (varsol).

RADIOACTIVIDAD

Sistema líquido de centelleo

Principio:

Las partículas beta son liberadas de la radioactividad del carbono (^{14}C) causando fluorescencia en un líquido de centelleo cuando una partícula choca con el fósforo. La desintegración puede ser contada por el número de rayos de luz producidos en un tiempo dado.

Reactivos:

1. Solución atrapante de $^{14}\text{CO}_2$: etanolamina/éter etilenglicol monometilo = 1:2 (v/v).
2. Solución de centelleo: 0.55 g de 2.5-difeniloxazol en 100 ml de una mezcla de 2 volúmenes de tolueno y 1 volumen de éter etilén glicol monometilo.
3. La solución atrapante en incubación produce $^{14}\text{CO}_2$ que es cuantitativamente transferido a 15 ml de solución de centelleo contenida en un frasco para centelleo. La solución atrapante no contiene radioactividad y es usada como fondo.
4. Los frascos son colocados en el sistema de centelleo y se dejan entibiar a 35°C . Un frasco que contenga una cantidad conocida de radioactividad ^{14}C es usado para determinar la eficiencia del aparato.
5. El sistema de centelleo que es colocado a la máxima eficiencia de conteo para ^{14}C , se programa para contar las muestras por 2-10 minutos y registrar la cuentas/minuto.

Nota.- La figura muestra la manera de atrapar el $^{14}\text{CO}_2$, durante la incubación. El tamaño de los componentes puede variar de acuerdo a las necesidades de incubación y a los materiales disponibles.

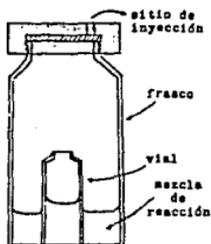


Figura 3. El montaje para la incubación, consiste en un frasco que contiene la mezcla de incubación y un vial en el frasco para atrapar el $^{14}\text{CO}_2$ (etanolamina/éter etilenglicol monometilo). El tapón del frasco, que tiene un sitio para inyección, es ajustado con un hule engomado para cerrar herméticamente.

AMINOACIDOS

Cromatografía de intercambio iónico

Fracción cuantitativa

Principio:

La identificación y cuantificación de aminoácidos y compuestos que reaccionan con ninhidrina están basadas en la adsorción en resina polisulfónica, elución con ión hidrógeno y cationes, reacción con ninhidrina, estimación de la absorción del púrpura de Ruhemann y reconocimiento de la absorción como función del volumen del fluido eluido.

Reactivos:

1. Amortiguador de citrato de sodio: 0.067 M, pH 3.28;
0.130 M, pH 4.25 o 4.28.
2. Resina de intercambio catiónico: columna (A) de 50 cm, tipo 50A, para aminoácidos básicos; columna (B) de 150 cm, tipo 150B, para aminoácidos básicos y neutros.
3. Mezcla estándar de calibración de aminoácidos: 2.5 $\mu\text{moles/ml}$.

Procedimiento:

- | columna | primer estado | | segundo estado | |
|---------|--------------------|-----------------------|--------------------|-----------------------|
| | amortiguador y pH | volumen y temperatura | amortiguador y pH | volumen y temperatura |
| A | 0.130 M
pH=4.25 | 340 ml
30°C | 0.130 M
pH=4.28 | 700 ml
50°C |
| B | 0.067 M
pH=3.28 | 300 ml
30°C | 0.067 M
pH=4.25 | 700 ml
50°C |
2. Los detalles de preparación de reactivos y la operación y programación del analizador automático de aminoácidos se dan en el manual de instrucciones, AIM-2 para modelo 120-B de analizador de aminoácidos (División Spinco, Beckman instruments).

Resultado:

La figura 4 muestra el patrón de elución para aminoácidos.

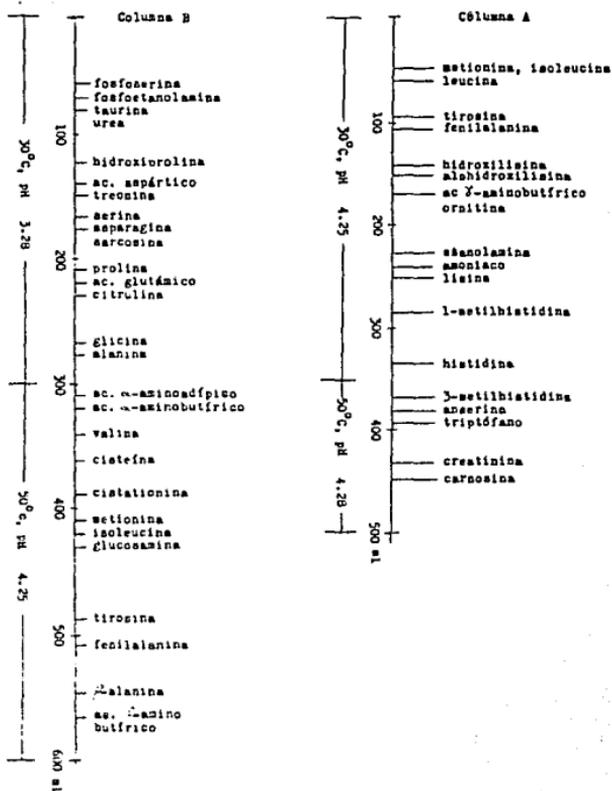


Figura 4. Patrón de elución de aminoácidos por cromatografía de intercambio iónico.

α -aminoácidos

(ninhidrina-hidrindantina)

Principio:

Los aminoácidos son oxidados y decarboxilados con ninhidrina, dando amoníaco y bióxido de carbono. El amoníaco reacciona con hidrindantina y ninhidrina dando el púrpura de Ruhemann.



Reactivos:

1. Reactivo de ninhidrina-hidrindantina: Mezclar un volumen de solución de ninhidrina-hidrindantina (25 g de ninhidrina y 4 g de hidrindantina en 1 lt de metil celusolve) y 1 volumen de amortiguador de citrato de sodio 4 M a pH 5.5.
2. Estándares de aminoácidos: 0, 1.0, 5.0 y 10.0 mM de glicina en una solución que contiene 75 mg de albúmina sérica bovina/ml.

Procedimiento:

1. Preparar un sobrenadante libre de proteínas a partir de 5 μ l de suero, usando 100 μ l de ácido tungstico 1%. Centrifugar. Usar 5 μ l de agua como blanco y 5 μ l de cada solución estándar de aminoácidos.
2. A 5 μ l de sobrenadante, adicionar 25 μ l de NaOH 1 M y rociar con nitrógeno por 4 minutos para remover el amoníaco. adicionar 25 μ l de HCl 1 M.
3. Adicionar 100 μ l de reactivo de ninhidrina e incubar a 100^oC por 15 minutos. Enfriar.
4. Leer la absorción a 440 nm.

Nota.- La determinación puede ser confirmada cuantificando el CO₂ en la mezcla de reacción. Para la reacción usar, el vial con el tapón de hule.

Los compuestos no aminoácidos, tales como ácido β -aminobutírico, etanolamina, taurina, β -alanina, etc. producen color con ninhidrina.

Resultado:

Normal 0.37 ± 0.03 mmol/dl de suero o plasma

25.3 ± 9.4 mmol/día de orina

0.077 ± 0.016 mmol/dl de líquido cefalorraquídeo.

Cromatografía en Papel y Electroforesis

(teñido y derivados)

La separación rápida de compuestos es la primera fase en la identificación y una reacción de amplio espectro, como la de la ninhidrina, para una clase de compuestos provee la evidencia de cierto tipo de sustancias y de modo general de su cantidad. Por lo que esta sección se ha dividido en tres partes: La primera incluye los sistemas de cromatografía en papel unidimensional y bidimensional y electroforesis de alto voltaje con cromatografía. En la segunda parte se detectan las manchas de grupos estructurales. Y en la tercera parte se incluyen los derivados, tales como los compuestos dinitrofenol.

SISTEMAS DE SEPARACION

unidimensional:

- a) acetato de etilo/piridina/agua = 2:1:1
- b) n-butanol/ácido acético/agua = 4:1:5

bidimensional:

- a) I. Metanol/piridina/agua = 80:40:2
- II. t-Butanol/metiletilcetona/dietilamina = 440:40:20:4
- b) I. n-Butanol/ácido acético/agua = 4:1:5
- II. m-Cresol/fenol = 1:1, el papel se satura con amortiguador de borato 0.1 M a pH 9.3, se deja secar.
El sistema Redfiel separa los aminoácidos neutros, alifáticos de cadena corta, mientras que el sistema Levy separa los aminoácidos básicos de los acídicos.

Electroforesis de alto voltaje y cromatografía.

- I. Piridina/ácido acético/agua = 10:4:86, pH = 5.3, 30v/cm, 20°C.
- II. Metanol/piridina/agua = 80:40:2
- III. t-Butanol/metiletilcetona/dietilamina = 440:40:20:4.

La composición del amortiguador para electroforesis de alto voltaje puede ser alterado para alcanzar el pH deseado. La localización del origen dependerá del pH, los aminoácidos se moverán más rápido al cátodo conforme el pH disminuya. La tercera fase (III) y la dimensión pueden realizarse ligando una mecha al extremo donde estaba el ánodo de electroforesis (I).

Teñido secuencial

Reactivos:

1. Ninhidrina: 200 mg en 100 ml de acetona.
2. Isatina: 200 mg en 100 ml de acetona.
3. Reactivo de Ehrlich: 1 g de p-dimetilaminobenzaldehído en 90 ml de acetona y 10 ml de HCl concentrado.
4. Reactivo de Sakagushi: Reactivo 1: 100 mg de 8-hidroxiquinoleína en 100 ml de acetona. Reactivo 2: 0.2 ml de bromina en 100 ml de NaOH etanólico 0.5 M.
5. Reactivo de Pauly: Reactivo 1: mezclar un volumen de p-anisidina 80 mM en HCl 0.11 M en acetona y un volumen de nitrito de amilo 1 M en acetona. Reactivo 2: KOH alcohólico 0.10 M.

Procedimiento:

1. Sumergir el cromatograma en ninhidrina, calentar a 105°C por 1-2 minutos. Marcar las manchas de ninhidrina.
2. Sumergir el cromatograma en isatina, calentar por 2 minutos a 105°C o por 15 minutos a 65°C. Indicar los colores.
3. Sumergir en el reactivo de Ehrlich, dejando a temperatura ambiente por 2-15 minutos. Notar los colores.
4. Sumergir el cromatograma en el reactivo 1 de Sakagushi, secar al aire y sumergir en el reactivo 2. Notar los colores.
5. Sumergir en el reactivo 1 de Pauly, secar al aire y sumergir en el reactivo 2. Indicar los nuevos colores.
6. Finalmente sumergir en el reactivo 1 de α -nitroso- β -naftol (α N β N) y secar al aire. Rociar con HNO₃ y calentar a 100°C por 3 minutos. Observar los colores.

Resultado:

Colores obtenidos con la técnica de teñido secuencial.

Aminoácido	Ninhidrina	Isatina	Erhlich	Sakagushi	Pauly	*N N
Arginina	P	V	--	AnRj	-	-
Aspartato	Az	Az1	-	-	-	-
Glutamato	P	V	-	-	-	-
Citrulina	P	V	An	-	A	-
Cisteína	Al	Al	-	-	An	-
Histidina	P	Az	-	-	Rjo	-
Prolina	A	Az*	VA	-	-	-
Hidroxiprolina	A	Az	VA	-	-	-
Triptófano	P	V	PO	-	Rjo	-
Tirosina	P	Az	-	-	R	Rj
Glicina	P	V	-	-	-	-
Valina	P	-	-	-	-	-

Abreviaturas: P = púrpura, A = amarillo, Az = azul, V = violeta, Az1 = azul ligero, VA = violeta-amarillo, Po = púrpura oscuro, R = rosa, Rj = rojo, An = anaranjado, AnRj = anaranjado-rojo, Rjo = rojo oscuro, Al = Alhucema.

*cuando se aplica el reactivo de Erhlich sobre isatina o ninhidrina, la hidroxiprolina se torna púrpura y la prolina cambia a color amarillo.

Teñido individual

Fenilalanina

Reactivo:

Ninhidrina (como en el caso anterior): NaHCO_3 1.2 M a pH 9.3.

Procedimiento:

Sumergir el cromatograma en ninhidrina y calentar a 110°C por 5 minutos, rociar con NaHCO_3 y calentar a 110°C por 5 minutos.

Resultado:

La fenilalanina libre cambia de púrpura con ninhidrina a azul cuando se sumerge en álcali.

Glicina

Reactivo:

o-ftalaldehído: 0.2 g en 100 ml de acetona.

Procedimiento:

Sumergir el cromatograma en el reactivo y calentar a 50°C por 10 minutos, observar la fluorescencia con o sin luz ultravioleta (365 nm).

Resultado:

La glicina produce fluorescencia verde en la luz del día y en la luz ultravioleta. Histidina y triptófano dan fluorescencia amarilla bajo la luz ultravioleta, los indoles no producen fluorescencia. Cuando el cromatograma es rociado secuencialmente con KOH alcohólico al 1%, calentado a 50°C por 10 minutos seguido por calentamiento a 110°C por 10 minutos. La taurina produce fluorescencia roja.

Cisteina

Reactivo:

Nitroprusiato: Reactivo 1: Disolver 1.5 g de nitroprusiato de sodio en 5 ml de H₂SO₄ 1 M; adicionar 95 ml de alcohol etílico y 10 ml de NH₄OH concentrado, filtrar. Reactivo: NaCN 0.4 M.

Procedimiento:

1. Sumergir el cromatograma en el reactivo 1 de nitroprusiato y observar el color.
2. Rociar con NaCN.

Resultado:

Los compuestos azufrados producen un color rojo brillante en un fondo amarillo o verde. Después de rociar con NaCN los compuestos disulfurados producen manchas rojas.

Nota.- La arginina es anaranjada en un fondo amarillo cuando se trata con nitroprusiato de sodio y se torna verde-gris cuando el fondo se transforma a verde.

Procedimiento de tamiz aplicado a sangre

Principio:

Los aminoácidos son fraccionados por cromatografía en papel, teñidos con ninhidrina y teñidos por secciones con reveladores específicos para la identificación posterior de los aminoácidos.

Reactivos:

1. n-Butanol/ácido acético/agua = 12:3:5 (sistema ascendente).
2. Reveladores: Isatina, ninhidrina, reactivo de Erlich y reactivo de Pauly (ver método de teñido secuencial).
3. Estándares de aminoácidos (referencia): fenilalanina, leucina, tirosina, prolina, hidroxiprolina, citrulina, arginina, metionina, glicina, histidina, cada uno en una concentración de 100 μ moles/dl de solución conteniendo 7.5 g de albúmina sérica bovina.

Procedimiento:

1. Aplicar 10 μ l de suero en manchas de menos de 5 mm de diámetro. Usar 10 μ l de la mezcla de aminoácidos como referencia.
2. Desarrollar el sistema ascendente por 16 horas a la temperatura del cuarto.
3. Secar el papel, rociar ninhidrina y calentar a 100°C por 5 minutos. Observar las manchas amarillas (prolina e hidroxiprolina). Encerrar en un círculo todas las manchas producidas por ninhidrina. Usar isatina en vez de ninhidrina para teñido diferencial.
4. Sumergir el cromatograma en reactivo de Erlich y secar al aire. La hidroxiprolina es roja y la citrulina es rosa azulada.
5. Sumergir el cromatograma en reactivo de Pauly, secar al aire y rociar con KOH alcohólico. La histidina es roja.

III.- Métodos específicos. Estos métodos se emplean para confirmar los resultados obtenidos por los métodos anteriores.

PRUEBA DEL CLORURO FERRICO

Principio:

Los iones férricos combinados con fenoles o enoles alifáticos producen un complejo colorido.

Reactivos:

Cloruro férrico 0.6 M.

Procedimiento:

Mezclar una gota del material de prueba con una gota de cloruro férrico.

Resultado:

sustancia	color producido con:	
	cloruro férrico	Phenistix
ácido fenilpirúvico	verde o azul-verdoso eventualmente cambia a amarillo,	gris-verdoso o amarillo verdoso max. 1 min.
ácido p-hidroxifenilpirúvico	verde, cambia rápidamente.	verde, cambia en segundos.
ácido o-hidroxifenilpirúvico	inicialmente rojo-café se torna verde o azul	verde, max a 1 min.
ácido o-hidroxifenilacético	color malva.	malva pálido.
ácido acetoacético	rojo o rojo-café	color añil.
ácido pirúvico	amarillo fuerte o verde.	amarillo oro.
ácido homogentísico	azul o verde, cambia rápidamente.	color añil
enfermedad de la orina del jarabe	gris-verdoso.	color añil.

FENILALANINA

Método espectrofluorométrico

Principio:

La fluorescencia del complejo fenilalanina-ninhidrina-cobre es aumentada por L-leucil-L-alanina.

Reactivos:

1. Amortiguador ninhidrina-péptido. Al momento de usar, mezclar 5 volúmenes de amortiguador de succinato 600 mM a pH 5.88 con dos volúmenes de solución de ninhidrina 30 mM y un volumen de solución de L-leucil-L-alanina 5 mM.
2. Cobre. Al momento de usar, mezclar 3 volúmenes de carbonato de sodio 25 mM conteniendo 0.39 mM de sal de Rochelle ($\text{NaKC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) con 2 volúmenes de sulfato de cobre 0.60 mM ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$).
3. Acido tricloroacético 0.6 M.
4. Estándar de fenilalanina: 0, 0.1, 0.5, 1.0 y 2.0 mM en una solución de 7.5 g de albúmina sérica bovina en 100 ml.

Procedimiento:

1. Adicionar 25 μl de suero a 25 μl de TCA; mezclar y dejar reposar por 10 minutos. Usar 25 μl de albúmina sérica bovina como blanco y 25 μl de cada solución estándar de fenilalanina.
2. Centrifugar a 5000-6000 g por 5 minutos.
3. A 20 μl del sobrenadante de cada solución adicionar 300 μl de amortiguador ninhidrina-péptido, mezclar e incubar a 60°C por 2 horas.
4. Enfriar por inmersión en agua fría, adicionar 2.0 ml de cobre y mezclar.
5. Determinar la fluorescencia relativa a 515 nm, usando una longitud de onda de 365 nm después de ajustar la sensibilidad del espectrofotofluorometro a que el estándar de fenilalanina de 0.5 mM produzca una fluorescencia de 5.0.

Nota.- El pH del amortiguador debe ser el mismo (pH = 5.88) para cada preparación, puesto que la fluorescencia de fenilalanina-ninhidrina activada por leucilalanina es dependiente del pH, por ejemplo; a pH 5.5, la fluorescencia relativa es el 65% de la obtenida a pH 6.0.

Resultado:

Recién nacidos 13.1 \pm 3.2 $\mu\text{moles/dl}$ de sangre

Fenilcetonúricos 180.5 \pm 30.2 $\mu\text{moles/dl}$ de sangre

1 μmol de fenilalanina = 165 μg .

ACIDO P-HIDROXIFENILPIRUVICO

Principio:

El grupo fenólico reacciona con iones mercurio (reacción de Millon) para dar un compuesto quelado colorido.

Reactivos:

1. Eter dietilo: libre de peróxido. Preparar por lavados con sulfato ferroso diluido y lavar dos veces con agua.
2. Sulfato mercúrico: 15 g en 100 ml de ácido sulfúrico 3 M.
3. Acido sulfúrico 3 y 3.5 M.
5. Acido p-hidroxifenilpirúvico (p-HPPA): 0, 0.25, 0.50 y 1.00 mM.
6. Acido homogentísico 0, 0.25, 0.50 y 1.00 mM.

Procedimiento:

1. Mezclar 1 ml de orina con 100 ml de éter y adicionar 1 ml de ácido sulfúrico 3 M. Usar 1 ml de cada solución de p-HPPA y ácido homogentísico como estándar.
2. Mezclar y transferir 5 ml de la fase etérea a 5 ml de agua. Remover el éter con nitrógeno líquido y ajustar el volumen a 5 ml. Tomar una alícuota para la determinación de p-HPPA y ácido homogentísico.
3. Adicionar 0.2 ml de ácido sulfúrico 3.5 M a 2.5 ml de la alícuota y añadir 0.5 ml de sulfato mercúrico.
4. Calentar a 100°C por 8 minutos, enfriar y leer la absorción a 500 nm (blanco).
5. Adicionar 20 µl de nitrito de sodio, reposar 4 minutos a la temperatura del cuarto y leer la absorción a 500 nm (muestra).

Nota.- El extracto etéreo puede ser usado para la determinación de ácido homogentísico (ver procedimiento correspondiente).

TIROSINA

Fluorescencia con α -Nitroso- β -Naftol

Principio:

La tirosina reacciona con α -nitroso- β -naftol para dar un complejo colorido, que en la presencia de ácido nítrico es convertido en un compuesto amarillo fluorescente.

Reactivos:

1. α -Nitroso- β -naftol: 12 mM en alcohol etílico, filtrar.
2. Acido nítrico/nitrito de sodio: NaNO₂ en HNO₃ diluido (adicionar 1 volumen de HNO₃ a 4 volúmenes de agua).
3. Acetato de etilo: saturado con agua.
4. Solución de tirosina: 0, 0.5 y 1.0 mM (antes de llegar al volumen final, adicionar HCl 6 M para solubilizar la tirosina).
5. Acido tricloroacético 1.2 M (TCA).

Procedimiento:

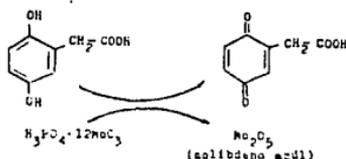
1. A 20 μ l. de suero adicionar 20 μ l de TCA, mezclar y centrifugar a 5000 g por 5 minutos. Usar 20 μ l de cada solución de tirosina estándar.
2. Adicionar 20 μ l de cada sobrenadante a 50 μ l de reactivo nitroso. Mezclar e incubar a 33°C por 30 minutos.
3. Adicionar 1.0 ml de agua y 4 ml de acetato de etilo; mezclar y clarificar por centrifugación.
4. Transferir la fase acuosa a una celda de cuarzo y dejar reposar 1 hora a la temperatura del cuarto.
5. Determinar la fluorescencia relativa a 570 nm, usando una longitud de onda de excitación de 460 nm.

Nota.- La tiramina reacciona con los fenoles p-sustituídos (o-insustituídos).

ACIDO HOMOGENTISICO

Principio:

El ácido homogentísico reduce el ácido fosfomolibdico a molibdeno azul.



Reactivos:

1. Acido tricloroacético 600 mM (TCA).
2. Sulfato de plata 160 mM.
3. Cloruro de sodio 1.4 M.
4. Fosfato diácido de potasio 75 mM (KH_2PO_4).
5. Acido sulfúrico 3M.
6. Solución de bisulfito/sulfito: disolver 1.5 g de bisulfito de sodio y 50 mg de sulfito de sodio en 10 ml de agua.
7. Molibdato de amonio 250 mM en ácido sulfúrico 2.5 M.
8. Estándar de ácido homogentísico: 0, 2.5 y 5.0 μ moles/ml.
9. Acido p-hidroxifenilpirúvico (p-HPPA): 0, 2.5 y 5.0 μ moles/ml.

Procedimiento:

1. Mezclar 0.4 ml de orina con 0.4 ml de TCA y 0.4 ml de sulfato de plata, mezclar y añadir 0.4 ml de cloruro de sodio. Mezclar y usar como blanco. Emplear 4 ml de p-HPPA o de solución de ácido homogentísico como estándar.
2. A 0.4 ml del sobrenadante adicionar 0.8 ml de agua, 10 ml de éter y 1 ml de ácido sulfúrico 3 M. Remover 8 ml de la fase etérea.
3. Adicionar la fase etérea a 3 ml de agua y remover el éter con nitrógeno líquido. Ajustar el volumen a 4.0 ml y tomar alícuotas de 2 ml, una para determinación de p-HPPA y la otra para los pasos siguientes.
4. Adicionar 0.2 ml de molibdato de amonio, 0.2 ml de fosfato diácido y 1.0 ml de la mezcla bisulfito/sulfito. Dejar reposar a temperatura ambiente por 10 minutos.
5. Determinar la absorción a 660 nm.

Nota. Los sulfuros, que dan un color verde intenso, son removidos por el sulfato de plata, la turbidez producida por las proteínas es removida con TCA. El ácido p-hidroxifenilpirúvico también reacciona con el ácido fosfomolibdico y por lo tanto puede ser determinado (siguiendo el procedimiento anterior) y debe ser sustraído para determinar los valores de ácido homogentísico en orina.

Resultado:

El ácido homogentísico normalmente no está presente en la orina.

Identificación

Cromatografía en papel:

Sistema: n-butanol saturado con agua y algunas gotas de ácido fórmico.

Revelador:

baño de nitrato de plata amoniacal por 5 minutos; aclarar con tiosulfato de sodio 1 M hasta que el color se vuelva blanco.

Resultado:

Manchas negras en un fondo blanco.

Prueba del cloruro férrico

Resultado:

Violeta.

ACIDO QUINURENICO Y ACIDO XANTURENICO

Método Espectrofluorométrico

Principio:

Los ácidos quinurénico y xanturénico son aplicados a una columna de intercambio catiónico y separados de sus materiales fluorescentes por elución diferencial. Los dos compuestos son estimados por sus característica fluorescentes en ácido y álcali.

Reactivos:

1. Acido clorhídrico: 0.2, 0.5 y 1.0 M.
2. Amortiguador de fosfatos 0.50 M a pH 7.4.
3. Dowex 50 x 8 (malla de 60-100): tipo hidrógeno.
4. Hidróxido de sodio acuoso, saturado.
5. Acido sulfúrico concentrado (sp. gr. = 1.84).
6. Acido xanturénico: 0, 10, 100 y 500 μ moles/ml.
7. Acido quinurénico: 0, 10, 100 y 550 μ moles/ml.

Procedimiento:

1. En un tubo colocar 5 ml de una muestra de orina de 24 horas, añadir 5 ml de ácido xanturénico (o quinurénico) 100 μ moles/ml y diluir a 120 ml con agua. En otro tubo diluir 5 ml de la muestra de orina a 120 ml con agua. Adicionar a ambos tubos 30 ml de HCl 1 M. Usar 5 ml de cada solución de ácido xanturénico como estándar.
2. Aplicar la solución a la columna Dowex 50 x 8 (1 cm I.D x 15 cm long.) y lavar con 50 ml de HCl 0.2 M, 100 ml de HCl 0.5 M y 20 ml de agua. Usar gravedad.
3. Eluir el ácido quinurénico y el ácido xanturénico con 396 ml de agua. Usar gravedad y adicionar 4 ml de amortiguador de fosfatos 0.5 M.
Tomar 5 ml de cada solución estándar del paso 1 y diluir a 396 ml con agua, adicionar 4 ml de amortiguador de fosfatos 0.5 M.
4. Acido quinurénico:
 - a) A 5 ml del efluente, adicionar, lentamente, 4 ml de ácido sulfúrico concentrado, mezclar y enfriar.
 - b) Determinar la fluorescencia a 435 μ m, activando a 340 μ m.
5. Acido xanturénico:
 - a) A 5 ml del efluente adicionar, lentamente, 5 ml de NaOH saturado mezclar y centrifugar.
 - b) Después de 1 hora determinar la fluorescencia a 530 μ m, activando a 370 μ m.

Resultado:

	Acido Xanturénico	Acido Quinurénico
Excreción normal	20-59 μ moles/día	8-470 μ moles/día
Después de 10 g de DL-triptófano oral	137-2500 μ moles/día	...

HIDROXIQUINURENINA

Principio:

La hidroxiquinurenina es eluída diferencialmente en una columna de intercambio catiónico y etimada por diazotización.

Reactivos:

1. Acido clorhídrico: 0.10, 0.50, 1.0, 2.4 y 5.0 M
2. Dowex 50 x 12 (H^+): Malla de 200-400. La columna es 1 x 15 cm.
3. Nitrito de sodio 36 mM
4. Sulfamato de amonio 0.9 M.
5. Dihidrocloruro de N-1-naftiletilendiamina 11 mM.
6. Hidróxido de sodio 9 M.
7. 3 hidroxiquinurenina: 0, 1.0 y 2.5 μ moles/dl.

Procedimiento:

1. Una alicuota de orina del 1% el volumen de la muestra de 24 horas se mezcla con 4 ml de HCl 1 M y el volumen se ajusta a 40 ml. Aplicar la muestra a la columna Dowex de modo que tenga una velocidad de elución de 12-20 gotas por minuto.
2. La columna es eluída de la forma que se muestra en la siguiente secuencia:

Secuencia	Fracción	Volumen	Conc. de HCl	Composición
1	A	40 ml	---	desconocida
2	A	2 x 20 ml	0.10 M	
3	B	80 ml	0.50 M	ácido antrafílico glucurónido
4	C	80 ml	1.0 M	ácido o- aminohi- púrico
5	D	80 ml	2.40 M	ácido antrafílico y acetilquinurenina
6	E	80 ml	5.0 M	quinurenina

- Para las fracciones A-D, tomar alícuotas de 3 ml, adicionar a 2 ml de NaNO_2 , mezcla. Después de 3 minutos, adicionar 2 ml de sulfamato de sodio, mezclar y esperar 2 minutos, adicionar 2 ml de dicloruro de N-1-naftiletildiamina. Determinar la absorción a 367 μm .
- Para la determinación de quinurenina en la fracción E, tomar 2 ml de muestra enfriada en hielo y mezclar con 1 ml de NaOH 9 M, para reducir la concentración de ácido a 0.33 M. Posteriormente tratar como las fracciones A-D.
Para la estimación de hidroxiquinurenina en la fracción E, tomar 3 ml de muestra y adicionar 2 ml de NaNO_2 , después de 3 minutos añadir 0.2 ml de sulfamato de sodio. Determinar la absorción a 367 μm .

Resultado:

Normal 3- hidroxiquinurenina 4.5-26.6 $\mu\text{moles/día}$
22.3-62.1 $\mu\text{moles/después de 1 día}$
con carga de 2 g de triptófano

Hidroxiquinurenina 25 $\mu\text{moles/kg/dfa}$

1 μmol de 3-hidroxiquinurenina = 225 μg .

ACIDO 5-HIDROXINDOLACETICO

(5-HIAA)

Principio:

El ácido 5-hidroindolacético en orina es separado de los materiales que reaccionan con hidrazina y posteriormente extraído con éter. El 5-HIAA reacciona con α -nitrosoaftol.

Reactivos:

1. α -nitrosoaftol 5.8 mM en alcohol etílico.
2. Solución de ácido nitroso: A 5 ml de H_2SO_4 agregar 0.2 ml de $NaNO_2$ 0.36 M, preparar al momento de usar.
3. Eter dietílico, lavar con una solución de sulfato ferroso y luego lavar dos veces con agua.
4. 2,4-dinitrofenilhidrazina (2,4-DNPH) 25 mM en HCl 2 M.
5. Amortiguador de fosfatos 0.5 M a pH 7.0
6. Acido 5-hidroindolacético: 0, 50 y 250 μ M.

Procedimiento:

1. En un frasco de 50 ml con tapón colocar 6 ml de orina, adicionar 6 ml de cada solución de 5-HIAA como estándar.
2. Después de 30 minutos añadir 25 ml de cloroformo y agitar, centrifugar y transferir 20 ml de la fase etérea a un tubo que contenga 1.5 ml de amortiguador de fosfatos. Agitar y cetrifugar.
3. Transferir 10 ml de la fase acuosa a un tubo que contiene 0.5 ml de α -nitrosoaftol y 0.5 ml de ácido nitroso.
4. Incubar a 37°C por 5 minutos. Añadir 5.0 ml de acetato de etilo, agitar y remover la fase orgánica, repetir la extracción con acetato de etilo.
5. Determinar la absorción de la fase acuosa a 540 nm.

Resultado:

Normal 10-40 moles/día.

DECARBOXILASA DE α -CETOACIDOS RAMIFICADO

Y α -CETOACIDOS

Decarboxilasa de cetoácidos ramificados

Principio:

La decarboxilasa de α -cetoácidos ramificados es estudiada por la decarboxilación de los α -cetoácidos ramificados marcados con ^{14}C en el grupo carboxilo por formación de $^{14}CO_2$.

Reactivos:

1. Amortiguador de fosfato de sodio 0.067 M a pH 7.4.
2. Sulfato de magnesio 0.15 M.
3. Catalasa (cristalina) 2 μ g/l.
4. Substrato: DL-leucina-1- 14 C (150,000 cts/min.), L-isoleucina-1- 14 C (250,000 cts/min.) o DL-valina-1- 14 C (150,000 cts/min) en 0.10 ml de amortiguador.
5. Carbonato de sodio 0.10 M.
6. Acido sulfúrico 0.4 M

Procedimiento:

1. Preparar células blanco por sedimentación de células rojas a partir de sangre heparinizada, usando volúmenes iguales de fibrinógeno al 3% en solución salina isotónica; dejar sedimentar por 30 minutos. Lavar las células en 0.2% de solución salina y remover los eritrocitos.
2. A 4 frascos viales adicionar 10-7 células blancas en 0.8 ml de amortiguador, 30 μ l de sulfato de magnesio y 10 μ l de catalasa, añadir, a cada vial 0.1 ml de uno de los sustratos y al último vial agregar 0.1 ml de amortiguador (blanco). Usar células blancas a partir de un sujeto normal como control.
3. Colocar los viales en un frasco con tapón que contenga etanolamina/éter etilenglicolmonometilo (ver método de radioactividad); sellar.
4. Incubar por 75 minutos a 37°C con un incubador Dubnoff.
5. Acidificar la mezcla de incubación con 1.0 ml de H₂SO₄ 0.1 M y continuar agitando y incubando por 1 hora para atrapar el CO₂.
6. Determinar el 14 C, atrapado en etanolamina/éter etilenglicolmonometilo, usando un sistema de centelleo.
7. Extraer la mezcla incubada y acidificada con 5 ml de m-xileno, después de añadir 0.5 mg de α -cetoácidos sin marcar para incrementar la eficiencia de la extracción. Extraer la solución del xileno con 1 ml de bicarbonato de sodio 0.10 M.
8. Transferir la fase del bicarbonato de sodio a 1.0 ml de m-xileno y adicionar 1 ml de H₂SO₄ 0.4 M.
9. Transferir a 15 ml² de solución de centelleo y determinar la actividad del 14 C con el sistema de centelleo líquido.

Nota.- Los fibroblastos (cerca de 2 x 10⁶ células), son obtenidos por cultivo de tejido en monocapa en un medio Eagle modificado que contenga 30% de suero de fetal de ternera y deben ser incubados en 0.1% de tripsina por 20 minutos a 37°C; las células son lavadas y tratadas de la misma manera que las células blanco.

Resultado:

		Leucina	Isoleucina	Valina
Controles	células blancas	405-1180*	3250-14150	385-1050
	fibroblastos	460-1180+		
Enfermedad de la orina del jarabe de arce	células blancas	7	0	40
	fibroblastos	0		

* La actividad del $^{14}\text{CO}_2$ está dada en cuentas/minuto y depende de la actividad específica del sustrato.
+6-15 generaciones.

α-Cetoácidos (2,4-dinitrofenilhidrazina)

Principio:

Los α-cetoácidos reaccionan con hidrazinas para dar hidrazonas coloridas, que pueden ser extraídas con solventes orgánicos y cuantificadas mediante espectrofotometría.

Reactivos:

1. 2,4-Dinitrofenilhidrazina (2,4-DNPH) 50 mM en HCl 2 M.
2. Carbonato de sodio 1.0 M.
3. Hidróxido de sodio 1.5 M.
4. Ácido 8-cetoisocaproico: , 2.5 y 5.0 mM en H_2SO_4 0.05 M.
5. Ácido tricloroacético.
6. m-Xileno.

Procedimiento:

1. Mezclar 1 ml de orina o suero con 5 ml de TCA y 500 mg de reactivo de Lloyd, agitar y centrifugar. Usar 1 ml de cada solución de ácido 8-cetoisocaproico como soluciones estándar.
2. A 1 ml del sobrenadante añadir 0.2 ml de 2,4-DNPH, mezclar y dejar reposar por 15 minutos.
3. Agregar 1.5 ml de m-xileno, mezclar vigorosamente y clarificar por centrifugación.
4. A 1 ml del sobrenadante adicionar 1.4 ml de carbonato de sodio, mezclar vigorosamente y centrifugar. Remover 1 ml de la fase inferior y mezclar con 1 ml de hidróxido de sodio.
5. Determinar la absorción a 520 nm.

Resultado:

Normal

15-30 μ moles/día

α -cetoaciduria (Enfermedad del jarabe de arce) 400-2000 μ moles/día

Nota.- En la enfermedad de la orina del jarabe de arce, la concentración en suero y excreción urinaria de valina, leucina e isoleucina son 4 a 8 veces lo normal. Los aminoácidos son estimados por cromatografía de intercambio iónico e identificados por cromatografía en papel.

Identificación

Reactivos:

Los mismos que en el caso anterior.

Procedimiento:

1. A 4 ml de orina adicionar 4 ml de 2,4-DNPH, cuando se forme un precipitado amarillo, dejar sedimentar y quitar el sobrenadante, extraer el precipitado con éter libre de peróxido, dividir el extracto en 4 alícuotas y tratar como sigue:
 - a) En una alícuota evaporar el éter y lavar por suspensión en agua y sedimentación, secar y determinar el punto de fusión. Los derivados 2,4-DNPH de los ácidos α -cetoisocaproico, α -cetoisovalérico y α -ceto- β -metilbutírico tienen un punto de fusión entre 137 y 143 °C.
 - b) A otra alícuota agregar 1 ml de Na_2CO_3 . Si la fase acuosa se torna amarilla, hay presencia de α -cetoácidos.
 - c) Concentrar otra alícuota y cromatografiar en un sistema descendente de n-hexano saturado con N,N-dimetilformamida o de etanol/agua/n-butanol = 10:40:50. Usar las dinitrofenilhidrazonas de cada α -cetoácido como compuestos de referencia.
 - d) Poner la otra alícuota en una pequeña columna de alúmina (0.5 mm x 2 cm) y eluir con 90% de etanol. Secar y eluir, suspender en 1 ml de HCl 0.5 M y 2 mg de óxido de platino (catalítico); e hidrogenar a 240°C, 40 lb/in² por 16 horas. Filtrar y concentrar la solución al vacío. Los aminoácidos son identificados por cromatografía en papel o por cromatografía de intercambio iónico.

HOMOCISTINA

Método cualitativo

Prueba:

1. A 2 ml de muestra añadir 1 ml de cianuro de sodio al 5%.
2. Después de 15 minutos agregar 0.5 ml de nitroprusiato de sodio al 1 %.

Resultado:

Un color rojo-rosado brillante indica presencia de cistina y homocistina.

Cromatografía en papel

Sistema:

n-butanol/piridina/agua 1:1:1 (v/v/v).

Revelador:

Rociar con cianuro de sodio y después de 15 minutos cubrir con nitroprusiato de sodio.

Resultado:

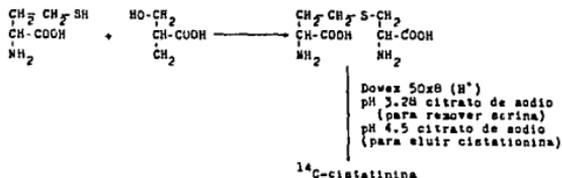
Excreción urinaria	normales homocistinúricos	ninguna 260 μ moles
--------------------	------------------------------	----------------------------

1 μ mol de homocistina = 268 μ g.

CISTATIONINA SINTETASA

Principio:

La cantidad de cistationina sintetasa en biopsia de hígado es medida por la síntesis de cistationina marcada a partir de homocistina y serina marcada. La actividad del ^{14}C de cistationina es determinada después de remover la serina del medio, en una columna de intercambio catiónico.



Reactivos:

1. Amortiguador Tris 150 mM a pH 8.3.
2. Solución sustrato: 1 ml de amortiguador contiene 5 μ moles de EDTA, 70 μ moles de fosfato de piridoxal, 350 μ moles de L-cistationina, 25 moles de 3- 14 C-serina (3.75 cuentas/minuto).
3. Acido tricloroacético (TCA) 1 M
4. columna de intercambio catiónico: 0.5 x 1 cm, Dowex 50 x 8 (H⁺), malla de 100-200.
5. Amortiguador de fosfatos: citrato de sodio 0.065 M a pH 3.28
citrato de sodio 0.065 M a pH 4.25.

Procedimiento:

1. Homogenizar 10 mg de hígado obtenido por biopsia en 0.5 ml de Tris. Diluir con el amortiguador de modo que 1 ml contenga cerca de 2.5 mg de proteína (método de Lowry).
2. Añadir 0.2 ml de solución sustrato a 2 ml de homogenado o calentar el homogenado a 100°C por 10 minutos (blanco). Usar 0.2 ml de homogenado de hígado normal como control.
3. Incubar a 37°C por 135 minutos.
4. Preparar un filtrado libre de proteínas adicionando 0.4 ml de TCA, centrifugar y quitar el precipitado. Suspender el precipitado en 0.4 ml de agua y 0.4 ml de TCA; obtener el sobrenadante por centrifugación. Extraer el sobrenadante con éter y ajustar el pH a 3.5.
5. Aplicar a la columna y lavar con 10 ml de amortiguador de citrato, pH 3.28.
6. Eluir la columna con 1 ml de amortiguador de citrato, pH 4.25. Liofilizar.
7. Disolver el liofilizado en 2 ml de etanolamina/éter etilen glicol monometilo (2:14 v:v) y agregar a 15 ml de líquido de centelleo.
8. Determinar el 14 C por un sistema contador de centelleo líquido.

Cálculos:

Convertir cuentas/minuto a μ moles de cistationina a partir de la actividad específica de serina en la mezcla de incubación.

Resultado:

Normales 103 μ moles de cistionina formada/mg de proteína/h.

Homocistinúricos 0

CISTATIONINA

Principio:

Fraccionización en una columna de intercambio catiónico.

Procedimiento:

Ver cromatografía de intercambio iónico para aminoácidos.

Resultado:

Cistationinuria: 960-1300 mg/dfa.

Identificación

Cromatografía en papel.

Sistema:

- I.- n-Butanol/ácido acético/agua 12:5:3
- II.- n- Butanol/piridina/agua 1:1:1.

Revelador:

Sumergir en una solución que contenga 4 ml de cloruro platinico, 0.25 ml de KCl 1 M, 0.4 ml de HCl 2 M y 75 ml de acetona.

Resultado:

Manchas blancas sobre un fondo rosa indican compuestos azufrados.

GLICINA

Principio:

La glicina reacciona con ninhidrina, produciendo formaldehído, que es estimado con ácido cromotrópico.

Reactivos:

1. Ninhidrina 0.05M
2. Amortiguador de fosfatos: mezclar 3.5 g de Na_2HPO_4 con 20 g de KH_2PO_4 y ajustar el pH a 5.5.
3. Acido sulfúrico 0.33 M.
4. Tungstato de sodio 0.34 M.
5. Acido sulfúrico concentrado.
6. Acido cromotrópico (ácido 1,8-dihidronaftalen-3.6-disulfónico) 0.14 M.
7. Glicina: 0, 10 y 20 $\mu\text{moles/dl}$ de solución que contenga 7.5 g de albúmina sérica bovina.

Procedimiento:

1. Preparar un filtrado libre de proteínas o un sobrenadante a partir de 0.10 ml de suero adicionando 0.7 ml de agua, 0.10 ml de tungstato y 0.10 ml de ácido sulfúrico 0.33 M, centrifugar. Usar 0.10 ml de cada solución de glicina como estándar.
2. A 0.5 ml dl sobrenadante agregar 0.20 ml de amortiguador de fosfatos y 0.10 ml de ninhidrina; destilar suavemente y con repetidas adiciones de 0.10 ml hasta colectar 1.0 ml del destilado.
3. Tomar 0.5 ml del destilado y adicionar 0.40 ml de ácido sulfúrico concentrado y 10 μl de ácido cromotrópico, incubar a 100 Cpor 30 minutos.
4. Determinar la absorción a 575 ηm .

Nota.- La identificación de glicina se realiza por cromatografía en papel y cromatografía de intercambio catiónico (consultar métodos de referencia).

Resultado:

	plasma	orina
normal	$8.6 \pm 2.8 \mu\text{moles/dl}$	$0.17 \pm 1.56 \text{ mmoles/día}$
hiperglicinuria	$148 \pm 42 \mu\text{mole/dl}$	$5.60 \pm 2.8 \text{ mmoles/día}$

1 μmol de glicina = 75 μg .

HISTIDINA E HISTIDASA

Principio:

La histidasa convierte la histidina en ácido urocánico. La producción de ácido urocánico es determinada espectrofotométricamente.

Reactivos:

1. Amortiguador de fosfato de sodio 0.1 M a pH 9.2 que contenga 0.10 mM de $MgCl_2$.
2. Histidasa ²(Worthington): 100 unidades /ml de amortiguador (1 unidad = cambio de absorción de 0.001/minuto a 25°C). La enzima, cuando es semipura, se suspende en agua y se centrifuga a 2000 g y se incuba el sobrenadante a 80°C por 15 minutos. Si hay algún precipitado es removido por centrifugación.
3. Glutatión (GSH) 0.1 M en amortiguador.
4. Estándares de histidina: 0, 10 y 100 μ moles/dl de solución que contenga 7.5 g de α lbumina sérica bovina.

Procedimiento:

1. Desproteínizar 50 μ l de suero adicionando 50 μ l de $ZnSO_4$ 0.18 M y 50 μ l de hidróxido de bario 0.18 M [$Ba(OH)_2 \cdot 8H_2O$]; centrifugar hasta obtener un sobrenadante transparente. Usar 50 μ l de cada solución de histidina como estándar.
2. A 300 μ l de amortiguador adicionar 50 μ l de glutatión y 50 μ l del sobrenadante. mezclar y agregar 100 μ l de histidasa e incubar a 30°C.
3. Seguir la absorción a 277 μ m hasta que la velocidad de cambio de absorción sea máxima y constante.

Nota.- Cuando se hace la determinación en orina, se incluye el paso de precipitación de proteínas.

Resultado:

	plasma	orina
normal	7.5 μ moles/dl	135 μ moles/día
histidinemia	106 μ moles/dl	3250 μ moles/día

$$1 \mu\text{mol de histidina} = 155 \mu\text{g.}$$

Identificación

Cromatografía en papel

Sistema:

- I.- n-Butanol/benceno/metanol/agua = 1:1:2:1.
- II.- n-Butanol/ácido acético/agua = 77:6:17
- A.- Acetona/urea 5% en agua = 6:4.
- B.- tert-Butanol/acetona/ácido fórmico/agua = 160:160:1:39.
- C.- n-Butanol/ácido acético/agua = 4:1:1.

Reactivos:

1. Reactivo de Pauly: 1 volumen de solución de ácido sulfanílico (9 g de ácido sulfanílico en 90 ml de HCl y aforar a 1 L.) con 5 volúmenes de NaNO_2 .
2. Carbonato de sodio 0.5 M.

Revelador:

Rociar el cromatograma con el reactivo de Pauly, secar y rociar con solución de NaCO_3 .

Resultado:

Compuestos*	bidimensional		Rf		
	I	II	A	B	C
Imidazoláctico	0.27	0.12	0.54	0.22	0.06
Imidazolacético	0.30	0.17	0.59	0.35	0.13
Imidazolpropiónico	0.40	0.33	0.63	0.50	0.36
Imidazolpirúvico	0.09	0.0	0.38	0.08	0.0
Urocánico	0.50	0.44	0.75	0.51	0.68
Histidina	0.23	0.03	0.48	0.11	0.0

*Usar 10 a 20 μ l de orina

Histidasa(epidermis)**Principio:**

La histidasa es analizada por incubación con histidina y estimación espectrofotométrica del ácido urocánico formado.

Reactivos:

1. Amortiguador de fosfatos 0.10 M a pH 9.2.
2. Glutión 0.10 M.
3. L-histidina: 0.10 M.
4. Acido urocánico: 0, 50, y 100 μ moles/ml

5. Reactivo ácido: Mezclar 27 ml de ácido ortofosfórico, 9 ml de H_2SO_4 concentrado y 6.4 ml de agua.
6. 8-Isonitrosopropiofenona: Mezclar 3 g en 100 ml de alcohol etílico.
7. Urea: 0, 1.0 y 2.0 μ moles/ml.

Procedimiento:

1. Colocar en 3 tubos 0.2 ml de amortiguador de fosfatos, 0.2 ml de arginasa. A dos añadir 1.0 ml de ASA (reactivo control y muestra) y al tercer tubo agregar 1 ml de agua (hemolizado control). Usar un ml de cada solución de urea como estándar.
2. Preincubar a 37°C durante 10 minutos y añadir 1 ml de hemolizado, el cual es preparado por lizamiento, lavando con 2 ml de solución salina isotónica y conservando los eritrocitos en 8 ml de agua a 4°C, al reactivo control y a la muestra. Adicionar 1.0 ml de agua al hemolizado control.
3. Extraer rápidamente 1.2 ml de la mezcla y adicionar 1.0 ml de ácido perclórico, centrifugar y remover el precipitado.
4. Incubar el remanente a 37°C por 60 minutos a partir de la extracción (paso 3) de la muestra inicial (tiempo cero).
5. Agregar 1 ml de ácido perclórico a cada tubo y centrifugar.
6. Estimar el contenido de urea en 1 ml de sobrenadante.
 - a) Añadir 2.0 ml de reactivo ácido y 0.1 ml de 8-isonitrosopropiofenona (la reacción se realiza en un vial cerrado).
 - b) Se incuba el vial a 100°C por 1 hora en la oscuridad y se deja enfriar.
 - c) Determinar la absorción a 540 nm.

Nota.- Las células rojas heparinizadas son lavadas para remover la urea, valores excedentes de 5 mM interfieren con la determinación. Estimar la hemoglobina en el hemolizado.

Resultado:

Normal	3.4-1.2 μ moles de urea producida/h/g Hb
Aciduria arginosuccínica	0
Padres de pacientes con AS-aciduria	1.6-1.8

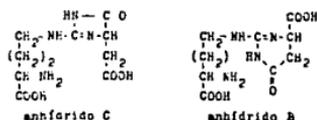
ACIDO ARGINOSUCCINICO

Método cuantitativo

Cromatografía:

Columna de intercambio catiónico:

El ácido arginosuccínico es convertido completamente en 2 anhídridos por la resina y en la elución. Ambos anhídridos eluyen a 50°C inmediatamente después lisina; el anhídrido B está contenido en las fracciones 460-480 y el anhídrido C en las fracciones 480-500.



Resultados:

Aciduria arginosuccínica	orina	5.2-10.3 mM/dfa
	plasma	15.1 μM/dl
	líquido	
	cefalorraquídeo	32.6 μM/dl

Identificación

Cromatografía:

bidimensional, descendente

Sistema:

- I.- Fenol/agua/amoniaco = 400:100 en atmósfera saturada de amoniaco.
- II.- Butanol/ácido acético/agua = 4:1:5.

Revelador:

Acetato de cadmio/ninhidrina: 10 mg de acetato de cadmio se disuelven en 10 ml de agua y 5 ml de ácido acético glacial, se diluyen a 100 ml con acetona, se añade 1 g de ninhidrina antes de usar.

Rociar y dejar reposar a temperatura ambiente en la oscuridad por 24 horas (libre de amoniaco).

Resultados:

Rf(I) = 0.27; Rf(II) = 0.11.

Electroforesis de alto voltaje:

Amortiguador:

Acetato piridilo a pH 5.1: se prepara mezclando 25 ml de piridina con 10 ml de ácido acético, diluyendo a 2500 ml con agua.

Potencial:

130 volts/cm

Revelador:

El mismo que para el caso anterior

Resultado:

Rt(asp)	Arginosuccinato	0.59
	Anhídrido B	0.14
Rt(arg)	Anhídrido C	0.07

CITRULINA

Principio:

La citrulina es condensada con diacetilmonoxima produciendo un color durazno-rojizo.

Reactivos:

1. Acido sulfúrico/ácido fosfórico: mezclar 1 volumen de H_2SO_4 concentrado con 3 volúmenes de H_3PO_4 glucosado.
2. Diacetilmonoxima, 3 g en 100 ml de agua.
3. Acido sulfúrico 0.01 M.
4. KCN/amortiguador de fosfatos: KCN 0.4 M en amortiguador de fosfato de sodio 1 M a pH 7.2 (guardar a $4^{\circ}C$; usar en campana).
5. Ureasa: antes de usar adicionar 10 mg de ureasa (cristalina) a 0.5 ml de KCN/amortiguador de fosfatos.
6. Soluciones estándar de citrulina: 0, 25, 50 y 500 μ moles/dl de agua que contenga 7.5 g de albúmina sérica bovina.

Procedimiento:

1. A una solución de 400 μ l de plasma adicionar 250 μ l de ureasa, dejar reposar por 1 hora a la temperatura del cuarto. Usar 400 μ l de cada solución de citrulina como estándar.
2. Adicionar 1 ml de H_2SO_4 , centrifugar y ultrafiltrar a través de un filtro millipore de 10 m.
3. Colocar 400 μ l del ultrafiltrado en un vial con tapón, agregar 200 μ l de la mezcla H_2SO_4/H_3PO_4 y 25 μ l de solución de diacetilmonoxima. Al resto del ultrafiltrado añadir NaOH hasta ajustar el pH a 6-7: gotear en 100 mg de Dowex 50 x 8 (H^+); remover 400 μ l de solución a través del filtro. Transferir a un vial con tapón y agregar 25 μ l de solución de diacetilmonoxima (blanco). Tapar el vial.
4. Incubar en baño de agua a 100°C por 10 minutos, enfriar (mantener alejado de la luz).
5. Dejar reposar 10 minutos a la temperatura del cuarto y determinar la absorción a 490 nm.

Resultados:

	orina	sangre
Normal	3.3-13.3 μ moles/dl	1.7-2.8 μ moles/dl
Citrulinuria	950-4300 μ moles/dl	145-200 μ moles/dl

Identificación.

Cromatografía en Papel

Sistema:

acetato de etilo/piridina/agua = 2:1:1

Revelador:

Ninhidrina (2 g /1000 ml de acetona); calentar a 100°C por 5 minutos. Cubrir con reactivo de Ehrlich.

Resultado:

La citrulina da un color amarillo con ninhidrina y se torna rosa con reactivo de Ehrlich.

Aislamiento

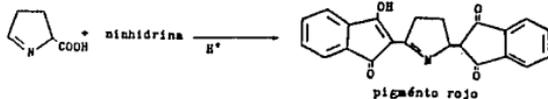
La citrulina es aislada de la orina tomando 500 ml de orina y mezclándola con 500 ml de acetona. El precipitado de proteínas es removido por filtración y el filtrado se seca al vacío. El residuo se disuelve en 10 ml de agua, ajustando la solución a pH 2.0. El material se coloca en una columna Dowex 50 x 8 (H^+) (0.7 x 25 cm) y se lava con 100 ml de agua, seguida de 100 ml de NaOH 0.2 M y 50 ml de NH_4OH 1.0 M. La citrulina es eluida con una segunda porción de NH_4OH y el eluido es concentrado a sequedad. El residuo se disuelve en 70 ml de agua y 7 ml de acetato cúprico 0.5 M y se deja reposar toda la noche. El precipitado se suspende en 20 ml de agua, se rocía con ácido sulfhídrico (H_2S) por 6 horas (los iones cúpricos precipitan como CuS) y se filtra para remover el precipitado.

Al filtrado se agregan 80 ml de alcohol etílico absoluto y se deja reposar toda la noche. Remover los cristales finos y recristalizar en alcohol etílico al 70 %. Punto de fusión = $212^{\circ}C$, $[\alpha]_D^{25}$ en HCl = $+20.1^{\circ}$.

PROLINA

Principio:

La prolina forma un cromógeno rojo cuando reacciona con ninhidrina en medio ácido.



Reactivos:

1. Etanol acídico: Mezclar 95 ml de metanol absoluto con 5 ml de HCl 0.1 M.
2. Permutita.
3. Reactivo de ninhidrina: mezclar 60 ml de H_3PO_4 6 M con 240 ml de ácido acético glacial y 3.75 g de ninhidrina.
4. Estándares de prolina: 0,5,10 y 20 μ moles/dl de solución que contenga 7.5 g de albúmina sérica bovina.
5. Benceno.

Procedimiento:

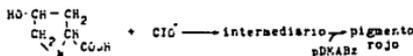
1. A 0.1 ml de suero agregar 0.9 ml de alcohol acídico, mezclar y centrifugar. Usar 0.1 ml de cada solución de prolina como estándar.
2. A 0.75 ml del sobrenadante adicionar aproximadamente 0.1 g de permutita, agitar y centrifugar a 2000 g por 5 minutos.
3. Adicionar 1 ml del reactivo de ninhidrina a 0.5 ml del sobrenadante e incubar a 100°C por 1 hora (usar viales con tapón). enfriar.
4. Añadir 0.5 ml de benceno, agitar y permitir la separación de fases.
5. Determinar la absorción de la fase orgánica a 515 m.

Nota.- La permutita remueve lisina, hidroxilisina y ornitina.

HIDROXIPROLINA

Principio:

La hidroxiprolina es oxidada con T-cloramina y el producto es condensado con p-dimetilaminobenzaldehído.



Reactivos:

1. Solución oxidante: Antes de usar mezclar 1 volumen de solución de T-cloramina (tolueno sulfocloramina) al 7 % recién preparada con 4 volúmenes de amortiguador acetato-citrato [57 g de NaAc³H₂O, 37.5 g citrato trisódico (2H₂O) y 385 ml de isopropanol, ajustar el pH a 6.0 y aforar a 1 l.].
2. Reactivo de Ehrlich: Antes de usar mezclar 3 volúmenes de solución de p-dimetilaminobenzaldehído (2 g de p-dimetilaminobenzaldehído en 3 ml de HClO₄ al 60%) con 13 volúmenes de isopropanol.
3. Estándares de hidroxiprolina: 0, 0.05, 0.10 y 0.30 μmoles/ml de HCl 0.001 M que contenga 75 mg de albúmina sérica bovina.

Procedimiento:

1. Pipetear 50 μl de solución de prolina y transferir a un tubo que contenga 0.10 ml de isopropanol y 50 μl de solución oxidante.

- Usar 50 μ l de cada solución de hidroxiprolina como estándar.
- Adicionar 1.3 ml de reactivo de Ehrlich e incubar a 60°C por 25 minutos. Enfriar sumergiendo ligeramente en agua. El color producido es estable aproximadamente 30 minutos.
 - Determinar la absorción a 558 nm.

Identificación.

Cromatografía en papel:

Sistema:

n-Butanol/ácido acético/agua = 13:3:5.

Revelador:

ninhidrina al 0.2% en acetona o isatina al 0.2% en acetona.

Resultado:

La hidroxiprolina produce una mancha amarilla con ninhidrina. Con isatina se produce una mancha azul.

Nota.- Cubriendo la mancha producida por ninhidrina con reactivo de Ehrlich (1 de p-dimetilaminobenzaldehído en HCl 1M) cambia de amarillo a púrpura.

DIAGNOSTICO PRENATAL

Amniocentesis

La amniocentesis es una técnica de diagnóstico prenatal, que consiste en la extracción de fluido amniótico y la separación del líquido de composición y de las células, que pueden cultivarse para realizar diversidad de pruebas orientadas a detectar anomalías congénitas. En la actualidad es posible detectar más de 40 enfermedades genéticas mediante el análisis del fluido amniótico y de sus células.

Para la extracción del fluido se inserta una aguja esterilizada en la cavidad amniótica, el fluido derivado en su mayor parte de la orina y las

secreciones del feto, contiene células fetales. Se debe tener cuidado de no perforar la placenta o el feto, localizándolos por medio de ultrasonido. Se centrifuga la muestra para separar las células del fluido y posteriormente se cultivan, para poder realizar estudios bioquímicos y/o análisis cromosómico.

El momento ideal para realizar la amniocentesis parece ser alrededor de la 16a semana de gestación. Para entonces ya se ha acumulado suficiente fluido amniótico como para que se pueda obtener una muestra fácilmente mediante punción. El feto es pequeño y es menos probable que resulte dañado. Se puede apartar el feto del punto de punción y localizar la placenta por medios ultrasónicos. Sin embargo existe la posibilidad de perjudicar el feto al intervenir con el ambiente fetal, como consecuencia de la extracción de fluido y metabolitos o de cambios de presión en el interior del útero, lo cual aumenta la frecuencia de abortos inducidos por la técnica.

Se ha sugerido que el diagnóstico prenatal por amniocentesis puede convertirse en una parte rutinaria del cuidado prenatal, con objeto de detectar el mayor número de enfermedades y malformaciones fetales antes del nacimiento. Esta posibilidad parece remota. El problema de crear las instalaciones necesarias para estudiar los millones de nacimientos que tienen lugar en un año es enorme y habría que establecer muchos centros locales o regionales. Más importante es aún la posibilidad de que en la amniocentesis existe un riesgo inherente mayor que la probabilidad de detectar un feto anormal en una población no seleccionada. Por lo que se recomienda emplear esta técnica solo para los casos de embarazos de alto riesgo.

Algunas de las indicaciones más comunes para la amniocentesis son la edad avanzada de la madre, por estar relacionada con mayor posibilidad de tener hijos con síndrome de Down y el hecho de que la madre haya tenido con anterioridad un hijo con enfermedad genética.

Tecnología del ADN recombinante

La tecnología del ADN recombinante puede ser aplicada al estudio del genoma humano, permitiendo la identificación de mutaciones, así como sus consecuencias en la expresión clínica. Se utiliza también para el mapeo genético, lo que ha permitido el desarrollo de nuevas técnicas de diagnóstico prenatal y detección de portadores en enfermedades monogénicas.

La técnica se basa en la clonación de ADN en plásmidos o fagos, el ADN recombinante que resulta es usado para transformar una bacteria huésped, generalmente *E. coli*, donde puede propagarse indefinidamente.

Si el gen de interés puede ser aislado fácilmente por las técnicas convencionales en una forma relativamente pura, entonces se puede clonar directamente en un plásmido o en un fago, la molécula recombinante que resulta es denominada prueba gen específica, ésta cuando se hibridiza con ADN humano solo reacciona con la secuencia del gen humano específica. Cuando el gen no es purificado fácilmente, como en muchos casos de ARNm eucariótico, la preparación de la prueba gen específica requiere primero del ensamble de un banco de secuencias de ADN y la posterior identificación de la molécula recombinante deseada.

Pueden sintetizarse bancos de genes, bancos del genoma completo o bancos de cromosomas específicos. Los bancos de genes o bancos ADNc (de

copia de ADN) se sintetizan a partir de una copia de ARNm de doble cadena, estas moléculas se integran en un plásmido en el sitio de corte de una endonucleasa de restricción. Este banco será representativo de las secuencias de ARNm expresadas en las célula tipo de la cual derivó y por lo general contiene entre 10,000 y 20,000 recombinantes diferentes. Este tipo de banco es importante para el estudio de tejidos o algún estado específico en la expresión del gen. El hecho de que los bancos de ADNc contienen pocas secuencias repetitivas de ADN, comparados con los bancos genómicas, proporciona una fuente de prueba gen específica de copia única, para el estudio de los cromosomas y el ligamiento genético.

Por otra parte los bancos genómicas contienen todas las secuencias del genoma tanto exones, como intrones, es decir, copias únicas y secuencias repetitivas. Si el número de fragmentos en la biblioteca puede completar secuencias representativas, entonces, en principio, cualquier gen puede ser aislado, siempre y cuando esté disponible la prueba gen específica. Si el tamaño promedio de las secuencias clonadas es de 20kb, se requerirán aproximadamente 7×10^5 recombinates individuales para completar el banco del genoma humano. Estos bancos son especialmente útiles en el estudio de enfermedades genéticas raras.

La clonación de bancos de cromosomas específicos es de gran importancia para la investigación de rearrreglos cromosómicos específicos asociados con enfermedades genéticas y neoplasias. Recientemente este procedimiento se ha usado para aislar ADN específico de cromosoma X, cromosoma Y y secuencias específicas de cromosoma 11. El método depende de la reasociación del ADN a partir de líneas celulares híbridos roedor-humano.

La identificación de las pruebas gen específicas se logra extrayendo el ADN total de la célula y cortándolo con endonucleasas de restricción. Posteriormente los diferentes fragmentos de ADN son separados por medio de electroforesis en gel de agarosa, de acuerdo con su tamaño. Si ahora se tiñera el ADN con algún colorante como el bromuro de etidio, se vería simplemente una gran mancha, ya que los fragmentos quedan distribuidos en forma continua según su tamaño y no sería posible identificar un segmento en particular. Para solucionar este problema, el Dr. Edwin Southern desarrolló un método, en el cual el ADN es desnaturalizado, los fragmentos se colocan en filtros de nitrocelulosa, pasando una solución salina por el gel. Los filtros se fijan por calentamiento en horno a 80°C y se someten a hibridización con pruebas génicas específicas radiactivas. Los fragmentos que contienen parte o la secuencia específica se observan como una banda radioactiva después de la autoradiografía.

En la actualidad se ha implementado el diagnóstico prenatal y la detección de portadores para la fenilcetonuria clásica por análisis del genoma, en el que se detectan segmentos polimórficos del locus de la fenilalanina hidroxilasa empleando endonucleasas de restricción y el método de Southern.

CAPITULO XII

BIBLIOGRAFIA .

BIBLIOGRAFIA.

1. Sutton H. E. An introduction to Human Genetics. 2a edición Holt Rinehart Winston. 1984.
2. Mc Kusic V.A. Mendelian inheritance in man. 3a edición. John Hopkins Press. Baltimore, 1971.
3. Stern C. Principles of human genetics. 3a edición. W. H. Freeman. San Francisco, 1973.
4. Harris H. The principles of human bichemical genetics. American Elsevier. Nueva York, 1970.
5. Byskov AG.: Control of meiosis. A sumary. Arch. Anat. Morphol. Exp. 74:17 (1985).
6. Crick F. H., Barnet C. L., Brenner S. y Watta-Tobin R. J.: General nature of the genetic code for protein. Nature 192:1227 (1961).
7. Halsekurn R. y Rothman-Denes L. B.: Protein sintesis. Ann. Rev. Biochem. 42:397 (1973).
8. Sharp P. A.: On the origin of RNA splicin and introns. Cell 42:397 (1985).
9. Averbach C. y Kilbey B.J.: Mutation in eucaryotes. Ann Rev. Genet. 5:163 (1971).
10. Fishbein L., Flamm W. G. y Falk H. L.: Chemical mutagens. Enviromental effects on biological systems. New York: Academic Press, 1970.
11. Petersdof R. G., Adams R. D., Braunwald E., Isselbacher K. J., Martin J. y Winston J. D.: Principios de medicina interna. Vol. 1. 6a edición (español). Mc Graw Hill, 1986.
12. Velázquez A.: El estudio de los errores innatos del metabolismo y sus implicaciones para la medicina. Gaceta médica Mex. 116:503 (1980).
13. Bank A.: Genetic disorders of hemoglobin synthesis. Hosp. Pract. 20:24 (1985).
14. Engle M. A. y cols.: Beta thalassemia and heart disease: three decades of gradual progress. Trans. Am. Clin. Climatol. Assoc. 96:24 (1984).
15. Glitlin D., Janeway C. A., Apt L. y Craig J. M.: Agammaglobulinemia, en celular and humoral aspects of hypersensitivity states: Symposium, editado por H. S. Lawrence, Hoeber-harper, 1959.

16. Hommes F. A., Van Den Berg C. J. (eds): Inborn errors of metabolism. Academic Press. Londres, 1973.
17. Stanbury J. B., Wyngaarden J. B., Fredrickson D. B.: The metabolic basis of inherited disease, 3a. ed., Mc. Graw-Hill, Nueva York, 1972.
18. Velázquez A.: Prevención y tratamiento de los errores innatos del metabolismo. Conferencia dictada en las III jornadas a nivel latinoamericano y VI jornada de la asociación venezolana de padres y amigos de niños excepcionales. Caracas, 19 de octubre de 1981.
- 19.- Villarreal M., Velázquez A., Carnevale A., Del Castillo V. y Márquez E. S.: Descubrimiento de los errores innatos del metabolismo de aminoácidos, ácidos orgánicos e hidratos de carbono en un hospital infantil de la ciudad de México. Bol. Med. Hosp. Inf. XXXV(2):1417 (1978).
20. Velázquez A. y Villarreal M. L.: El diagnóstico de los errores congénitos del metabolismo. Neurología-neurocirugía-psiquiatría Mex. 1417 (1974).
21. Shih V. E.: Laboratory Techniques for the detection of hereditary metabolic disorders. CRC. Press, Cleveland (1973).
22. Velázquez A.: Investigación clínica en la universidad: Prototipo basado en el descubrimiento, tratamiento y prevención de las enfermedades metabólicas congénitas. Coordinación de Investigación científica, UNAM. México, 1983
23. Meister A.: Biochemistry of the aminoacids Vol. 2. 2a edición. Academic Press Inc. Nueva York (1965).
24. Dogley S. y Nicholson E.: An introduction to metabolic pathways. Wiley. Nueva York. 1970.
25. Gibson F. y Oittord J.R.: Pathways of biosynthesis of aromatic aminoacids and vitamins and control in microorganisms. Bacteriol. Rev. 32:465 (1968).
26. Stadman E. R.: Allosteric regulation of enzyme activity. Adv. Enzymol. 28:41 (1966).
27. Braunstein A. E.: Aminogroup transfer. 3a edición. P. D. Boyer Ed. Academic Nueva York. 1973.
28. Cohen P. P. y Brown G. W. Jr. Ammonia metabolism and urea biosynthesis Vol 11. Academic Press Inc. Nueva York. 1961.
29. Jervis G. A.: Phenylpyruvic oligophrenia deficiency of phenylalanine-oxidizing system. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 82:514 (1972).

30. Penrose L., Quatel J. H.: Metabolic studies in phenylketonuria. *Biochem J.* 31:266 (1937).
31. Tourian A., Goddard J., Puck T. T.: Phenylalanine hydroxylase activity in mammalian cells. *J. Cell. Physiol.* 37:159 (1969).
32. Folling A., Mohr O. L., Rewel L.: Oligophrenia phenylpyruvica a recessive syndrome in mas. *I. Mat-Naturv. Klasse, 2* (1987).
33. Knox W. E., Hsia D. Y-Y.: Pathogenic problema in phenylketonuria. *Am. J. Med.* 22:286 (1957).
34. Larson C. A.: Phenylketonuria, en *De Genética médica, parte IV*, editada por L. Gedda. Instituto Gregorio Mendel. Roma 1962.
35. Stanbury J., Fredrikson D., Wyngood. The metabolic basis of inherited disease. 3a. ed. Mc. Graw Hill. 1972.
36. Centerwal W. R., Centerwal S. A.: Phenylketonuria (Folling's disease): The story of its discovery. *J. Hist. Med.* 16:296 (1961).
37. Cohen B. E., Bodonyi E., Szeinberg A.: Phenylketonuria in Jews. *Lancet* 1:344 (1961).
38. Woolf L. I.: Inherited metabolic disorders: Errors of phenylalanine and tyrosine metabolism. *Adv. Clin. Chem.* 6:9 (1963).
39. Menkes J. H. *Textbook of child neurology.* 2a ed. Lea and Febiger, 1975.
40. Hsia D. Y-Y., Inouye T.: Inborn errors of metabolism. Part II. *Laboratory methods*, 1967.
41. Soloway S. y Wilen S. H.: Improved ferric chloride test for fenolchloride. *Analyt. Chem.* 24:979 (1952).
42. Guthrie R. y Sussi A.: A simple phenialanine method for detectin phenylketonuria in large populations of newborn infants. *Pediatrics* 32:338 (1963).
43. Blaskovics, M. E.: Diagnosis in relationship to treatment of hyperphenylalaninaemia. *J. Inher. Metab.Dis.* 9(supl.2):178 (1986).
44. Camman Mc. y Robins E.: Fluorometric method for the determination of phenylketonuria in serum. *J. Lab. Clin. Med.* 59:885 (1962).
45. Woo L. C.: Prenatal diagnosis and carrier detection of classic phenylketonuria by gene analysis. *Pediatrics* 74:412 (1984).

46.- Hackney M., Hanley W. B., Davison W. y Lindsay L.: Phenylketonuria: Mental development behavior and termination of low phenylalanine diet. *J. Pediatr.* 72:646 (1978).

47. Hudson F. P., Mordaunt V. L. y Leavhy I.: Evaluation of treatment begun in the firsts three months of life in 184 cases of phenylketonuria. *Arch. Dis. Child.* 45:5 (1970).

48. Cabalska B., Duszynska N., Borzymowska J. y cols.: Termination of dietary treatment in PKU. *Eur. J. Pediatr.* 126:253 (1977).

49. Acosta P. B. y Stepnick-gropper: Problems related to diet management of maternal PKU. *J. Inher. Metab. Dis.* 9 (supl.2):183 (1986).

50. Koch R. E., Gross F. ., Wenz E., Jew K., Crowley C. y Donne11 G.: Maternal Phenylketonuria. *J. Inher. Metab. Dis.* 9 (supl.2.):159 (1986).

51. Kleiman D. S.: Phenylketonuria: Review article. *Pediatrics* :123 (1964).

52. Koch R., Blaskovics M.: Four cases of hyperphenylalaninemia: Studies during pregnancy and of the offspring produced. *J. Inher. Metab. Dis.* 5:11 (1982).

53. Cotton R. G. H.: A model for hyperphenylalaninaemia due to tetrahydrobiopterin deficiency. *J. Inher. Metab. Dis.* 9:4 (1986).

54. Smith I., Clayton B. E. y Wolff O. H. A variant of PKU. *The Lancet* 1:328 (1975).

55. Kettler R., Bartholini G. y Plestcher A.: In vivo enhancement of tyrosine hydroxylation in rat striatum by tetrahydrobiopterin. *Nature* 249: 467 (1974).

56. Curtius H., Niederweiser, A., Viscontini W., Otten O., Schaub J., Scheibenreiter S. y Schmith H.: Atypical phenylketonuria due to tetrahydrobiopterin deficiency. Diagnosis and treatment with tetrahydrobiopterin, dihydrobiopterin and sepiapterin. *Clin. Chim. Acta* 93:251 (1973).

57. Kaufman S., Milstein S. y Bartholomé K.: New forms of PKU. *The Lancet* 2:708 (1975).

58. Danks D. M., Bartholome K., Clayton B. E., Curtius H., Grobe H., Kaufman S., Leening R. y cols.: Malignant hyperphenylalaninemia -current status (June 1977). *J. Inher. Metab. Dis.* 1:49 (1978)

59. Koch R., Blascovics M., Wenz E. y cols.: Phenylalaninemia and phenylketonuria, en Nyhan W. L. (ed): Hereditary disorders of amino acid metabolism, John Wiley, Nueva York, 1974.

60. Wadman S. K., Van Sprang F. J., Maas J. W., Ketting D.: An exceptional case of tyrosinosis. *J. Ment. Def. Res.* 12:269 (1968).
- 61.- Rizzardini M. y Abeliuk P.: Tyrosinemia and Tyrosyluria in low-birth-weight infants: A new criterion to assess maturity at birth. *Am. J. Dis. Child* 121:182 (1971).
62. Menkes J. H., Welcher D. W., Levi H. S., Dallas J. y Gretskey N. E.: Relationship of elevated blood Tyrosina to ultimate intellectual performance of premature infants. *Pediatrics* 49:218 (1972).
63. Goldsmith L. A., Reed J.: Tyrosine-induced eye and skin lesions. *JAMA* 236:382 (1976).
64. Scriver C. R., R.Perry J. R. T., Lasley L., Claw C. L., Coulter D., Laberge C.: Neonatal tyrosinemia (CNT), en the eskimo. Results of protein polymorphism. *Pediatr. Res.* 11:411 (1977).
65. Lindblad b., Lindstedt G. y Lindstet S.: The mecanism of enzymatic formation of homogentisic acid from p-hydroxyphenylpiruvate. *J. Am. Chem. Soc.* 92:7446 (1970).
66. Lowell A. y Goldsmith: Tyrosinemia and related disorders
67. Louis W. J., Pitt D. D. y Danes H.: Biochemical studies in a patient with tyrosinosis. *Aust. N. Z. J. Med.* 4:281 (1974).
68. Kennaway N. G., Buist Nrm. y Fellman J. H.: The origin of urinary p-hydroxyphenylpyruvate in a patient with hepatic citosol tyrosine amino transferase deficiency. *Clin. Chim. Acta* 41:157 (1972).
69. Lemonnier F., Charpenter C., Odiere M., Larregue M. L. y Lemonnier A.: Tyrosine aminotransferase isoenzyme deficiency. *J. Pediatr.* 94:931 (1979).
70. Fellman J. H., Vanbellinghen P. J., Jones R. I. y Koler R. D.: Soluble and mitochondrial forms of tyrosine aminotrasferase. Relationship to human tyrosinemia. *Biochemistry* 8:615 (1969).
71. Ohisalo J. J. y Pispas J. P.: Heterogeneity of hepatic tyrosine aminotransferase and hydroxylapatite column chromatography and their partial characterization. *Acta Chem Scand B* 30:491 (1976).
72. Goldsmith L. A., Thorpe J. y Roe L. R. Hepatic enzymes of tyrosine metabolism in tyrosinemia II. *J. Invest. Dermatol.* 73:530 (1979).
73. Andersson S., Nemeth A., Ohisalo J. y Stranduik B.: Tyrosine aminotransferase *Pediatr. Reserch* 18(7)(1984).

74. Goldmith L. A., Keng E., Bienfeng D. C., Jimbow K., Baden H. P. y Gerald P.: Tyrosinosis with plantar and palmer keratosis. *J. pediatr.* 83:798 (1973).

75. La Du B. N. y Zannoni V. C. The tyrosine oxidation of liver II. Oxidation of p-hydroxyphenylpyruvic acid to homogentisic acid. *J. Biol. Chem.* 217:777 (1955).

76. Burns R. P.: The tyrosine aminotransferase deficiency: An unusual cause of corneal ulcers. *Am J. Ophthalmol.* 73:400 (1972).

77. Hill A., Nordin P. M. y Zaleski W. A.: Dietary treatment of tyrosinosis. *J. Am. Diet. Assoc.* 56:308 (1970).

78. Baber M. D.: A case of congenital cirrhosis of the liver with renal tubular defects akin those in the Fanconi syndrome. *Arch. Dis. Childhood* 31:335 (1956).

79. Berger R., Smith G. Pa., Stoper-de Vries SA., Duran M., Retling D. y Wadmank.: Deficiency of fumarylacetoacetase in a patient with hereditary tyrosinemia. *Clin. Chim. Acta* 114:36 (1981).

80. Brock E., Gregersen N., Hjedts H., Pedersen J. B., Brandt N. J. y Backman U. B.: Urinary excretion of succinylacetone and β -aminolevulinic acid in patients with hereditary tyrosinemia. *Clin. Chim. Acta* 116:331 (1983).

81. Weinberg A. G., Nize Ch. E. y Worthen H. G.: The occurrence of hepatome in the chronic form of hereditary tyrosinemia. *J. Pediatr.* 88:434 (1976).

82. Ein S. H. y Stephens C. A.: Malignant liver tumors in children. *J. Pediatr. Sug.* 9:941 (1974).

83. Andersson S. K., Salaspurom y Ohisalo J. J.: Metabolic basis of hypertyrosinemia in liver disease. *Gastroenterology* 82:554 (1982).

84. Kang E. S. y Gerald P. S.: Hereditary tyrosinemia and abnormal pyrrole metabolism. *J. Pediatr.* 77:397 (1970).

85. Efron M. L., Young D., Moser H. W., Mac Cready R. A.: A simple chromatographic screening test for the detection of disorder of aminoacid metabolism. *N. Engl. J. Med.* 270:1378 (1964).

86. Fairney A., Francis D., Ersser R. S., Seakin JWT y Cottom D.: Diagnosis and treatment of tyrosinosis. *Arch. Dis. Child* 43:540 (1968).

87. Holme E., Lindbland B., Lindstedl S.: Possibilities for the treatment and for early prenatal diagnosis of hereditary tyrosinaemia. *Lancet* 1:527 (1985).

88. Aronsuo S., Eugelson G., Jagerburg R. y Palmgren B. Long-term dietary treatment of tyrosinosis. *J. Pediatr* 72:620 (1968).
89. Tada K., Wada Y., Yazaki N., Yokoyama Y., Nakagawa H. y cols.: Dietary treatment of infantile tyrosinemia. *Tohoku J. Exp. Med.* 95:337 (1968).
90. Zannoni V. G., Lomtevas N., Goldfinger S.: Oxidation of homogentisic acid to ochronotic pigment in connective tissue. *Biochem. J.* 41:438 (1947).
91. Sresen S., Koska L., Kapralik J y cols.: Detection of alkaptonuria and mapping of its occurrence Slovakia. *Czech. Med.* 2:186 (1979).
92. Bombra R. Messori A., Wisca V. y cols.: A case of alcaptonuria with ochronosis and achrotonic atrophy. *Minerva Ortop.* 29:491 (1978).
93. Haiya P. P., Balay N. K., Sukumar I. P. y Cherian G.: Tetralogy of Fallot and alkaptonuria in successive generations. *Indian Pediatr.* 17:83 (1980).
94. Todd J. C., Sanford A. H., Wells B. B.: Clinical diagnosis by laboratory methods. 12a. ed. W. B. Saunders Co. Filadelfia, 1953.
95. Gradwohl: Métodos de diagnóstico de laboratorio clínico. 8a. ed. Editorial Médica Panamericana S. A. Buenos Aires, 1983.
96. Nelson W. E., Vaughan V. C., Mc Kay R. J.: Tratado de pediatría. Tomo 1. 7a. ed. Salvat. México, 1980.
97. Brigs A. P.: A colorimetric method for the determination of homogentisic acid in urine. *J. Biol. Chem.* 51:453 (1922).
98. Monges G., Gabe L., Pellegrin E. y cols.: Osteoarticular determination of ochronosis. Ultrastructural study. *Arch. anat. cytol. Path.* 29:45 (1981).
99. Witkop C. Jr.: Albinism. *Adv. Human Genet.* 2:61 (1971).
100. Kugelmann T. P., Van Scott E. J.: Tyrosinase activity in melanocytes of human albinos. *J. Invest. Dermatol.* 37:73 (1961).
101. Witkop C. J. Jr., Nance W. E., Pavls R. F. y White J. G.: Autosomal recessive oculocutaneous albinism in man: Evidence for genetic heterogeneity. *Human. Genet.* 22:55 (1970).
102. Witkop C. J. Jr., Quevedo W. C. Jr., Fitzpatrick T. B.: Albinism, en Stanbury J. B., Wyngaarden J. B., Fredrickson D. B.: The metabolic basis of inherited disease. 3a ed. Mc Graw-Hill. Nueva York, 1972.

103. Hermansky F. y Pudlak P.: Albinism associated with hemorrhagic diathesis and unusual pigmented reticular cells in the bone marrow: Report of two cases with histochemical studies. *Blood* 14:162 (1959).

104. Higashi O.: Congenital gigantism of peroxidase granules. *Tohoku J. Exp. Med.* 59:315 (1954).

105. Charles M., Rubin M. D., Bárbara Burt y cols. The accelerated phase of chediak-higashy syndrome. *Cancer. J. Am. Cancer Soc.* 56:524 (1985).

106. Nance W. E., Jackson C. E. y Witkop C. J. Jr.: Amish albinis: A distinctive autosomal recessive phenotype. *Am. J. Hum. Genet* 22:579 (1970).

107. Witkop C. J. Jr.: Heterogeneity in gingival fibromatosis, in Bergsma D. (ed). *Orofacial Structures, parte II. Birth Defects Original Article series* 7:210 (1971).

108. King R. A., Creel D., Cervenka J., Okoro A. N. y Witkop C. J.: Albinism in Nigeria with delineation of new recessive oculocutaneous type. *Clin. Genet.* 17:259 (1980).

109. Walsh J. R.: A distinctive pigment of the skin in New Guinea indigenes. *Ann. Huma. Gent.(London)* 43:379 (1971).

110. Frenk E. y Calme A.: Hypopigmentation oculo-cutanéé familiar a transmission dominante due a' trouble de la formation des mélanosomes. *Schwiez Med. Wochenschr* 107:1964 (1977).

111. Witkop C. J. Jr.: Depigmentations of the general and oral tissues and their genetic foundations. *Ala. J. Med. Sci.* 16:331 (1979).

112. Forius H., Eriksson A. W.: Ein neues Augen syndron mit X-chromosamaler transmission. Eine sippe mit fundusalbinismus. Foveahypoplasie, nystagmus, myopie, astigmatismus and dyschromatopsie. *Klin. Mona. Tsbil. Augenheilkd* 44:447 (1964).

113. O'Donnell F. E., King R. A., Green W. R. y Witkop C. J. Jr.: Autosomal recessively inherited ocular albinism. *Arch. Ophthalmol.* 96:1921 (1978).

114. Bergsma D. R. y Kaiser-Kupfer M.: A new form of albinism. *Am. J. Ophthalmol* 77:837 (1974).

115. Gricelli C., Durandy A., Guy-Grand D., Daguillard F. Hertzog C. y Prunieras M. A. : A syndrome associating partial albinism and inmunodeficiency. *Am. J. Med.* 65:691 (1978).

116. Kugelman T. P. y Van Scott E. J.: Tyrosinase activity in melanocytes of human albinos. *J. Invest. Dermatol.* 37:73 (1961).

117. King R. A., Witkop C. J.: Deletion of heterozygotes for tyrosinase-negative oculocutaneous albinism by hairbulb tyrosinase assay. *Am. J. Hum. Genet.* 29:164 (1977).
118. Kugelmann T. P., Van Scott E. JH.: Tyrosinase activity in melanocytes of human albinos. *J. Invest. Dermatol.* 37:73 (1961).
119. Wilcken B., Hammond J. W. y cols.: Hawnjisinuria. A donanthy inherited defect of tyrosine metabolism with severe effects in infancy. *N. Engl. J. of Medicine* 305:865 (1981).
120. Niederwieser A., Matasovic A. y cols.: A new sulfur amino acid, named hawkinsin, identified in a baby with transient tyrosinemia and her mother. *Clin. Chim. Acta.* 76:345 (1977).
121. Niederwieser A., Wadman S. K., Danks D. M.: Excretion of cis- and trans 4-hidroxicyclohexylacetic acid in addition to hawkinsin in a family with a postulated defect of 4- hidroxyphenilpyruvate dioxygenase. *Clin Chim. Acta* 90:195 (1978).
122. Smith I. (ed): Chromatographic and electrophoretic techniques. Vol. 1. -Heinemann, Ltd. Londres, 1969.
123. Goodwin B. L.: Tyrosine catabolism. The biological, physiological and clinical significance of p-hidroxyphenilpyruvate oxidase. Oxford, Cleveland Press, 1972.
124. Jepson J. B.: Hartnup disease, en Stanbury J. B., Wyngaarden J. B., Fredrikson D. B.: The metabolic basis of inherited disease. 5a ed. Mc Graw-Hill. Nueva York, 1983.
125. Scriber C. R.: Inborn errors of aminoacid metabolism. *Br. Med. Bull.* 25:35 (1969).
126. Brown R. R.: The isolation and determination of urinary hydroxykynurenine. *J. Biol. Chem.* 227:649 (1957).
127. Komrower G. M., Wilson V., Clamp J. R., Westall R. G.: Hydroxykynureninuria: A case of abnormal tryptophan metabolism probably due to a deficiency of kynureninase. *Arch. Dis. Child.* 39:250 (1964).
128. Scriver C. R.: Hartnup Disease. *N. Engl. J. Med.* 273:530 (1965).
129. Goodman S. J., Kohlhoff J. G.: Glutaric aciduria: inherited deficiency of glutaryl CoA dehydrogenase activity. *Biochem. Med.* 13:138 (1975).
130. Goodman S. I., Norenberg M. D. y cols.: Glutaric aciduria: Biochemical and morphological considerations. *J. Pediatr.* 90:746 (1977).

131. Brandt N. J., Brandt S. y cols.: Glutaric aciduria in progressive choreoathetosis. *Clin Genet.* 13:77 (1978).
132. Stokke O., Goodman S. I. y cols.: Glutaric aciduria, Presence of glutaconic and β -hidroxiglutaric acids in urine. *Biochem. Med.* 12:386 (1975).
133. Brandt N. J., Gregersen N. y cols.: Treatment of glutaryl-CoA dehydrogenase in leucocytes, fibroblasts and amniotic fluid cells. The normal enzyme and the mutant from in patients with glutaric aciduria. *Clin. Chim. Acta* 88:267 (1978).
134. Jepson J. B.: Hartnup disease, in Stanbury J. B., Wyngaarden J. B., Fredrickson D. S. (eds): *The metabolic basis of inherited metabolic diseases*, 4a ed, Nueva York, Mc Graw-Hill. 1978.
135. Zzeinberg A., Bar-Or R., Pollak S., Cohen B. E. y Jepson J. B.: Observations on urinary excretions of indolyl acryloyl-glycine. *Clin. Chim. Acta* 11:506 (1965).
136. Ra OBS., Narayanan H. S. y Reddy G. N.: A clinical and Biochemical survey of 729 cases of mental subnormality. *Br. J. Psychiatry* 118:505 (1971).
137. Cusworth D. C., Dent C. E.: Renal clearances of aminoacids in normal adults and in patients with aminoaciduria. *Biochem J.* 74:551 (1960).
138. Halvorsen K. y Halvorsen S.: Hartnup disease. *Pediatrics* 31:29 (1963).
139. Shaw KNF., Redlich D., Wright S. M. y Jepson J. B.: Dependence of urinary indole excretion in Hartnup disease upon gut flora. *Fed. Proc.* 19:194 (1960).
140. Block R. J., Derrum E. L., Zweig G.: *Paper chromatography and paper elctrophoresis*. 2a ed. Academic Press. Nueva York, 1958.
141. Milne H. D.: Hartnup disease. *Biochem j.* 111:3 (1969).
142. Pomeroy J., Efron M. L., Dayman J. y Hoenagel D.: Hartnup disorder in a New England family. *N. Engl. J. Med.* 278:1214 (1968).
143. Levy H. L. Harvey S., Miedal B., Whlendorf W. y Madigen P. M.: Cisthathioninuria and homocystinuria. *Clin Chim. Acta* 58:51 (1975).
144. Gaul G. E., Sturman J. A. y Shaffner F.: Homocystinuria due a cystathionine synthase deficiency: enzymatic and ultrastructural studies. *J. Peditr.* 84:381 (1974).

145. Gerritsen T., Vaughn J. G. y Waismen H. A.: The identification of homocystine in the urine. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 9:493 (1962).
146. Presley G. D., Stinson I. N., Sidburg J. B. Jr.: Ocular defects associated with homocystinuria. *South. Med. J.* 62:944 (1969).
- 146a. Enfermedad vascular cerebral juvenil y homocistinuria. *Revista clínica española.* Tomo 175:54 (1984).
147. Gaull G. E., Rassin D. K. y Sturman J. A.: Enzymatic and metabolic studies of homocystinuria effects of pyridoxine. *Neuropædiatriæ* 1:99 (1969).
148. Levy H. L.: Genetic screening, en Harris H., Hirschorn K. (eds): *Advances in human genetics.* Vol. 4, New York, Plenum Press, 1973.
149. Mudd H. S., Harvey L. L.: Disorders of transsulfuration, en Stanbury J. B., Wyngaarden J. B., Fredrickson D. B.: *The metabolic basis of inherited disease.* 4a. ed., Mc Graw-Hill. Nueva York, 1978
150. Spaeth G.L. y Baber G. W.: Prevalence of homocystinuria among the mentaly retarder. Evaluation of a specific screening test. *Pediatrics* 40:586 (1967).
151. Efron M. L.: Quantitative estimation of aminoacids in physiological fluids using a technicon amino acid analyzer in automation in analytical chemistry. Editado por L. T. Skeggs Jr. Pp.637 Mediad Inc. Nueva York, 1966.
152. Kraus J., Packman S., Fowler y rosenberg L.: Purification and properties of cisthationine from human liver. *J. Biol. Chem.* 253:6523 (1978).
153. Fleisher L. D., Longhi R. C., Tallan H. H., Beratis N. G., Hirschorn K. y Gaull G. E.: Homocystinuria: investigations of cisthationine synthase in cultured fetal cells and the prenatal determination of genetic status. *J. Pediatr.* 85:677 (1974).
154. Hyaneck J., Bremer H. J. y Slavik H.: "Homocystinuria" and [urinary] excretions of α -amino acids in patients treated with G-azauridina. *Clin. Chim. Acta* 25:288 (1969).
155. Erbe R. W.: Genetic aspects of folate metabolism, en Harris H., Hirschorn K (eds): *Advances in Human genetics* Nueva York, Plenum Publishing Corp. 1979.
156. Gerritsen T., Vaugh J. G., Waisman H. A.: The identification of homocystine in the urine. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 9:493 (1963).

157. Kutzbach C., Stokstad E. L. R.: Mammalian methylene THF reductase. Partial purification properties and inhibition by S-adenosylmethionine. *Biochem. Biophys. Acta* 250:459 (1971).

158. Mudd S. H., Uhlenendorf B. W., Freeman J. M., Finkelstein J. D. y Shih V. F.: Homocystinuria associated with decreased methylenetetrahydrofolate reductase activity. *Biochim. Biophys. Res. Comm.* 46:905 (1972).

159. Baumgarther E. R., Wick H., Maurer R. y cols.: Congenital defects in intracellular cobalamin metabolism result in homocystinuria and methylmalonic aciduria I. Case report and histopathology. *Paed. Acta* 34:465 (1979).

160. Iber F. L., Rosen H., Levenson S. M. y Chlamers T. C.: The plasma amino acids in patients with liver failure. *J. Lab. Clin. Med.* 50R417 (1957).

161. Mudd S. H.: Homocystinuria and homocysteine metabolism: Selected aspects, en Nyham W. L. (ed). *Hereditary disorders of amino acids metabolism*, Nueva York, John Wiley and Sons Inc. 1985.

162. Julius R. L.: Response to dietary therapy in biz unresponsive methylmalonic acidemia. *Pediatrics* 51:539 (1973).

163. Tallan H. H.: Methionine adenosyl transferase in man. Evidence for multiple forms. *Biochem. Med.* 21:129 (1979).

164. Gaull G. E., Tallan H. H., Lonsdale D., Prrurenbel H., Schaffne F. y Von Bassewitz D. B.: Hypermethioninemia associated with methionine adenosyl transferase deficiency: Clinical, morphological and biochemical observations in four patients. *J. Pediatr.* 98:743 (1981).

165. Berlow S.: Studies in Cystinemia. *Am. J. Dis. Chil.* 112:135 (1966).

166. Griffiths R. y Todball N.: The molecular defect in a case (cystathionine β -synthase) deficient with urinary cystathioninuria. *J. Med. Genet* 11:121 (1974).

167. Frimpter G. W., Haymovitz A. y Horwith M.: Cystathioninuria. *New Engl. J. Med.* 268:333 (1963).

168. Bittles A. H. y Carson NAJ.: Cystathionase deficiency in fibroblast cultured from patient with urinary cystathioninasa. *J. Med. Genet.* 11:121 (1974).

169. Pascal I. A., Gaull G. E., Beatis N. G., Gillam B. M. y Tallan H. H.: Cystathioninase deficiency: Evidence for genetic heterogeneity in primary cystathioninuria. *Pediatr. Res.* 12:125 (1978).

170. Cox B. O. y Cameron J. S.: Homoarginine in cystinuria. *Clin. Sci. Molec. Med.* 46:173 (1974).
171. Bremer H. J., Kohne E. y Endres W.: The excretion of diamines in human urine II. Cadaverine, putrescine, 1,3-diamino propane, 2,2'-dithiobis (ethylamine) and spermidine in urine of patients with cystinuria and cystinylsinuria. *Clin. Chim. Acta* 32:407 (1971).
172. Segal S. y Thier S. O.: Cystinuria en Stanbury J. B., Hyngaarden, J. B. Fredrikson, D. S. goldsteir J. L. y Brown M. S. (eds). *The metabolic basis of inherited diseases*, 5a. ed. Mac Graw-Hill, Nueva York, 1983.
173. Hambraews L. y Lagergren C.: Cystinuria in Sweden VI. Biophysical and roetegenological studies of urinary calculy from cystinurics. *J. Urol.* 88:826 (1962).
174. Frimpter G. W.: Cystathioninuria in a patient with cystinuria. *Am. J. Med.* 46:8322 (1969).
175. Sackett D. L.: Adaptation of monodirectional high voltage electroforesis on long paper to the rapid qualitative identifications of urinary amino acids. *J. Lab. Clin. Med.* 63:306 (1964).
176. Crawhall J. C., Saunders, E. P. y Thompson C. J.: Heterozygotes for cistinuria. *Ann. Num. Genet.* 29:257 (1966).
177. Rosenberg L. E., Durant J. L., Albrecht I.: Genetic heterogeneity in cystinuria: Evidence for allelism. *Trans. Assoc. Am. Phy.* 79:284 (1966).
178. Crane C. N. y Turner A. W.: Amino acid patterns of urine and blood plasma in a cystinuric labrador dog. *Nature (Lond.)* 177:237 (1956).
179. Cornelius C. E., Bishop J. A. y Schaffer M. H.: A qualitative study of amino aciduria in dachshand with a history of cystine urolithiasis. *Cornell Vet.* abril:177 (1967).
180. Goulden B. E. y Leaver J. L.: Low voltege paper electrophoresis as a acreeing test for the diagnosis of canine cystinuria. *Vet. Rec.* 80:244 (1967).
181. King j. s.: Treatment of cistinuria with β -mercaptopropionylglycine: A preliminary report. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 129:927 (1968).
182. Crissey M. M., Giltess R. F.: Dissolution of Cystine calculi by pelvicaliceal irrigation with D-penicillamine. *J. Urol.* 124:895 (1980).

183. Kelly S., Nolan D. P.: Letter to the editor. JAMA 243:1897 (1980).
184. Gahl W. A.: Cystinosis. Adv. Pediatr. 33:95 (1986).
185. Broyer H., Guillot M., Gubler M. C., Habib R.: Infantile cystinosis. A reappraisal of early and late symptoms, en hamburger J., Crosnter J., Grunfed J., Maxwell (eds): Advances in nephrology. Chicago, 1981.
186. Clay R. D., Darmady E. M., Hawkins M. The nature of the renal lesion in Fanconi syndrome. J. Pathol. Bacteriol. 65: 551 (1953).
187. Schneider J. A., Verroust, F. M., Kroll W. A. y cols.: Prenatal diagnosis of cystinosis. N. Engl. J. Med. 290:878 (1974).
188. Scheineder A. J., Schulman J. D.: Cystinosis, en Stanbury J. B., Wyngaarden J. B., Fredrickson D. B.: The metabolic basis of inherited disease. 4a ed. Mc Graw-Hill. Nueva York, 1978.
189. Burki V. E., Ueber: Cystin Krankheit im kienkindersalter unter bensonderer beru cksicht igung des augenbefunder. Ophtalmologica 101:257 (1941).
190. Sceider J. A., Wong V., Seegmiller J. F.: The early diagnosis of cystinosis. J. Pediatr. 74:114 (1969).
191. Kenyon K.R., Sensenbrenner J. A.: Electron microscopy of cornea and conjuntiva in childhood cystinosis. Am. J. Ophthalmol. 78:68 (1974).
192. Broyer M., Kleinknecht C., Loirat C., Marti-Henneberg C., Roy M. P.: Growth in children treated with long term hemodialysis. J. Pediatr. 84:642 (1974).
193. Gahl W., Reed G., Thoene J., Schulman J., Rizzo W., Jonas A., Deniman D., Schlesslman J., Corden B., Schneider J.: Cysteamine therapy for children with nephropatic cystinosis. New Engl. J. Med. 316:971 (1987).
194. Schneider J. A., Scesselman J. JH., Mensoza S. A. y cols.: Ineffectiveness of ascorbic acid terapy in nrphropathic cystinosis. N. engl. J. Med. 300:756 (1979).
195. Langlosis R. P., O'Regan S., Pelletier M., Robilalle P.: Kidney transplanation in uremic children with cystinosis. Nephron 28:273 (1981).
196. Mudd S. H., Irreverre F., Laster L.: Sulfite oxidase deficiency in man. Demostration of the enzymatic defect. Science 156:1599 (1967).
197. Kutter D., Humbel R.: Screening for sulfite oxidase deficiency. Clin. Chim. Acta 24:211 (1969).

198. Crawl J. C., Parker R., Sneddon W., Young E. P.: - mercaptolactate-cysteine disulfide in the urine of a mentally retarded patient. *Am. J. Dis. Chil.* 117:71 (1969).
199. Thomas G. H., Howell R. R.: Selected screening test for genetic metabolic diseases. Year Book Medical Publishers Inc., Chicago, 1973.
200. Calmon C., Kressman T. R. E.: Ion exchangers in organic and biochemistry. Interscience Publishers Inc. Nueva York, 1957.
201. Snyderman S. E.: Maple syrup urine disease, en Inborn errors of amino acid metabolism. Nyham W. (ed), John Wiley S. Sons, Nueva York, 1974.
202. Haymond M. W., Ben-Galim E., Strobel K. S.: Glucose and alanine metabolism in children with maple syrup urine disease. *J. Clin. Invest.* 62:398 (1978).
203. Lonsdale D., Mercer R. D., Faulkner W. R.: Maple syrup urine disease: Report of two cases. *Am. J. Dis. Child.* 106:258 (1963).
204. Kadama S., Seki A. Hanabusa M. Morisita Y., Sakurai T., Matsuot.: Mild variant of maple syrup urine disease. *Eur J. Pediatr* 124:31 (1976).
205. Duran M., Tielens G. M., Wadman S. K., Stigter J. C. M., Kleijer W. J.: Effects of thiamine in a patient with a variant form of branched chain ketoaciduria. *Acta Pediatr.* Scand 67:367 (1978).
206. Robinson B. H., Taylor J., Kahler S. G., Kirklan H. N.: Lactic acidemia, neurologic deterioration and carbohydrate dependence in a girl with dihydrolipoyl dehydrogenase deficiency. *Eur. J. Pediatr.* 136:35 (1981).
207. Thomas G. H., Howell R. R.: Selected Screening test of genetic metabolic diseases. Chicago, Yearbook, 1973.
208. Langenbec U., Mahring H. U., Hinney B., Spitteller M.: Quinoxalino derivatives of aliphatic 2-oxocarboxylic acids. *Biomed Mass Spec.* 4:197 (1977).
209. Dancis J., Jansen V., Hutzler J., Levitz M.: The metabolism of leucine in tissue culture of skin fibroblasts of maple-syrup-urine-disease. *Biochem. Biophys. Acta* 77:523 (1963).
210. Fenson A. H., Benson P. F., Baker J.: A rapid method for assay of branched-chain keto acid decarboxylation in cultured cells and its applications to prenatal diagnosis of maple syrup urine disease. *Clin Chim Acta* 87:169 (1978).

211. Kindt E., Sveric Halvorsen: The need of essential aminoacids in children: An evaluation based on the untake of phenylalanine tyrosine, leucine, isoleucine and valine in children with phenylketonuria, tyrosine aminotransferase defect, and maple syrup urine disease. *Am. J. Clin. Nutr.* 33:279 (1980)

212. Pueschel S. M., Bresnan M. J., Shih V. E., Levy S. M.: Thiamine-responsive intermittent branched chain ketoaciduria. *J. Pediatr.* 94:628 (1979).

213. Wada Y.: Idiopathic hypervalinemia: Valine and α -ketoacids in blood following an oral dose of valine. *Tohoku J. Exp. Med.* 87:322 (1965).

214. Dancis J., Hutzler J. Tada K., Wada Y., Morikawa T., Arakawa T.: A defect in valine transamination. *Pediatrics* 39:813 (1967).

215. Tada K., Wada Y., Arakawa T.: Hypervalinemia: Its metabolic lesion and therapeutic approach. *Am. J. Dis. Child.* 113:64 (1967).

216. Budd M. A., Tanaka K., Holmes L. B., Efron M. L. Crawford J. S., Isselbacher K. J.: Isovaleric acidemia: Clinical features of a new genetic defect of leucine metabolism. *N. Engl. J. Med.* 277:321 (1976).

217. Ando T., Nyham W. L., Bachmann C., Rasmussen K., Scott R., Smith E. K.: Isovaleric acidemia: Identification of isovalerate, isovalerylglycine and 3-hydroxyisovalerate in urine of a patient previously reported as having butyric and hexanoic acidemia. *J. Pediatr.* 82:243 (1973).

218. Winokor P. A., Vashista K., Seshamani R.: Isovaleric acidemia: A case report. *Pediatrics* 61:902 (1978).

219. Tanaka K., Rosenberg L. E.: Disorders of branched chain amino acid and organic acid metabolism, in Stanbury J. B., Wyngaarden J. B., Fredrickson D. B. (eds): *The metabolic basis of inherited disease*. 5a ed., Mc. Graw-Hill, Nueva York, 1983.

220. Levy H. L., Erickson A. M., Lott I. T., Kurtz D. J.: Isovaleric acidemia: Results of family study and dietary treatment. *Pediatrics* 52:83 (1973).

221. Dahl D. R.: Short chain fatty acid inhibition of rat brain Na-K-adenosine Triphosphatase. *J. Neurochem.* 15:815 (1968).

222. Malan C., Neethling A. C., Shanley B. C., Gompertz D., Barlett K., Schraader E. B.: Isovaleric acidemia in two South African children. *S. Afr. Med. J.* 52:980 (1977).

223. Lott I. T., Erickson A. M., Levy H.: Dietary treatment of an infant with isovaleric acidemia. *Pediatrics* 49:617 (1972).

224. Yudkof F. M., Cohn R. M., Puschah R., Rothman R., Segal S: Glycine Therapy in isovaleric acidemia. *J. Pediatr.* 92:813 (1978).

225. Sweetman L. Nyhan W. L., Trauner D. A., Merritt T. A., Singh M: Glutaric aciduria type II. *J. pediatr.* 96:1020 (1980).

226. Gregersen N., Kolveraa S., Rasmussen K., Christensen E., Brandt N. J., Ebbensen F., Hanse F. H.: Biochemical studies in a patient with defects in metabolic of acyl CoA and sarcosine: Another possible case of glutaric aciduria type II. *J. Inher. Metab. Dis.* 3:67 (1980).

227. Alexander B., Landwehr G., Seligman A. M.: A specific micrometod for the colorimetric determination of glycine in blood and urine. *J. Biol. Chem.* 160:51 (1945).

228. Tanaka K., Hine D. G., West-Dull A., Lynn T. B.: A gas-chromatographic method for analysis of urinary organic acids : Retention indices o ISS metabolically important compounds. *Clin Chem* 26:1839 (1980).

229. Tanaka K.: Disorders of orgenic acid metabolism, en Gaull G. E. (ed): *Biology of brain dysfunction* Vol. 3. Plenum Publishing Corporation, Nueva York, 1975.

230. Hegre C. S., Halenz D. K., Lane M. D.: The Enzimatic carboxilation of butyryl coenzyme A. *J. Am. Chem. Soc.* 81:6526 (1959).

231. Goodman S. I., Mc. Cabe E. R. B., Fennessey P. V., Mace J. W.: Multiple acyl-CoA deshydrogenase deficiency (glutaric aciduria Type II) with transient hypersarcosinemia ans sarcosinuriañ possible inherited deficiency of an electron trasnfer flavoprotein. *Pediatr. Res.* 14:12 (1980).

232. Mantagos S., Genel M., Tanaka K.: Ethylmalonic-adipic aciduria: in vivo and in vitro studies indicating deficiency of activities of multiple acyl- CoA deshidrogenases. *J. Clin. Invest.* 64:1580 (1979).

233. Leonard J. V., Seakins J. W. T. y cols.: Inherited disorders os 3-methylcrotonyl CoA carboxylation. *Arch. Dis. Child.* 56:53 (1981).

234. Eldjan L. Jellum E., Stokkf O., Pande H., Wahlep P. E.: β -hydroxyisovaleric aciduria and β -methylcrotonylglycinuria. A new error of metabolism. *Lancet* 2:521 (1970).

235. Tanaka K., Rosenberg L. E.: Disorders of branched chain amino acid and organic acid metabolism, en Stanbury J. B., Wyngaarden J. B., Fredrickson D. B.: *The metabolic basis of inherited disease*, 5a Mc Graw-Hill. Nueva York, 1983.

236. Finnie M. D. A., Cottrall K., Seakins J. W. Y., Snedden W.: Massive excretion of 2-oxoglutaric acid and 3-hydroxyisovaleric acid in a patient with a deficiency of 3-methylcrotonyl-CoA carboxylase. *Clin. Chim. Acta* 73:513 (1976).

237. Schutgens R. B. H., Hymans H., Ketel A., Veder H. A.: Lethal hypoglycemia in a child with a deficiency of 3- hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A. Lyase. *J. Pediatr.* 94:89 (1979).

238. Truscott R. J. W., Halpern B., Wysochi S. J., Hahnel R., Wilcken B.: Studies on a child suspected of having a deficiency in 3-hydroxy-3-methylglutaryl CoA lyase. *Clin Chim Acta* 95:11 (1979).

239. Robinson J. P., Felgin R. D., Tenebaum S. M., Hillman R. E.: Hyperglycemia with ketosis due to a defect in isoleucine catabolism. *Pediatrics* 50:890 (1972).

240. Duran M., Schutgens R. B. H., Ketel A., Heymans H., Berntssen M. W. J., Ketting D., Wadaman S. K.: 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A lyase deficiency: Postnatal management following prenatal diagnosis by analysis of maternal urine. *J. Pediatr.* 95:1004 (1979).

241. Robinson B. H., Sherwood G. y cols.: Acetoacetyl CoA thiolase deficiency: A cause of severe ketoacidosis in infancy simulating salicylism. *J. Pediatr.* 95:228 (1979).

242. Hillman R. E., Keating JU. P.: α -Ketothiolase deficiency as a cause of the "ketotic hyperglycinemia syndrome". *Pediatrics* 53:221 (1974).

243. Menkes J. H.: Maple syrup disease: isolation and identification of organic acids in the urine. *Pediatrics* 23:348 (1959).

244. Carson N. A. J.: Non-ketotic hyperglycinaemia. A review of 70 patients. *J. Inher. Metab. Dis.* 5(supl.2):126 (1982).

245. Wolf B., Willard H. F., Rosenberg L. E.: Kinetic Analysis of genetic complementation in heterokaryons of propionyl CoA carboxylase-deficient human fibroblasts. *Am J. Hum. Genet* 32:16 (1980).

246. Wolf B., Palsen E. P., Hsia Y. E.: Asymptomatic propionyl Coa carboxylase deficiency in a 13-years-old girl. *J. Pediatr.* 95:563 (1979).

247. Hsia Y. E., Scully K. J., Rosenberg L. E.: Human propionyl CoA carboxylase: Some properties of the partially purified enzyme in fibroblasts from controls and patients with propionic acidemia. *Pediatr. Res.* 13:746 (1979).

248. Gompertz D., Goodey P. A., Thom H., Russell G., Johnston A. W., Mellor D. H., Mac Lean M. W., Ferguson-Smith M. E., Ferguson-Smith M. A.: Prenatal diagnosis and family studies in a case of propionic acidemia. *Clin Genet* 8:244 (1975).

249. Barnes N. D., Hull D., Balgobin L., Gompertz D.: Biotin-responsive propionic acidemia. *Lancet* 2:244 (1970).

250. Willard H. F., Rosenberg L. E.: Inherited deficiencies of methylmalonyl CoA mutase activity: Biochemical and genetic studies in cultured skin fibroblasts, en Hommes F. A. (ed): Models for the study "of inborn errors of metabolism. Amsterdam, Elsevier North-Holland Biomedical Press, 1979.

251. Morrow G., Mahoney M. J., Mathews C., Lebowitz J.: Studies of methylmalonyl coenzyme A carbonylmutase activity in methylmalonic acidemia I. Correlation of clinical, hepatic and fibroblast data. *Pediatr. Res* 9:641 (1975).

252. Mahoney M. J., Rosenberg L. E., Mudd S. h., Uhlendorf B. W.: Defective metabolism of vitamin B in fibroblasts from patients with methylmalonic aciduria. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 44:375 (1971).

253. Chalmers R. A., Watts W. E.: The quantitative extraction and gas-liquid chromatographic determination of organic acids in urine. *Analyst.* 97:958 (1972).

254. Shapiro L. J., Bocian M. E. y cols.: Methylmalonyl-CoA mutase deficiency associated with severe neonatal hyperammonemia: Activity of urea cycle enzymes. *J. Pediatr* 93:986 (1978).

255. Gompertz D., Goodey P. A. y cols.: Prenatal diagnosis and family studies in case of propionicacidemia. *Clin Genet* 8:244 (1975).

256. Rosenberg L. E.: Disorders of propionate and methylmalonate metabolism, en Stanbury J., Wyngaarden J. B., Fredrickson D. S., Goldsteiner, J. L., Brown M. S. (eds.): The metabolic basis of inherited diseases, 5a. ed, Mc. Graw-Hill, New York, 1983.

257. Nyhan W. L.: Nonketotic hyperglycinemia, en Stanbury J., Wyngaarden J. B., Fredrickson D. S., Goldsteiner J. L., Brown M. S. (eds.): The metabolic basis of inherited diseases, 5a ed., Mc. Graw-Hill, New York, 1983.

258. Perry T. L., Urquhart N., Maclean J. Evans M. E., Hansen S., Davidson A. G. F., Applegarth D. A., McLeod P. J., Lock J. E.: Nonketotic hyperglucinaemia. *N. Engl J. Med.* 292:1269 (1975).

259. Trauner D. A., Paget, Greco C., Swatmwn L., Kulovich S., Nyhan W. L.: progressive neurodegenerative disorder in a patient with nonketotic hyperglycinemia. *J. Pediatr.* 98:272 (1981).

260. Kolvra S., Rasmussen K., Brandt N. J.: D-glyceric acidemia: Biochemical studies of new syndrome. *Pediatr Res* 10:825 (1976).

261. Vond Wendt L: Nonketotic hyperglycinemia. A clinical and experimental study. *Acta Univ. Oulvenis, series D, Medica* 53 (med. Interna. *Pediatr*) No. 8, 1980.

262. Sprang F. J., Duran H., Scholten H. G. Wadman S. K.: A patient with sarcosinaemia. Case report. *J. Inher metab Dis.* 9:404 (1986).
263. Sewell A. C. y cols.: Sarcosinaemia in a retarded amaurotic child. *Eur. J. Pediatr* 144:508 (1986).
264. Levy H. L. y cols.: Massachusetts metabolic disorders screening program III. Sarcosinemia. *Pediatrics* 74:509 (1984).
265. Gerritsen T., Waisman H. A.: Hypersarcosinemia, en Stanbury J. B., Wyngaarden J. B., Fredrickson D. S. (eds): *The metabolic basis of inherited diseases*. 4a ed., Mc. Graw-Hill, New York, 1978.
266. Scriver C. R., Pueshel S. Davies E.: Hyper- β -alaninemia associated with α -aminoaciduria and β -aminobutyric aciduria, somnolence and seizures. *N. Engl. J. Med.* 274:636 (1966).
267. Westall R. G.: The amino acids and other ampholytes of urine. 3. Unidentified substances expected in normal human urine. *Biochem J.* 60:246 (1955).
268. Scriver C. R.: Vitamin B6 deficiency and dependency in man. *Am. J. Dis. Child.* 113:109 (1967).
269. Van Heeswijk O. J., Trijbels J. M. F. y cols.: A patient with a deficiency of serum carnosinase activity. *Acta Pediatr. Acad.* 58:584 (1969).
270. hadimi H., Partington M. Hunter A.: A familial disturbance of histidine metabolism. *N. Engl. J. Med.* 265:221 (1961).
271. Levenson J., Kendahl-Kiesshing K. Rayne S.: Carnosine excretion in juvenile amaurotic idiocy. *Lancet* 2:756 (1964).
272. Perry T. L., Hansen S. Love D. L.: Serum-carnosinase deficiency in carniosinemia. *Lancet* 1:1229 (1968).
273. Murphey W. H., Patchen L. I., Lindmark D. G.: Carnosinase, A fluorometric assay and demonstration of two electrophoretic forms in human tissue extracts. *Clin. Chim. Acta* 42:309 (1972).
274. Perry T. L., Hansen S., Tischler B., Bunting R., Berry K.: Carnosinemia: A new metabolic disorder associated with neurological disease and mental defect. *N. Engl. J. Med.* 277:1219 (1967).
275. Auervach V. H., Di George A. M. y cols.: Histidinemia. A deficiency in histidase resulting in the urinary excretion of histidine and of imidazolepyruvic acid. *J. Pediatr* 60:487 (1962).

276. Hyaneek y cols.: Speech and language disorders in histidinaemia and other amino acid disturbances. *J. Inher. Metab. Dis.* 8(supl. 2):130 (1985).

277. Efron M. L., Young G., Moser W. H.: A simple chromatographic test for the detection of disorders of amino acid metabolism. *N. Engl. J. Med.* 270:1378 (1964).

278. Ito F., Aoki K., Eto Y.: Histidinemia. Biochemical parameters for diagnosis. *Am. J. Dis. Child.* 153:227 (1981).

279. Levy H. L. Shih V. E., Madigan P. M.: Routine newborn screening for histidinemia: clinical and biochemical results. *N. Engl. J. Med.* 291:1214 (1974).

280. Melanon S. B., Lee S. Y., Nadler H. L.: Histidase activity in cultivated human amniotic fluid cells. *Science* 173:627 (1971).

281. Corner B. D., Holton J. B. y cols.: a Cause of histidinemia controlled with a low histidine diet. *Pediatrics* 41:1074 (1968).

282. Arakawa T. S.: Congenital and acquired disturbances of histidine metabolism. *Clin Endocrinol Metab.* 3:17 (1974).

283. Niederwieser A., Giliberti P., Matasovic A., Plusni K. S., Steinmann B., Baerlocher K.: Folic acid non-dependent formiminoglutamic aciduria in two siblings. *Clin. Chim. Acta* 54:293 (1974).

284. Rusell A., Statter M., Abzug-Horowitz. Methionine dependent glutamic acid formiminotransferase deficiency, en Sperling O., de Vries H. (eds): *Inborn errors of meytabolism in man.* Basel S. Karger, 1978.

285. Rowe P. B.: Inhetited disorders of folate metabolism, en Stanbury J. B., Wyngaarden J. B., Fredrickson D. B.: *The metabolic basis of inherited disease.* 5a ed. Mc Graw-Hill. Nueva York, 1983.

286. Meister A.: On the enzymology of amino acid transpot. *Science* 180:33 (1973).

287. Eldjarn L., Jellum E., Stokke O.: Pyroglutamic acidemia, en Nyhan W. L. (ed): *Hereditary disorders of amino acid metabolism.* John and Wiley Sons. Nueva York, 1974.

288. Speilberg S. P., Kramer L. I. y cols.: 5-oxoprolinuria: Biochemical observations and case report. *J. Pediatr.* 91:237 (1977).

289. Spielberg J. P., Bulter J. D. B. y cols.: Treatment of glutathione synthetase deficient fibroblast by inhibiting -glutamyl traspeptidase activity with serine and borate. *Biochem. Biophys. Res. Common* 89:504 (1979).

290. Spielberg S. p., Garrick M. D. y cols.: Biochemical heterogeneity synthetase deficiency. *J. Clin. Invest.* 61:1417 (1978).

291. Richards F. II, Cooper M. R. y cols.: Familiar spinocerebellar degeneration, hemolytic anemia, and glutathione deficiency. *Arch. Intern. Med.* 124:534 (1974).

292. Konrad P. N., Richards F. II y cols.: γ -Glutamylcysteine synthetase deficiency. *N. Engl. J. Med.* 286:557 (1972).

293. Minnich V., Smith B., Bruner M. J. y cols.: Glutathione biosynthesis in human erythrocytes. I. Identification of the enzymes of glutathione synthesis in hemolysates. *J. Clin. Invest.* 50:507 (1971).

294. Richman P., Meister A.: regulation of γ -glutamyl system synthetase by nonallosteric feedback inhibition by glutathione. *J. Biol. Chem.* 250:1422 (1975).

295. Griffit O. W., Meister A.: Excretion of cysteine and γ -glutamyl-cysteine moieties in human and experimental animal γ -glutamyl transpeptidase deficiency. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77:3384 (1980).

296. O'Daly S.: An abnormal sulphhydryl compound in urine. *Irish. J. Med. Sci.* 7:578 (1968).

297. Schulman J. D., Goodman S. I. y cols.: Glutathionina: Inborn error of metabolism due to tissue deficiency of γ -glutamyl transpeptidase. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 65:68 (1975).

298. Wright E. C., Stern J., Ersser R., Patrick A. D.: Glutathionuria: γ -glutamyl transpeptidase deficiency. *J. Inher. Metab. Dis.* 2:3 (1979).

299. Goodman S. I., Mace J. W., Pollack S.: serum γ -glutamyl transpeptidase deficiency. *Lancet* 1:234 (1971).

300. Rosel R. A., Hommes F. A., Samper L.: Pyroglutamic aciduria (5-oxoprolinuria) without glutathione synthetase deficiency and with decreased pyroglutamate hydrolase activity. (Abstr.) International symposium on inborn errors of metabolism in humans. Switzerland. Sep. 2-5, 1980.

301. Larsson A., Mattsson B. y cols.: 5-oxoprolinuria due to hereditary 5-oxoprolinase deficiency in two brothers -A new inborn error of the γ -glutamyl cycle. *Acta Paediatr. Scand.* 70:301 (1981).

302. Meister A.: The γ -glutamyl cycle: Disease associated with specific enzymatic deficiencies. *Am. Intern. Med.* 81:247 (1974).

303. Meister A.: 5-oxoprolinuria (Pyroglutamic aciduria) and other disorders of the γ -glutamyl cycle, en Stanbury J. B. Wyngaarden J. B. Fredrickson D. B. 5a ed. Mc Graw-Hill. Nueva York, 1983.

304. Nyhan W. L.: Hereditary disorders of aminoacid metabolism. John Wiley and sons. Nueva York, 1985.

305. Gibson K. M., Sweetman L. y cols.: Succinic semi-aldehyde dehydrogenase deficiency: An inborn error of gamma-aminobutyric acid metabolism. Clin. Chim. Acta. 133:33 (1983).

306. Wing W. J., Awapara J.: Decarboxylation of l-glutamic acid by brain. J. Biol. Chem. 187:267 (1980).

307. Jacobs C., Bojarsch M y cols.: Urinary excretion of gamma-hydroxybutyric acid in a patient with neurological abnormalities. The probability of the new inborn error of metabolism. Clin. Chim. Acta 11:169 (1981)

308. Snead O. C.: Gamma-hydroxybutyrate. Life Sci. 20:1935 (1977).

309. Snead O. C., Bearden L. A., Pegram V.: Effect of acute and chronic anticonvulsant administration on endogenous gammahydroxybutyrate in rat brain. Neuropharmacology 19:47 (1980).

310. Fellows F. C. I., Carson N. A. J.: Enzyme studies in a patient with saccharopinuria: A defect of lysine metabolism. Pediatr Res. 8:42 (1974).

311. Woody N. C.: Hyperlysinaemia. Arch. Dis. Child. 49:971 (1974).

312. Colombo J. P., Richterich R. y cols.: Congenital Lysine intolerance with periodic ammonia intoxication. Lancet 1:1014 (1964).

313. Dancis J., Hutzler J., Cox R. P.: Familial Hyperlysinemia: enzyme studies, diagnostic methods, comments on terminology. Am. J. Hum. Genet 31:290 (1979).

314. Nyhan W. L.: Hereditary disorders of aminoacid metabolism. John Wiley and sons. Nueva York, 1974.

315. Colombo J. P., Richterich R. y cols.: Congenital lysine intolerance with periodic ammonia intoxication. Lancet 1:1014 (1964).

316. Gray R. G. F., O'Neil E. M., Pollitt R. J.: α -aminoadipic aciduria: chemical and enzymatic studies. J. Inher. Metab. Dis. 2:89 (1979).

317. Casey R. E., Zaleski W. A., Philip M., Mendelson I. S., Mac Kenzie S. L.: Biochemical and clinical studies of a new case of α -aminoadipic aciduria. J. Inher. Metab. Dis. 1:129 (1978).

318. Vianey-Liaud P., Divry P., Cotte J., Teyssier G.: ω -amino adipic and ω -keto adipic aciduria: detection of a new case by a screening program using two-dimensional thin layer chromatography of amino acids. *J. Inher. Metab. Dis.* 8(supl. 2):133 (1985).
319. Lomarns S., Lowenthal A.: ω -amino adipic aciduria in a oligophrenic child. *Clin. Chim. Acta* 57:97 (1974).
320. Perheentupa J., Visakorpi J. K.: Protein intolerance with deficient transport of basic amino acids. *Lancet* 2:813 (1965).
321. Sime11 O., Peheentupa J. y cols.: Lysinuric protein intolerance. *Am. J. Med.* 59:229 (1975).
322. Whwlan D. T., Scriver C. R.: Hyperdibasicaminoaciduria. An inherited disorder of amino acid transport. *Pediatr Res.* 2:525 (1968).
323. Awrich A. E., Stackhouse W. J. y cols.: Hyperdibasic aminoaciduria, hyperammonemia and growth retardation: Treatment with arginine, lysine and citrulline. *J. Pediatr* 87:731 (1975).
324. Hambraeus L., Hardell L. I., Westphal O., Lorentsson R., Hjorth G. L.: Arginosuccinic aciduria: Report of three cases and the effect of high and reduced protein intake on the clinical state. *Acta Pediatr. Scand* 63:525 (1974).
325. Schutgens R. B. H., Beemer F. A., Tegelaers W. H. H., De Groot W. P.: Mild variant of arginino succinic aciduria. *J. Inher. Metab. Dis.* 2:13 (1979).
326. Collins F. S., Sumer G. K., Schwartz R. P., Parke J. C. Jr.: Neonatal arginosuccinic aciduria-survival after early diagnosis and dietary management. *J. Pediatr.* 96:429 (1980).
327. Vimal C. M. y cols.: Prenatal diagnosis of arginosuccinic aciduria by analysis of cultured chorionic villi. *Lancet* 1:521 (1984).
328. Brunsilow S. W., Batshaw M. L.: Arginine therapy of arginosuccinase deficiency. *Lancet* 1:24 (1979).
329. Cederbaum S. D., Shaw K. N. F., Spector E. B.: Hyperargininemia with arginase deficiency. *Pediatr. Res.* 13:827 (1979).
330. Terheggen M. C., Schwenk A., Lowenthal A., Van Sande M., Colombo J. P.: Argininemia with arginase deficiency. *Lancet* 2:748 (1969).
331. Endres W y cols.: Diagnosis and treatment of argininaemia. Characteristics of arginase in human erythrocytes and tissues. *J. Inher. Metab. Dis.* 7:8 (1984).

332. Goodman S. I.: Antenatal diagnosis of defects in ureagenesis. *Pediatrics* 68:446 (1981).
333. Endres W., Schaller R. Shih Y. S.: Diagnosis and treatment of argininemia. Characteristics of arginase in human erythrocytes and tissues. *Inher. Metab. Dis.* 7:8 (1984).
334. Efron M. L.: Familial hyperprolinemia. Report of a second case, associated with congenital renal malformations, hereditary nematuria and mild mental retardation, with demonstration of an enzyme defect. *N. Engl. J. Med.* 272:1243 (1965).
335. Schafer I. A., Scriver C. R., Efron M. L.: Familial hiperprolinemia, cerebral dysfunction and renal anomalies occurring in a family with hereditary nephritis and deafness. *N. Engl. J. Med.* 267:51 (1962).
336. Bergmann I., Loxley R.: Two improved and simplified methods for the spectrophotometric determination of hydroxyproline. *Analyt. Chem.* 12:1961 (1963).
337. Harries J. T., Piesowicz A. T. y cols.: Low proteine diet in type I hiperprolinaemia. *Arch. Dis. Child.* 46:72 (1971).
338. Valle D., Goodman S. I. y cols.: Type II hyperprolinemia - pirroline-5-carboxylic acid dehydrogenase deficiency in cultured skin fibroblasts and circulating lymphocytes. *J. Clin. Invest.* 58:598 (1976).
339. Goodman S. I., Mace J. W. y cols.: Defective hydroxyproline metabolism in type II hydroxyprolinemia. *Biochem. Med.* 10:329 (1974).
340. Emery F. A., Goldie E. L. Stern J.: Hiperprolinaemia type II. *J. Ment Defic. Res.* 12:187 (1968).
341. Simila S.: Hyperprolinemia type II. *Ann. Clin. Res.* 2:143 (1970).
342. Efron M. L., Bixby E. M. y cols.: Hydroxyprolinemia associated with mental deficiency. *N. Engl. J. Med.* 267:1193 (1962).
343. Pelkonen R., Landevirta J. y cols.: Hydrpxyprolinemia: A case without mental deficiency. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 23 (supl. 108):21 (1969).
344. Pelkonen R., Kivirkko K. I.: hydroxyprolinemia. *N. Engl. J. Med.* 281:541 (1970).
345. Nussgens B., Lapiere C. M.: The relationship between proline and hydroxyproline urinary excretion in human as an index of collagen metabolism. *Clin. Chim. Acta* 48:203 (1973).

346. Simila S.: Dietary treatment in hyperprolinaemia type II. Acta Pediatr. Scand. 63:249 (1974).

347. Powel G. F., Rasco M. A., Naniscalco R. M.: A prolidase deficiency in man with iminopeptiduria. Metabolism. 23:505 (1974).

348. Isemura M., Hanyo T. y cols.: Prolidase deficiency with imidopeptiduria. A familial case with and without clinical symptoms. Clin. Chim. Acta 93:401 (1979).

349. Meilman E., Urivetzky M. M., Rapaport C. M.: Urinary hydroxyproline peptides. J. Clin. Invest. 42:40 (1963).

350. Buist N. R. M., Strandholm JH. J. y cols.: Further studies on a patient with iminopeptiduria: A probable case of prolidase deficiency. Metabolism 21:1113 (1972).

351. Tavares A. S.: Consejo genético, en Medicine. Tratado de medicina práctica. Primera serie. No. 139. México, 1984.

352. Reisman L. E., Matheny A. P.: Genetics and counselling in medical genetics. Mosby. San Luis, 1979.

353. Callan D.: The meaning and significance of genetic disease. Philosophical perspectives, en Hilton B. (ed): Ethical issues in human genetics. Plenum. Nueva York, 1973.