

20
24



Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Estudios Superiores
de Cuautitlán

FALLA DE ORIGEN

DETERMINACION DE PORFIRIA INTERMITENTE AGUDA EN UNA POBLACION PSIQUIATRICA.

Tesis Profesional

Que para obtener el Título de:

Químico Farmacéutico Biólogo

p r e s e n t a :

Jara Prado Aurelio

Directores de Tesis

Dra. María Elisa Alonso Vilatela

QFB. María Esther Revueltas Miranda



Cuautitlan Izcalli, Edo. de Méx. 1991



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.

CONTENIDO

	PAG
I.-	RESUMEN1
II.-	INTRODUCCION.....2
II.1.-	Generalidades
II.1.1.-	PORFIRIAS ERITROPOYETICAS.....4
II.1.1.1.-	PORFIRIA ERITROPOYETICA CONGENITA (PEC)
II.1.1.2.-	PROTOPORFIRIA ERITROPOYETICA (PPE)
II.1.2.-	PORFIRIAS HEPATICAS.....7
II.1.2.1.-	COPROPORFIRIA HEREDITARIA (CPH)
II.1.2.2.-	PORFIRIA VARIEGATA (PV)
II.1.2.3.-	PORFIRIA CUTANEA TARDA (PCT)
II.2.-	METABOLISMO Y GRUPO HEM.....12
II.3.-	PORFIRIA INTERMITENTE AGUDA (PIA).....18
III.-	OBJETIVOS.....26
IV.-	MATERIAL Y METODOS.....27
IV.1.	MATERIAL BIOLÓGICO
IV.2.	DETERMINACION DE LA ACTIVIDAD ENZIMATICA DE LA DESAMINASA DEL PORFOBILINOGENO.....29
IV.2.1.	Reactivos
IV.2.2.	Metodología
IV.3.-	DETERMINACION CUALITATIVA DE PORFOBILINOGENO EN ORINA (Watson & Schwartz).....31
IV.3.1.	Reactivos
IV.3.2.	Metodología
IV.4.-	DETERMINACION CUANTITATIVA DE ACIDO DELTA AMINOLEVULINICO Y PORFOBILINOGENO EN ORINA (Davis & Andelman).....32
IV.4.1.	Determinación de Acido delta aminolevulínico (ALA) en orina.
IV.4.1.1.	Reactivos
IV.4.1.2.	Metodología
IV.4.2.	Determinación de Porfobilinógeno (PBG) en orina
IV.4.2.1.	Reactivos
IV.4.2.2.	Metodología
IV.5.-	EQUIPO.....35
V.-	RESULTADOS Y ANALISIS ESTADISTICO.....36
VI.-	DISCUSION.....50
VII.-	CONCLUSIONES.....55
VIII.-	REFERENCIAS.....56

I.- RESUMEN

La porfiria intermitente aguda (PIA), es una alteración de la vía metabólica del grupo HEM, en donde la alteración bioquímica principal es la deficiencia de la enzima desaminasa del porfobilinógeno. Tiene un patrón de herencia autosómico dominante y el gen alterado se encuentra localizado en el cromosoma 11.

Es una enfermedad que se caracteriza por síntomas neurológicos, psiquiátricos y gastrointestinales.

El 90% de las personas portadoras del gen se encuentran en forma asintomática y existen varios factores que pueden desencadenar un ataque agudo. Se ha comprobado que existe una mayor prevalencia de PIA en poblaciones psiquiátricas.

En México no existen datos ni en población normal, ni en poblaciones psiquiátricas.

El objeto de este trabajo fué estudiar 300 pacientes psiquiátricos y 150 controles para investigar la presencia de PIA mediante la cuantificación de la actividad enzimática de la desaminasa del porfobilinógeno, en base a la cantidad de porfirinas formadas en una hora en eritrocitos mediante un método fluorométrico. Además de determinar ácido delta aminolevulinico y porfobilinógeno en orina.

Se encontraron 2 pacientes en la población psiquiátrica, un hombre y una mujer. En los estudios realizados a sus familiares se encontró a una persona afectada hermano de la paciente.

En los controles encontramos una mujer afectada, y dentro de sus familiares encontramos al padre afectado con un cuadro típico de PIA.

No encontramos diferencia significativa entre la frecuencia de PIA en la población psiquiátrica y los controles.

El método usado es muy útil para la identificación de PIA tanto cuando se esta manifestando como cuando esta en forma latente.

II INTRODUCCION

II.1.- Generalidades.

Las porfirias son un grupo de errores innatos y adquiridos caracterizados por defectos en las enzimas involucradas en la via metabólica del grupo hem, que es una molécula plana que consta de un anillo tetrapirrólico y hierro ferroso. Son de gran interes médico y bioquímico porque han demostrado cuan complicada es la regulación de la biosíntesis del hem. (15,43)

Existe una gran acumulación y excreción de sustancias intermediarias de la síntesis del hem, así como una enorme variabilidad en la forma de expresarse, siendo las más frecuentes las manifestaciones neurológicas y fotosensibilidad cutánea. Esto proporciona una exposición fascinante de anomalías de la regulación bioquímica y su relación con los procesos patofisiológicos. (43)

La palabra porfiria proviene del griego y significa púrpura, se le asignó ese nombre debido a que la orina de algunos enfermos adquiría una coloración rojo oscuro al exponerse a la luz. (50)

Las porfirias se pueden clasificar dependiendo del sitio donde ocurra la sobreproducción de porfirinas o de precursores porfirinicos, de esta forma se clasifica como eritropoyéticas o hepáticas (tabla 1). Desde el punto de vista clínico se pueden clasificar como las que producen manifestaciones neurológicas o como las que producen fotosensibilidad cutánea. (25,40,43)

Tabla 1. CLASIFICACION DE LAS PORFIRIAS (12,13,40,43)

CLASIFICACION	ENZIMA DEFICIENTE	PATRON HEREDITARIO
ERITROPOYETICAS		
P. eritropoyética congénita	Uroporfirinógeno III sintetasa	Autosómica Recesiva
Protoporfiria eritropoyética	Ferroquelatasa	Autosómica dominante
HEPATICAS		
Porfiria inter- mitente aguda	Desaminasa del Porfobilinógeno	Autosómico Dominante
Coproporfiria Hereditaria	Coproporfirinógeno Oxidasa	Autosómico Dominante
Porfiria Variegata	Protoporfirinógeno Oxidasa	Autosómico Dominante
Porf. Cutánea Tarda	Uroporfirinógeno Descarboxilasa	Autosómico Dominante

Las porfirias que se acompañan de cambios neuropáticos frecuentemente se refieren como porfirias agudas y las porfirias que se caracterizan por fotosensibilidad cutánea se han referido como porfirias cutáneas, siendo la clasificación más usada la primera. (12,14,25,26,40).

Dentro de las porfirias eritropoyéticas se encuentra la porfiria eritropoyética congénita y la protoporfiria eritropoyética. (43)

II.1.1.- PORFIRIAS ERITROPOYETICAS.

1.1.1. LA PORFIRIA ERITROPOYETICA CONGENITA (PEC), también se conoce como enfermedad de Gunther, tiene un patrón de herencia autosómico recesivo. La enfermedad ocurre en todas las razas y es de igual frecuencia tanto en hombres como en mujeres. El defecto enzimático de esta enfermedad no se ha descrito con claridad, pero hay un desequilibrio entre las actividades relativas de la uroporfirinógeno III sintetasa y la desaminasa del porfobilinógeno. Por una parte se cree que hay una disminución de la uroporfirinógeno III sintetasa pero por otra se cree que el defecto primario de este tipo de porfiria puede ser una sobreproducción y aumento de la actividad ya sea de la ALA-sintetasa o de la desaminasa del porfobilinógeno. (43)

Las manifestaciones clínicas de este padecimiento es la coloración rojiza que adquiere la orina desde el nacimiento, esto es debido a la gran cantidad de uroporfirinógeno y coproporfirinógeno de tipo I en la orina, que son oxidados a porfirinas. Esta excreción puede elevarse hasta unas 1000 veces a lo normal. En el plasma la concentración de estos compuestos son mayores. La coproporfirina y uroporfirina fecal pueden estar también

aumentadas no así la protoporfirina fecal. Los precursores porfirínicos ácido delta aminolevulínico y porfobilinógeno no se encuentran elevados. (23,25)

Esta enfermedad presenta lesiones cutáneas debido a la fotosensibilidad de la piel y se manifiesta antes de los 5 años de edad. Esta fotosensibilidad es debida al exceso de porfirinas en plasma que pueden penetrar a la piel. Las lesiones cutáneas se expresan como vesículas o ampollas en lugares expuestos del cuerpo, cara y manos, estas vesículas estan formadas por líquido seroso conteniendo eritrocitos y leucocitos que presentan fluorescencia debido a la presencia de porfirinas. Estas vesículas llegan a producir ulceración e infecciones secundarias que al cicatrizar pueden terminar en deformaciones severas y mutilaciones en nariz, oídos, ojos, y dedos de las manos. También existe una hipertricosis prominente sin saber aún el motivo de ésta. Las porfirinas pueden depositarse en dientes provocando a estos una coloración rojiza-café a la luz normal (Eritrodoncia), y si se exponen a iluminación ultravioleta dan una coloración roja. (25)

La mayoría de estos pacientes tiene signos y síntomas de anemia la cual es debida a hemólisis, el exceso de porfirinas en eritrocitos pueden predisponer a esta hemólisis debido a una disminución en la resistencia osmótica, esta hemólisis a su vez provoca el aumento de las porfirinas en plasma. También ocurre una esplenomegalia asociada a trombocitopenia y leucopenia. (12,14,23,25).

II.1.1.2.- PROTOPORFIRIA ERITROPOYETICA (PPE). Aunque su frecuencia no se conoce exactamente, es la más común de las porfirias eritropoyéticas. (25)

Es una enfermedad con un patrón de herencia autosómico dominante. Se ha encontrado asociación a una delección en el brazo largo del cromosoma 18 en un paciente y con Síndrome de klinefelter en otro. (25). El defecto enzimático es una deficiencia parcial en la actividad de la ferroquelatasa en un 25%, enzima que convierte a la protoporfirina en grupo hem, por lo cual hay una acumulación de protoporfirina en eritrocitos, plasma, bilis y heces. Los niveles de porfirinas urinarias y de los precursores de la porfirina se encuentran normales debido a la solubilidad de estos. (40)

Los signos cutáneos aparecen antes de los 13 años y los más característicos son ardor tumefacción, prurito y enrojecimiento de la piel, se puede presentar edema y eritema en las áreas afectadas. Las ampollas y púrpura aparecen en niños y ocasionalmente en adultos. La exposición a la luz solar provoca todas estas manifestaciones. Puede haber costras y estas curan con cicatrización superficial. También puede haber lesión cutánea en nariz, mejilla y dorso de manos y dedos. (23,25,40)

Hay un aumento de cálculos biliares aún a una edad temprana encontrándose cantidades elevadas de protoporfirina en estos. Se piensa que este depósito es la

base de la insuficiencia hepática y durante la misma se ha observado ictericia, aumento de los valores de las transaminasas séricas, hepatoesplenomegalia, encefalopatía hepática e hipertensión porta acompañada de varices esofágicas con hemorragia, algunos pacientes sufren anemia microcítica y normocrómica leve a moderada, en ocasiones hay anemia hemolítica leve. (40,43)

En estudios histológicos de hígado de estos pacientes se han observado un incremento de protoporfirina, este exceso puede afectar la función mitocondrial en el hígado y disminuir la formación de bilis. Aunque estas complicaciones no aparecen en todos los pacientes con PPE, si hay algunos factores que pueden favorecer a la aparición de estos, por ejemplo una deficiencia en hierro, ayunos, y el uso de anticonceptivos orales. (12,25,29,40,43).

II.1.2. PORFIRIAS HEPATICAS

II.1.2.1 COPROPORFIRIA HEREDITARIA. (CPH). En este tipo de porfiria no se conoce la frecuencia, sin embargo hay reportes de varios países europeos y de Estados Unidos. Es una enfermedad con un patrón de herencia autosómico dominante, en donde la enzima afectada es la coproporfirinógeno oxidasa, esta se encuentra disminuida en un 50% de su actividad, tanto en cultivo de

fibroblastos y linfocitos en circulación , esta enzima tiene la función de convertir al coproporfirinógeno III en protoporfirinógeno. (25,40)

Hay un aumento en la excreción de coproporfirinas del tipo III tanto en heces como en orina, aún en personas asintomáticas que heredaron la enfermedad. Durante los ataques agudos hay aumento en la excreción urinaria de ALA y PBG y también puede ocurrir de uroporfirinas . Hay un incremento de ALA-sintetasa, debido a una desrepresión causada por la falta de formación de grupo hem. (25)

Los síntomas de esta enfermedad son de tipo neurovisceral. Existe una fotosensibilidad debido a la acumulación de coproporfirinas, aunque esto no ocurre en todos los pacientes. Además se presentan síntomas psiquiátricos. (23)

De igual forma , existen factores como drogas, dietas forzadas que pueden precipitar ataques agudos y estos pueden ocurrir en asociación con el ciclo menstrual en mujeres. (15,23,25).

11.1.2.2.- PORFIRIA VARIEGATA (PV). Se ha encontrado que esta enfermedad tiene una mayor frecuencia en Sudafrica en la raza blanca, se ha estimado una prevalencia de 3 por cada 100,000 habitantes de raza blanca. En otros países la frecuencia disminuye. (25)

Debido a que los hallazgos en esta enfermedad se caracterizan por un incremento de protoporfirina, esto ha sugerido que la alteración enzimática debe ser a nivel de la ferroquelatasa, pero en recientes estudios se ha encontrado que la enzima anormal es la protoporfirinógeno oxidasa, enzima que cataliza al protoporfirinógeno a protoporfirina. (23,40,43)

Es una enfermedad con un patrón de herencia autosómico dominante, los hallazgos bioquímicos comprenden una elevada excreción de los precursores porfirínicos el ALA y el PBG, uroporfirinas y coproporfirinas en orina y uroporfirinas y coproporfirinas en heces. (23,25)

La PV se presenta con signos y síntomas parecidos a otros tipos de porfiria como la porfiria intermitente aguda y coproporfiria hereditaria de aquí el nombre de porfiria variegata. Esta enfermedad se manifiesta con fotosensibilidad cutánea en un tercio de los pacientes y se acompaña de síntomas neurológicos. Los signos más frecuentes son dolor abdominal, taquicardia, vomito, constipación, hipertensión, neuropatías, parálisis bulbar en menor frecuencia y otros problemas de tipo mental. Las lesiones cutáneas pueden ser en forma de ampollas, erosiones, cicatrización y pigmentación que afectan a la piel expuesta a la luz. (23,25,29,43).

11.1.2.3. PORFIRIA CUTANEA TARDA (PCT).

La porfiria cutánea tarda es la más común de las porfirias, aunque su prevalencia no se conoce. Por lo general siempre está involucrada con una lesión hepática, esto puede ser provocado por dos motivos, el primero por alta ingesta de alcohol lo que lo hace que sea más frecuente en hombres, sin embargo actualmente ha habido un incremento en mujeres debido a los cambios sociales y al uso de anticonceptivos orales, otra razón es también la ingesta de hierro. (25)

La PCT se ha dividido en dos tipos, una llamada de tipo esporádico en donde no hay una evidencia de algún familiar afectado y la segunda es de tipo familiar en donde se observa un patrón autosómico dominante, algunos autores manejan un tercer tipo de PCT debida a una exposición a hidrocarburos aromáticos halogenados. Aunque en la práctica no se pueden llevar a cabo esta diferenciación debido a los problemas que surgen en el estudio de familiares. Se cree que la PCT de tipo familiar es menos frecuente que la de tipo esporádico. (23)

El defecto bioquímico principal es una disminución de la actividad de la uroporfirinógeno descarboxilasa en un 50% de su actividad en hígado en pacientes con PCT de tipo esporádica y tanto en hígado como en eritrocitos en PCT de tipo familiar. (23)

Las manifestaciones cutáneas se desarrollan en áreas expuestas al sol, como son cara, dorso de las manos, piernas y pies y estas se pueden presentar en forma de eritema con

vesículas o ampollas posteriormente se forman costras y escaras terminando en cicatrización. Histológicamente, los datos más frecuentes son siderosis, puede ocurrir cirrosis, al observar cortes de hígado al microscopio de fluorescencia se observa fluorescencia hepática. (25)

Las uroporfirinas urinarias se encuentran muy elevadas, así como la coproporfirina pero ésta en menor cantidad, las plasmáticas también se encuentran elevadas con pequeñas cantidades de isocoproporfirina. Las que se encuentran en piel están de igual manera aumentadas y más en áreas no expuestas al sol. Puede existir cierto aumento de ALA pero no de PBG. En algunos pacientes puede haber aumento de hierro. No existe un aumento de protoporfirina fecal. (12, 15, 23, 25).

11.2. - METABOLISMO Y GRUPO HEM.

El hem es sintetizado a partir de porfirinas y de hierro y los productos de su degradación son los pigmentos biliares y el hierro.

Las porfirinas son macromoléculas cíclicas formadas por cuatro anillos pirrólicos, estos se encuentran enlazados por puentes metenilo. Las porfirinas forman complejos con iones metálicos unidos a los átomos de nitrógeno de los anillos pirrólicos por ejemplo el hem que contiene hierro o la clorofila que contiene magnesio. Estas metaloporfirinas al conjugarse a proteínas forman muchos compuestos que son de gran importancia en procesos biológicos como es la hemoglobina, eritrocuarinas, mioglobinas, los citocromos, catalasas y triptofano pirrolasas. (43)

Las enzimas específicas afectadas en cada tipo de porfiria se comprenden mejor al estudiar la biosíntesis del grupo hem. (Fig. 2). Este se sintetiza virtualmente en todos los tejidos de los mamíferos siendo mayor en los tejidos hematopoyéticos y en el hígado.

La vía metabólica del grupo hem es una serie de reacciones irreversibles de las cuales la primera y las tres últimas se llevan a cabo en la mitocondria y corresponden básicamente a reacciones óxido-reducción, y las reacciones intermedias se llevan a cabo en el citoplasma y corresponden a condensaciones y descarboxilaciones. (15,23)

Hay que tener en cuenta que todas las reacciones que tienen lugar sobre los grupos laterales unidos al anillo

tetrapirrólico implican intermediarios incoloros conocidos como porfirinógenos. Estos compuestos no son estables, en consecuencia se pueden oxidar fácilmente en presencia de luz o por medios no enzimáticos dando sus productos de porfirina que son estables. Tanto las porfirinas como sus derivados porfirínicos exhiben un espectro de absorción característico, tanto en la región visible como en la región ultravioleta. Cuando las porfirinas se disuelven en ácidos minerales o solventes fuertes emiten una intensa fluorescencia a la exposición de luz ultravioleta, esta fluorescencia se emplea para identificar pequeñas cantidades de porfirina libre. (21,43)

La biosíntesis del grupo hem se puede considerar que consta de ocho etapas básicas que inicia con la condensación de la glicina y succinil CoA en presencia de fosfato de piridoxal para formar ácido delta aminolevulinico (ALA), (53). Es probable que el fosfato de piridoxal reaccione con la glicina para formar una base de Schiff en el cual el carbono alfa de la glicina puede combinarse con el carbono carbonilo del succinil CoA. Toda esta reacción está catalizada por la enzima ácido aminolevulinico sintetasa (ALA-sintetasa). Esta enzima controla el paso limitante de velocidad de la síntesis del hem en todos los tejidos estudiados. El siguiente paso es la condensación de dos moléculas de ALA por medio de la enzima ALA-deshidratasa para formar porfobilinógeno (PBG). La ALA-deshidratasa es una enzima sulfhidrúlica que

contiene zinc y es muy sensible a la inhibición por metales pesados como por ejemplo el plomo. (22). Cuatro moléculas de porfobilinógeno se condensan para formar un tetrapirrol o sea una porfirina, el uroporfirinógeno III esto sucede con la presencia de la enzima desaminasa del porfobilinógeno también conocida con el nombre de uroporfirinógeno sintetasa, igualmente se puede formar el isómero uroporfirinógeno I esto por una vía no enzimática. Entre la formación de porfobilinógeno a uroporfirinógeno hay un intermediario de reacción el hidroximetilbilano así como también hay la participación de otra enzima la uroporfirinógeno III sintetasa, el papel de esta enzima no está bien establecido pero se cree que es una enzima especificadora, que va a dirigir a la desaminasa del porfobilinógeno para que forme el isómero III en lugar del isómero I. Se ha indicado que en la naturaleza solo ocurren los tipos I y III y puede afirmarse que el isómero tipo III es el más abundante ya que las porfirinas de importancia biológica, tales como el hea y el citocromo, son isómeros de tipo III. Hasta aquí ya se ha formado un tetrapirrol unido por puentes metileno los cuales no forma un sistema de anillo conjugado y por lo tanto es inestable y tiende a oxidarse y formar su correspondiente porfirina. El siguiente paso es la conversión de la uroporfirinógeno III a coproporfirinógeno III mediante la descarboxilación de todos los grupos acetato que los cambia a grupos metilo, esta reacción se lleva a cabo mediante la participación

de la uroporfirinógeno descarboxilasa, esta enzima también es capaz de convertir al uroporfirinógeno I a coproporfirinógeno I. El coproporfirinógeno III es convertido a protoporfirinógeno III en presencia de la coproporfirinógeno oxidasa, esta enzima no actúa sobre el isómero I. El paso siguiente es la conversión de la protoporfirinógeno III a protoporfirina esta es catalizada por la enzima protoporfirinógeno oxidasa. El paso final de la formación del grupo hem es la incorporación de hierro ferroso a la protoporfirina mediante la ferroquelatasa o también llamada hem sintetasa. (Fig 1). (5,15,23,25,40,43.)

La regulación de la síntesis del hem esta controlada por la ALA-sintetasa. El succinil CoA Y la glicina son sustratos de diversas reacciones. La regulación de la actividad de la ALA-sintetasa determina la cantidad de sustratos que deben de ser desviados hacia la biosíntesis del grupo hem. Los valores de esta enzima en tejidos normales capaces de sintetizar hem, son significativamente más bajos que la de las otras enzimas. El hem actúa tanto como represor de su síntesis como inhibidor de su actividad, es posible que haya un mecanismo de retroalimentación pero el efecto regulador mayor parece ser aquel en el cual la velocidad de acumulación de la ALA-sintetasa aumenta grandemente en ausencia de hem y es disminuida en su presencia. (15)

Existen cerca de 100 fármacos y metabolitos diferentes que pueden provocar la inducción de la ALA-sintetasa y de

17

aquí la importancia y comprensión de ciertas enfermedades relacionadas con la vía metabólica del grupo hem. (23)

11.3.- PORFIRIA INTERMITENTE AGUDA (PIA)

La porfiria intermitente aguda es una enfermedad hereditaria con un patrón de herencia autosómico dominante, se clasifica dentro de las porfirias de tipo hepático. Se presenta con mayor frecuencia en mujeres y casi nunca se manifiesta antes de la pubertad (4,53). Es la más importante de las porfirias, en donde el defecto bioquímico principal es la alteración enzimática de la desaminasa del porfobilinógeno (D-PBG), varios estudios han demostrado que esta se encuentra disminuida en su actividad tanto en hígado, eritrocitos, cultivo de fibroblastos, células amnióticas y linfocitos, (51) esto es debido a que las personas con PIA son heterocigotas para el gen defectuoso. (6, 12, 15, 48)

La D-PBG puede ser determinada ya sea por métodos espectrofotométricos o por métodos fluorométricos (18, 26, 35, 38, 42, 45, 48), y nos da un parámetro confiable para el diagnóstico de PIA tanto en forma latente como en forma activa de la enfermedad (28), aunque exista el problema de la superposición de valores en población normal y de pacientes. Se ha visto que la D-PBG varía sorprendentemente con la edad del eritrocito cuando se determina en éste, así también muestra una considerable variación interindividual, esto parece ser que está determinado genéticamente (19), y provoca dificultad para diagnosticar la forma latente. Estudios inmunológicos usando anticuerpos

monoclonales han demostrado que existe una gran heterogeneidad genética en esta enzima (2,44,32).

Estudios de biología molecular describieron que la D-PBG es codificada por dos RNAm diferentes. El análisis de secuenciación indican que estos RNAm son transcritos de dos promotores y solo difieren en el primer exón (19,20).

El gen estructural para la D-PBG se ha localizado en el cromosoma número 11 en el humano. (17,20,54,55)

En personas portadoras del gen se reduce la síntesis del grupo hem, sin embargo la actividad de la D-PBG excede a la actividad de la ALA-sintetasa motivo por el cual si existe una desrepresión de esta no sería muy notorio y la persona se encontraría en forma latente, ya que el 90% de los portadores se encuentran en este estado y quizá nunca lo manifiesten. Existen factores que pueden desencadenar un ataque agudo de PIA o pueden agravarlo si éste ya existe, dentro de los cuales se encuentran las drogas, hormonas, dietas forzadas e infecciones. (1,25)

Las drogas son la causa más frecuente de los ataques agudos de PIA, y dentro de estas se encuentran los barbitúricos, sulfamidas, griseofulvina, fenitoína, metosuximida, clordiacépxido, meprobamato, dicloralfenazona, glutetimida, antipirina, dipirone, imipramina, metildopa, cloranfenicol, ácido valproico y muchas otras, en la literatura existen reportes de alrededor de 50 drogas capaces de provocar un ataque de PIA (7,15,16,29,30,34,36,49,50,53,58), y algunas otras

probables. Esto convierte a la PIA en un problema de farmacogenética, en donde el paciente corre el riesgo de tener un dano más severo si es que se encuentra en crisis o puede tambien provocarselo. El alcohol tambien es un factor desencadenante de este proceso (24) y de igual manera se consideran a las hormonas de tipo esteroidal, que en personas con una deficiencia de la enzima 5 alfa reductasa, provocan una desviación hacia la 5 beta reductasa y los metabolitos de esta ruta estimulan la porfirinogénesis. (1,10,16,15,53).

En algunas mujeres se ha presentado una relación entre ataques porfiricos y el ciclo menstrual, estos ataques se presentan frecuentemente en la fase premenstrual. Durante el embarazo mujeres asintomáticas para la enfermedad tambien han presentado ataques porfiricos a lo largo de todo el embarazo. (16,33,39,57)

En Países europeos así como en los Estados Unidos se calcula que la prevalencia de esta enfermedad varia con un rango de entre 0.001% a 0.008 %, en México no existen datos al respecto. Todas estas frecuencias se han encontrado demostrando una elevación en ALA y PBG en orina en pacientes con signos y síntomas compatibles con PIA.

Estudios realizados en poblaciones psiquiátricas han revelado que existe una alta frecuencia de PIA en estas, Kaelbling en una población psiquiátrica de 2500 pacientes encontró una prevalencia del 0.48%, Wetterberg encontró en 1907 pacientes una prevalencia del 0.16%, y Tishler en 3867

pacientes encontró una prevalencia del 0.21% (24,45,46,52,53).

Durante los ataques agudos los pacientes excretan cantidades elevadas de ácido delta aminolevulinico (ALA) y porfobilinógeno (PBG), esto es como resultado de la activación de la ALA-sintetasa y el bloqueo parcial de la D-PBG. Tanto el ALA como el PBG son compuestos incoloros, pero el PBG al ser expuesto a la luz y al aire se polimeriza lentamente y en forma espontánea para formar dos compuestos cromáticos, la porfobilina y porfirina, estos provocan que la orina del paciente se oscurezca (43).

La concentración de uroporfirinas pueden estar incrementadas cuando la eliminación de ALA y PBG es alta, las porfirinas fecales no se encuentran elevadas. El PBG puede ser determinado por métodos cualitativos y tanto el ALA como el PBG pueden ser determinados por métodos cuantitativos. (13,25,28,47,56)

Para la determinación de portadores en estado latente la forma más utilizada es la determinación de la actividad de la D-PBG, puesto que es la única alteración bioquímica medible en esa forma. (2,3,25,34,35,38,40,42,45,46,48,50,53). Además de que dependiendo de la técnica su costo se puede reducir. (11)

Las manifestaciones de la PIA pueden confundirse con las de otras porfirias como son la coproporfiria hereditaria y la porfiria variegata ya que ambas presentan

manifestaciones neuropsiquiátricas y gastrointestinales. (6,25).

Los síntomas de los ataques agudos estarán relacionados al daño que pueda sufrir el sistema nervioso, y este daño abarca al sistema nervioso autónomo, al sistema periférico y al sistema central, por lo tanto los datos clínicos van a depender en gran parte de las áreas afectadas al mismo. (58)

A nivel de sistema nervioso autónomo se presenta dolor abdominal, que es la manifestación más frecuente de esta enfermedad con una prevalencia del 95%, este puede ser de tipo local o generalizado y se acompaña en el 60% de los casos con vómitos y constipación; la hipertensión ocurre en un 40 %, además se puede encontrar taquicardia sinusal, hipotensión postural, sudoración y espasmo vascular en retina o piel de las extremidades.

A nivel de sistema nervioso periférico puede haber tanto síntomas sensitivos como motores y todos los nervios motores están sujetos a sufrir una neuropatía periférica, las manifestaciones más comunes son parestesias, parestias, dolor en la parte baja del dorso y de las piernas como un síndrome doloroso crónico sin otras manifestaciones neurológicas de importancia.

A nivel del sistema nervioso central se encuentran convulsiones, manifestaciones cerebelosas y de ganglios basales, disfunción hipotalámica, parálisis bulbar y síndrome cerebral orgánico. Encontrándose que las

manifestaciones psiquiátricas más frecuentes son la depresión y síndrome cerebral orgánico. (tab.2).

(6,14,16,24,33,37)

Tab.2 SIGNOS Y SINTOMAS MAS FRECUENTES EN P.I.A.

Sistema Nervioso Autónomo.
-Dolor abdominal -Vómitos -Constipación -hipertensión -Taquicardia -Hipotensión postural -Sudoración -Espasmo vascular en retina -Espasmo vascular en piel de extremidades.
Sistema Nervioso Periférico.
-Parestesias -Paresias -Parálisis flácida -Disestesias -Dolor muscular -Disminución sensitiva
Sistema Nervioso Central
-Síndrome cerebral orgánico -Convulsiones -Manifestaciones cerebelosas y de ganglios basales -Disfunción hipotalámica -Parálisis bulbar -depresión

Cabe mencionar que alrededor del 5% de los ataques que son suficientemente severos requieren hospitalización y terminan fatalmente, en pacientes que tienen ataques recurrentes la mortalidad es del 15 al 20 %. (6,23,25,58).

La relación de las anomalías bioquímicas, que son principalmente en el hígado y las manifestaciones del sistema nervioso central aún no han podido ser totalmente explicados. Sin embargo se han postulado varias teorías para explicar la patogénesis de los ataques agudos; una de estas teorías corresponde a la neurotoxicidad que pudieran presentar los precursores porfirínicos ALA y PBG, ya que durante los ataques agudos estos se encuentran elevados, se piensa que estos actúan ya sea compitiendo o mimetizando a los aminoácidos neurotransmisores ácido glutámico y al ácido gaba aminobutírico ya que estos presentan estructuras químicas muy parecidas (Fig.2). (6,25)

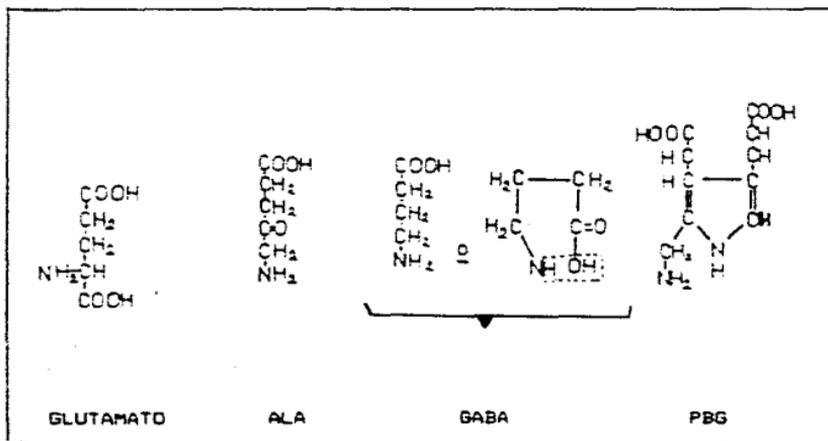


fig 2. Estructura química de aminoácidos neurotransmisores y precursores porfirínicos

Aunque en algunos pacientes que excretan cantidades elevadas de estos precursores no presentan ninguna manifestación neurológica, hay trabajos que respaldan esta hipótesis, en donde el ALA y el PBG juegan un papel importante modificando la neurotransmisión sináptica tanto en sistema nervioso central y sistema nervioso periférico.

El tratamiento de la PIA consiste básicamente en evitar los factores precipitantes que puedan desencadenar los ataques, así como el tratamiento de los síntomas y complicaciones de la PIA como son dolor abdominal, taquicardia etc. con los medicamentos adecuados para cada síntoma. Dentro de la terapéutica para revertir los signos y síntomas de la PIA se recomienda una alta ingesta de carbohidratos, la aplicación por vía intravenosa de hematina y en algunos casos la administración de cimetidina. (3,9,16,2753),

III.- OBJETIVOS

- 1.- Citar por correo a pacientes que estuvieron internados en el piso de psiquiatría del INNN de 1986 a 1988 y observar la frecuencia de asistencia al llamado.
- 2.- Obtener pacientes de 1988 hasta 1991 que estén internados en el piso de psiquiatría del INNN y observar a que proporción corresponde del total de los 300 pacientes a estudiar.
- 3.- Detección de porfiria intermitente aguda en una población psiquiátrica, para investigar si se presenta con mayor frecuencia en esta, mediante la cuantificación de la actividad enzimática de la desaminasa del porfobilinógeno en eritrocitos.
- 4.- Cuantificar la actividad de la enzima Desaminasa del Porfobilinógeno en eritrocitos, en 300 pacientes psiquiátricos y 150 controles, para investigar si el sexo y la edad influyen en la actividad de la enzima
- 5.- Detectar y cuantificar ácido delta aminolevulinico y porfobilinógeno en orina de aquellos pacientes y controles, que presenten disminuida la actividad de la enzima desaminasa del porfobilinógeno con la finalidad de establecer la relación existente entre ellas.

IV.- MATERIAL Y METODOS.

IV.1.- MATERIAL BIOLÓGICO

Se estudiaron 300 pacientes psiquiátricos que estuvieron internados en el piso de psiquiatría del Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía MVS, a los cuales se les tomó muestra de sangre heparinizada para determinación de la actividad de la desaminasa del porfobilinógeno.

De estos 300 pacientes un grupo estuvo internado en el piso de psiquiatría durante 1965 a 1985 y fueron citados por carta al Instituto, el resto de los pacientes fue estudiado a partir de 1985 hasta 1991 durante su internamiento en el Instituto.

Paralelamente se estudiaron 150 individuos aparentemente sanos como controles, estos se obtuvieron de los donadores de sangre y del personal del mismo Instituto.

Se les determinó cuantitativamente la actividad de la enzima desaminasa del porfobilinógeno en eritrocitos de sangre periférica por un método fluorométrico (34). Para esto se les tomó 5 ml de sangre en tubos vacutainer con heparina. En caso de tener niveles bajos en la actividad de la D-PBG se solicitó una muestra de orina para la determinación de PBG cualitativamente (Watson-Schwartz) y de ser necesario cuantificar ALA y PBG por cromatografía de intercambio iónico (Davis y Andelman).

IV.2.- DETERMINACION DE LA ACTIVIDAD ENZIMATICA DE LA
DESAMINASA DEL PORFOBILINOGENO. (34)

IV.2.1.- Reactivos:

- Agua desionizada.
- Triton X-100 al 0.2 %.(Beckman). Disolver 0.2 ml de trit'ion X-100 en 100 ml de agua.
- Amortiguador Fosfato-Citrato:
 - a.- Fosfato de sodio Heptahidratado $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.25 M (Baker). disolver 6.7 g en 100 ml de agua y ajustar pH a 7.5 con ácido citrico 0.25 M.
 - b.- Acido Citrico 0.25 M (Baker A.) Disolver 5.25 g en 100 ml de agua.
 - c.- Preparación del sustrato ácido delta amino levulínico 4 mM (Sigma) Disolver 67.04 mg de ácido delta amino levulínico en 100 ml del amortiguador Fosfato-Citrato. Guardar en alícuotas de 10 ml a -20°C .
- Acido Tricloroacético al 10 %.(Baker). Disolver 10 g en 100 ml de agua.Guardar en refrigeración a 4°C .
- Preparación de la curva estandar de coproporfirina I tetrametil ester :
 - a.- Acido clorhídrico 1.5 M (Baker).
 - b.- Disolver dos viales de coproporfirina I estandar de 5 microgramos cada uno (sigma) en 6 ml de HCl 1.5 M. Calentar a ebullición durante 5 minutos y se obtiene una solución de 2533 nmol/ml, y se hacen las siguientes diluciones :

ml sol. stock	agua ml.	conc. final nmol/ml.
1	9	234.73
0.75	9.25	176.05
0.50	9.50	117.36
0.40	9.60	93.89
0.30	9.70	70.42
0.20	9.80	46.95
0.10	9.90	23.47
0.05	9.95	11.73

IV.2.2.- Metodología:

Para cada muestra se realizó dos tubos problema y un tubo blanco.

	BLANCO	PROB.1	PROB.2
TRITON-X100	1ml	1ml	1ml
SANGRE HEPARINIZADA	50ul	50ul	50ul
Agitar en vortex hasta hemólisis completa.			
AMORTIGUADOR FOSF-CITRATO	1ml	---	---
SUSTRATO ALA	---	1ml	1ml
Mezclar en vortex e incubarlos a 37°C durante una hora en la oscuridad.			
ACIDO TRICLOROACETICO	2.5ml	2.5ml	2.5ml
Agitar en vortex y dejar reposar una hora en la oscuridad a temperatura ambiente.			

Trancurrido este tiempo centrifugar a 2500 rpm, durante 15 minutos.

El sobrenadante se extrae y se lee en el fluorómetro a 405 nm de excitación y 595 nm de emisión.

Se realiza un hematócrito.

Se lee la curva estandar de coproporfirina y los valores de los problemas obtenidos se interpolan en esta curva.

Se reporta en nanomoles de porfirinas formadas por ml de eritrocitos en una hora mediante la siguiente fórmula:

$$\frac{(IfPb)(4.55)(100)}{(Hto)(0.05)(1000)}$$

En donde:

IfPb= Lecturas de los problemas

4.55= Volumen total

Hto = Hematocrito

0.05= Vol. de sangre en ml

1000= factor de conversión de nmol/Lt a nmol/ml

Simplificando:

$$\frac{(IfPb)(9.1)}{(Hto)}$$

IV.3.- DETERMINACION CUALITATIVA DE PORFEBILINOGENO EN
ORINA (Watson & Schwartz).

IV.3.1 Reactivos.

- Reactivo de Ehrlich.
- a) Sol. de HCl conc. (Baker)
- b) Disolver 0.7 g de paradimetilaminobenzaldehido (Sigma) en 150 ml de HCl conc. y 100 ml de agua desionizada.
- Acetato de sódio saturado (Baker)
- Cloroformo (Baker)
- Butanol (Baker)

IV.3.2.- Metodología:

- a) En un tubo de ensaye poner 2.5 ml de orina y agregar 2.5 ml del reactivo de Ehrlich, agitar por inversión.
- b) Anadir 5 ml de acetato de sódio saturado y mezclar nuevamente. Si da una coloración rosa o roja se prosigue.
- c) Tomar 2 ml de la mezcla del tubo, la cual se coloca en otro tubo y anadir 2 ml de cloroformo, si en la capa inferior (cloroformo) no se extrae el color rosado quiere decir que tenemos porfobilinógeno.
- d) Hacer lo mismo con butanol, si la capa rosa se coloca en la parte inferior quiere decir que hay porfobilinógeno.

IV.4. - DETERMINACION CUANTITATIVA DE ACIDO DELTA AMINO- LEVULINICO Y PORFOBILINOGENO EN ORINA.

(Davis & Andelman).

Esta prueba se realiza en caso de que la determinación cualitativa de Porfobilinógeno de una reacción positiva.

IV.4.1 Determinación de Acido delta aminilevulinico (ALA) en orina.

IV.4.1.1. Reactivos.

- Acetilacetona
- Solución estandar de ácido delta aminolevulinico (σ) a una concentración de 100 mcg/ml a un pH=4.7, para la preparación de una curva de calibración.
- Resina de intercambio aniónico AG 1-X2 malla 200-400 forma acetica. (Bio-rad)
- Resina de intercambio catiónico AG 50 W-X2, malla 200-400 forma hidrogenica (Bio- Rad)

Se preparan soluciones de estas resinas por separado tomando una parte de la resina por tres partes de agua desionizada, para la elaboración de las columnas cromatográficas.

- Amortiguador de acetato pH=4.7 : Poner 57 ml de ácido acético glacial (merck) a 136 g de acetato de sodio trihidratado y se afora a 1000 ml.
- Reactivo de Ehrlich modificado con mercurio: Poner 20 ml de ácido perclórico concentrado (Baker) a 84 ml de

ácido acético glacial (Merck). Después agregar 2 g de cloruro mercuríco y 6 ml de agua. almacenar a 4°C.

- Acetato de sodio 1 M.

IV.4.1.2 Metodología:

i) Se prepara una columna cromatográfica doble en posición vertical, colocando en la parte superior la forma aniónica y en la parte inferior la forma catiónica.

ii) Lavar la columna con 10 ml de agua destilada, dejando pasar hasta un recipiente de recolección de desechos.

iii) Colocar 1 ml de orina entre un pH de 5 a 7, dejar pasar hasta el recipiente de recolección de desechos.

iv) Lavar la columna dos veces con 4 ml de agua destilada dejando pasar hasta el recipiente de desecho.

v) La columna inferior se utiliza para la determinación de ALA y la columna superior se utiliza para la determinación de PBG.

La columna inferior se lava tres veces con 10 ml de agua destilada y se deja pasar hasta el recipiente de desecho

vi) Se eluye la columna con 6 ml de solución de acetato de sodio 1M recolectándolo en un matraz volumétrico de 10 ml, se presiona la columna para exprimirla.

vii) Agregar a la solución que se recolectó, 0.2 ml de acetilacetona y aforar con la solución amortiguadora de acetato a pH=4.7 frío.

viii) En un tubo con tapón de rosca (que servira como blanco) se le agregan 2 ml de la solución que contiene el matraz y 2 ml del reactivo de Ehrlich.

ix) La solución restante del matraz se transfiere a otro tubo con tapón de rosca. Y se pone a ebullición en baño maria durante 10 min. Se deja enfriar y se pasan 2 ml de esta solución a otro tubo. Este es el tubo problema.

x) Agregar 2 ml del reactivo de Ehrlich a los tubos, tanto al blanco como al tubo problema, agitar y dejar reposar 15 minutos.

xi) Leer en un espectrofótometro a 555 nm calibrando con el blanco.

xii) Se realiza una curva estandar de ALA y se interpolan los valores de los problemas en ésta.

IV.4.2. Determinación de Porfobilinógeno (PBG) en orina.

IV.4.2.1. Reactivos.

- Sol. ácido acético 1 N.
- Sol. ácido acético 0.2 N.
- Reactivo de Ehrlich modificado.

IV.4.2.2. Metodología:

1) Agregar 2 ml de ácido acético 1N a la columna superior para eluir el PBG, dejandolo pasar hasta un matraz aforado de 10 ml, en seguida se colocan dos alícuotas de

2 ml de ácido acético 0.2 N también recogiendo en el matraz.

- ii) Se presiona la columna con el émbolo, y se afora el matraz, con ácido acético 0.2 N.
- iii) Colocar en un tubo de ensaye 2 ml de esta mezcla (tubo problema) y preparar un tubo blanco con 2 ml de ácido acético 0.2N . A los dos tubos se les agregan 2 ml del reactivo de Ehrlich recién preparado, se mezcla el contenido del tubo y se deja reposar 15 min.
- iv) Se lee en un espectrofotometro a 555 nm calibrando con el blanco.

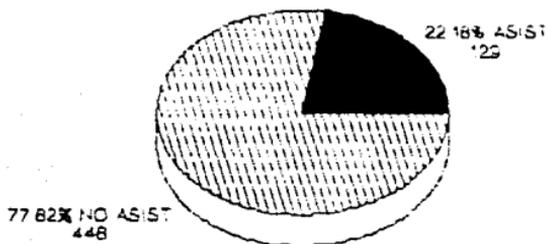
mg PBG/100 ml = (12.5) (abs).

IV.5.- EQUIPO.

- Espectrofluorómetro marca Perkin-Elmer mod. MPF-44A
- Espectrofotómetro marca Beckman DU-40
- Incubadora Lab-line mod. Imperial.

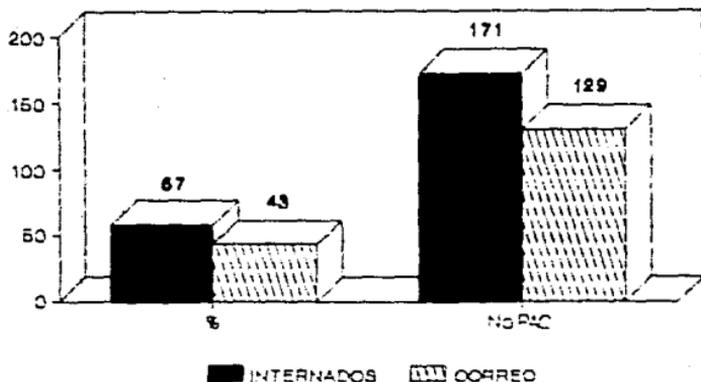
V. - RESULTADOS Y ANALISIS ESTADISTICO

Se citaron por correo a 577 pacientes para el estudio de determinación de porfiria intermitente aguda (PIA), de los cuales asistieron 129 pacientes que da un porcentaje del 22.18 % de respuesta, y un 77.82 % de no asistencia. (graf.1)



GRAF 1 % DE ASISTENCIA POR CORREO

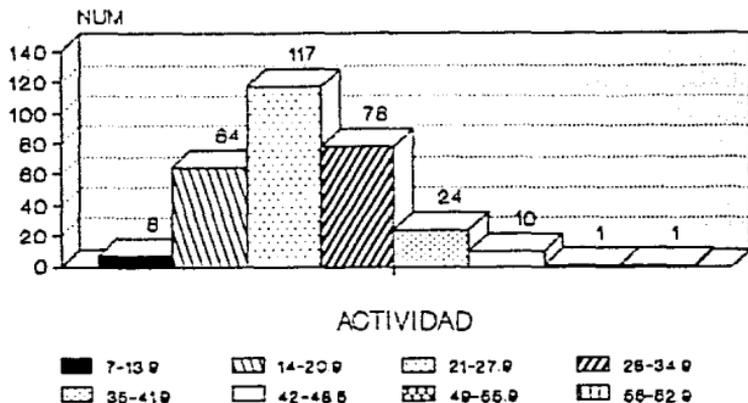
Para completar un número de 300 pacientes, estos se obtuvieron de los que iban siendo internados en el piso de psiquiatría y fueron 171 pacientes, los que nos dan un valor del 57% del total estudiados. (graf.2)



GRAF 2 % DE PACIENTES INTERNADOS

La cuantificación de la actividad enzimática de la D-PBG estuvo comprendida entre un rango de 9.18 a 59.74 nanomoles de porfirinas formadas por ml de eritrocitos en una hora y con un valor promedio de 26.38. (graf 5)

PACIENTES D-PBG



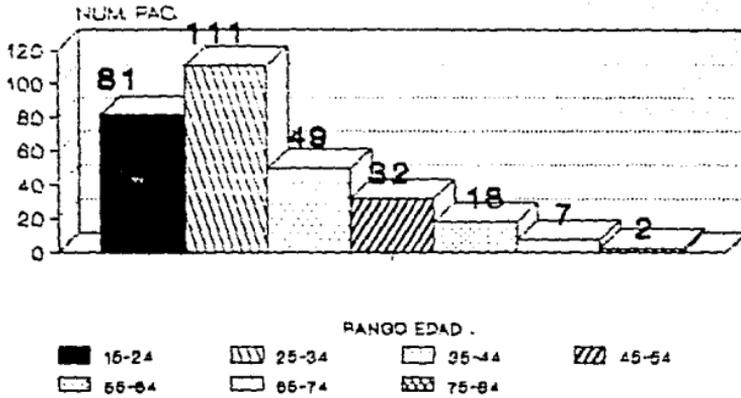
GRAF.6 ACTIVIDAD ENZIMATICA DE LA D-PBG

De los 300 pacientes estudiados se encontraron 2 con una actividad enzimática de la D-PBG disminuida, por lo cual se les hicieron dos determinaciones más para completar una serie de tres, además de determinar PBG cualitativamente y ALA y PBG cuantitativamente en orina. (Tabla 3)

PAC.	DETERMINACIONES D-PBG CUALITATIVA			CUANTITATIVA		
	1a.	2a.	3a.	PBG	ALA	PBG
34	12.87	12.57	11.37	+	3.49	2.98
165	8.14	10.46	8.94	+	0.0	0.49

Tabla 3.- Resultados de la actividad de la D-PBG y determinaciones de ALA y PBG en orina.

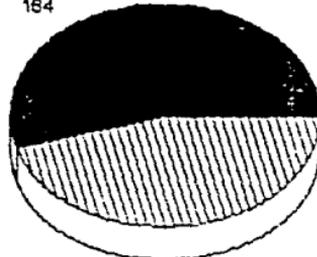
La distribución de edades estuvo comprendida entre un rango de 15 a 78 años con un promedio de edad de 33.64 años. (graf.3)



GRAF.3 - DISTRIB. DE LA EDAD POR RANGO

La distribución de acuerdo al sexo correspondió a 164 pacientes del sexo femenino, lo que nos da un valor del 54.67% y 136 pacientes para el sexo masculino que corresponde al 45.33% (graf 4)

FEMENINOS 54.67%
164

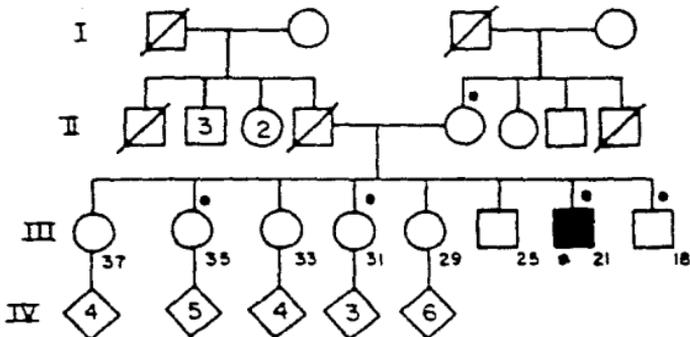


MASCULINOS 45.33%
136

FACIENTE 34: Paciente masculino de 21 años de edad con un diagnóstico de trastorno orgánico de la personalidad, el paciente tenía crisis generalizadas, alucinaciones visuales y auditivas y agresividad, se encontraba con un tratamiento a base de fenobarbital y carbamazepina.

Se les determinó la actividad enzimática de la D-PBG a tres hermanos y a la madre resultando negativos. (fig.3)

Arbol Genealógico
Porfiria Aguda Intermitente

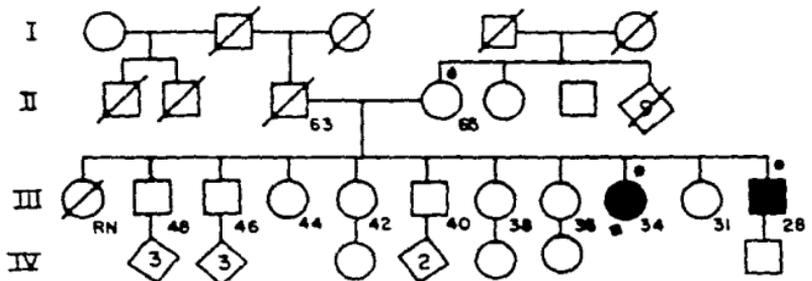


□ ○ Desaminasa porfobilinógeno normal

■ ● Desaminasa porfobilinógeno anormal

FACIENTE 165: Paciente femenino de 30 años de edad, citada por correo, ingreso por depresión e intento de suicidio, refiere antecedentes de alcoholismo, egresa con un diagnóstico de personalidad límite. Tuvo un tratamiento a base de sulpiride, actualmente permanece asintomática desde 1988. Se les determinó la actividad enzimática de la D-FEB un hermano y a la madre encontrándose al hermano una disminución de esta con un valor de 14,08 nanomoles de porfirinas formadas por ml de eritrocitos en una hora. La madre se encontro normal. (fig.4)

Arbol Genealógico
Porfiria Aguda Intermitente

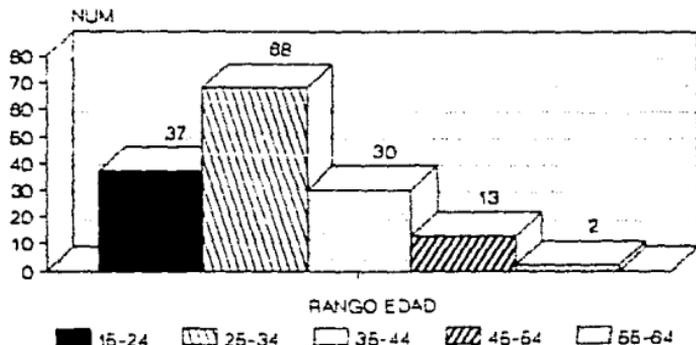


○ Desaminasa porfobilinógeno normal

■ ● Desaminasa porfobilinógeno anormal

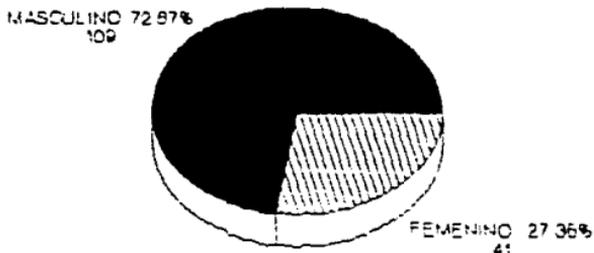
Paralelamente se estuvieron estudiando 150 individuos aparentemente sanos como controles, con un rango de edad entre 16 y 60 años y un promedio de edad de 31.35 años. (graf.6)

CONTROLES



GRAF 6.- DISTRIB DE LA EDAD POR RANGO

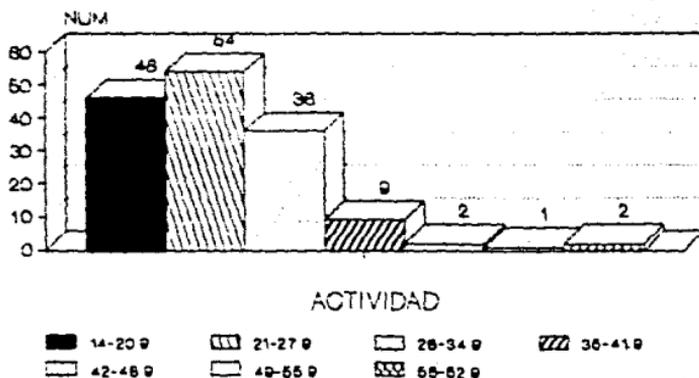
La distribución de acuerdo al sexo estuvo dada por 109 del sexo masculino que da un valor del 72.67 % y 41 individuos del sexo femenino con un valor del 27.35 %. (graf.7)



GRAF 7.- DISTRIBUCION POR SEXO

La actividad enzimática de la D-PBG para los controles se encontró entre un rango de 14.14 a 22.17 nanomoles de uroporfirinas formadas por ml de eritrocitos durante una hora. (graf.8)

CONTROLES D-PBG



GRAF 8 ACTIVIDAD ENZIMATICA D-PBG

Dentro de los controles se encontro a un individuo con actividad de la D-PBG disminuida, se le realizaron dos mediciones más encontrándose igualmente disminuida, y se determinó PBG cualitativamente dando un resultado positivo, posteriormente se cuantificó ALA y PBG dando resultados dentro de los valores normales.

Por tal motivo se estudiaron a sus 9 hermanos y a los padres (fig.5), encontrándose que el padre tenía disminuida la actividad enzimática de la D-PBG en tres determinaciones que se le practicaron, la determinación cualitativa de PBG en orina dió un resultado positivo, además de que la orina presentaba obscurecimiento. La determinación cuantitativa de ALA y PBG resultaron elevados. Los resultados de esta paciente como los de su padre se resumen en la tabla 4.

	DETERMINACIONES D-PBG			CUALITATIVA	CUANTITATIVA	
	1a.	2a.	3a.	PBG	ALA	PBG
II-4	1.38	2.97	5.04	+	54.47	5.55
III-2	14.14	4.35	14.18	+	2.95	1.35

Tabla 4.-Resultados de las determinaciones de la D-PBG y de ALA y PBG en orina del control positivo para PIA y a su familiar.

Arbol Genealógico
Porfiria Aguda Intermitente

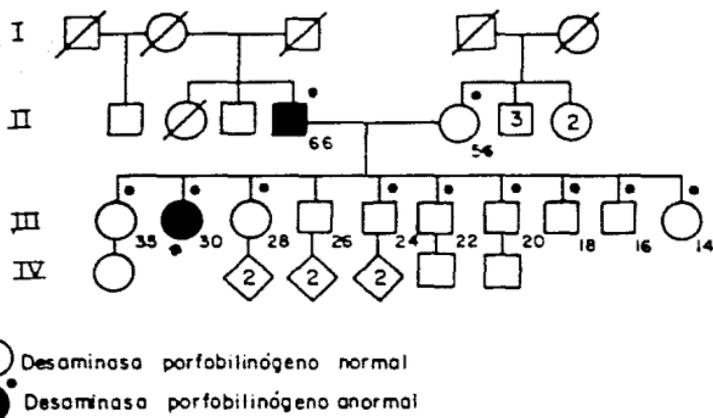


FIG. 5.- Arbol genealógico del individuo control No. 26

Tanto al control No. 26 como a su familiar que salió positivo para PIA se les realizó estudios psicológicos, encontrándose ambos normales.

Para determinar si la edad influye en la actividad de la enzima D-FBG se realizó un análisis de varianza tanto en pacientes como en controles, estos se separaron en rangos de edad y se estudiaron utilizando la siguiente fórmula:

$$F = \frac{\left[\frac{(\sum x)^2}{N} \right] - \left[\frac{(\sum x_{total})^2}{N_{total}} \right]}{\frac{g_{le}}{\left[\sum x^2_{total} - \frac{(\sum x_{total})^2}{N_{total}} \right] - \left[\frac{(\sum x)^2}{N} \right] - \frac{(\sum x_{total})^2}{N_{total}}}} \quad g_{ld}$$

En donde :

$(\sum x)^2$ = Sumatoria de cada determinación al cuadrado en cada grupo.

N = Tamaño de la muestra en cada grupo.

$(\sum x_{total})^2$ = Sumatoria de las determinaciones de todos los grupos.

N_{total} = Tamaño de la muestra de todos los grupos.

$\sum x^2_{total}$ = Sumatoria de los cuadrados de cada determinación de todos los grupos.

g_{le} = Grados de libertad entre los grupos.

g_{ld} = Grados de libertad dentro de los grupos.

El análisis estadístico para comparar si existía alguna diferencia en la actividad enzimática de la D-FBG entre controles y pacientes ya sea por grupo o por sexo se hizo usando la prueba denominada puntaje Z, según el siguiente modelo matemático:

$$Z = \frac{X_1 - X_2}{S_1 / \sqrt{n_1} + S_2 / \sqrt{n_2}}$$

En donde:

X_1 = La media de la actividad de la D-PBG de un grupo.

X_2 = La media de la actividad de la D-FBG del otro grupo a comparar.

S_1 = La varianza de la actividad de la D-PBG de un grupo.

S_2 = La varianza de la actividad de la D-PBG del otro grupo.

n_1 y n_2 = Tamaño de la muestra de un grupo y de otro.

(31)

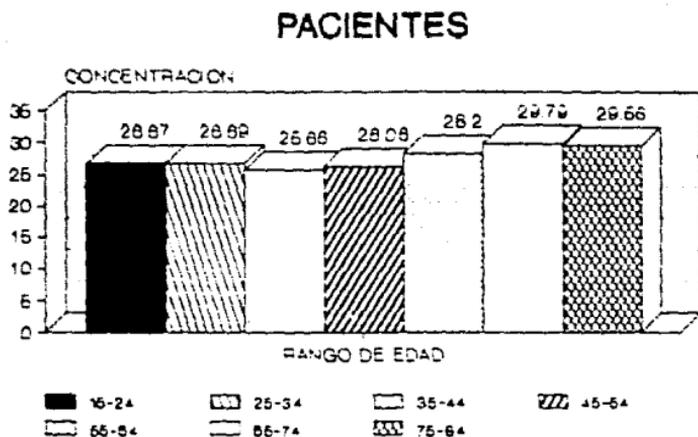
No hubo una diferencia estadísticamente significativa entre los valores encontrados de la actividad enzimática de la D-FBG entre los pacientes y los controles mediante una comprobación de diferencia de medias usando el puntaje Z con una $p=0.05$ (Tab.51).

		x actividad enzimática	Desviación
	n	de la D-PBG	Estandard
PACIENTES	300	26.64	7.40
CONTROLES	150	25.79	7.80

Los valores encontrados de la actividad de la D-PBG por sexo entre pacientes y controles, tanto en hombres como en mujeres, no demuestran una diferencia estadísticamente significativa, mediante la prueba de puntaje Z con una $p=0.05$. (Tab. 6). (31)

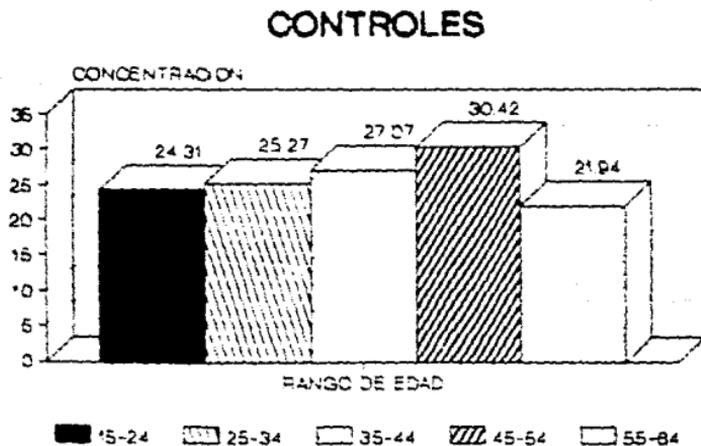
	PACIENTES		CONTROLES	
	FEMENINO	MASCULINO	FEMENINO	MASCULINO
n	164	136	41	109
FROM. D-PBG	26.22	26.37	25.76	25.60
DESV. ESTAND.	7.85	6.74	6.41	7.55

La actividad enzimática de la D-FBG encontrada por edades en los pacientes, no demuestran una diferencia estadísticamente significativa por análisis de varianza con una $p=0.05$. (graf. 9)



GRAF 9 Promedio de la actividad de la D-FBG

De igual manera la actividad enzimática de la D-FBG encontrada por edades en los controles no demostró una diferencia estadísticamente significativa, usando análisis de variancia con una $p < 0.05$. (graf. 10).



GRAF 10 Promedio de la actividad de la D-FBG

VI.- DISCUSION

Se estudiarón 300 pacientes psiquiátricos para determinar porfiria intermitente aguda (PIA), mediante la cuantificación de la actividad enzimática de la desaminasa del porfobilinógeno (45), de la misma manera se estudiarón 150 sujetos aparentemente sanos como controles.

En la población psiquiátrica se encontraron dos pacientes con PIA, el paciente número 34 en donde las tres determinaciones que se le realizaron de la actividad enzimática de la D-PBG fueron bajas con un promedio de 12.28 nanomoles de porfirinas formadas por ml de eritrocitos. Se encontró una reacción positiva para la determinación cualitativa de PBG en orina y cuantificaciones de ALA y PBG en orina de 3.47 mg/l de orina y 2.98 mg por 24 hrs respectivamente. (ver tabla 3). Los valores del ALA caen dentro de los valores normales (0 - 5 mg/l de orina) y los del PBG estan ligeramente aumentados (valores normales 0-2 mg/24 hrs), esto puede deberse a que si la ALA-sintetasa se encuentra aumentada va a ver un exceso de ALA y PBG, pero debido a que la actividad enzimática de la D-PBG es mayor a la actividad enzimática de la ALA-sintetasa no permite una gran acumulación de estos precursores porfirinicos, esto también puede servir de base para explicar la forma latente de la enfermedad, y el porqué no se manifiesta la enfermedad en estas personas. (25). Este paciente tenia rasgos clinicos reportados para la enfermedad como son las manifestaciones

psiquiátricas, convulsiones, aunque no se puede saber si las convulsiones son una manifestación de la FIA o son una entidad coexistente de ésta (37), él se encontraba en tratamiento a base de barbitúricos y difenilhidantoína, estas drogas pueden desencadenar un ataque de FIA (35,37,53), aunque él nunca ha desarrollado un cuadro agudo. Existen reportes de pacientes epilépticos que después de varios años de recibir tratamiento antiepiléptico desencadenan un cuadro agudo por lo cual aunque este paciente no ha presentado ningún cuadro agudo es necesario cambiarle la medicación. (37). La otra paciente encontrada fué la 165, en donde también se le hicieron 3 determinaciones de la actividad enzimática de la D-PBG, encontrándose disminuida esta con un valor promedio de 9.14 nanomoles de porfirinas formadas por ml de eritrocitos en una hora, una reacción positiva para PBG en orina y la cuantificación de los precursores porfirinicos ALA y PBG en orina cayeron dentro de los valores normales, esto es debido a que se encontraba en una forma asintomática (27). De ésta paciente únicamente se estudio a un hermano y a su madre, encontrándose al hermano con una disminución de la actividad enzimática de la D-PBG en solo una determinación, no se le realizaron más determinaciones de la D-PBG, ni se le determinó PBG y ALA en orina debido a que no quiso seguir cooperando, por lo cual tampoco tenemos historia de sus antecedentes patológicos.

De los 150 controles se encontró a una persona (control 26) con PIA, la primera y tercera determinación dieron valores parecidos (tabla 4), pero la segunda determinación fue muy baja, la determinación cualitativa de FBG en orina dió positiva, los valores cuantitativos para ALA y FBG cayerón dentro de los valores normales, esta persona se encontraba en una forma latente de la enfermedad.

Los estudios psicológicos realizados resultaron normales.

Se estudiaron a sus 9 hermanos y a sus padres, (fig 5) encontrándose que el padre (II-4) tenía valores muy bajos de la actividad de la D-PBG en sus tres determinaciones, presentaba reacción positiva para FBG en orina y excretaba grandes concentraciones de ALA y FBG en orina (tabla 4). Tenía un cuadro crónico de PIA manifestado por dolor abdominal, que es el síntoma más característico de la PIA . (6,16,23,25,33,34).

Y de igual manera el estudio psicológico no mostró alteraciones.

Como en México no existen reportes de un estudio de porfiria intermitente aguda mediante la cuantificación de la D-PBG por un método fluorométrico y no existen valores normales de la actividad de de esta enzima, por lo tanto optamos por tomar un valor menor de 15 nanomoles de porfirinas formadas por ml de eritrocitos en una hora para considerarlo como sospechoso, este valor corresponde aproximadamente a 1.5 desviaciones estandar abajo de la

media encontrada tanto en pacientes como en controles, no se tomo un valor más alto debido a que por este método existe un 10 % de error para diagnosticar a pacientes en forma latente (29,48), y además de que existe una sobrelapación de los valores en sujetos normales y con PIA (8,25).

La frecuencia de PIA obtenida en este estudio fué del 0.66% tanto en los pacientes psiquiátricos como en controles, frecuencia mayor que las reportadas en otros estudios en poblaciones psiquiátricas que van de 0.21% a 0.48 % (24,52).

Esta frecuencia mayor puede deberse a que la mayoría de los trabajos fueron hechos (a excepción del realizado por Tieshler en 1985, (52)) por determinación de PBG cualitativamente en orina, por lo cual no se pudo detectar portadores asintomáticos. Con respecto a la población general la frecuencia reportada en otros países no se conoce con exactitud pero los estudios realizados indican que van desde el 0.001 al 0.008 %, (25,29,38,48) estas estimaciones también han sido realizadas por medición de PBG cualitativamente en orina.

No se encontró una prevalencia mayor de mujeres para PIA esto tal vez debido a que no es una muestra muy grande.

No se encontró alguna diferencia estadísticamente significativa entre controles y pacientes psiquiátricos, ni por sexo, ni por edades.

A la obtención de pacientes por correo, se obtuvo una poca respuesta al llamado, asistieron 129 de 577.

Se obtuvieron más pacientes de los que se encontraban internados que de los que se citaron por correo, 171 pacientes que fué el 57% del total.

VII.- CONCLUSIONES.

Aunque existen otros métodos para la determinación de personas portadoras del gen defectuoso para PIA, como las técnicas inmunológicas o de biología molecular, la determinación de la actividad de la D-PBG por fluorometría sigue siendo en nuestro medio la prueba más adecuada, para detectar PIA tanto en forma latente como en forma asintomática, por su bajo costo y rapidez, esto quedo demostrado con el control 26 que siendo un portador asintomático se detectó y pudo confirmarse en diagnóstico al encontrar a otro familiar afectado.

La identificación de portadores en forma latente es importante, ya que puede prevenirse en ellos los factores precipitantes de ataques agudos y realizar el estudio familiar para detectar a otros portadores y dar consejo genético.

No se encontró una mayor prevalencia de PIA en la población psiquiátrica, ni se encontró que el sexo o la edad influyera en la actividad de la D-PBG, sin embargo es conveniente aumentar la población en estudio para obtener resultados más definitivos.

La obtención de pacientes citandolos por correo no es un método muy útil, debido a que solo en una cuarta parte de estos acuden. Sin embargo utilizando conjuntamente otros medios para comunicarse con el paciente se puede aumentar esa respuesta y así poder realizar estudios retrospectivos.

VIII.- REFERENCIAS

- 1.- Anderson K.E. (1979). VIII. Relationship of the 5 alpha-Reductive Metabolism of Steroid Hormones to Clinical Expression of the Genetic Defect in Acute Intermittent Porphyría. Am. J. Med. 66:644-650.
- 2.- Anderson P.M. (1981). Characterization of the Porphobilinogen Deaminase Deficiency in Acute Intermittent Porphyría. Am. Soc. Clin. Invest. 68:1-12.
- 3.- Baccino E. (1989). Cimetidine in the Treatment of Acute Intermittent Porphyría. JAMA. 262:3000.
- 4.- Badcock N.R. (1990). Variant Acute Intermittent Porphyría an a Child. Clin.Chem. 36:812-814.
- 5.- Battersby A.R. (1980). Biosynthesis of the Pigments of life: formation of the macrocycle. Nature.285:17-21.
- 6.- Becker D.M. (1977). The Neurological Manifestations of Porphyría: a review. Medicine.56:411-423.
- 7.- Bonkowsky H.L. (1980). Seizure management in acute hepatic porphyría: Risks of valproate and clonazepam. Neurology. 30:588-592.
- 8.- Bottomley S.S. (1980). The Diagnosis os Acute Intermittent Porphyría. Am. Soc. Clin. Path. 76:133-139.
- 9.- Bonkowsky R.L. (1971). repression of the Overproduction of Porphyrin Precursors in Acute Intermittent Porphyría by Intranenous Infusions of Hematin. Proc. Natl. Acad. Sci. 68:2725-2729.

- 10.- Bradlow H.L. (1973). II Evidence for a Deficiency of Steroid delta 4-5 alfa-reductase Activity in Acute Intermittent Porphyrria. Journal Exp. Medicine. 138:754-763.
- 11.- Brocklehurst D. (1978). Low-cost Uroporphyrinogen I Synthase Screening for acute Intermittent Porphyrria. Clin. Chem. 24:730-731.
- 12.- Brodie M.J. (1977). Enzyme Abnormalities in the Porphyrias. Lancet 1:699-701.
- 13.- Davis J.R. (1956). Urinary delta-aminolevulinic acid levels in lead poisoning. 1. A modified method for the rapid determination of urinary delta-aminolevulinic acid using disposable ion-exchange chromatography colums. Arch. Environ. Health. 15:53-59.
- 14.- Delgado M.F. (1966). Las Porfirias y el Sistema Nervioso. Gaceta Médica de México. 97:989-1014.
- 15.- Devlin T.M. (1986). Bioquímica: Libro de texto con aplicaciones clinicas. Tomo 2:pag. 1031-1034. ed. Reverte.
- 16.- Donaldson J.D. (1989). Acute Intermittent Porphyrria. Neurology of Fregnancy. 2a.ed. pag. 36-41.
- 17.- Goldberg A. (1985). Molecular genetics of acute intermittent porphyria. British medical journal. 291:499-500
- 18.- Grandchamp E. (1976). The Spectrophotometric determination of Uroporphyrinogen I Synthetase Activity. Clin. Chim. Acta. 70:113-118.

- 19.- Grandchamp B. (1989). Tissue-specific splicing mutation in acute intermittent porphyria. Proc.Natl.Acad.Sci 86:661-664.
- 20.- Grandchamp B. (1984). Molecular cloning of a cDNA sequence complementary to porphobilinogen deaminase mRNA from rat. Proc.Natl.Acad.Sci. 81:5036-5040.
- 21.- Granick S. (1972). Assays for Porphyrins, delta-aminolevulinic-Acid Dehydratase, and Porphyrinogen Synthetase in Microliter Samples of Whole Blood: Applications to Metabolic Defects Involving the Heme Pathway. Proc. Natl.Acad.Sci. 69:2381-2385.
- 22.- Hernberg S. (1970). Delta-Aminolevulinic Acid Dehydrase as a Measure of Lead Exposure. Arch. Environ. Health. 21:140-145.
- 23.- Hindmarsh J.T. (1986). The Porphyrins: Recent Advances. Clin. Chem. 32/7:1255-1263.
- 24.- Kaelbling R. (1961). Urinary porphobilinogen. Archives of General Psychiatry.5:494-508.
- 25.- Kappas A. Sassa S. (1983) the Porphyrins In: Stanbury JB The Metabolic basis of inherited diseases. cap.60. New York: McGraw Hill 1301-1384.
- 26.- Kushner J.P. (1991). Laboratory Diagnosis of the Porphyrins. N.Engl.J.Med. 324:1432-1434.
- 27.- Lamon J.L. (1978). Prevention of acute porphyric attacks by intravenous haematin. Lancet. 492-493.
- 28.- Lamon J. (1974). The Hoesch test: Bedside Screening for

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

- Urinary Porphobilinogen in Patients with Suspected porphyria. Clin. Chem. 20:1438-1440.
- 29.- Lancet. edit. (1985). Latent Acute Hepatic Porphyria. Lancet. 26:197-198.
- 30.- Larson A.W. (1978). Posttraumatic epilepsy and acute intermitent porphyria: Effects of phenytoin, carbamazepine, and clonazepam. Neurology. 28:824-828.
- 31.- Levin J. (1974). Fundamentos de estadística en la Investigación social. 2a. edic. Harla.
- 32.- Llewellyn D.H. (1987). DNA polymorphism of Human porphobilinogen deaminase gene in acute intermitent porphyria. The Lancet. 26:706-708.
- 33.- Lombardo L. (1988). Padecimientos que simulan emergencias abdominales porfiria. Rev. Gastroenterol. Mex. 33:429-438.
- 34.- Lombardo L. (1987). Manifestaciones neurológicas y psiquiátricas de la porfiria aguda intermitente. Estudio de 6 casos. Neurología-Neurocirugía-Psiquiatría. Mex. 8:130-144.
- 35.- Magnus I.A. (1984). Drugs and Porphyria. British Medical Journal. 288:1474-1475.
- 36.- Magnussen C.R. (1974). A red Cell Enzyme Method for the Diagnosis of Acute Intermittent Porphyria. Blood. 44:857-868.
- 37.- Magnussen C.R. (1975). Grand mal seizures and acute intermitent porphyria. Neurology. 25:1121-1125.
- 38.- McColl K. (1982). Screening for latent acute intermi-

- tient porphyria: the value of measuring both leucocyte delta-aminolaevulinic acid synthase and erythrocyte uroporphyrinogen-I-synthase activities. *J. Med. Genetics*. 19:271-276.
- 39.- McColl K.E.L. (1982). Alterations in haem biosynthesis during the human menstrual cycle: Studies in normal subjects and patients with latent and active acute intermittent porphyria. *Clin. Science*. 62:183-191.
- 40.- Merck Sharp & Domme research laboratories. *Anormalidades Metabólicas*. El Manual Merck. pag 879-888.
- 41.- Meyer U.A. (1972). Intermittent acute porphyria- demonstration of a genetic defect in porphobilinogen metabolism. *N. Eng. J. Med.* 286:1277-1282.
- 42.- Miyagi K. (1971). The serum porphobilinogen and hepatic porphobilinogen deaminase in normal and porphyric individuals. *J. Lab. Clin. Med.* 78:683-695.
- 43.- Murray R.K. (1988). Porfirinas y pigmentos biliares. *Bioquímica de Harper*. 11a. ed. cap. 33. edit. El Manual Moderno.
- 44.- Mustajoki P. (1985). Genetic heterogeneity in acute intermittent porphyria: characterisation and frequency of porphobilinogen deaminase mutations in Finland. *British Med. Journal*. 291:505-509.
- 45.- Peterson L.R. (1976). Erythrocyte Uroporphyrinogen I Synthase Activity in Diagnosis of Acute Intermittent Porphyria. *Clin. Chem.* 22/11:1835-1840.
- 46.- Piepkorn M.W. (1978). Modified Erythrocyte Uroporphyrin-

- rinogen I synthase Assay, and its Clinical Interpretation. Clin. Chem. 24/10:1751-1754.
- 47.- Pierach C.A. (1977). Comparison of the Hoesch and Watson-Schwartz Tests for Urinary Porphobilinogen. Clin. Chem. 23:1666-1668.
- 48.- Pierach C.A. (1987). Red Blood Cell Porphobilinogen Deaminase in The Evaluation of Acute Intermittent Porphyria. JAMA 257:60-61.
- 49.- Reynolds N.C. (1981). Safety of anticonvulsivants in hepatic porphyrias. Neurology (Ny). 31:480-484.
- 50.- Sack B.H. (1990). Acute Intermittent Porphyria. JAMA. 264:1290-1293.
- 51.- Sassa S. (1975). IV. Expression of the Gene Defect of Acute Intermittent Porphyria in Cultured Human Skin Fibroblasts and Amniotic Cells: Prenatal Diagnosis of the Porphyric Trait. J.Exp.Medicine. 142:722-731.
- 52.- Tishler P.V. (1985). High Prevalence of Intermittent Acute Porphyria in Psychiatric Patient Population. Am. J. Psychiatry. 142:1430-1436.
- 53.- Tschudy D.P. (1975). Acute Intermittent porphyria: Clinical and Selected Research Aspects. Annals Int.Med. 83:851-864.
- 54.- Verneuil H. (1982). Assignment of Human Uroporphyrinogen I Synthase Locus to Region 11qter by Gene Dosage Effect. Human Genetics. 60:212-213.
- 55.- Wang A.L. (1981) Regional Gene Assignment of Human Porphobilinogen Deaminase and Esterase A4 to Chromosome

- 11q23-11qter. Proc.Natl.Acad.Sci.78:5734-5738.
- 56.- Watson C.J. and Schwartz S. (1941). A simple test for Urinary Porphobilinogen. Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 47:393.
- 57.- Yamada M. (1984). An Autopsy Case of Acute Porphyria with a Decrease of Both Uroporphyrinogen I Synthetase and Ferrochelatase Activities. Acta Neuropathol.64:6-11
- 58.- Yeung A.A. (1983). Carbamazepine-Induced Non-Hereditary Acute Porphyria. The Lancet.1:790-792.