

00524  
85



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MEXICO**

**FACULTAD DE QUIMICA**

**"ANALISIS DE ACIDOS ORGANICOS PARA EL  
DIAGNOSTICO BIOQUIMICO DE ERRORES INNATOS  
DEL METABOLISMO".**

**T E S I S**  
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:  
QUIMICA FARMACEUTICA BIOLOGA  
P R E S E N T A :  
M I N A K O O H S O N G



**MEXICO, D. F.**



**EXAMENES PROFESIONALES  
FACULTAD DE QUIMICA**

**2003**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**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 esta 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.

**JURADO ASIGNADO:**

<b>Presidente</b>	<b>Reséndiz Vázquez Bertha</b>
<b>Vocal</b>	<b>Peniche Villalpando Laura</b>
<b>Secretario</b>	<b>Ibarra González Isabel Cristina</b>
<b>1er. Suplente</b>	<b>Bernal Lugo Irma Ofelia</b>
<b>2º. Suplente</b>	<b>Torres Maldonado Leda Carolina</b>

**Unidad de Genética de la Nutrición  
Instituto de Investigaciones Biomédicas, U.N.A.M.  
Instituto Nacional de Pediatría, S.S.**

**ASESORA DEL TEMA: Isabel Cristina Ibarra González**  
Firma: 

**SUSTENTANTE: Mina KooH Song**  
Firma: 

# ÍNDICE

	Página
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	01
<b>ACIDEMIAS ORGÁNICAS</b> .....	04
A. <i>Errores Innatos del Metabolismo del ácido propiónico</i> .....	05
A.1 Acidemia Propiónica.....	06
A.2 Acidemia Metilmalónica.....	07
B. <i>Aminoacidemia que presenta ácidos orgánicos característicos en la orina</i> .....	09
B.1 Tirosinemia tipo I.....	09
C. <i>Acidemias orgánicas en el metabolismo de aminoácidos ramificados</i> .....	10
C.1 Enfermedad de orina de jarabe de maple.....	10
C.2 Deficiencia de $\beta$ -cetotilasa.....	12
C.3 Acidemia 3-hidroxi-3-metilglutárica.....	13
<b>OBJETIVO</b> .....	15
<b>MATERIAL Y MÉTODOS</b> .....	15
<i>Pacientes</i> .....	15
<i>Técnica</i> .....	15
a) Tratamiento de la muestra.....	16
a.1 Extracción de ácidos orgánicos urinarios presentes en la muestra.....	16
a.2 Silanización.....	16
b) Inyección y características del equipo.....	17
<b>RESULTADOS</b> .....	18
<b>Casos Diagnosticados</b> .....	19
<b>DISCUSIÓN DE RESULTADOS</b> .....	37
<b>CONCLUSIONES</b> .....	41
<b>REFERENCIAS</b> .....	42

## INTRODUCCIÓN

En los organismos vivos las reacciones químicas están integradas en las diferentes vías metabólicas. Estas rutas bioquímicas incluyen a los procesos de transporte. Un defecto en la actividad de una enzima o de un proceso de transporte tendrá como resultado un bloqueo en el flujo de metabolitos por esta vía. Este tipo de defectos se les conoce como errores innatos del metabolismo (EIM) o como enfermedades metabólicas hereditarias. (1)

Las acidemias orgánicas constituyen la expresión de un grupo de enfermedades del metabolismo intermedio que resultan en la acumulación de ácidos orgánicos en líquidos biológicos, alteran el equilibrio ácido-base y trastornan las vías metabólicas intracelulares (2, 4, 5); están asociadas con la excreción urinaria de gran cantidad de ácidos orgánicos normales, o bien por la de ácidos orgánicos que habitualmente no están presentes en la orina. (2, 8), por lo que el análisis bioquímico constituye la base del diagnóstico de estas enfermedades.

La combinación de la cromatografía de gases con la espectrometría de masas (CGEM), era en sus primeros tiempos, un método usado únicamente en algunos centros especializados. Recientemente, se ha facilitado su manejo, por lo que ahora es ampliamente utilizado, con gran aplicación analítica en un número amplio de

áreas, entre las que se puede mencionar la geología, la química ambiental, la farmacología, la bioquímica y la toxicología (3).

La identificación de la acidemia isovalérica mediante CGEM, publicada por Tanaka en 1966, allanó el camino para la aplicación de esta técnica al estudio de las acidemias orgánicas (4). Los ácidos orgánicos comprenden un amplio grupo de compuestos, cuya bioquímica abarca varias áreas del metabolismo intermedio de carbohidratos, aminoácidos y ácidos grasos. El análisis de ácidos orgánicos urinarios permite el estudio de un gran número de intermediarios metabólicos, en forma no invasiva. Esto ha resultado en la identificación de un largo y creciente número de errores innatos del metabolismo manifestados por acidemias orgánicas. (3, 4, 5, 6)

La mayoría de estos padecimientos son autosómicos recesivos, y aunque la frecuencia de cada uno es baja, la del conjunto de ellos no lo es, por lo que constituyen una carga clínica significativa. La mortalidad ocasionada por estas enfermedades es muy alta, y en el caso de padecimientos no mortales, el daño provocado puede ser retraso mental y psicomotor muy grave. (9)

Si bien algunos de estos pacientes muestran consistentemente un patrón anormal de ácidos orgánicos urinarios, la interpretación se complica en otros enfermos por traslapes entre las anomalías encontradas en diferentes desórdenes primarios

del metabolismo de estos ácidos; además el tipo y cantidad de ellos en la orina puede verse profundamente afectada por medicamentos. Más aún, en algunas enfermedades hay una excreción anormal sólo de manera intermitente, usualmente durante algunas crisis inducidas por infecciones u otro estrés metabólico. (2, 10 Pollitt 1989)

En la mayoría de los casos, el diagnóstico definitivo de una acidemia orgánica puede ser llevado a cabo por el estudio del perfil de excreción urinaria de ácidos orgánicos por CGEM. Cuando la investigación diagnóstica, con las contribuciones del clínico y del laboratorio, no es concluyente, puede ser apoyada por pruebas de reto y por determinaciones enzimáticas. (9)

El análisis de ácidos orgánicos urinarios por CGEM se realiza a aquellos pacientes que presentan síntomas sugerentes de una enfermedad metabólica, tales como cetoacidosis, episodios crónicos neonatales o en la infancia, con manifestaciones neurológicas, cuando los padres son consanguíneos, y en general, cuando se tiene dificultades en el diagnóstico(11). También en aquellos pacientes que presentan ciertas aminoacidemias, puesto que varias de las acidemias orgánicas presentan un incremento en los niveles de aminoácidos (por ejemplo, enfermedad de orina de jarabe de maple).

## ACIDEMIAS ORGÁNICAS

En los últimos años se ha descubierto un gran número de acidemias orgánicas; el conocimiento de estos trastornos cada vez es más importante en pediatría y genética médica. En el presente, más de 60 de estas enfermedades se encuentran bien caracterizadas desde el punto de vista bioquímico, muchas de ellas clasificadas en subgrupos de trastornos en la función mitocondrial. Son uno de los grupos más frecuentes de errores innatos del metabolismo dentro de los pacientes de alto riesgo, especialmente en niños gravemente enfermos. Si éstas no se detectan a tiempo, los individuos afectados mueren o son discapacitados en forma severa. Su importancia no sólo se basa en su frecuencia relativamente alta, también tiene en cuenta la disponibilidad de tratamiento para muchos de estos pacientes. Sin embargo, a pesar de los nuevos métodos empleados para la detección precisa, por medio de análisis de ácidos orgánicos, acilcarnitinas y acilglicina utilizando cromatografía de gases con espectrometría de masas, espectrometría de masas en tándem con bombardeo de electrones, análisis de dilución de isótopos estables y los últimos métodos automatizados, computadorizados de detección e interpretación de ácidos orgánicos y perfiles de otros compuestos, la respuesta al tratamiento es parcial en la mayor parte de las acidemias orgánicas. Debido a esto se espera que los nuevos conocimientos de la patogénesis de las acidemias orgánicas llevarán al descubrimiento de nuevas estrategias terapéuticas para estas enfermedades. (15)



Los EIM de los ácidos orgánicos son muchos y variados en cuanto a su bioquímica, manifestaciones y severidad en sus cuadros. Por esta razón, a continuación, se describen sólo algunos de éstos de manera muy breve.

#### *A. Errores Innatos del Metabolismo del ácido propiónico:*

Los errores innatos del metabolismo del propionato son la acidemia propiónica, cuya incidencia es menor de 1 en 100,000, y la acidemia metilmalónica, con 1 en 50,000 (1). En estos pacientes la vía catabólica de propionil CoA está bloqueada, lo que provoca la acumulación de intermediarios acil-CoA potencialmente tóxicos. El incremento intramitocondrial de propionil-CoA causa efectos inhibitorios en algunas de sus funciones como por ejemplo inhibición de: citrato sintetasa, del complejo piruvato deshidrogenasa, de N-acetilglutamato sintetasa y del sistema de desdoblamiento de glicina. La terapia de estas enfermedades consiste en la restricción dietética de los aminoácidos precursores de propionil CoA: isoleucina, metionina, treonina y valina. En un tratamiento adecuado, la ingestión de los aminoácidos precursores debe ser suficiente para favorecer un crecimiento y desarrollo óptimos, pero no ir más allá del límite individual con objeto de minimizar la posibilidad de acumulación de concentraciones potencialmente tóxicas de intermediarios acil-CoA dentro de la mitocondria.

## A.1 Acidemia Propiónica

La acidemia propiónica (AP) es causada por la deficiencia de propionil-CoA carboxilasa (PCC) (ver figura 1), que es una enzima mitocondrial dependiente de biotina compuesta de subunidades  $\alpha$  (que unen a la biotina) y subunidades  $\beta$ .

La AP se caracteriza por que existen grandes concentraciones de propionato libre en sangre y orina. Este propionato libre puede estar ausente, en ese caso, el diagnóstico se basa en la presencia de múltiples ácidos orgánicos como subproductos, tales como el 3-hidroxi-propionato y metilcitrato. El primero se forma por la beta u omega oxidación de la propionil-CoA. El metilcitrato se produce por la condensación de la propionil-CoA con el oxaloacetato, el cual es catalizado por la enzima citrato sintasa (14). Durante episodios con cetosis, el ácido 3-hidroxi-isovalérico es formado por condensación de la propionil-CoA con la acetil-CoA, seguida por una reducción. Cuando existen niveles bajos de ácidos orgánicos derivados de una variedad de intermediarios de isoleucina, treonina y metionina, se pueden encontrar otros metabolitos como el 2-metil-3-hidroxi-butilirato, el 3-hidroxi-butilirato, la propionilglicina y la metilmalonato. Debido a una anomalía en el metabolismo de la biotina, la acumulación de la propionil-CoA también ocurre en la deficiencia múltiple de carboxilasas, resultado de una actividad deficiente de estas carboxilasas dependientes de biotina. (12,13)

Las manifestaciones de la AP son episodios con vómito, letargia y cetosis, neutropenia, trombocitopenia periódica, hipogamaglobulinemia, retraso psicomotor e intolerancia proteica. También se presenta hipoglicinemia e hiperglicinuria.

## A.2 Acidemia Metilmalónica

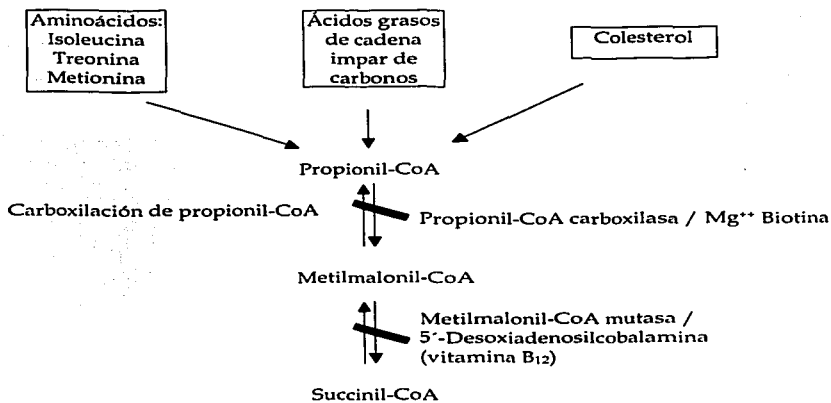
La acidemia metilmalónica (AMM) es causada por la deficiencia de metilmalonil-CoA mutasa (MCM) dependiente de vitamina B<sub>12</sub> (figura 1). Los defectos en el metabolismo de la cobalamina causan diversas variantes de AMM, por lo tanto, es un grupo heterogéneo tanto genética como fenotípicamente.

La deficiencia de MCM provoca una acumulación de metilmalonil-CoA, resultando gran elevación de ácido metilmalónico en plasma y orina. El ácido propiónico se acumula, así como metabolitos de la propionil-CoA, como el ácido 3-hidroxi propiónico, metilcitrato y ácido 3-hidroxi-isovalérico, también son usualmente encontrados en la orina. (12, 13)

La AMM es un desorden metabólico hereditario de forma autosómico recesivo, que cursa con episodios severos de acidosis y cetosis que pueden ser fatales. Las infecciones y la ingesta alta en proteínas pueden preceder a los episodios de acidosis. Si la acidosis no es tratada puede progresar a coma seguido de la muerte.

El cuadro clínico consiste en letargia, coma, retraso psicomotor, cuadriparesis espástica, distonía, crecimiento retardado, neutropenia, trombocitopenia, osteoporosis, fracturas. La ingesta alta de proteínas, valina e isoleucina acentúan las anomalías bioquímicas.

**Figura 1. Metabolismo del ácido propiónico**



*B. Aminoacidemia que presenta ácidos orgánicos característicos en la orina:*

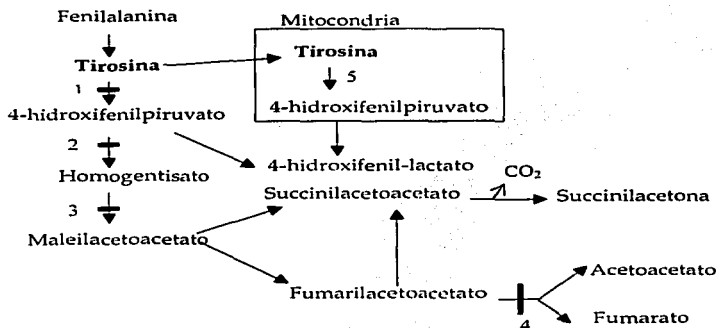
### B.1 Tirosinemia tipo I

La tirosinemia tipo I se debe a una deficiencia de fumarilacetoacetasa (figura 2). El bloqueo de esta enzima causa la acumulación de fumarilacetoacetato y posiblemente maleilacetoacetato; estos metabolitos son agentes alquilantes que se cree que causan un daño hepatorrenal. Son también precursores de succinilacetoacetato y succinilacetona, esta última se acumula en el plasma y orina de los pacientes. Otros intermediarios localizados entre la tirosina y el defecto enzimático se acumulan también, principalmente 4-hidroxifenilpiruvato y sus derivados, como el 4-hidroxifenil-lactato. (1, 12, 13)

El cuadro clínico que presentan los pacientes que tienen esta enfermedad es: hepatomegalia, cirrosis hepática, carcinoma hepatocelular, hipertrofia de los islotes pancreáticos, ascitis, vómito, diarrea, melena, pueden presentar irritabilidad, somnolencia progresiva, neuropatía periférica episódica, hipertonía, parálisis, anemia, olor peculiar, equimosis, fiebre, cardiomiopatía, episodios severos de dolor, debilidad muscular y edema.

El tipo de herencia que presenta esta enfermedad es autosómica recesiva.

**FIGURA 2. RUTA CATABÓLICA DE LA TIROSINA**



1. Tirosina aminotransferasa (deficiencia en la tirosinemia tipo II); 2. 4-hidroxifenilpiruvato dioxigenasa (deficiencia en la tirosinemia tipo III y hawkinsinuria); 3. homogentisato dioxigenasa (deficiencia en alcaptonuria); 4. fumarilacetoacetasa (deficiencia en tirosinemia tipo I). 5. Aspartato aminotransferasa

### *C. Acidemias orgánicas en el metabolismo de aminoácidos ramificados*

#### C.1 Enfermedad de orina de jarabe de maple

Esta enfermedad, de herencia autosómica recesiva, es causada por la deficiencia de la enzima deshidrogenasa de los cetoácidos de cadena ramificada (leucina, valina e isoleucina) (figura 3), por lo que también recibe el nombre de "cetonuria de cadenas ramificadas". Esta deficiencia enzimática mitocondrial normalmente convierte los alfacetoácidos de cadena ramificada en ésteres de acil-CoA. Dicho bloqueo metabólico tiene como consecuencia la acumulación de los aminoácidos de cadena ramificada como la leucina, isoleucina y valina y de sus cetoácidos respectivos:  $\alpha$ -2-cetoisocaproico,  $\alpha$ -2-ceto-3-metilvalérico y  $\alpha$ -2-cetoisovalérico, así como sus hidroxiaácidos correspondientes. Al parecer la acumulación de los ácidos 2-ceto e hidroxil de la leucina son los responsables del olor característico similar al de la miel de maple (arce); el cetoácido de la leucina se ha propuesto como el principal responsable del daño neurológico severo que presentan estos pacientes. La frecuencia estimada para esta enfermedad es de 1:100,000 a 1:300,000. (1)

Existen fenotipos clínicos variables de la enfermedad de orina de jarabe de maple. En el panorama general de esta enfermedad, los niveles de aminoácidos ramificados (leucina, isoleucina y valina) están sumamente elevados,

especialmente la isoleucina, en la sangre, líquido cefalorraquídeo y orina. Los neonatos afectados parecen normales al nacimiento, y los síntomas comienzan entre el cuarto y séptimo días de vida. Si están alimentados exclusivamente con seno materno, el inicio de los síntomas puede retrasarse hasta la segunda semana de vida (esto se debe a que la leche materna tiene menor contenido de aminoácidos ramificados que la mayoría de las fórmulas maternizadas). La letargia y la succión débil con poco interés por el alimento suelen ser los primeros síntomas. Posteriormente se presenta pérdida de peso y manifestaciones neurológicas caracterizadas por hipotonía e hipertonía alterantes y extensión distónica de los brazos; generalmente para este momento, tanto la cetosis como el olor característico a miel de maple, ya se encuentran presentes. Los pacientes pueden presentar hipoglucemia, y si no reciben tratamiento presentan crisis convulsivas y coma que conducen a la muerte. (1)

### C.2 Deficiencia de $\beta$ -cetotilasa

Bajo términos de “déficit de  $\beta$ -cetotilasa o 3-cetotilasa” se agrupa un conjunto heterogéneo de déficit enzimáticos tanto mitocondriales como citosólicos y peroxisomales. Aquí, sólo se mencionan las deficiencias que se hallan en el catabolismo de la isoleucina y de los cuerpos cetónicos: 1) acetoacetyl-CoA tiasa mitocondrial, que tiene por sustratos específicos el acetoacetyl-CoA y el 2-metil-acetoacetyl-CoA; 2) acetoacetyl-CoA tiasa citoplasmática, cuyo sustrato



específico es el acetoacetyl-CoA. De estas dos enzimas, solamente la primera se activa con potasio.

La presentación clínica es bastante heterogénea, aunque la característica fundamental son los episodios recurrentes de acidosis metabólica con cetosis, generalmente sin hipoglucemia, y en algunos casos con hiperglucemia. El primer episodio suele presentarse entre los 10 y 18 meses de edad (13)

La primera aproximación diagnóstica se realiza por el análisis de ácidos orgánicos en orina. Se encuentra un incremento de cuerpos cetónicos y metabolitos de isoleucina tales como el ácido 2-metilacetoacético, el 2-metil-3-hidroxi-butírico y tiglicina, aunque la excreción de estos últimos es muy variable.

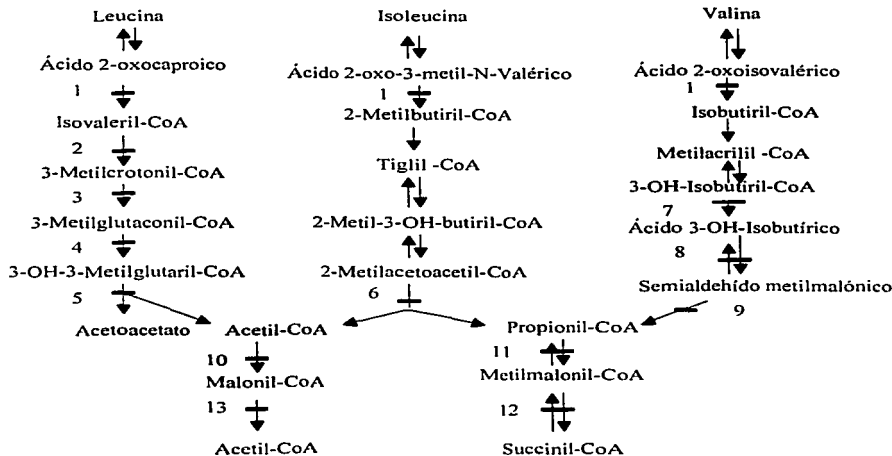
### C.3 acidemia 3-hidroxi-3-metilglutárica

Esta enfermedad se debe a la deficiencia de hidroximetilglutaril-CoA liasa y se caracteriza por una elevada excreción de los ácidos 3-hidroxi-isovalérico, 3-metilglutacónico y 3-metilglutárico.

Las manifestaciones clínicas de esta enfermedad son acidosis metabólica, hipoglucemia, sensibilidad dietética a leucina, deficiencia de carnitina, fiebre,

muerte temprana, somnolencia, coma, hepatomegalia, hiperamonemia. Esta acidemia orgánica se hereda de forma autosómica recesiva.

**FIGURA 3. Ruta catabólica de aminoácidos de cadena ramificada**



1. Cetoácido de cadena ramificada deshidrogenasa; 2. Isovaleril-coenzima A (CoA) deshidrogenasa; 3. 3-metilcrotonil-CoA carboxilasa; 4. 3-metilglutaconil-CoA hidratasa; 5. 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA liasa; 6. 2-metilacetoacetyl-CoA tiolasa; 7. 3-hidroxi-butiril-CoA deacilasa; 8. ácido 3-hidroxi-isobutírico deshidrogenasa; 9. metilmalonilsemialdehído deshidrogenasa; 10. acetil-CoA carboxilasa (en citosol), propionil-Co A carboxilasa (en mitocondria); 11. propionil-Co A carboxilasa; 12. metilmalonil-Co A mutasa; 13. malonil-Co A descarboxilasa

## **OBJETIVO**

Obtener el diagnóstico bioquímico de pacientes con sospecha de acidemias orgánicas mediante el estudio del perfil de ácidos orgánicos urinarios.

## **MATERIAL Y MÉTODOS**

### *Pacientes:*

Número de individuos: 227. Seleccionados durante el periodo de junio del año 2000 a junio del año 2001 con los siguientes criterios: cuando presentaban manifestaciones sugerentes de una acidemia orgánica específica, con hermanos con afecciones similares, con historia de episodios crónicos neonatales o en la infancia, con síndrome de muerte súbita o cuando los padres eran consanguíneos.

### *Técnica:*

La determinación de ácidos orgánicos en orina fue realizada mediante cromatografía de gases acoplada a espectrofotometría de masas (CGEM) después de la extracción de éstos.

## a) Tratamiento de muestras

### a.1 Extracción de ácidos orgánicos urinarios presentes en la muestra:

A la muestra (volumen necesario de orina para tener 0.06 mg de creatinina) se le agregó *orto* - (2,3,4,5,6-pentafluorobenzil) hidroxilamina hidrociorado ( $C_7H_4F_5NO \cdot HCl$ ) y 100  $\mu L$  de NaOH 3 N, se dejó que la reacción se llevara a cabo dejando reposar 30 minutos. Posteriormente, se agregó 100  $\mu L$  de HCl concentrado. El siguiente paso consistió en agregar una solución saturada de NaCl hasta obtener un volumen de 2 mL. Una vez agregado NaCl, se procedió a extraer a los ácidos orgánicos con 2 mL éter, se agitó vigorosamente durante 15 minutos y posteriormente se centrifugó a 2500 r.p.m. durante 10 minutos. Se dejó secar la fase orgánica en viales que contienen 100  $\mu L$  de NaOH/Metanol 0.05 M. Se llevó a sequedad. La fase acuosa se volvió a extraer con 2 mL de acetato de etilo realizándole el mismo tratamiento hasta llegar a evaporar a sequedad.

### a.2 Silanización:

Los derivados trimetilsilano se forman adicionando 100  $\mu L$  de N, O-bis-(trimetilsilil)-acetamida (BSTFA), y calentando las muestras durante 30 minutos a 60°C.

## b) Inyección y características del equipo

El perfil de ácidos orgánicos se obtuvo inyectando 1  $\mu\text{L}$  de cada muestra a un cromatógrafo de gases Hewlett-Packard modelo 5890, acoplado a un detector de masas Hewlett-Packard modelo 5971A. Se utilizó una columna de metilfenilsiloxano de 25 m, 25  $\mu\text{m}$  de espesor de película, 0.25 mm de diámetro. El programa de temperatura de la columna fue: temperatura inicial 40°C por 5 minutos, temperatura final 280°C por 2 minutos, velocidad de calentamiento 10°C por 1 minuto. La temperatura del inyector fue de 250°C, la de la línea de transferencia 280°C y el de la fuente 150°C. El tipo de inyección fue Splitless con un tiempo de encendido de la purga de 2 minutos. Se realizó monitoreo total de iones ("scan") en un intervalo  $m/z$  de 45 a 650.

## RESULTADOS

En el periodo de junio del 2000 a junio del 2001 se estudiaron 227 pacientes referidos a la Unidad de Genética de la Nutrición, en los cuales se encontraron 6 diferentes tipos de acidemias orgánicas en 10 pacientes con diagnóstico positivo (1 diagnóstico por cada 23 pacientes).

En la tabla 1 se muestran los diagnósticos realizados durante ese periodo.

ENFERMEDAD	Número de casos
Acidemia metilmalónica	5
Acidemia 3-hidroxi-3-metilglutárica	1
Acidemia propiónica	1
Enfermedad de orina de jarabe de maple	1
Deficiencia de $\beta$ -cetotilasa	1
Tirosinemia	1
T O T A L	10

Tabla 1. Errores innatos del metabolismo diagnosticados en la Unidad de Genética de la Nutrición del INP en el periodo de junio del 2000 a junio del 2001 y número de pacientes de cada uno de ellos

## **Casos diagnosticados:**

En el análisis del perfil urinario de ácidos orgánicos de los siguientes pacientes (caso 1 a 5) se encontró elevación del ácido metilmalónico, metabolito compatible con el diagnóstico de *Acidemia metilmalónica* (AMM Mac Kusick 251000).

### *Caso 1*

Paciente femenino con 2 meses de edad, con inicio del padecimiento a los 3 días de vida, es referida al I.N.P. por parte del Hospital Infantil de México con el siguiente cuadro clínico: crisis convulsivas, vómito, rechazo a alimentos, hepatomegalia, dificultad respiratoria y acidosis metabólica. (cromatograma 1).

A partir de su diagnóstico se le sometió a un tratamiento dietético. Sin embargo, este tratamiento no se ha seguido adecuadamente por problemas familiares, por lo que la paciente actualmente, presenta tercer grado de desnutrición y retraso psicomotor severo.

### *Caso 2*

Paciente masculino con 7 meses de edad con inicio del padecimiento a los 5 meses, ingresa al I.N.P. referido por del Hospital Infantil de México presentando las siguientes manifestaciones clínicas: taquipnea, vómito, anemia, leucopenia, acidosis y cetosis (cromatograma 2).

Inmediatamente después del diagnóstico se le dio un tratamiento con suplementos de vitamina B<sub>12</sub>, siendo su evolución favorable, sin necesidad de someterlo a un tratamiento dietético. El paciente no presenta retraso mental, encontrándose en un estado estable, con un incremento adecuado de peso y de talla.

### *Caso 3*

Paciente masculino de 8 meses de edad con inicio del padecimiento a los 3 días de vida, ingresa al I.N.P. referido por el Hospital Aranda de la Parra León Guanajuato con acidosis metabólica, padres consanguíneos. (cromatograma 3).

Actualmente el paciente está sometido a un tratamiento dietético con suplementos de vitamina B<sub>12</sub>. No presenta daño psicomotor y su evolución ha sido favorable.



#### *Caso 4*

Paciente femenino de 5 meses de edad ingresa al I.N.P. referido por el Hospital Aranda de la Parra León Guanajuato. La paciente presenta el siguiente cuadro clínico: rechazo al alimento, irritabilidad y acidosis metabólica (cromatograma 4).

A partir de que se le diagnosticó este error innato del metabolismo, la paciente se encuentra en tratamiento dietético. Tiene un retraso psicomotor leve. Su estado actual es bueno, teniendo un incremento adecuado de peso y de talla.

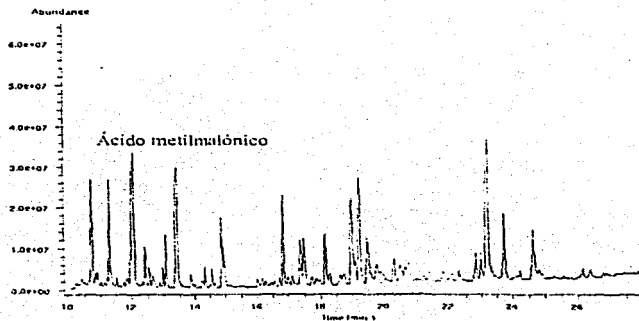
#### *Caso 5*

Paciente femenino de 3 años de edad ingresa al I.N.P. referido por el Hospital General de Durango, presentado el siguiente cuadro clínico: odinofagia, hiprexia, hipertermia, vómitos y acidosis metabólica. (cromatograma 5)

No se sabe del estado actual de la paciente.

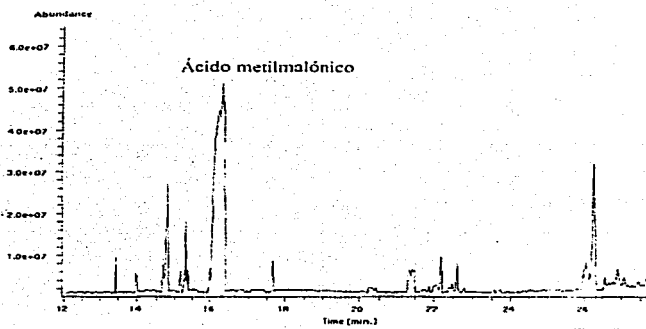
## Cromatogramas 1 a 5

### Cromatograma 1



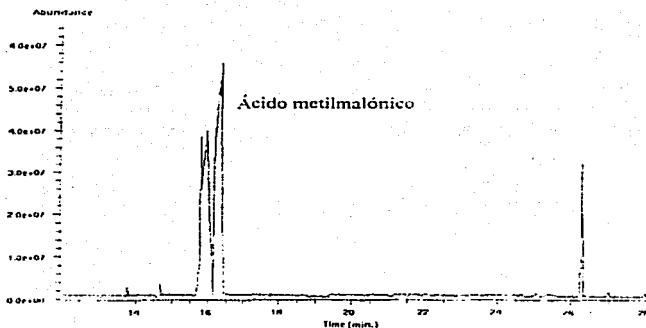
TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

## Cromatograma 2



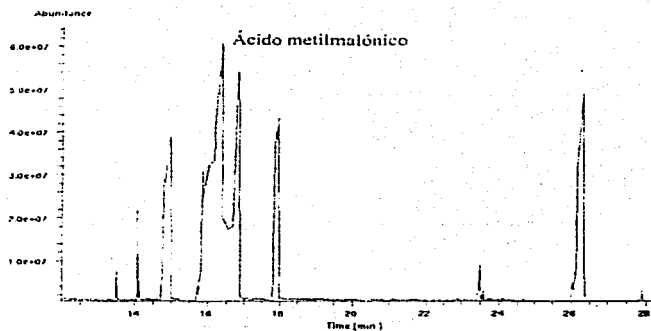
TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

### Cromatograma 3



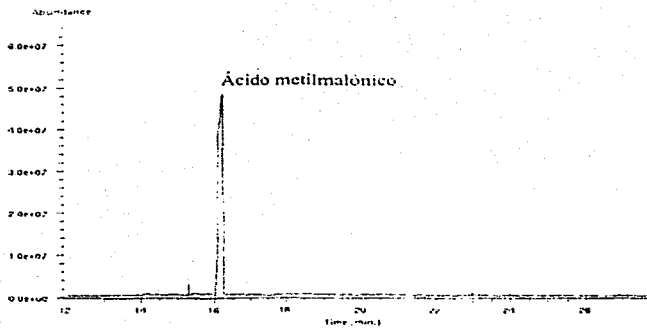
**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

## Cromatograma 4



TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

## Cromatograma 5



TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

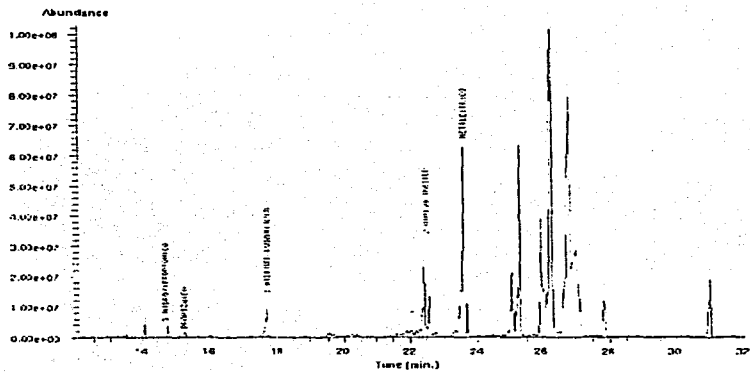
### Caso 6

Paciente femenino con 2 meses de edad con inicio del padecimiento a los 17 días de vida, es referida al I.N.P., con el siguiente cuadro clínico: vómito, rechazo a alimentos, espasticidad, hipotonía, anemia, leucopenia, trombocitopenia, hipoglucemia e hiperamonemia (cromatograma 6).

En la muestra del paciente se encontraron los siguientes metabolitos urinarios anormales 3-hidroxiisovalérico y metilcálcico característicos de *Acidemia propiónica* (AP Mac Kusick 232000).

Actualmente la paciente tiene la edad de 1 año 1 mes, el seguimiento se ha realizado a partir de su diagnóstico hasta la fecha, es sometida a un tratamiento dietético controlado. Presenta un retraso psicomotor moderado, ya que su respuesta psicomotora no es la adecuada a la de su edad (no camina). La paciente presenta episodios de desbalance metabólico, ocasionados por infecciones recurrentes que le provocan crisis metabólicas.

## Cromatograma 6



TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



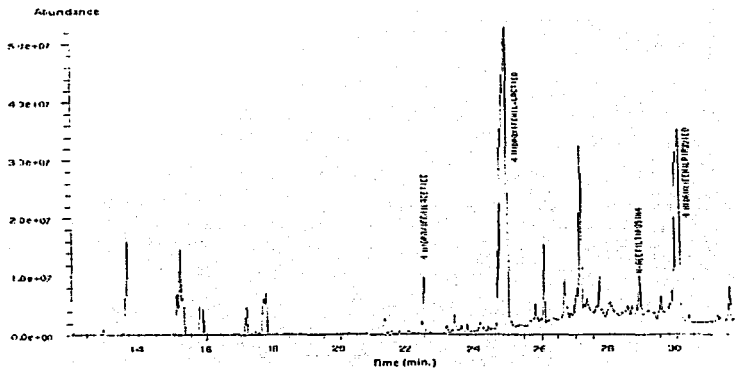
**Tirosinemia tipo I (Tir Mac Kusick 276700).** Este error innato del metabolismo es una aminoacidopatía que presenta un perfil anormal ácidos orgánicos urinarios caracterizado por elevación de los ácidos 4-hidroxifenil-láctico, 4-hidroxifenilpirúvico y presencia de succinilacetona, anomalías halladas en el siguiente paciente.

### *Caso 7*

Paciente masculino de 1 año 9 meses de edad referido al I.N.P. por parte del Hospital Infantil de México presentando hepatomegalia y anemia (cromatograma 7).

Este paciente se reporta como perdido.

## Cromatograma 7



TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

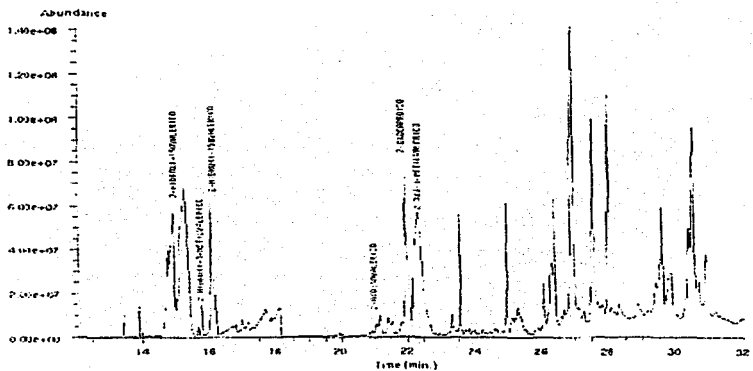
## Caso 8

Paciente masculino de 9 años con inicio del padecimiento a los 11 días de vida, enviado por el Centro de Rehabilitación Infantil Teletón (CRIT) al I.N.P. presenta el siguiente cuadro clínico: retraso psicomotor, cuadriparesia espástica, hiperreflexia y olor evidente. Se le realizó un tamiz metabólico ampliado en el Hospital "La Raza", obteniéndose alfacetoácidos positivos (++++), aminoácidos en orina, discreta elevación de leucina e isoleucina; así como T.G.O. y T.G.P. elevados y colesterol bajo. Sus antecedentes heredofamiliares indican que tuvo un gemelo, el cual falleció a los 7 años de edad. Sus antecedentes personales indican que desde los 11 días de vida comenzó con el padecimiento actual, con hiporexia, cardiopatía congénita y a los 6 meses desarrolló retraso neurológico

El perfil urinario de este paciente está caracterizado por elevación de los ácidos 2-hidroxi-isovalérico, 2-oxoisocaproico, 2-oxoisovalérico y 2-oxo-3-metilvalérico indicadores de *Enfermedad de Orina de Jarabe de Maple* (EOJM Mac Kusick 248600 (cromatograma 8).

El paciente presenta un retraso mental severo y es tratado en el CRIT, sin un seguimiento periódico en el INP, sólo se sabe que se encuentra en tratamiento dietético específico libre de los aminoácidos leucina, isoleucina y valina.

## Cromatograma 8



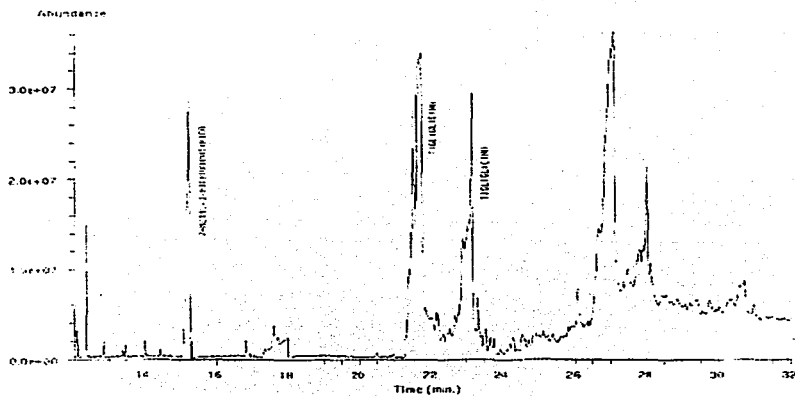
TESIS CON  
FALA DE ORIGEN

### Caso 9

Paciente femenino originaria de Morelia Michoacán con 3 años 7 meses, con edad de inicio del padecimiento a los 8 meses, es remitido al I.N.P. con hiperventilación, acidosis, cetosis, insuficiencia renal. El estudio de ácidos orgánicos urinarios revela una elevación del ácido 2-metil-3-hidroxiisovalérico y de tiglicina (ver cromatograma 6); este perfil es característico del error innato del metabolismo denominado *Deficiencia de  $\beta$ -cetotilasa* (Mac Kusick 143450), defecto mitocondrial en la ruta metabólica de isoleucina.

A partir de este diagnóstico se le recomendó al médico que lleva el caso de esta paciente, que sometiera a su paciente a un tratamiento dietético según las indicaciones de las nutriólogas del I.N.P. No se tiene conocimiento acerca de la evolución de este paciente

## Cromatograma 9



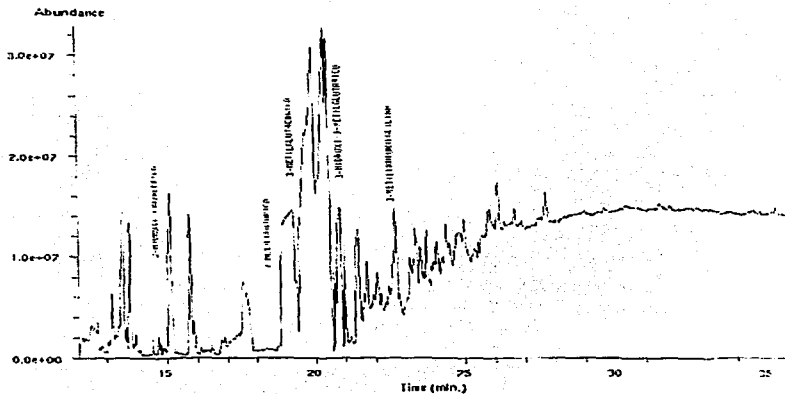
TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

### Caso 10

Paciente femenino con 5 meses de edad se presenta al I.N.P. con las siguientes manifestaciones clínicas: hipotonía, acidosis metabólica, hipoglucemia y taquicardia. A partir de los 3 meses de edad empezó con vómito, decaimiento e hipoglucemia, por lo que requiere hospitalización, tiene antecedentes de una hermana fallecida con afección similar. Se realiza un perfil urinario de ácidos orgánicos encontrándose la elevación de los ácidos 3-hidroxi-3-metilglutárico, 3-metilglutárico, 3-metilglutacónico, 3-hidroxi-isovalérico y 3-metilcrotonilglicina (cromatograma 10), dando como resultado un diagnóstico positivo para el error innato del metabolismo denominado *acidemia 3-hidroxi-3-metil-glutárica* (Mac Kusick 246450-3).

A partir del diagnóstico realizado, la paciente se sometió a un tratamiento dietético específico libre de leucina. Su estado actual es estable, presentando únicamente infecciones recurrentes. No presenta retraso mental y su evolución al tratamiento ha resultado favorable.

# Cromatograma 10



TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



## DISCUSIÓN DE RESULTADOS

En el presente trabajo se estudiaron 227 pacientes, obteniéndose un diagnóstico positivo en 10 de ellos, es decir, 1 diagnóstico por cada 23 pacientes estudiados. Comparando la proporción de diagnósticos positivos con respecto a los pacientes estudiados durante el período de enero de 1995 a mayo de 2000 de 1 en 17, podemos observar que existe una mayor eficiencia diagnóstica en este último periodo, esto probablemente sea debido a que durante ese periodo existieron pacientes con signos clínicos más específicos de cada enfermedad, por lo que el porcentaje de diagnóstico fue más elevado(16). Esta observación es apoyada por el número total de pacientes estudiados, en el período de enero de 1995 a mayo de 2000 se analizaron un total de 557, un promedio de 93 por año, en tanto que en el transcurso del presente estudio el número total de pacientes fue de 227 casi 2.5 veces mayor.

Especialmente en las formas neonatales, el repertorio de síntomas es limitado y a menudo coincide con el de los padecimientos más frecuentes (como sepsis); por lo tanto, la inespecificidad clínica constituye uno de los problemas con los que hay que enfrentarse. Por un lado, existe el peligro de que estas enfermedades pasen clínicamente desapercibidas como tales, y por otro el de una sospecha clínica excesiva que conduciría a una sobresaturación del laboratorio. (16)

Durante el presente estudio se encontraron 6 diferentes tipos de acidemias orgánicas, dentro de las cuales la acidemia 3-hidroxi-3-metilglutárica fue diagnosticada por primera vez. Con respecto a las otras enfermedades ya se tenía experiencia con diagnósticos previamente realizados. (Tabla 2)

Enfermedad	Número de casos	Número de casos
	01/1995-05/2000	06/2000-06/2001
Acidemia metilmalónica	7	5
Acidemia propiónica	5	1
Tirosinemia tipo I	5	1
Enfermedad de Canavan	5	-
Deficiencia de $\beta$ cetotilasa	3	1
Deficiencia aislada de 3-metilcrotonil-CoA carboxilasa	2	-
Acidemia isovalérica	1	-
Alcaptonuria	2	-
Acidemia glutárica tipo II	1	-
Deficiencia múltiple de carboxilasas	1	-
Acidemia 3-hidroxi-3-metilglutárica	-	1
<b>TOTAL</b>	<b>32</b>	<b>9</b>

Tabla 2. acidemias orgánicas diagnosticadas y número de pacientes de cada una de ellas.

La acidemia metilmalónica fue la enfermedad más frecuentemente diagnosticada (50%), la frecuencia de los diagnósticos realizados se muestra en la tabla 3. En ella podemos observar la comparación de estas en los primeros seis años de diagnóstico en la UGN y durante el presente trabajo, en ambos periodos ocupa el lugar de la más frecuente la AMM lo cual suele observarse en la literatura.

Enfermedad	Frecuencia %	Frecuencia %
	01/1995-05/2000	06/2000-06/2001
Acidemia metilmalónica	21.8	50.0
Acidemia propiónica	15.6	10.0
Tirosinemia tipo I	15.6	10.0
Deficiencia de $\beta$ cetotilasa	9.4	10.0
Acidemia 3 hidroxí-3-metilglutárica	0	10.0

Tabla 3 Comparación diagnóstica de las acidemias orgánicas diagnosticadas durante 6 años en la UGN y durante el periodo de junio del 2000 a junio del 2001

Se realizó un diagnóstico de Enfermedad de Orina de Jarabe de Maple, esta es una aminoacidopatía que normalmente es diagnosticada mediante la cuantificación de aminoácidos en muestras de plasma, pero en este caso el líquido biológico del cual se disponía era orina y en ésta también se pueden observar metabolitos característicos (14).

En los pacientes con diagnóstico positivo encontramos 5 femeninos y 5 masculinos, lo cual difiere con respecto a la experiencia anterior en la UGN donde se tiene 1 paciente masculino por 2 pacientes femeninas. En 7 de nuestros pacientes el inicio del padecimiento fue en el primer año de vida y en cuatro de ellos fue presentación neonatal. Únicamente en una familia había consanguinidad. Acidosis metabólica fue el síntoma predominante presente en 7, seguido por vómito en 6 de ellos y rechazo de alimentos y anemia en tres. El intervalo de edad a la cual fueron referidos al laboratorio y diagnosticados fue de 2 meses a 3 años 7 meses.

Desafortunadamente varios de los pacientes con acidemias fueron detectados tarde, cuando ya había ocurrido algún daño severo e irreversible, sin embargo, la identificación de estos pacientes, ha resultado en que se han beneficiado de las medidas terapéuticas disponibles para estas enfermedades. Además de que en estos casos las alternativas de prevención son importantes para la familia.

Cabe destacar que tres de estos pacientes tienen un desarrollo normal siguiendo dichas medidas terapéuticas.

En cuanto a las AMM diagnosticadas, podemos observar la heterogeneidad clínica y bioquímica que presentan estos pacientes.

El paciente del caso 1 que fue el que tenía el cuadro clínico más grave fue en el que se encontró la mayor elevación de ácido metilmalónico, teniéndose que diluir la muestra 4 veces para obtener el cromatograma 1, cabe mencionar que es una forma neonatal y estas suelen ser mucho más severas.

En el caso del paciente del caso 2, este respondió favorablemente a la administración de vitamina B12, lo que sugiere que la AMM es una variante causada por un defecto en el metabolismo del cofactor, esto es apoyado por la presencia de concentraciones elevadas de homocistinuria en cuyo metabolismo también actúa esta vitamina como cofactor. (14)

## **CONCLUSIONES**

El análisis de ácidos orgánicos es una herramienta esencial para el diagnóstico de acidemias orgánicas, llevado a cabo en centros de referencia y realizado en los pacientes de riesgo.

El diagnóstico temprano de los pacientes con acidemias orgánicas es sumamente importante, ya que si éste es de forma tardía pueden ocurrir daños muy graves e irreversibles.

El diagnóstico facilita el acceso al consejo genético a los padres. Asimismo un resultado negativo es importante para el clínico, porque puede ser excluida la correspondiente enfermedad metabólica.

El estudio de metabolitos proporciona a menudo un diagnóstico específico. En otros casos permite únicamente establecer una hipótesis que se deberá verificar o completar mediante otras investigaciones.

## REFERENCIAS

1. Vela, M. et al. (1998) Guía para el diagnóstico de los errores innatos del metabolismo. Intersistemas, S.A. de C.V. México.
2. Ozand PT, Gascon GG. 1991 Organic acidurias: a review. Part I. J Child Neurol 6: 196-214.
3. Sweetman L. (1991) Organic acids analysis. In: Hommes FA ed. Techniques in diagnostic human biochemical genetics. Wiley-Liss, New York pp 143-176.
4. Ozand PT, Gascon GG. 1991 Organic acidurias: a review. Part I. J Child Neurol 6: 196-214.
5. Cardinale GJ, Dreyfus PM, Auld P Abeles, RH 1969 Experimental vitamin B12 deficiency: Its effects on tissue vitamin B12-coenzyme levels and on the metabolism of methylmalonyl-Coa. Arch Biochem Biophys 131:92-99
6. Tanaka K, West-Dull A, Hine DG, Lynn TB, Lowe T. 1980 Gas-chromatography method of analysis for urinary organic acids. II.

Description of the procedure, and its applications to diagnosis of patients with organic acidurias. *Clin Chem*. 26(13):1847-53

7. Meier-Augenstein W, Hoffmann GF, Holmes B, Nyhan WL, Sweetman L. 1993 Use of thick-film capillary column for the analysis of organic acids in body fluids. *J Chromatogr B* 615:127-135
8. Cardinale GJ, Dreyfus PM, Auld P Abeles, RH 1969 Experimental vitamin B<sub>12</sub> deficiency: Its effects on tissue vitamin B<sub>12</sub>-coenzyme levels and on the metabolism of methylmalonyl-Coa. *Arch Biochem Biophys* 131:92-99
9. Stabler SP, Marcell PD, Podell ER, Allen RH, Lindenbaum J 1986 Assay of methylmalonic acids in the serum of patients with cobalamin deficiency using capillary gas chromatography-mass spectrometry. *J Clin Invest* 77:1606-1612
10. Stanley CA 1995 Disorders of Fatty Acid Oxidation In: Fernandes J. Saudubray JM, Van den Berghe eds. *Inborn Metabolic Diseases Diagnosis and treatment* Springer, Berlin, pp 133-143

11. Gompertz D, Storrs CN, Bau DCK, Peters TJ, Hughes EA. 1970 Localization of enzyme defect in propionic acidemia. *Lancet* 1:1140
12. Ogier, H Charpentier C, Saudubray M. 1990 Organic acidemias. In: Fernandes J, Saudubray JM, Tada K eds. *Inborn metabolic diseases: diagnosis and treatment* Berlin: Springer:276-278.
13. Fernandes, J, et al. (2000) *Inborn metabolic diseases. Diagnosis and Treatment*. Springer. 3<sup>rd</sup> Edition. Germany.
14. Scriver, Ch. R. et al. (2001) *The metabolic and molecular bases of inherited diseases*. Mac Graw Hill – Medical Publishing Division. 8<sup>th</sup> Edition. U.S.A. Chapter 93.
15. *Memorias del Congreso Latinoamericano de Errores Innatos del Metabolismo y Pesquisa Neonatal (2001)*. III Encuentro Internacional en Screening Neonatal. Octubre 21-21 del 2001. Cartagena-Colombia. Instituto de Errores Innatos del Metabolismo.



16. Del Cromosoma al Gen. Las anomalías cromosómicas y las enfermedades metabólicas hereditarias: dos modelos paradigmáticos de enfermedad genética. Instituto Bioquímica Clínica. Barcelona. Segunda Parte (Capítulo 8).

17. Velásquez, A. et al. (1999) *Diagnosis of Inborn Errors of Metabolism*. Archives Medical Research 31 (2000) 145-150.