

11237

65  
29



**UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTONOMA DE MEXICO**

**FACULTAD DE MEDICINA**  
División de Estudios de Posgrado e Investigación  
Instituto Nacional de Pediatría  
Secretaría de Salud

**DETERMINACION DE NIVELES DE GLICINA EN LIQUIDO  
CEFALORRAQUIDEO EN NIÑOS MEXICANOS  
CON Y SIN CRISIS CONVULSIVAS**

**TESIS DE POSGRADO**  
para obtener el Diploma de Especialista en  
**PEDIATRIA MEDICA**  
p r e s e n t a

**DRA KAREN HERREMAN SUQUET**



México, D. F.

1995

**FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



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

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

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

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

# TESIS CON FALLA DE ORIGEN

# TESIS CON FALLA DE ORIGEN

**DR. HECTOR FERNANDEZ VARELA**  
DIRECTOR GENERAL Y  
PROFESOR TITULAR DEL CURSO

**DR. RIGOBERTO MARTINEZ  
BENAVIDES**  
SUBDIRECTOR DE ENSEÑANZA

**DR. LUIS HESHIKI NAKANDAKARI**  
JEFE DE ENSEÑANZA

**DR. ANTONIO VELAZQUEZ**  
DIRECTOR DE LA UNIDAD DE  
GENETICA DE LA NUTRICION

**DR. MARCELA VELA AMIEVA**  
JEFE DEL SERVICIO CLINICO DE  
GENETICA DE LA NUTRICION  
TUTOR DE TESIS



**Este trabajo fué realizado en la Unidad de Genética de la Nutrición del Instituto Nacional de Pediatría y del Instituto de Investigaciones Biomédicas, y fué subvencionado por el Programa Universitario de Investigación en Salud.**

# INDICE

	Páginas
RESUMEN .....	1
INTRODUCCION .....	2
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....	10
JUSTIFICACION .....	11
HIPOTESIS .....	12
OBJETIVO .....	13
MATERIAL Y METODO .....	13
CONSIDERACIONES ETICAS .....	16
RESULTADOS .....	17
DISCUSION .....	26
CONCLUSION .....	28
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS .....	29
ANEXO 1 .....	33
ANEXO 2 .....	36

## **1. RESUMEN**

Las anomalías en las características bioquímicas del líquido cefalorraquídeo (LCR) cada vez se asocian con mayor frecuencia a enfermedades metabólicas cerebrales, especialmente en lo referente a la concentración de aminoácidos. En el presente estudio se analizó el contenido de glicina en el líquido cefalorraquídeo de una muestra de 27 niños mexicanos, divididos en 2 grupos: con y sin la presencia de crisis convulsivas, que por indicaciones médicas fueron sometidos a punción lumbar. El objetivo de este trabajo fué conocer las concentraciones de glicina en ambos grupos y establecer si existían diferencias entre los mismos. Los resultados de nuestro estudio indican que no existe diferencia estadísticamente significativa entre las concentraciones de glicina en LCR en los grupos estudiados.

## **1. ABSTRACT**

Biochemical abnormalities in cerebrospinal fluid (LCR) are increasingly associated to cerebral metabolic illness, specially those related to the concentration of aminoacids. In the present study the concentration of glycine was analyzed in the LCR of a sample of 27 mexican children, divided in two groups: with and without convulsions, for whom lumbar puncture was medically indicated. The objective of this study was to know the glycine concentration in both groups and to detect differences between them. The results of our study indicates that there is no statistically significance in the glycine concentration in both groups.

## **1. RESUMEN**

Las anomalías en las características bioquímicas del líquido cefalorraquídeo (LCR) cada vez se asocian con mayor frecuencia a enfermedades metabólicas cerebrales, especialmente en lo referente a la concentración de aminoácidos. En el presente estudio se analizó el contenido de glicina en el líquido cefalorraquídeo de una muestra de 27 niños mexicanos, divididos en 2 grupos: con y sin la presencia de crisis convulsivas, que por indicaciones médicas fueron sometidos a punción lumbar. El objetivo de este trabajo fué conocer las concentraciones de glicina en ambos grupos y establecer si existían diferencias entre los mismos. Los resultados de nuestro estudio indican que no existe diferencia estadísticamente significativa entre las concentraciones de glicina en LCR en los grupos estudiados.

## **1. ABSTRACT**

Biochemical abnormalities in cerebrospinal fluid (LCR) are increasingly associated to cerebral metabolic illness, specially those related to the concentration of aminoacids. In the present study the concentration of glycine was analyzed in the LCR of a sample of 27 mexican children, divided in two groups: with and without convulsions, for whom lumbar puncture was medically indicated. The objective of this study was to know the glycine concentration in both groups and to detect differences between them. The results of our study indicates that there is no statistically significance in the glycine concentration in both groups.

La glicina se encuentra presente en altas concentraciones en la colágena y en la gelatina, y es abundante en la mayoría de las proteínas animales. Su ingesta diaria promedio en los adultos es de 3 a 5 g<sup>2</sup>.

El metabolismo de la glicina se encuentra relacionado principalmente con procesos de síntesis de gran variedad de moléculas y juega un importante papel en la formación de proteínas tales como la colágena, facilitando la estructura helicoidal de la misma. Aproximadamente 50% de la glicina ingerida por la dieta se usa en la síntesis de proteínas, cerca del 10% se encuentra en el cuerpo como nitrógeno no protéico, 40% se excreta directamente en la orina y 2 a 3% se excreta en heces. La glicina también juega un papel importante en la síntesis de purinas. El catabolismo de la glicina se realiza principalmente al convertirse en serina, pero también puede oxidarse a glioxilato y puede formar aminocetonas<sup>3</sup>.

Entre las alteraciones del metabolismo de la glicina, relacionadas con su aumento, se encuentran las hiperglicinemias clasificadas como cetósicas y no cetósicas. La hiperglicinemia no cetósica o encefalopatía por glicina (NKH, McKusick 238300) es un error innato del metabolismo, autosómico recesivo caracterizado por concentraciones anormalmente elevadas de glicina en plasma, líquido cefalorraquídeo y orina (sin encontrar elevaciones de ácidos orgánicos como sucede en las hiperglicinemias cetósicas). Debido a la existencia de un defecto enzimático a nivel del metabolismo de la glicina, este trastorno se ha clasificado principalmente en dos formas clínicas: la forma neonatal y la forma tardía<sup>4</sup>. La forma neonatal es la más frecuente y grave, se caracteriza por presentación precoz de síntomas neurológicos tales como letargia, hipotonía muscular, apnea y crisis convulsivas. La mayoría de estos pacientes fallecen en las primeras semanas de vida y los sobrevivientes presentan retraso psicomotor importante. En la forma de presentación tardía,

la cual es generalmente más benigna, los pacientes desarrollan sintomatología neurológica de grado variable, después del periodo neonatal<sup>5</sup>. También se ha referido en la literatura una forma neonatal transitoria, la cual tiene un buen pronóstico<sup>6</sup> y las teorías que se tienen sobre su etiología son las siguientes: (1) inmadurez del sistema enzimático, (2) presencia de un inhibidor y (3) ausencia de un activador del sistema de ruptura de la glicina<sup>7</sup>.

El mecanismo que lleva al daño neurológico por aumento de las concentraciones de la glicina no se ha dilucidado aún. La glicina es un neurotransmisor inhibitorio bien conocido en la médula espinal del gato pero tiene menor efecto sobre las neuronas corticales<sup>4,5</sup>. Se ha postulado que la inhibición crónica de la glicina a nivel cerebral causa una excitación neuronal excesiva como resultado de la disminución del control inhibitorio y un aumento en el número de receptores de glicina<sup>8</sup>. Por otra parte la glicina pudiese tener un efecto excitatorio sobre las neuronas corticales a través de la facilitación secundaria a la excitación del receptor N-metil-D-aspartato (NMDA). Esta última posibilidad ha sugerido el uso de receptores inhibitorios del NMDA como tratante de la hiperglicinemia no cetósica<sup>9,10</sup>.

La prevalencia de la hiperglicinemia no cetósica es desconocida en parte debido a que muchos de los pacientes fallecen a edades tempranas sin diagnóstico, sin embargo se estima que en Estados Unidos de Norteamérica es de 1 en 250,000 recién nacidos, y en Finlandia es de 1 en 12,000<sup>11</sup>. Hasta el momento se desconoce la ubicación cromosómica del defecto, sin embargo se sabe que se encuentra a nivel del sistema degradador o de ruptura de la glicina, lo cual fue demostrado por Tada en 1969<sup>4</sup>. Este sistema enzimático de la glicina está formado por 4 proteínas denominadas P, H, T y L y en la actualidad se ha observado que la mayoría de los casos de hiperglicinemia no cetósica corresponden a defectos en la proteína P<sup>9</sup>. La consecuencia clínica

de este trastorno es un daño neurológico profundo y progresivo<sup>12</sup>. Aún no se dispone de medios para la detección de heterocigotos, sin embargo en algunos de los presuntos heterocigotos estudiados en una serie en Finlandia se detectaron algunos hallazgos neurológicos leves, alteraciones en el EEG y alteraciones de la neurofisiología vestibular<sup>11</sup>. Se han utilizado para el tratamiento aún sin resultados positivos, el benzoato de sodio, la estricnina y el diacepam, y recientemente el dextrometorfán<sup>13</sup>.

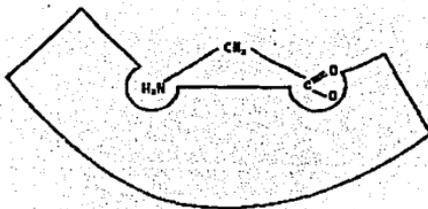


FIGURA 1. Fórmula estructural de la glicina

## **2.2 Establecimiento de los valores normales de los aminoácidos**

Existen múltiples estudios en los que se han tratado de establecer los valores "normales" de los aminoácidos en los diversos fluidos biológicos, utilizando diversas metodologías<sup>14</sup>, sin embargo actualmente a nivel mundial se considera que las cuantificaciones más exactas de aminoácidos deben realizarse con cromatografía de líquidos de alta resolución. En la Unidad de Genética de la Nutrición del Instituto Nacional de Pediatría-Instituto de Investigaciones Biomédicas de la UNAM, se consideran como valores de referencia de concentración de glicina en LCR los descritos y aceptados en la literatura internacional<sup>1,15,16,17</sup>.

## **2.3 Particularidades del líquido cefalorraquídeo**

El líquido cefalorraquídeo es una sustancia que circula en el espacio subaracnoideo y posee importantes funciones entre las cuales está el proteger al cerebro y la médula espinal de lesiones, así como transportar productos de secreción nerviosa, biosíntesis y metabolismo celulares<sup>18</sup>.

El LCR llena los ventrículos y el espacio subaracnoideo del cerebro y médula espinal. En el hombre su volumen es aproximadamente 140 ml y se secreta a una velocidad de 0.5 ml por minuto. El recambio de este fluido es muy alto, calculándose que en un día cambia 4 ó 5 veces. La presión del LCR es menor de 110 mmH<sub>2</sub>O en los recién nacidos y menor de 200 mmH<sub>2</sub>O en lactantes y niños mayores<sup>19</sup>.

El LCR es formado por la secreción coroidea y por grandes cantidades de agua y sustancias disueltas que llegan por medio del mecanismo de ósmosis. Asimismo hay difusión continua entre el líquido cefalorraquídeo y la sustancia cerebral debido a grandes superficies de contacto por debajo del epéndimo y de la difusión a partir de los vasos sanguíneos de las meninges. Es debido a estos dos mecanismos, difusión y filtración, que las características de este líquido son semejantes a las del líquido extracelular del cerebro y su composición es representativa del tipo e intensidad del metabolismo que es llevado a cabo a nivel cerebral<sup>20</sup>.

#### **2.4. Generalidades sobre las crisis convulsivas**

Las crisis convulsivas son eventos de frecuente presentación en la edad pediátrica. Se estima que ocurren de 4 a 6 casos por cada 1000 niños. Es una manifestación de un proceso subyacente que afecta al sistema nervioso central y que requiere de una investigación exhaustiva, sin embargo en la mayor parte de los casos no puede determinarse la etiología de las crisis. Existen una gran variedad de tipos de crisis convulsivas y se han clasificado principalmente en generalizadas y parciales. Las generalizadas se dividen a su vez en tónicas, clónicas, tonicoclónicas, ausencias, atónicas y espasmos. Las crisis convulsivas parciales se dividen en simples y complejas. Las características de las crisis convulsivas son importantes y hay que tomar en cuenta para la orientación diagnóstica todos los factores asociados por ejemplo: la duración, los factores desencadenantes, la presencia de aurea, de periodo postictal, anomalías en el desarrollo psicomotor y antecedentes heredofamiliares<sup>21,22</sup>. En la edad neonatal las características son diferentes

debido a la inmadurez a nivel del sistema nervioso central y suelen presentarse bajo la forma de chupeteo, parpadeo y apneas. Existen una amplia gama de causas que conducen a crisis convulsivas y no hay que perder de vista la posibilidad de una enfermedad metabólica como probable etiología, sobre todo en pacientes que convulsionan sin causa aparente o después de haber descartado las causas más frecuentes para las edades, como son fiebre, traumatismos, procesos infecciosos del sistema nervioso central, hipoxia, alteraciones metabólicas de glucosa, sodio, potasio, bilirrubinas, calcio y magnesio. Los errores innatos del metabolismo de los aminoácidos tales como la fenilcetonuria, la enfermedad de orina de jarabe de maple, la hiperglicinemia y las acidemias orgánicas se pueden manifestar como crisis convulsivas neonatales, generalmente desde el segundo día de vida<sup>23</sup>.

## **2.5 Cromatografía de líquidos de alta resolución**

Los aminoácidos presentes en los fluidos biológicos son producto de un sistema de transporte y metabolismo de las proteínas. Los niveles de aminoácidos libres representan el balance entre la utilización de aminoácidos por los tejidos y el catabolismo tanto de las proteínas de la dieta como de las proteínas corporales, así como el producto de biosíntesis de otros intermediarios, dichos niveles presentan poca variación de día a día, entre persona y persona, cuando se trata de individuos sanos, por lo tanto los cambios del perfil de aminoácidos son indicadores importantes de una gran variedad de condiciones fisiológicas y patológicas<sup>24</sup>.

La cromatografía es una técnica que abarca un grupo variado e importante de métodos que permiten separar, aislar, identificar y cuantificar componentes

presentes en mezclas diversas. Todos los sistemas cromatográficos constan de una fase móvil que fluye a través de una fase estacionaria; Los componentes de la muestra sufren un equilibrio de distribución entre dichas fases y este equilibrio determina la velocidad con la que los componentes migran a través del sistema. La fase estacionaria puede ser un líquido inmovilizado en un soporte inerte o un sólido, mientras que la fase móvil puede ser un gas o un líquido.

El término cromatografía de líquidos se usa para referirse a aquellos procesos en los que la separación tiene lugar dentro de una columna empacada, utilizando una fase móvil líquida. La cromatografía de líquidos permite el análisis de compuestos de muy variada naturaleza por lo que resulta ideal para la separación de macromoléculas y especies de interés biomédico. En los últimos años, la cromatografía de líquidos ha presentado un gran avance tecnológico en columnas, detectores y sistemas de bombeo e inyección, dando lugar a la llamada cromatografía líquida de alta resolución (HPLC, siglas en inglés)<sup>25</sup>.

### 3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La disponibilidad actual de métodos sensibles para determinar las concentraciones de aminoácidos ha impulsado el estudio exhaustivo de las concentraciones y funciones de estas moléculas en los fluidos biológicos, entre ellos el líquido cefalorraquídeo. Diversos autores en tiempos recientes han reportado las características del líquido cefalorraquídeo en sus poblaciones de estudio<sup>15,16</sup> sin embargo, casi todas estas determinaciones se han realizado con técnica de cromatografía de intercambio de iones y fluorometría<sup>15,17</sup>. Actualmente existen técnicas de cuantificación más complejas tales como la cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC), la cual ofrece mayor sensibilidad y precisión<sup>25</sup>. En la Unidad de Genética de la Nutrición, del Instituto Nacional de Pediatría y del Instituto de Investigaciones Biomédicas, de la UNAM, contamos con un cromatógrafo de alta resolución, así como con personal especializado para el manejo de dicho aparato.

En nuestro hospital, realizamos determinación de aminoácidos en sangre y en líquido cefalorraquídeo mediante HPLC desde 1990, y nos ha llamado especialmente la atención el comportamiento que en algunas ocasiones hemos observado con respecto a la glicina, la cual suele estar elevada en el líquido cefalorraquídeo en comparación con los valores de referencia conocidos. Estas elevaciones de glicina pueden deberse a varias causas, sin que necesariamente correspondan a una hiperglicinemia de origen genético, es decir existen factores que pueden causar elevación de glicina tales como la ingesta de anticonvulsivos del tipo del ácido valproico y probablemente las crisis convulsivas. También, en ocasiones, fallas metodológicas pueden dar

resultados anormalmente altos, por ejemplo cuando no se tiene la precaución de usar tubos que estén perfectamente limpios, o cuando se utiliza anticoagulante en ellos, como lo reportan recientemente Parvy y sus colaboradores<sup>26</sup>. En México no se ha realizado un estudio controlado en el que se analice el nivel de glicina en líquido cefalorraquídeo y se relacione con la presencia de crisis convulsivas. Esto es de fundamental importancia puesto que la interpretación inadecuada o incorrecta de los niveles de glicina en LCR pueden llevar a errores diagnósticos que tengan implicaciones serias para el paciente y su familia.

#### **4. JUSTIFICACION**

En el Instituto Nacional de Pediatría de la Secretaría de Salud se realizan al mes aproximadamente 100 punciones lumbares en el servicio de Urgencias, por distintas indicaciones médicas. Al líquido cefalorraquídeo que se obtiene se le realizan, de rutina, exámenes citoquímicos, cultivos bacteriológicos para diagnóstico, pero nunca se ha estudiado en una población de este tipo el perfil de glicina ni de ningún otro aminoácido.

Sabemos que existen algunos factores que elevan la glicina del LCR tales como el ácido valproico pero ignoramos qué efecto pueden tener sobre la misma eventos neurológicos tales como las crisis convulsivas.

También es de todos conocido el hecho de que el exceso de glicina en LCR es deletéreo para el SNC y que existen algunos métodos terapéuticos para su control.

Por todo lo anterior, consideramos de suma importancia el conocer los niveles de aminoácidos, especialmente de glicina en el LCR de los niños, y saber si se alteran estos niveles con la presencia de crisis convulsivas.

## **5. HIPOTESIS**

- I. Los niveles de glicina en LCR son mayores en los niños que presentan crisis convulsivas que en los que no las presentan.
  
- II. Existe relación entre los niveles elevados de glicina y la presencia de crisis convulsivas.

## **6. OBJETIVO**

El objetivo del presente trabajo fue cuantificar los niveles de glicina en el líquido cefalorraquídeo mediante la técnica de HPLC de dos muestras de niños, con crisis convulsivas y sin crisis convulsivas, a los que se les realizó punción lumbar por distintas indicaciones médicas en el servicio de Urgencias del INP.

## **7. MATERIAL Y METODOS**

### **A) POBLACION OBJETIVO**

Pacientes que ingresaron al servicio de Urgencias y que se les realizó punción lumbar por alguna indicación médica.

#### *CRITERIOS DE INCLUSION*

- 27 niños de sendos sexos, que se sometieron a punción lumbar por alguna indicación médica en el servicio de Urgencias del INP, divididos en 2 grupos:
  - a) Niños que presentaron crisis convulsivas.

b) Niños que no presentaron crisis convulsivas.

- Hoja completa de concentración de datos.

#### *CRITERIOS DE EXCLUSION*

- Punción lumbar traumática (macroscópica).
- Hoja de concentración de datos incompleta.
- Estar recibiendo terapia con ácido valproico.

#### *CRITERIOS DE ELIMINACION*

- Punción lumbar traumática (microscópica).

## **B) DISEÑO EXPERIMENTAL Y METODOLOGIA**

a) Los niños que cumplieron los criterios de inclusión se dividieron en los grupos previamente establecidos, es decir, niños con crisis convulsivas y niños sin crisis convulsivas. Se les tomaron 1.5 ml de líquido cefalorraquídeo,

además del tomado habitualmente para fines de realizar análisis citoquímico y cultivo.

b) Los líquidos para citoquímico y cultivo se procesaron en forma rutinaria.

c) La muestra de 1.5 ml de líquido cefalorraquídeo extra se tomó en un vial de 2 ml, y se almacenó a una temperatura de  $-20^{\circ}\text{C}$  hasta su procesamiento.

d) Se llenó la hoja de concentración de datos en forma completa para poder realizar el análisis posterior.

e) A las muestras se les procesó mediante la técnica de cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC), la cual se describe en el **Anexo 1**.

### **C) HOJA DE RECOLECCION DE DATOS (ver Anexo 2)**

## **8. CONSIDERACIONES ETICAS Y CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO**

Este estudio no implicó riesgo "per se" sino que únicamente implicó la toma de 2 ml extras de LCR en un procedimiento indicado por razones médicas.

Así mismo se hizo saber que no implicó beneficio clínico directo para el paciente sino que los resultados serán útiles como conocimiento de la bioquímica del LCR y servirán de base para estudios posteriores.

## **9. RESULTADOS**

### **9.1 DESCRIPCION DE LA MUESTRA**

Se estudiaron 27 pacientes pediátricos, cuyo promedio de edad fue de 1.61 años con un rango de 9 días a 11 años (Gráfica 1). Se encontró una relación niño/niña de 1.4 a 1 (Gráfica 2).

El motivo de la punción lumbar fue en el 88.9% de los casos la sospecha de neuroinfección. El 7.4% se puncionó por la presencia de ataxia y el restante de los casos fue por estudio de cráneo hipertensivo (Tabla 1).

En la Tabla 2 se muestra el número de pacientes que presentaron crisis convulsivas, y en las Tablas 3 y 4 se muestran las características físicoquímicas y citobacteriológicas del LCR de los grupos estudiados.

### **9.2 NIVELES DE GLICINA EN LAS MUESTRAS DE LCR DE LA POBLACION ESTUDIADA**

Los niveles promedio de glicina en LCR en los niños sin crisis convulsivas fueron de 19.09 mmol/L, con una mediana de 18.460, y en los niños con crisis convulsivas, el promedio fue de 37.54 mmol/L y la mediana de 12.315 (Gráfica 3).

### 9.3 DIFERENCIAS ENTRE LOS NIVELES DE GLICINA EN LOS GRUPOS ESTUDIADOS

Se realizó la prueba de U de Mann-Whitney para los grupos con y sin crisis convulsivas.

GRUPO	n	MEDIANA
Niveles de glicina sin crisis convulsivas	17	18.460
		p=0.436
Niveles de glicina con crisis convulsivas	10	12.315

**TABLA 1**

**INDICACIONES DE PUNCION LUMBAR**

INDICACIONES	No. PACIENTES	%
Sospecha de Neuroinfección	24	88.9
Ataxia	2	7.4
Cráneo Hipertensivo	1	3.7

**TABLA 2****GRUPOS DE PACIENTES CON Y SIN CRISIS CONVULSIVAS**

<b>SEXO</b>	<b>No. DE PACIENTES CON CRISIS CONVULSIVAS</b>	<b>No. DE PACIENTES SIN CRISIS CONVULSIVAS</b>
<b>NIÑOS</b>	<b>7</b>	<b>9</b>
<b>NIÑAS</b>	<b>3</b>	<b>8</b>
<b>TOTAL</b>	<b>10</b>	<b>17</b>

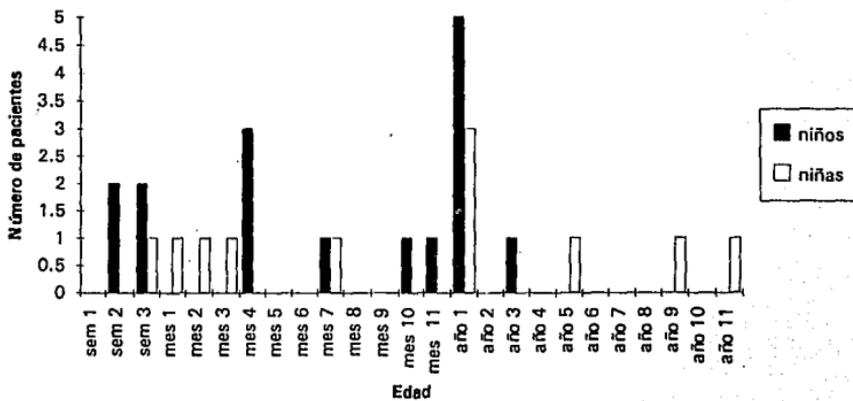
**TABLA 3****CARACTERISITICAS DEL L.C.R. POR GRUPOS DE PACIENTES**

CARACTERISITICAS FÍSICO-QUÍMICAS DEL L.C.R.	No. DE PACIENTES SIN CRISIS CONVULSIVAS	No. DE PACIENTES CON CRISIS CONVULSIVAS
Aspecto Normal	17	8
Aspecto Anormal	0	2
Con Película	0	0
Sin Película	17	10
Proteínas Normales	14	7
Proteínas Anormales	3	3
Rel. Glucorraquia /Glicemia Normal	15	8
Rel. Glucorraquia /Glicemia Anormal	2	2

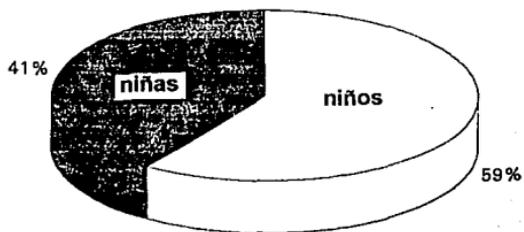
**TABLA 4****CARACTERÍSTICAS DEL L.C.R. POR GRUPOS DE PACIENTES**

CARACTERÍSTICAS CITO-BACTERIOLÓGICAS DEL L.C.R.	No. DE PACIENTES SIN CRISIS CONVULSIVAS	No. DE PACIENTES CON CRISIS CONVULSIVAS
No. de Células normal	17	9
No. de Células Anormal	0	1
No. de Leucocitos Normal	17	8
No. de Leucocitos Anormal	0	2
Frotis Positivos	0	0
Cultivos Positivos	0	0

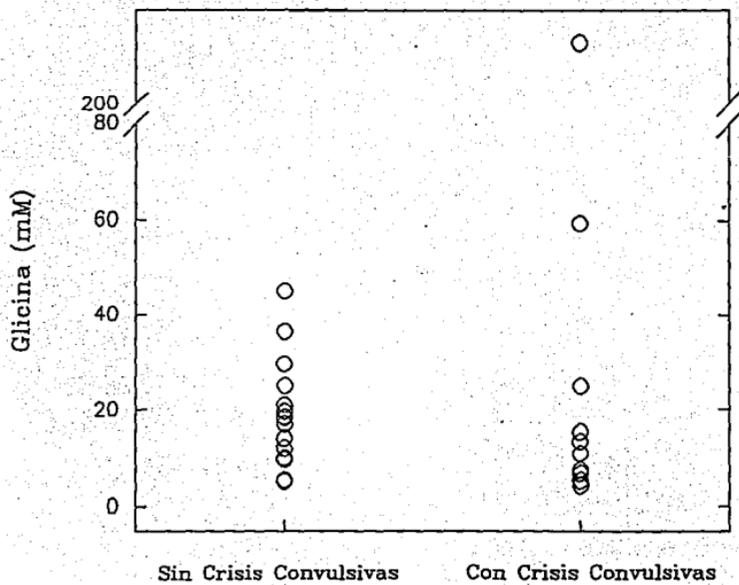
**GRAFICA 1: Número de pacientes por edad y sexo**



**GRAFICA 2: Proporción entre niñas y niños n= 27**



Gráfica 3: Niveles de Glicina en los 2 grupos de pacientes



## 10. DISCUSION

El trabajo realizado cumplió los objetivos planteados inicialmente, en cuanto a que fue posible realizar la cuantificación de los niveles de glicina en las muestras propuestas.

En el presente trabajo existen muchos puntos interesantes, especialmente en lo concerniente a la muestra estudiada; como vemos en la Gráfica 1, los grupos de edad no son totalmente homogéneos puesto que hay más pacientes de edades menores, es decir entre días y meses y pocos pacientes del grupo de escolares. Este hecho puede haber influido en los valores del glicina, dado que con la edad dichos valores pueden ser diferentes, esto deberá ser tomado en cuenta para la realización de próximos proyectos en los que se cuantifiquen aminoácidos en LCR.

Llama la atención que el motivo principal de la realización de la punción lumbar fue la sospecha de neuroinfección en este grupo estudiado, y en dicho caso además de las anomalías citológicas y fisicoquímicas (aspecto xantocrómico, 122 mg% de proteínas, hipoglucoorraquia y celularidad de 575 células con 85% de PMN y 15% de linfocitos) encontramos niveles de glicina muy elevados, 226.72, y resalta el hecho de que este paciente perteneció al grupo de niños con crisis convulsivas.

Estadísticamente no existió correlación entre ninguno de los parámetros citoquímicos con los niveles de glicina excepto la glucoorraquia. Es decir existió una correlación de Pearson positiva de 0.445 entre los niveles de glicina y de glucosa del LCR.

En relación a los niveles de glicina entre los grupos estudiados podemos inferir que no existe diferencia significativa entre ambos grupos, es decir que la diferencia de las medianas de los valores de glicina no es lo suficientemente grande como para excluir la posibilidad de que la diferencia se deba a variabilidad aleatoria de la muestra.

Nuestros resultados muestran que la concentración de glicina no es mayor en los pacientes que presentan crisis convulsivas, sin embargo nos llama mucho la atención el hecho de que el valor más alto de glicina encontrado en la muestra fue el de un paciente con crisis convulsiva y con neuroinfección. Sería interesante, en proyectos futuros, medir los niveles de glicina en pacientes con neuroinfección comprobada y ver si el contenido de glicina está correlacionado con este hecho, incluso sería interesante conocer si este aminoácido pudiese tener valor pronóstico en la evolución de los procesos neuroinfecciosos.

## **11. CONCLUSIONES**

Los niveles de glicina en el líquido cefalorraquídeo en los niños con y sin crisis convulsivas son similares, es decir no existe diferencia estadísticamente significativa entre ambos grupos.

En un caso dentro del grupo de pacientes con crisis convulsivas, cuyo líquido cefalorraquídeo presentó anomalías citoquímicas de neuroinfección, la concentración de glicina fue extremadamente elevada.

12. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Nyhan W L . Nonketotic hyperglycinemia. In Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, eds. The metabolic basis of inherited disease. McGraw-Hill, New York, 1989, pp 743-753.
2. Nyhan W.L. Nonketotic hyperglycinemia, in Stanbury JB, Wyngaarden JB, Fredrickson DS (eds). The Metabolic Basis of Inherited Disease, 4th ed. New York, McGraw-Hill, 1978, pp 518-527.
3. Nyhan W.L. Metabolism of glycine in the normal individual and the patients with non-ketotic hyperglycinemia. *J Inher. Metab. Dis.*, 1982, 5:105.
4. Tada K. Nonketotic hyperglycinemia: Clinical and metabolic aspects. *Enzyme*, 1987, 38: 27-35.
5. Tada K, Kure S. Non-ketotic Hyperglycinaemia: Molecular Lesion, Diagnosis and Pathophysiology. *J. Inher. Metab. Dis.* 1993;16, 691-703.
6. Luder A.S. et al. Transient Non Ketotic Hiperglicemia in Neonates. *J. Ped.* 1989, 114(6): 1013-15.
7. Schiffmann R., Transient Neonatal hiperglycinemia . *Ann. Neurol*, 1989, 25:201-3.

8. Kikuchi G. The glycine cleavage system: composition, reaction mechanism, and physiological significance. *Mol Cell Biochem.* 1973, 1: 169-187.
9. Tada K, Kure S. Non-ketotic Hyperglycinaemia. *J. Inher Metab. Dis.* 1993, 16:691-703.
10. Rajendra W. High performance liquid chromatography. Determination of amino acids in biological samples by precolumn derivatization with o-phthaldialdehyde. *J Liquid Chromatogr.* 1987, 10: 941-955.
11. Von Wendt L, Hirvasniemi A, Simila S. Nonketotic hyperglycinemia: a genetic study of 13 Finnish families. *Clin Genet* 1979, 15: 411-417.
12. Langan T.J, Pueschel S.M. Nonketotic hyperglycinemia: Clinical, Biochemical, and Therapeutic considerations. *Curr Probl. Pediatr.* 1983, 13:15.
13. Apostolidou. I, Papagarouflis C, Michelakakis.H, Stephanadis J, Xanthou M. Non Ketotic hyperglycinemia: a therapeutic approach. *J. Inher.Metab. Dis.* 1991: 835-36.
14. Scriver C.R, Gregory D.M, Sovetts D, Tissenbaum G. Normal plasma free amino acid values in adults: the influence of some comon physiological variables. *Metabolism*, 1985, 34:868-873.

15. Gerrits GPJM, Trijbels JMF, Monnens LAH, Gabreëls FJM, De Abreu RA, Theeuwes AGM, Van Raay-Selten B. Reference values for amino acids in cerebrospinal fluid of children determined with ion-exchange chromatography using fluorimetric detection. Clin Chim Acta 1989, 182: 271-280.
16. Ferraro TN, Hare TA. Free and conjugated amino acids in human CSF: influence of age and sex. Brain Res, 1985, 338: 53-60.
17. Heilblim DI, Evans HE, Glass L, Agbayani MM. Amino acid concentrations in cerebrospinal fluid. Arch Neurol, 1978,5: 765-768.
18. Hamilton.H.K. Sistema Nervioso Central. Diagnostico Clinico.1(ed). Manual Moderno Interamericana, 1985:837-42.
19. Segal M.B. Extracellular and Cerebrospinal Fluids. J. Inher. Metab. Dis. 1993, 16:617-638.
20. Segal M.B, Pollay M. The Secretion of Cerebrospinal Fluid. Exp. Eye. Res, 1977, 25:127-148.
21. Berman S. Crisis convulsivas. Pediatric Decision Making, 2(ed). Philadelphia, B.C Decker Inc, 1991:268-275.
22. Behrman R.E, Kliegman R.M, Nelson W.E. Crisis convulsivas .Tratado de Pediatría. 14 th ed. California, McGraw-Hill, 1992,(2),1814-22.

23. Cloherty J, Stack A. Neonatal Seizures, Kuban K(eds). Manual of Neonatal Care. 2d ed, Boston, Little Brown and Company, 1985: 293-303.
24. Ibarra I.C. Extracción y cuantificación por cromatografía de líquidos de aminoácidos en muestras de sangre total colectada en papel filtro. Tesis de Licenciatura, Mexico, 1995:10-11-18.
25. Pfeifer R F, Hill D W. High performance liquid chromatography of amino acids ion-exchange and reverse phase strategies. Advances in Chromatography 1985, 22: 37-70.
26. Parvy P, Bardet J, Rabier D, Madellec J, Kamoun P. A false hyperglycinaemia. Case report. J. Inher. Metab. Dis. 1991, 14:112.

## **ANEXO 1**

### **TECNICA DE CROMATOGRAFIA LIQUIDA DE ALTA RESOLUCION<sup>5,14</sup>**

#### **INSTRUMENTACION**

Cromatógrafo de líquidos Waters, constituido por un controlador automático de gradiente, modelo 680, con dos bombas 510, inyector U6K, e integrador modelo 740.

Detector de fluorescencia modelo 420, longitud de onda de excitación de 338 nm, longitud de onda de emisión 425 nm.

#### **I. Condiciones cromatográficas**

Columna: C-18 Nova-pack (Millipore), de 15 cm x 3.9 mm, tamaño de partícula de 4  $\mu\text{m}$ , esférica. El corrimiento cromatográfico se realiza a temperatura ambiente.

## II. Sistema de gradiente empleado:

Tiempo (min)	Disolventes	
	%A	%B
0	83	17
35	45	55
50	16	84

## III. Disolventes

A: Amortiguador de fosfatos 0.02 M, pH de 7, filtrado a través de membrana de Millipore de 0.45  $\mu$ M

B: 45% amortiguador de fosfatos 0.02M, pH de 7.0, 55% acetonitrilo (Baxter), filtrado a través de membrana de 0.22 $\mu$ m (Millipore).

OPA-Etanotiol: El reactivo contiene: 20mg de orto-ftaldehído (Sigma) y 10 $\mu$ l de etanotiol (Fisher) en 1 ml de metanol (Baxter).

## IV. Curvas de calibración

El análisis cuantitativo se realiza con el metodo de estándar interno, construyendo curvas de calibración de los siguientes aminoácidos: Glicina, arginina, taurina, ornitina, lisina, alanina, isoleucina, treonina, glutamina

aspártico (Sigma), valina, metionina, leucina, tirptofano (Merck), serina, glutámico (Calbiochem), y tirosins (Fisher), preparando diluciones entre 50 y 750  $\mu\text{M}$ . Como estándar interno se utiliza una disolución de fluroro-fenilalanina (Sigma) de concentración 20  $\mu\text{M}$ .

## **V. Procedimiento**

1. 50ml de LCR se mezclan con 1 ml de estándar interno.
2. Se centrifugan 5 minutos.
3. A 100  $\mu\text{l}$  de sobrenadante se le agregan 20  $\mu\text{l}$  de amortiguador de boratos y 20  $\mu\text{l}$  de derivatizante.
4. Se esperan 2 minutos, y se inyectan 5  $\mu\text{l}$  en el cromatógrafo.
5. Se obtiene el comatograma para su análisis posterior.

## DETERMINACION DE NIVELES DE GLICINA EN LIQUIDO CEFALORRAQUIDEO EN UNA MUESTRA DE NIÑOS MEXICANOS.

## I. FICHA DE IDENTIFICACION

1. Nombre: \_\_\_\_\_
2. Sexo: \_\_\_\_\_   
0 = Femenino 1 = Masculino
3. Edad (años y meses) \_\_\_\_\_
4. Registro en el I.N.P. \_\_\_\_\_
5. No. de Folio en Urgencias \_\_\_\_\_
6. Servicio \_\_\_\_\_   
0 = Urgencias 1 = Otro
- ¿Curó? \_\_\_\_\_

## II. MOTIVO DE LA PUNCION LUMBAR

7. Motivo de la Punción Lumbar (PL) \_\_\_\_\_    
0 = Crisis Convulsivas 1 = Sospecha de Neuroinfección  
3 = Capó 9 = Exclusivamente
8. Fecha de la toma de PL (dd/mm/aa) \_\_\_\_\_
9. Hora de la toma de la PL \_\_\_\_\_
10. Aspecto del LCR \_\_\_\_\_   
0 = Agua de roca 1 = Turbio 2 = Purulento  
3 = Hemático 4 = Otro
11. Película \_\_\_\_\_   
0 = Presente 1 = Ausente 9 = Se Ignora
12. Proteínas (mg%) \_\_\_\_\_
13. Glucosa en LCR (mg%) \_\_\_\_\_
14. Células (mm<sup>3</sup>) \_\_\_\_\_   
0 = Ausente 1 = Presente
- Especificar número: \_\_\_\_\_

15. Leucocitos \_\_\_\_\_    
0 = Ausentes 1 = PAN 2 = Linfoctos 9 = Exclusivamente
- Especifique %: \_\_\_\_\_
16. Tinción de Gram \_\_\_\_\_   
0 = Positiva 1 = Negativa 9 = Se Ignora
17. Crenocitos \_\_\_\_\_   
0 = Presente 1 = Ausente 9 = Se Ignora
- Especifique %: \_\_\_\_\_
18. Glucosa en Sangre (mg%) \_\_\_\_\_

## III. CRISIS CONVULSIVAS

19. Presencia de C.C. \_\_\_\_\_   
0 = si 1 = No 9 = Se Ignora
20. ¿Ha presentado C.C. en otra ocasión? \_\_\_\_\_   
0 = Si 1 = No 9 = Se Ignora
- ¿Cuándo? \_\_\_\_\_
21. Tipo de crisis convulsivas \_\_\_\_\_    
0 = Parciales 1 = Generalizadas 2 = Tónico 3 = Clónico  
4 = Tónico-clónico 5 = Miotónicas 9 = Otro 9 = Exclusivamente
- Especifique: \_\_\_\_\_
22. Causa de la C.C. \_\_\_\_\_   
0 = Fiebre 1 = Infección 2 = Otro 9 = Se Ignora
- Especifique: \_\_\_\_\_

## IV. MEDICAMENTOS ACTUALES

23. Anticonvulsivos \_\_\_\_\_    
0 = Ninguno 1 = Fenobarbital 2 = DFH 3 = Ac. Valproico  
4 = Otro 9 = Exclusivamente
- Especifique: \_\_\_\_\_
24. Antibióticos \_\_\_\_\_    
0 = Ninguno 1 = ampicilina 2 = AMK 3 = Penicilina 4 = Otro 9 = Exclusivamente
25. Otros medicamentos \_\_\_\_\_    
0 = Ninguno 1 = Analgésicos 2 = Antipiréticos 3 = Otros  
9 = Exclusivamente
- Especificar cuales: \_\_\_\_\_  
Nombre: \_\_\_\_\_ Dosis: \_\_\_\_\_ Fecha inicio: \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

Fecha de llenado: \_\_\_\_\_

Clave de la muestra \_\_\_\_\_

Observaciones: \_\_\_\_\_

FALLA DE ORIGEN