



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO**

FACULTAD DE QUÍMICA

**CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS Y DE
LABORATORIO EN PACIENTES CON
DEFECTOS DEL CICLO DE LA UREA EN UN
HOSPITAL DE TERCER NIVEL**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

QUIMÍCA FARMACÉUTICA BIÓLOGA

PRESENTA:

SANDRA LUZ CARRILLO CAMACHO



MÉXICO, D.F.

2010



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 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:

PRESIDENTE: Profesor: RAUL GENARO AGUILAR CABALLERO

VOCAL: Profesor: JESUS FERNANDO MONTIEL AGUIRRE

SECRETARIO: Profesor: ISABEL IBARRA GONZALEZ

1er. SUPLENTE: Profesor: ELPIDIO GARCÍA RAMIREZ

2° SUPLENTE: Profesor: LEON PATRICIO MÁRTINEZ CASTILLA

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

INSTITUTO NACIONAL DE PEDIATRIA

ASESOR DEL TEMA: ISABEL IBARRA GONZALEZ

SUSTENTANTE: SANDRA LUZ CARRILLO CAMACHO

Agradecimientos

A mi mami:

Querida Pau, gracias por ser la razón de mi vida, por apoyarme en los momentos más difíciles que he tenido a lo largo de este tiempo, por perdonar todos mis errores y confiar en mí a pesar de ellos, gracias por ser mi madre y por ser quien eres, gracias por existir, gracias por quedarte a mi lado y por enseñarme a luchar con las cosas que la vida te pone en el camino y sobre todo gracias por amarme como me amas, pues eso me da fuerza para seguir adelante. Que no te quede duda que cada uno de mis logros son por ti y para ti, pues es la única manera que encuentro de pagarte todo lo que me has dado. Te amo.

A mi tía chela:

Tía a ti tengo que agradecerte por entender mi parte humana, por ser mi amiga, mi cómplice en cada momento y por ser mi segunda madre. Te amo a ti y a los cachorros.

A mi familia:

(De forma especial a Vicente, Pedro, Alfonso, Irma, Mari y Magda)

Gracias a todos y cada uno de los integrantes de mi enorme familia por estar siempre a mi lado, gracias por apoyarme de forma incondicional, por confiar en mí, y por enseñarme que la unión es el mejor fruto que nos da la familia ojala que compartir este momento les devuelva un poco de todas las alegrías que ustedes me han brindado.

A mis amigas:

Niñas esta por demás decirles todo el bien que me hizo conocerlas gracias por estar a mi lado y haber hecho mi estancia en la universidad la mejor etapa de mi vida gracias por su amistad.

A la UNAM:

Gracias por brindarme la oportunidad de ser universitaria, ha sido una experiencia enriquecedora y maravillosa.

Gracias a todos los que me rodearon en el transcurso de esta parte de mi vida.

A Dios:

**Por ser siempre mi fiel compañero y darme la fuerza y vitalidad que siempre me ha dado Traten a los demás como ustedes quisieran ser tratados.
Jesús de Nazaret**

Índice

Resumen	1
Introducción	4
1.- Errores innatos del metabolismo	4
1.1 Clasificación de los EIM	5
1.2 Herencia de los EIM	7
1.3 Sintomatología clínica	7
1.4 Diagnóstico	9
1.5 Tratamiento	10
2.- Ciclo de la Urea	12
2.1 Características de las enzimas del ciclo de la urea	17
3.- Defectos del ciclo de la urea	18
3.1 Definición y conceptos generales	18
3.2 Herencia de los DCU	19
3.3 Clínica	21
3.3.1 Formas de presentación clínica	22
3.4 Diagnostico	24
3.4.1 Diagnostico diferencial	25
3.4.2 Diagnostico prenatal	34
3.5 Tratamiento	35
3.5.1 Dieta baja en proteínas	37
3.5.2 Vías alternas para la eliminación de Nitrógeno	38
3.5.3 Nutrimentos	40

3.5.4 Medicamentos extra	41
3.6 Mortalidad	41
Objetivo	42
Material y Métodos	42
Población de estudio	47
Resultados	49
Discusión	55
Conclusiones	61
Bibliografía	63

Resumen.

Los defectos del ciclo de la urea (DCU) son errores innatos del metabolismo hepático que derivan de una anomalía, cualitativa o cuantitativa en una de las seis enzimas que participan en la síntesis de la urea (N- acetilglutamato sintetasa, NAGS; carbamil fosfato sintetasa-1, CPS1; Ornitin transcarbamilasa, OTC, Argininosuccinato sintetasa, ASS; argininosuccinato liasa, ASL; arginasa ARG1); esto da lugar a una acumulación de amonio en sangre y cerebro, que trae como consecuencia una alta mortalidad y discapacidad en el neurodesarrollo del paciente.

Los criterios bioquímicos para el diagnóstico diferencial son establecidos por el perfil de aminoácidos y niveles de amonio plasmáticos, así como la cuantificación de ácido orótico en orina durante la fase aguda de la enfermedad.

El enfoque inicial que debe darse a un paciente con DCU, se centra en la disminución de los niveles amonio, reduciendo la producción de residuos nitrogenados, disminuyendo la ingesta de proteínas en la dieta y previniendo el catabolismo endógeno, dotando al paciente de una nutrición adecuada.

En base a lo anterior se planteó como objetivo reportar las características clínicas y de laboratorio de pacientes con DCU de un hospital de tercer nivel de atención en un país en desarrollo.

Para ello se utilizó análisis retrospectivo de datos clínicos y de laboratorio de pacientes que presentan algún defecto del ciclo de la urea durante el periodo de 1991 a 2008.

Se obtuvieron los siguientes resultados 37 pacientes con DCU fueron estudiados, 31 pacientes sintomáticos (15 con presentación neonatal, 16 con presentación tardía de la enfermedad) y 6 con tamiz neonatal positivo. La deficiencia de ASS fue la enfermedad que presentó mayor frecuencia (17/37, 46%), seguida de la deficiencia de OTC (10/37, 27%), deficiencia de ARG1 (7/37,19%) y deficiencia de ASL (3/37, 8%).

La mortalidad de los pacientes sintomáticos fue del 38% (10/26) y los pacientes con la forma de presentación neonatal tuvieron la peor evolución con el 50% de sobrevivientes.

Los infantes fueron tratados en diferentes formas en términos de nutrición y no todos ellos recibieron dietas elaboradas por nutriólogos profesionales.

En base a los resultados obtenidos podemos concluir que en México, la mortalidad de los pacientes con DCU es más alta que la reportada en otros países y las secuelas neurológicas son frecuentes y severas. Estos datos son esenciales para implementar guías de práctica clínica para los profesionales de la salud que tienen en sus manos el manejo de estos pacientes.

Introducción.

1.- Errores Innatos del Metabolismo (EIM).

Los errores innatos del metabolismo (EIM) son causados por mutaciones del ADN que originan una modificación en la estructura de las proteínas y por tanto, la alteración de su función. ^(1, 2)

Cuando la mutación incide sobre algunos aminoácidos que ocupan en la secuencia un lugar clave para una disposición estéricamente activa de la proteína, la capacidad funcional de la misma puede disminuirse e incluso llegar a ser nula (Fig. 1).

Si la mutación o cualquier otro tipo de alteración del ADN afecta o anula la capacidad funcional de la proteína, se producirá una alteración del fenotipo metabólico y se manifestará entonces la enfermedad. ⁽³⁾

Estos trastornos bioquímicos, cuando afectan a proteínas vitales, pueden dar lugar a desequilibrios químicos importantes en el organismo, incluyendo el sistema nervioso, llevando a un deterioro gradual del sujeto o provocar crisis repentinas que concluyan en la muerte del paciente. ⁽²⁾

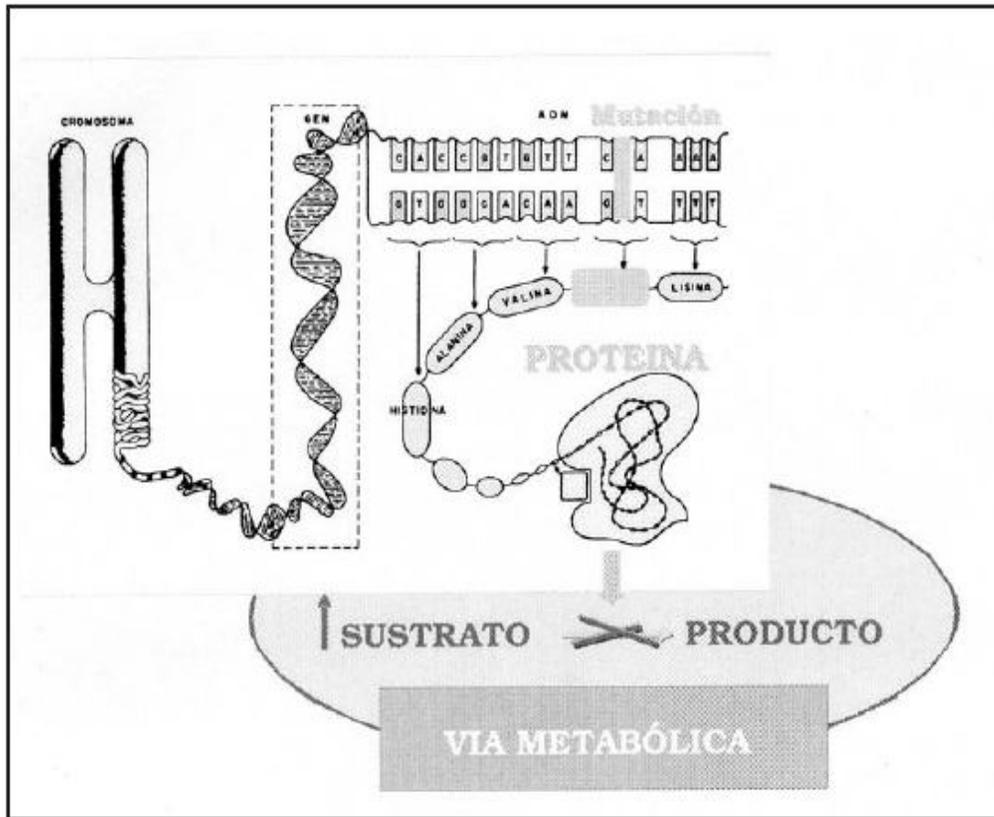


Figura 1. Origen de los Errores Innatos del Metabolismo

1.1 Clasificación de los EIM. ^(3,4)

Una de las principales características de los EIM, es que se presentan con extrema diversidad, hecho que nos lleva a encontrar diferentes sistemas informales de clasificación; en este trabajo se describe el más común y adecuado para la descripción del tema a tratar (Tabla 1).

Tabla 1. Clasificación de los EIM. ⁽¹²⁾

Grupo I	<ul style="list-style-type: none"> Trastornos neurológicos tipo intoxicación con cetosis, sin acidosis, sin deshidratación: enfermedad orina de jarabe de arce.
Grupo II	<ul style="list-style-type: none"> Cuadro neurológico con cetoacidosis e hiperamoniemia: acidemias orgánicas más frecuentes (MMA, PA, IVA, MCD). Con acidosis, sin cetosis y generalmente con hipoglucemia: acidemias orgánicas menos frecuentes: (aciduria glutárica tipo II, déficit de múltiple acil-CoA deshidrogenasa, déficit de 3-hidroxi-3-metilglutarial-CoA liasa). Cuadro neurológico tipo déficit energético, con síntomas hepáticos y/o cardíacos, acidosis, ↑ ác. láctico, hiperamoniemia: algunos defectos de la oxidación de los ácidos grasos y de la cetogénesis.
Grupo III	<ul style="list-style-type: none"> Cuadro neurológico tipo déficit energético con acidosis láctica, amonio normal o ligeramente elevado, generalmente cetosis: acidosis láctica congénita (déficit de piruvato carboxilasa, piruvato deshidrogenasa, ciclo de Krebs, cadena respiratoria), deficiencia múltiple de carboxilasas.
Grupo IV	<ol style="list-style-type: none"> Afectación neurológica tipo intoxicación con hiperamoniemia y sin cetoacidosis: defectos del ciclo de la urea, algunos defectos de la β oxidación, hiperamoniemia transitoria del RN. Déficit neurológico tipo déficit energético sin cetoacidosis y sin hiperamoniemia: hiperglicinemia no cetósica, déficit de sulfito oxidasa, defectos peroxisomales, algunos trastornos de cadena respiratoria mitocondrial y defectos de oxidación de ácidos grasos. Con manifestaciones de enfermedad de depósito: enfermedades lisosomales.
Grupo V	<p>Afectación hepática</p> <ul style="list-style-type: none"> Hepatomegalia, hipoglucemia, acidosis, ↑ ác. láctico: glucogenosis tipos I, III, déficit de fructosa difosfa. Hepatomegalia, ↑ ác. láctico, normo o hipoglucemia, cetoacidosis moderada o ausente: fructosemia, galactosemia, tirosinemia tipo I, déficit de cadena respiratoria. Hepatomegalia, ictericia colestásica, sin cetoacidosis, lactato y glucosa normal: déficit de α1-antitripsina, enf. peroxisomales, trastornos del metabolismo de los ácidos biliares. Hepatosplenomegalia, signos de depósito: enfermedades de depósito (mucopolisacaridosis).

1.2 Herencia de los EIM.

El modo de herencia en la mayoría de estas enfermedades (aproximadamente el 98 %) es de carácter autosómico recesivo, sin embargo también ocurre de manera autosómico dominante o ligado al cromosoma X ⁽⁵⁾.

1.3 Sintomatología Clínica.

Generalmente se trata de un recién nacido a término sano que tras unas horas o días de ingesta de alimentos y aparente normalidad comienza a deteriorarse sin causa aparente y no responde al tratamiento sintomático. ^(6,7) Pueden manifestarse como síntomas aislados o diferentes combinaciones que impliquen a diferentes órganos. En la TABLA 2 se intentan resumir las principales manifestaciones clínicas, acompañadas de algunos ejemplos representativos. ^(8, 9,10)

Tabla 2.- Consecuencias clínicas de los EIM. (8, 9, 10)

Sistema afectado	Enfermedades involucradas
Afecciones sistémicas 1.- Manifestaciones de hipoglicemia, acidosis láctica, hiperamonemia. 3.- Cuadros de presentación periódica	Acidemias orgánicas, defectos del ciclo de la urea y del metabolismo del glucógeno.
Sistema Nervioso 1.- Retraso psicomotor 2.- Convulsiones, ataxia, parálisis, alteraciones en tono muscular, letargo y comas. 3.- Ceguera, catarata, luxación del cristalino, cristales en córnea.	Fenilcetonuria, Tay- Sachs, galactosemia, homocistinuria, cistinosis, mucopolisacaridosis, acidemias orgánicas, deficiencia de β - metilcrotonil-CoA carboxilasa, Porfiria.
Sistema Músculo – Esquelético 1.- Músculo: miopatías mitocondriales. 2.- Esqueleto: raquitismo hipofosfatémico , deformaciones óseas	Enfermedad de McArdle, homocistinuria, mucopolisacaridosis
Sangre y aparato cardiovascular 1.- Anemia 2.- Cardiomegalia, insuficiencia cardiaca 3.- Arteriosclerosis y enfermedad coronaria	Deficiencias en enzimas glicolíticas y de la vía de pentosas en eritrocito, homocistinuria
Riñón 1.- Litiasis 2.- Insuficiencia renal 3.- Tubulopatías	Enfermedad de Fabry, tirosinemia tipo I, síndrome de Fanconi, enfermedad de Hartnup, cistinuria, síndrome de Lesch-Nyhan
Aparato digestivo 1.- Dolor abdominal y síntomas gastrointestinales 2.- Vómitos que simulan estenosis pilórica 3.- Diarrea y mala absorción intestinal 4.- Hepatopatía y visceromegalia	Porfiria intermitente aguda, acidemias orgánicas, deficiencia de disacaridasas, tirosinemia tipo I, intolerancia a la fructuosa, enfermedad de Wilson, enfermedad de Gaucher.
Dismorfias 1.- Fases tosca 2.-Mamilas invertidas	Mucopolisacaridosis, defectos de glicosilación, defectos en la síntesis del colesterol.

1.4 Diagnóstico. ^(11,12)

Después de una aproximación por la historia clínica, el diagnóstico se puede realizar a tres niveles:

1.- El estudio bioquímico de los metabolitos que se acumulan en los fluidos biológicos, (sangre orina y LCR) como consecuencia de la falla enzimática. Los métodos cromatográficos son importantes en el diagnóstico bioquímico de los EIM: cromatografía en capa fina para mono y disacáridos, de intercambio iónico, de alta resolución (HPLC) para aminoácidos, o acoplada a espectrometría de masas para ácidos orgánicos.

2.- Aunque el estudio de metabolitos proporciona, en algunos casos, un diagnóstico bastante preciso, se deben verificar o completar determinaciones enzimáticas del producto genético alterado en linfocitos, fibroblastos de piel o biopsia del tejido en que se exprese.

3.- El diagnóstico genético sin ser el punto de partida, puede ser conveniente llegar a él para la clasificación precisa del enfermo, el diagnóstico prenatal y para la prevención de nuevos casos en la familia. Las técnicas de amplificación del ADN con PCR y la secuenciación directa, permiten detectar nuevas mutaciones o polimorfismos, las distintas formas de expresión y su epidemiología.

1.5 Tratamiento.

Las posibilidades terapéuticas de los errores innatos del metabolismo aumentan a medida que se conocen mejor los mecanismos causantes de la patología y su etiología molecular. Para muchos EIM existe ya una terapia efectiva, en especial para aquellos en los que se conoce la anomalía bioquímica que los origina.

A medida que se conocen mejor las causas de la mutación responsable de un defecto específico y las consecuencias que tienen dichas mutaciones en el metabolismo, existen mayores posibilidades de aplicar nuevas medidas terapéuticas.^(1,8,10)

En un plano teórico y basado en la fisiopatogenia podemos plantear cuatro niveles de actuación:

1.-Terapia genética somática: consiste en una copia normal del gen defectuoso introducida mediante un vector, el viral es el más experimentado, en las células somáticas recuperaría la función genética deficiente. Esta técnica, avanzada en su fase experimental, no está aún disponible para el tratamiento de los pacientes.^(8,10)

2.- A nivel de la proteína disfuncional mediante tres posibilidades:

- La sustitución enzimática. ^(8,10)
- La suplementación de dosis farmacológicas de vitaminas y coenzimas que actúan como cofactores, produciendo una inducción del sistema enzimático. ^(8,10)
- Los trasplantes de hígado y médula ósea constituyen una posibilidad más definitiva de aportar al organismo células con un código genético normal, capaces de sintetizar enzimas competentes. ⁽¹⁰⁾

3.- Tratamiento dietético a nivel de metabolitos. Se utiliza en toda enfermedad metabólica en la que se produce acúmulo de un sustrato exógeno; es susceptible de ser tratada dietéticamente evitando así la expresión fenotípica del defecto. ^(8, 9,10)

4.- El tratamiento sintomático a nivel del fenotipo clínico también será coadyuvante en muchos casos. ^(9,10)

2.- Ciclo de la urea.

Los iones NH_4^+ formados en la ruptura de los aminoácidos se consumen en la biosíntesis de compuestos nitrogenados. En la mayoría de los vertebrados, el exceso de este ión es transformado en urea, para después excretarlo. ⁽¹⁴⁾En los vertebrados la urea se sintetiza por el ciclo de la urea (CU) (Fig. 2), el cual fue descrito inicialmente en el año 1932 por Kreebs y Henseleit, y posteriormente completado por Grisolia, Cohen, Marshal y Ratner. ^(13, 14,15)

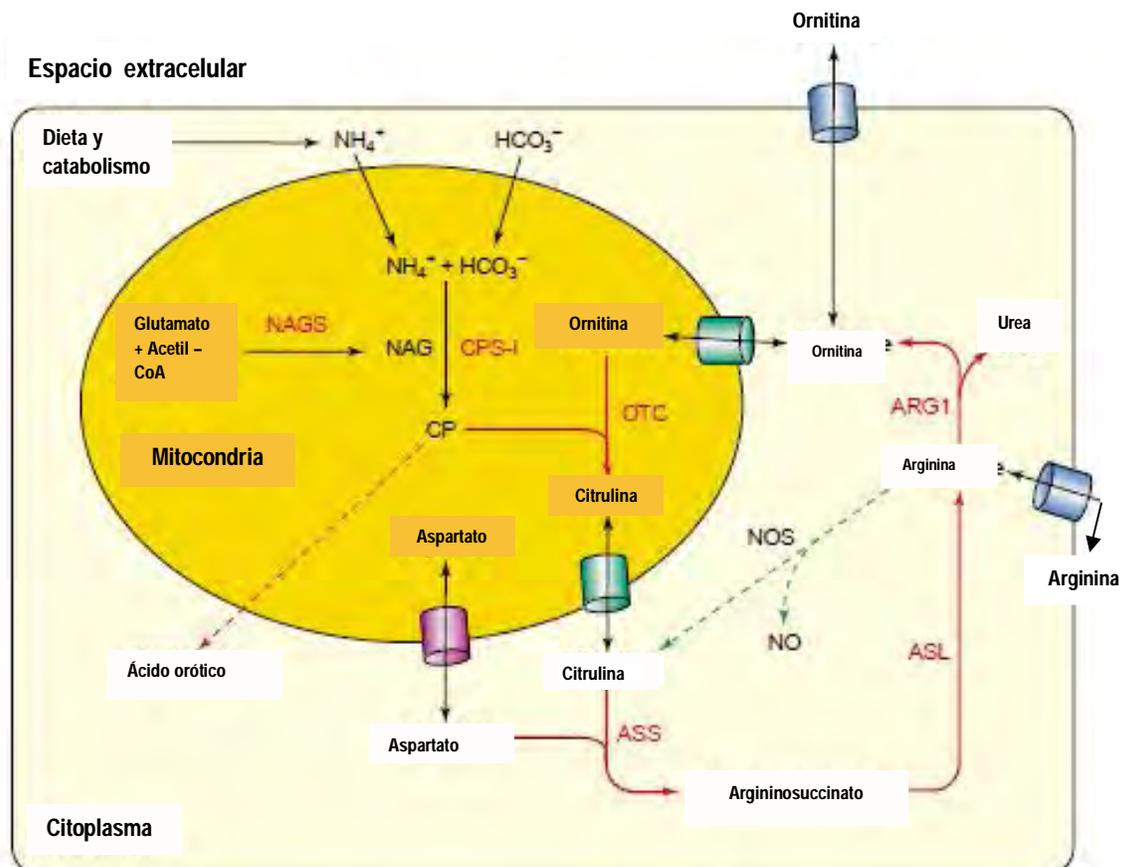


Figura 2. Representación esquemática del ciclo de la urea ⁽¹⁶⁾

Nota: Los cilindros representan transportadores de Citrulina y ornitina (SLC25A15; ORNT1), transportadores de aminoácidos (SLC7A7) y el transportador mitocondrial de aspartato (SLC25A13); NAGS (N-acetilglutamato sintetasa) NAG (N- Acetilglutamato); CPS-1 (Carbamil Fosfato sintetasa-1); CP (carbamil Fosfato); OTC (Ornitin Transcarbamilasa); NOS (Óxido Nítrico sintetasa); NO (Óxido Nítrico); ARG1 (Arginasa); ASS (Argininosuccinato liasa).

El CU constituye un conjunto de reacciones enzimáticas cuya función principal es la eliminación de amonio secundario a la degradación de aminoácidos y otros compuestos nitrogenados. En el ciclo participan seis diferentes enzimas; tres se encuentran en la matriz mitocondrial: N-acetilglutamato sintetasa (NAGS); carbamil fosfato sintetasa-1 (CPS1); Ornitin transcarbamilasa (OTC) y las restantes se encuentran en el citosol: Argininosuccinato sintetasa (ASS); argininosuccinato liasa (ASL); arginasa (ARG1).⁽¹⁷⁾

El CU comienza con la unión de los iones libres NH_4^+ y HCO_3^- , formando carbamil fosfato (CF). La síntesis de CF comprende tres pasos, todos ellos catalizados por la enzima CPS1.^(16, 17)

La reacción comienza con la fosforilación de HCO_3^- para formar carboxifosfato, el cual reacciona después con un ión de amonio para formar ácido carbámico. Finalmente, una segunda molécula de ATP fosforila el ácido carbámico para que éste se transforme en CF. El consumo de las dos moléculas de ATP en la síntesis de CF, es irreversible⁽¹⁶⁾ (Figura 3).

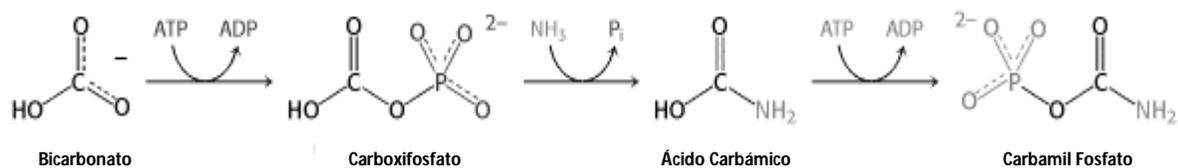


Figura 3. Síntesis del grupo Carbamil Fosfato.

Posteriormente, el grupo carbamil del CF es transferido para la formación de citrulina en una reacción que es catalizada por la enzima OTC (Figura 4).

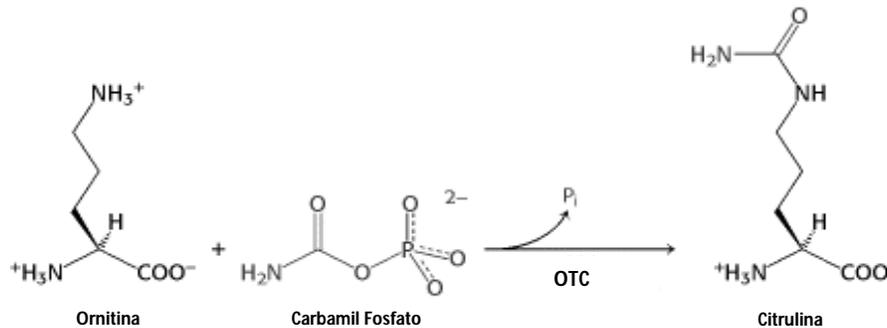


Figura 4. Formación de Citrulina.

La formación del grupo CF y la subsecuente síntesis de citrulina tienen lugar en la matriz mitocondrial, a diferencia de las siguientes tres reacciones del ciclo que se desarrollan en el citosol.

La citrulina es transportada al citoplasma donde se condensa con aspartato, el donador del segundo grupo de la urea. La reacción de la síntesis de argininosuccinato, es catalizada por la enzima ASS y conducida por una molécula de ATP que es transformada a AMP y pirofosfato el cual sufre posteriormente una hidrólisis. Figura 5.

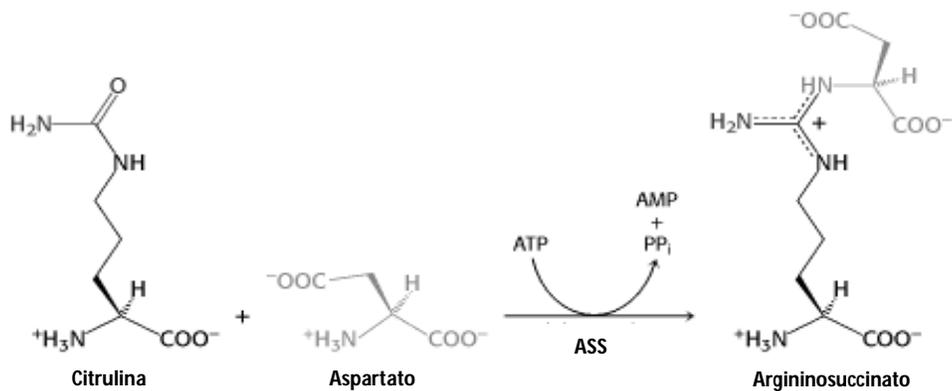


Figura 5. Formación de Argininosuccinato.

La argininosuccinato liasa se encarga de transformar a la molécula de argininosuccinato en arginina y fumarato. De esta manera, la cadena de carbonos del aspartato es preservada en forma de fumarato (Figura 6).

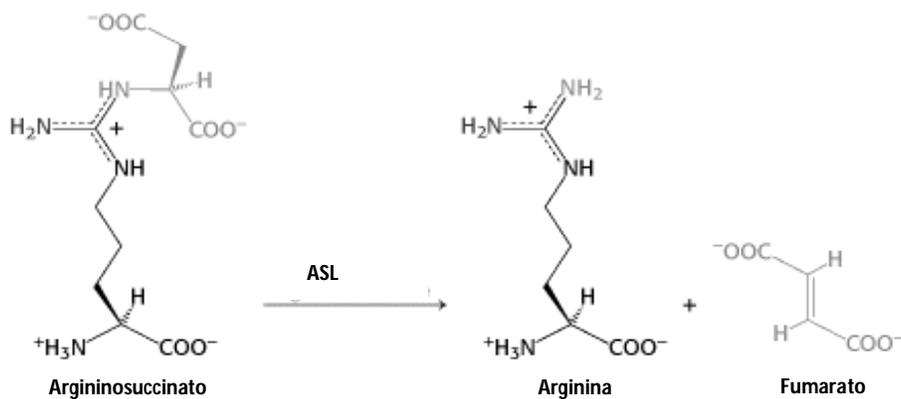


Figura 6. Formación de arginina y fumarato.

Finalmente, la molécula de arginina es hidrolizada para generar urea y ornitina en una reacción que es catalizada por la arginasa (Figura 7).

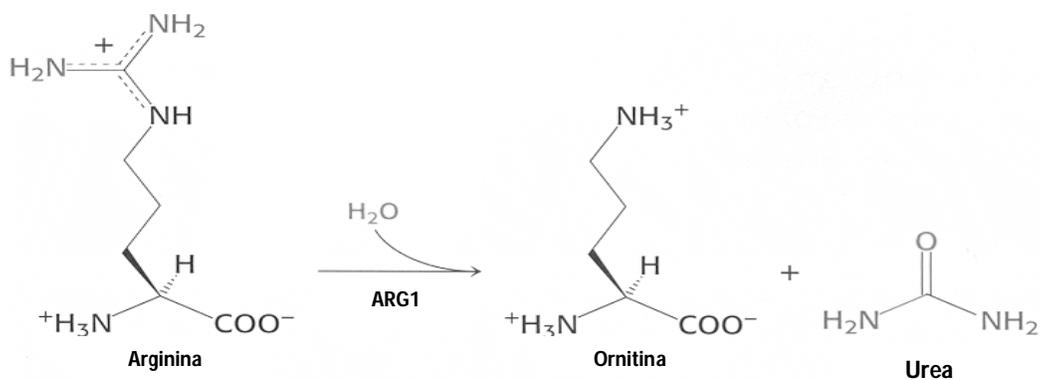


Figura 7. Formación de urea.

La Ornitina es después transportada a la mitocondria para que el ciclo pueda volver a comenzar.

La urea formada es excretada por vía renal, incluso el humano excreta cerca de 10 Kg de urea por año. (14, 16, 23)

2.1 Características de las enzimas del ciclo de la urea.

En la tabla 3 se resumen las características de las enzimas que forman el Ciclo de la Urea.

Tabla 3. Características generales de las enzimas del ciclo de la urea.				
Enzima	Distribución	Localización (cromosoma)	Complejo molecular	Descripción
NAGS	Hígado, intestino, riñón.	17q21.31	Monómero	El gen contiene 7 exones y 6 intrones. Con un peso aproximado de 53.2 KDa ⁽³⁴⁾
CPS1	Hígado, intestino, riñón.	2q35	Dímero	Constituye en el hígado el 30% de las proteínas mitocondriales, tiene un peso de 160 KDa. ⁽¹⁾
OTC	Hígado, intestino, riñón.	Xp21.1	Trímero	Contiene 10 exones, y la proteína está constituida de 590 aminoácidos. ⁽³⁵⁾
ASS	Hígado, intestino, fibroblastos	9q34	Tetrámero	Tiene un tamaño de 16 Kb y posee 16 exones. ⁽¹⁾
ASL	Hígado, intestino, fibroblasto, cerebro.	7cen-q11.2	Tetrámero	La enzima está compuesta por 463 aminoácidos, y tiene un peso aproximado de 52 KDa. El gen tiene 17 exones. ⁽³⁶⁾
ARG1	Hígado, riñón, eritrocitos	6q23	Trímero	Tiene un peso de 105 KDa aproximadamente, y mide 2.1 Å. ⁽¹⁾

3.- Defectos del ciclo de la urea.

3.1 Definición y conceptos generales .

Los defectos del ciclo de la urea (DCU) son errores innatos del metabolismo hepático (sitio único donde el ciclo de la urea se desarrolla de manera completa) que derivan de una anomalía, cualitativa o cuantitativa, de una de las seis enzimas que participan en la síntesis de urea. ^(19, 20) Cuando la actividad de una de estas enzimas es nula o deficiente, se acumula el nitrógeno, el cual en vez de convertirse en urea, se convierte en una sustancia tóxica, a la que llamamos amonio. Esta sustancia llega al cerebro y puede causar daño cerebral irreversible y/o la muerte. ^(21,22)

Los DCU son:

- En la parte alta del ciclo la deficiencia de N-acetil Glutamato sintetasa (NAGSD) de la que han sido descritos muy pocos casos frente a los otros dos déficits mitocondriales.
- Deficiencia de la enzima carbamilfosfato sintetasa (CPSD).
- Deficiencia de la enzima ornitín transcarbamilasa (OTCD).⁽²¹⁾

Las deficiencias enzimáticas de las enzimas citosólicas:

- ASS (ASSD) que da lugar a la citrulinemia.
- ASL (ASLD) cuya falla da lugar a la aciduria argininosuccínica.
- ARG1 (ARG1D) que da lugar a la argininemia.^(21,25)

Prevalencia.

Los DCU son enfermedades consideradas de baja frecuencia, se estima que en general se presentan de la siguiente manera (Tabla 4):

Deficiencia	OTCD	ASLD	ASSD	CPS-1D	ARG1D	Gral.
Frecuencia	1:1400	1:70000	1:100000	1:800000	1:2000000	1:30000

Están descritas otras dos enfermedades que no están consideradas como DCU, consistentes en defectos de transporte de metabolitos intermediarios, que son la intolerancia a la proteína lisinúrica y el síndrome HHH (hiperornitinemia – homocitrulinemia - hiperamoniemia).
(21,22)

Un defecto presente en cualquiera de estas proteínas, nos da como consecuencia un incremento de amonio en la sangre, elevación que causa edema cerebral y daño neurológico irreversible. (21, 22, 25)

3.2 Herencia de los DCU.

Todos los DCU con excepción de la OTCD se heredan de manera autosómica recesiva. Ambos padres deben de ser portadores de la mutación del gen. ⁽²⁷⁾ Cuando ésta mutación se hereda por ambos padres a su hijo se presenta la forma clínica de la enfermedad.

En este tipo de herencia la probabilidad de tener un hijo que presente la enfermedad es del 25%, 50% de que el niño sea portador del gen mutado y 25% que el niño no herede la mutación que los padres poseen en ese gen (Figura 8). Esta probabilidad se presenta en cada embarazo que la madre tiene. (27, 28)

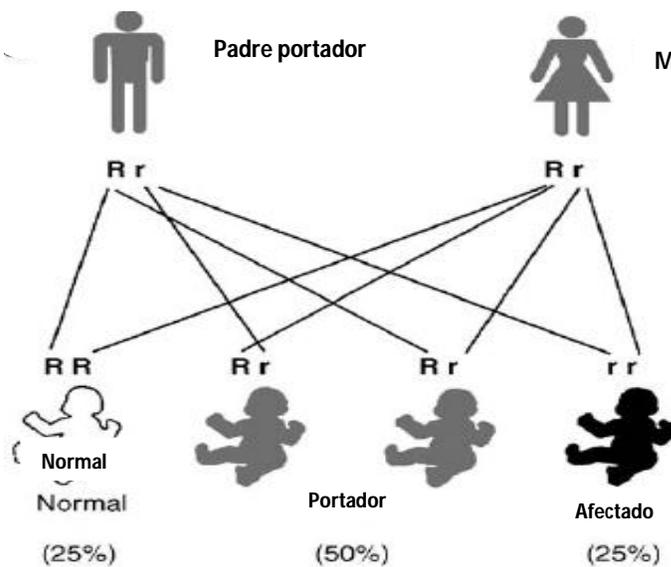


Fig. 8 Herencia autosómica recesiva (ambos padres portadores). R, gen normal; r, gen mutado.

La OTCD está ligada al cromosoma X, es decir, el gen que codifica para la enzima se localiza en el cromosoma X. Los individuos más afectados son los hemicígotos masculinos (XY) porque ellos carecen de un segundo cromosoma que podría ser normal. Un hombre afectado tendrá hijas portadoras del gen, e hijos totalmente sanos pues el padre aporta el cromosoma Y.

Las hijas que portan el gen son generalmente protegidas por el segundo cromosoma; sin embargo aproximadamente el 15% de éstas mujeres son sintomáticas en algún momento de su vida y requieren un tratamiento médico. Las mujeres portadoras tienen el 50% de probabilidad en cada embarazo de heredar la mutación a su hijo (a).

(27,29)

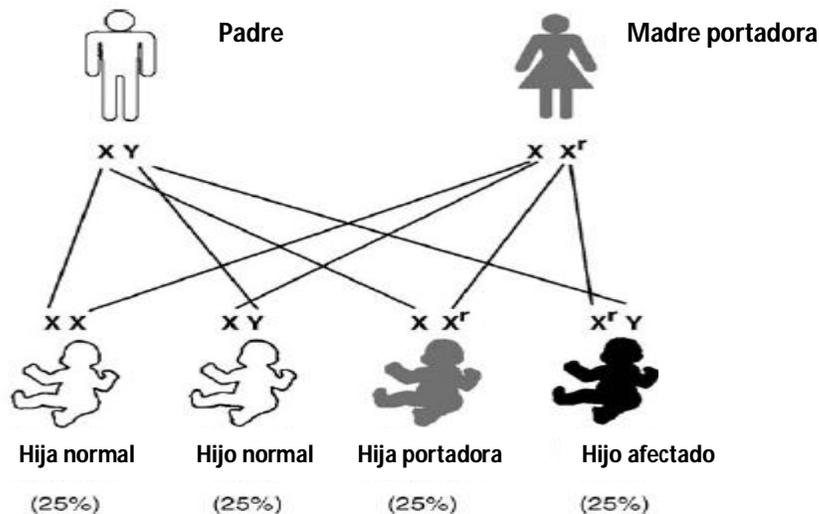


Fig.9 Herencia ligada al cromosoma X (madre portadora). r , gen mutado.

3.3 Clínica.

En los DCU la sintomatología viene condicionada por la hiperamoniemia.

(1,30)

Se considera hiperamoniemia a un valor de amonio plasmático $>150 \mu\text{mol/L}$ en período neonatal (valores normales: $< 60 \mu\text{mol/L}$). (31, 46, 52)

3.3.1 Formas de presentación clínica.

Formas de inicio neonatal. (IN)

Con el comienzo agudo en período neonatal, es la forma clásica; representa del 40 al 60 % de los casos. Habitualmente, existe un período libre de síntomas, tras la ingesta de leche, de 24-48 horas, iniciándose posteriormente un cuadro clínico con las siguientes características:

- Primeros síntomas: rechazo al alimento, pobre succión, vómitos, letargia progresiva, hipotonía, hipotermia y polipnea, que conlleva a una alcalosis respiratoria (muy característica de la encefalopatía hiperamonémica).^(50,54)
- Trastorno neurológico de evolución rápida y fatal si no se inicia tratamiento: coma hipotónico, convulsiones, apneas que requieren ventilación asistida e indicios de edema cerebral en el diagnóstico cerebral por imágenes.^(50,66)

Las formas crónicas de presentación neonatal son casi siempre mortales en los casos de deficiencias enzimáticas mitocondriales. El pronóstico es más favorable para las deficiencias de ASS o ASL, ya que en estos casos puede realizarse una cierta depuración de nitrógeno en forma de citrulina o de ácido argininosuccínico.^(50, 66)

Formas de inicio tardío. (IT)

A diferencia de las anteriores, la manifestación clínica de estas formas y su capacidad de evolución es muy variable: pueden manifestarse en los primeros meses de vida, en la infancia o en la edad adulta, ya sea con episodios de descompensación aguda o con manifestaciones crónicas de tipo digestivo, neurológico o psiquiátrico. Sus características son las siguientes:

- Cuadros digestivos que pueden ir acompañados de una afección hepática: vómitos crónicos o paroxísticos; anorexia con rechazo selectivo hacia las proteínas, lo que generalmente conlleva a un retraso del crecimiento estatural-ponderal; dolores abdominales; hepatomegalia y episodios de histólisis repetidos.^(1,22)
- Cuadros neurológicos con retraso psicomotor que pueden abarcar el tipo de encefalopatía crónica, con crisis epiléptica ataques de cefalea con somnolencia y hasta coma hiperamonémico inaugural.^(1,22,30)
- Cuadros psiquiátricos: trastornos de conducta y alucinaciones.^(14, 30)

Específicamente para la OTCD existen tres fenotipos reconocidos:

- Infantes varones severamente afectados, los cuales desarrollan hiperamonemia profunda unas horas después del nacimiento.⁽³⁸⁾

- Varones mayores presentando episodios recurrentes de hiperamonemia.
- Mujeres heterocigotas afectadas con hiperamonemia recurrente, intolerancia a las proteínas y vómito que se presenta de manera cíclica. ^(49,50)

Los pacientes con ASSD presentan retardo mental, hepatomegalia severa en las formas tempranas y la mitad de ellos tienen el pelo con tricorrexis nodosa. Los pacientes con ARG1D presentan una displejia espástica, siendo catalogados como parálisis cerebral. ⁽³⁾

3.4 Diagnóstico.

Para lograr un diagnóstico correcto de los DCU se deberá realizar un examen clínico cuidadoso, acompañado de un estudio de laboratorio apropiado que incluya la determinación de metabolitos característicos en fluidos biológicos. ⁽⁶⁶⁾

Se deben realizar determinaciones en plasma de aminoácidos, amonio, equilibrio ácido-base, glicemia, lactato y piruvato. En orina debe realizarse determinación de ácido orótico. ^(1, 40)

El análisis de aminoácidos se realiza por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) debido a que las cromatografías en capa delgada y en

papel no son lo suficientemente sensibles y específicas para este propósito. ⁽³⁹⁾

Deben indicarse estudios complementarios para la cuantificación de carnitina total y libre en sangre, y de ácidos orgánicos en orina por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas con el fin de descartar acidemias orgánicas que cursan con hiperamonemia. ^(50, 53, 51)

Las neuroimágenes también son de utilidad, encontrando en ellas un extenso y generalizado edema cerebral, que es consecuencia de la concentración elevada de amonio el cual es transportado al cerebro ocasionando cambios fisiológicos, bioquímicos y moleculares en el mismo. ^(41, 51)

3.4.1 Diagnóstico diferencial.

El diagnóstico diferencial de las hiperamonemias se basa en el estudio de metabolitos en plasma y orina del paciente antes de la instauración del tratamiento ⁽⁴¹⁾ (Figura. 10).

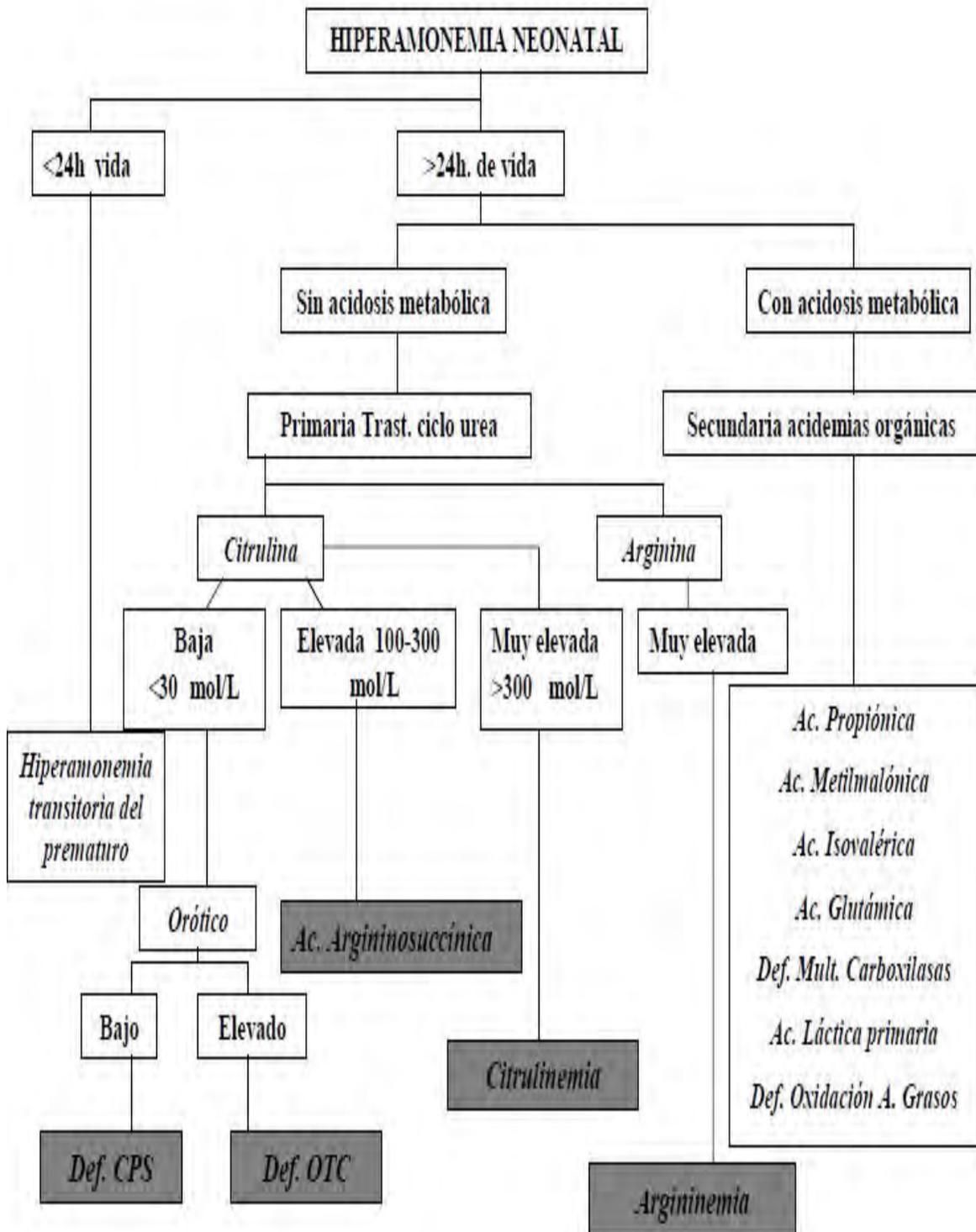


Fig.10 Algoritmo para el diagnostico diferencial de los DCU ⁽⁵³⁾

Diagnostico de deficiencia de CPS y OTC.

El diagnóstico de la CPS1D, se realiza inicialmente por exclusión, sin embargo, debido a que tal diagnóstico implica una vida comprometida a una dieta artificial y molesta medicación, se hace apropiada la medición de la actividad enzimática en hígado obtenida por biopsia percutánea, en niños sin complicaciones después de que se establece control metabólico⁽⁴⁷⁾.

También se utiliza la medición de la actividad de esta enzima en mucosa intestinal.⁽³⁷⁾ Estos estudios enzimáticos se deben hacer durante la vida o inmediatamente después de la muerte porque los hallazgos postmortem son completamente inespecíficos al inactivarse rápidamente esta enzima mitocondrial.⁽⁵³⁾

Usualmente se encuentran los niveles de amonio 10- 20 veces mayores que el intervalo de referencia y el ácido orótico en valores normales. Los cambios de aminoácidos en sangre no son específicos y no nos permiten una diferenciación entre esta deficiencia y los otros desórdenes del ciclo^(48, 43) (Tabla 5).

Tabla 5. Criterio Bioquímico utilizado para el diagnostico diferencial de los Defectos del Ciclo de la Urea.

Enfermedad	Enzima	Ácido orótico urinario	Aminoácidos en plasma
NAGSD	NAGS	Normal	Elevados niveles de glutamina y alanina. Niveles bajos de arginina y citrulina.
CPSD	CPS1	Normal	Elevados niveles de glutamina y alanina. Niveles bajos de citrulina y arginina
OTCD	OTC	Elevado	Trazas de citrulina y ausencia de ácido argininosuccínico
Citrulinemia (ASD)	AS	Normal o elevado *	Niveles elevados de citrulina
Aciduria Argininosuccínica (ALD)	AL	Normal o elevado*	Presencia de ácido argininosuccínico en sangre y orina
Argininemia (ARG1D)	ARG	Normal o elevado*	Niveles elevados de arginina

* Los niveles de ácido orótico no son un buen marcador biológico, y la elevación de la concentración no es consistente.

En pacientes con deficiencia de CPS o deficiencia de OTC, la citrulina se encuentra en concentraciones bajas en plasma debido a que la misma es un producto de ambas enzimas. Para ambas deficiencias enzimáticas, otras anormalidades en los niveles de aminoácidos en plasma incluyen incremento de glutamina y disminución de los niveles de ornitina y arginina. A pesar de que no pueden distinguirse uno del otro por análisis de aminoácidos, ambas deficiencias pueden diferenciarse porque en la

OTCD existen niveles altos en orina de ácido orótico (tabla 5) y pirimidinas incluyendo uracil, uridina y pseudouridina. ^(42, 43, 48)

El análisis del árbol genealógico familiar puede ser útil. En el caso de que no se mida el ácido orótico, los análisis mutacionales son útiles para definir la enzima afectada. ⁽⁴²⁾ La prueba de alopurinol puede ser útil en el caso de que el análisis mutacional sea infructuoso. Para la detección de heterocigotos de OTCD (si el ácido orótico es normal) es importante la realización de la prueba de alopurinol y una sobrecarga oral de proteínas, aunque la primera sea más sensible, específica y segura. ⁽⁵⁶⁾ Estas pruebas no están exentas de riesgos y están sujetas a falsos positivos o negativos.

En ocasiones, la aciduria orótica inducida por el alopurinol puede ser mínima en casos moderados y es susceptible a falsos positivos en pacientes con defectos en la cadena respiratoria. ^(54, 55, 56) Además, la determinación in vivo de la ureagénesis puede usarse como un complemento efectivo de los métodos bioquímicos y moleculares en el diagnóstico de la OTCD en mujeres sintomáticas o asintomáticas y varones con aparición tardía de esta deficiencia.

Para ello uno de los métodos utilizados es la introducción de glutamina marcada con N^{15} en su grupo amino como fuente de nitrógeno, correlacionando la relación urea N^{15} / glutamina N^{15} con la severidad clínica. ⁽³⁷⁾

La medición de la actividad enzimática de la OTC puede ser ambigua en la mujer, debido a que el hígado es un mosaico de hepatocitos y se han encontrado diferencias en la actividad de la OTC en muestras de biopsias del mismo hígado. ^(56, 57)

También se ha reportado que la actividad de esta enzima in vivo puede ser normal en mujeres sintomáticas. Puede ser útil la medición de la actividad de la enzima OTC en mucosa intestinal, aunque la experiencia es limitada. ^(37, 57, 56)

Diagnostico de deficiencia de ASS.

En un paciente sintomático a citrulinemia, la determinación de amonio en plasma es la primera prueba de laboratorio a realizar. El siguiente paso a seguir será la determinación de aminoácidos en plasma, encontrándose niveles de citrulina de 5 000 uM que corresponde a una elevación de hasta 200 veces el valor normal (valores normales 10 a 20 uM) (Figura 11). No se detecta argininosuccinato. En estos pacientes se encuentran niveles elevados de ácido orótico en orina ^(58, 59, 60, 61) (Tabla 5).

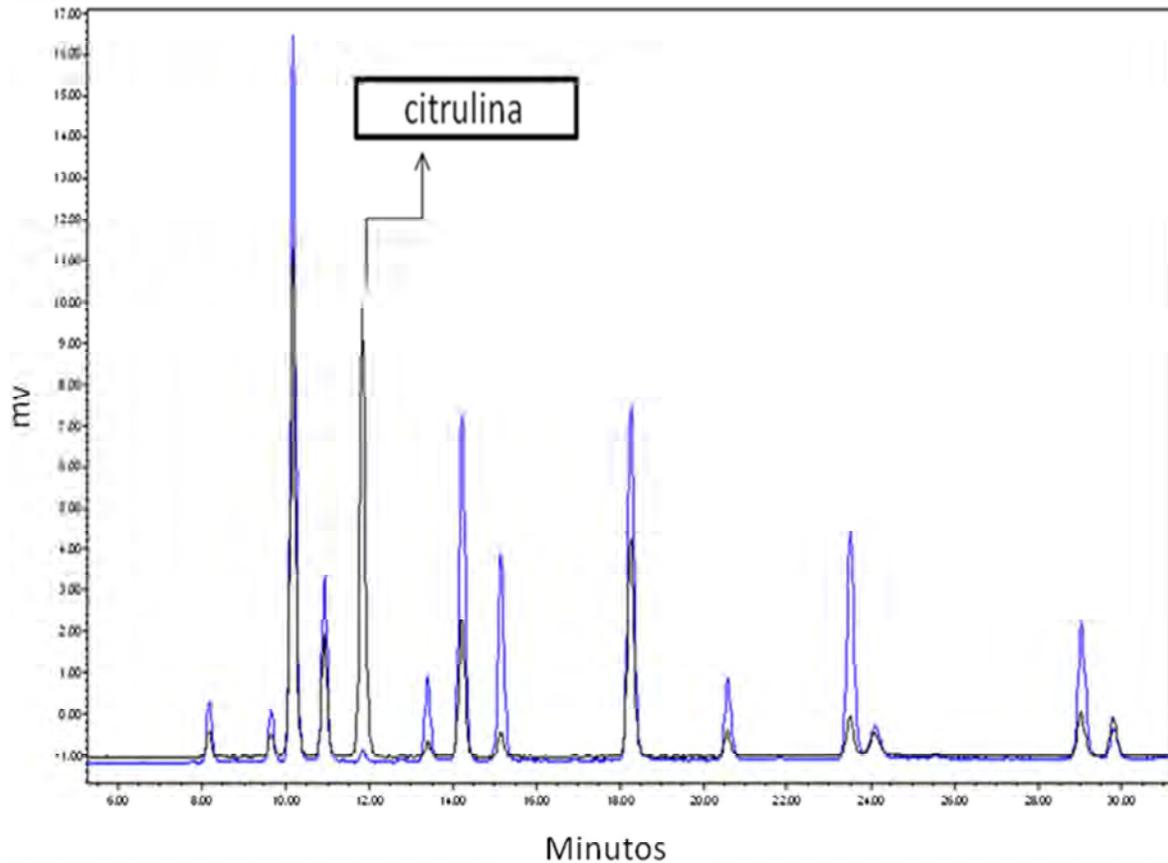


Fig. 11 Cromatograma obtenido de la cuantificación de aminoácidos en plasma por HPLC de un paciente sano (azul) y un paciente con deficiencia de ASS (negro).

Diagnóstico de deficiencia de ASL.

El diagnóstico se establece con la medición de los niveles de amonio en plasma, ácido argininosuccínico y sus anhidros. El análisis de aminoácidos en plasma nos da suficiente información, los niveles de citrulina en plasma aparecen moderadamente incrementados (100 a 300 uM) al igual que glutamina, alanina y lisina. El ácido argininosuccínico en

plasma es patognomónico de la enfermedad, por lo que su presencia es suficiente para dar el diagnóstico bioquímico ⁽⁶²⁾ (tabla 5, Figura 12). El análisis definitivo es medir la actividad enzimática de ASL en eritrocitos o fibroblastos aunque si se tiene el diagnóstico bioquímico no se requiere. (37, 62, 63)

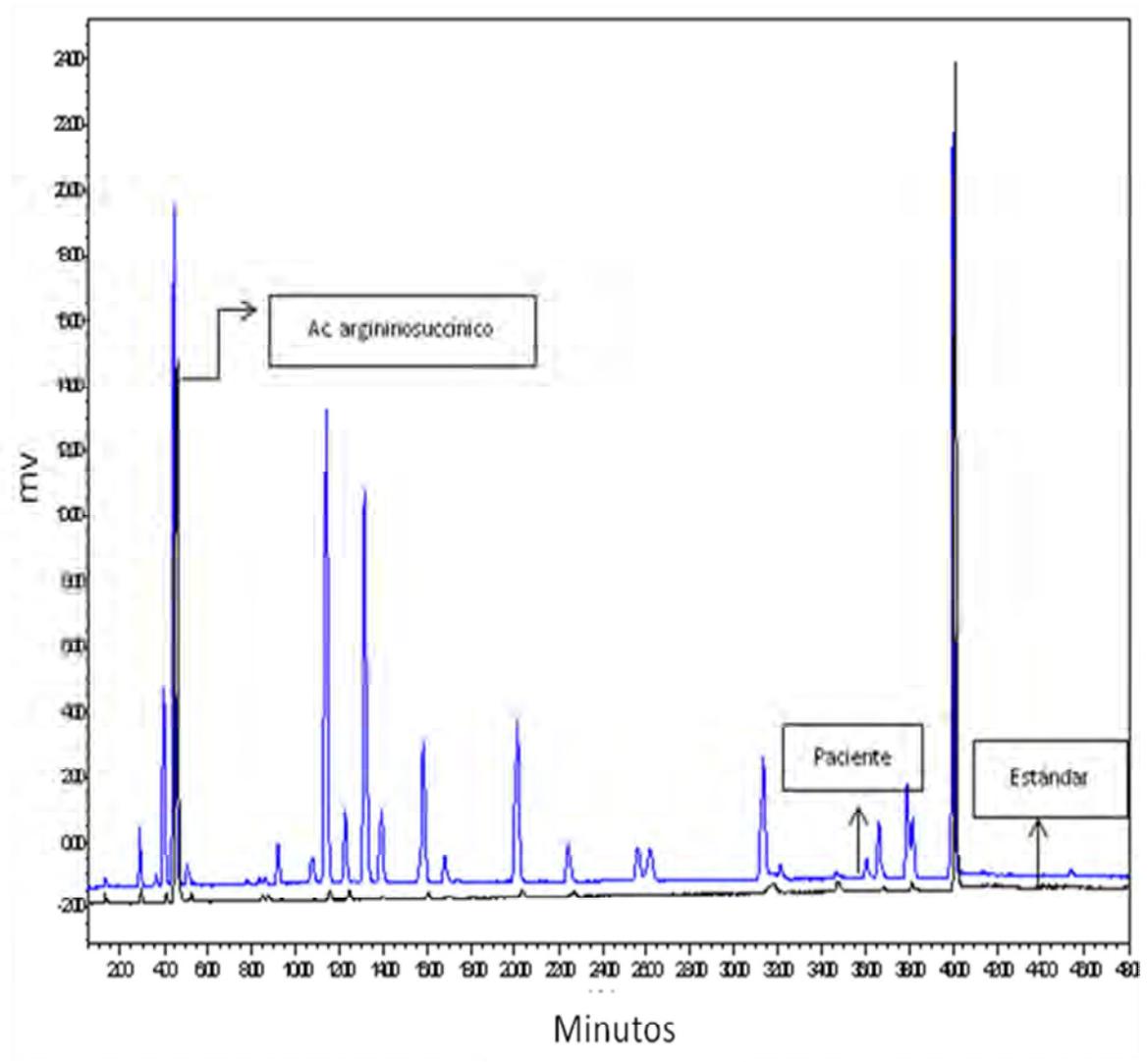


Fig. 12 Cromatogramas obtenidos por HPLC, al correr una muestra de plasma (azul) y una muestra de estándar de Ac. Argininosuccínico (negro).

Diagnostico de la deficiencia de ARG1.

El diagnóstico de argininemia puede realizarse a partir del hallazgo de una moderada concentración de arginina en suero o tan alta como 1 500 μM en conjunto con la prueba reto con carga oral de proteínas y la medición de la actividad enzimática de arginasa como diagnóstico definitivo. La excreción de arginina en orina usualmente no está incrementada masivamente debido a la inducción de isoenzimas, sin embargo, el patrón de aminoácidos en orina de la argininemia es similar al obtenido en cistinuria-lisinuria con concentraciones aumentadas de cistina, lisina y ornitina, las cuales se excretan en orina debido a la inhibición competitiva de la reabsorción de aminoácidos dibásicos en los túbulos proximales renales. Una variedad de compuestos como la N-acetilarginina, ácido arginínico y homoarginina, se encuentran en suero, orina y fluido cerebroespinal.

Otra característica encontrada es el incremento en la excreción de ácido orótico (Tabla 5), aunque los niveles de amonio en plasma pueden estar medianamente elevados o ser normales. Otras pirimidinas como uracil y uridina se excretan en la orina en cantidades mayores que lo normal. En pacientes afectados, la deficiencia de la actividad enzimática se comprueba en hígado, eritrocitos, leucocitos y saliva, pero no en fibroblastos o riñón. ^(62, 63)

Diagnostico de la deficiencia de NAGS.

Al no tener un perfil bioquímico específico (Tabla 5), se utiliza la medición de la actividad enzimática, sin embargo este método además de ser un procedimiento invasivo no es totalmente confiable. En los últimos años se ha recurrido al diagnóstico molecular, buscando la mutación en el ADN. ⁽³⁴⁾

3.4.2 DIAGNÓSTICO PRENATAL.

Los cinco defectos de la ureagénesis pueden diagnosticarse prenatalmente. Las técnicas empleadas varían ampliamente e incluyen medición de metabolitos anormales en líquido amniótico, análisis de ADN de las vellosidades coriónicas o amniocitos y actividad enzimática en muestras de biopsia de hígado fetal. ^(28, 44, 64)

Para fetos con riesgo de deficiencia de CPS y cuando se dispone del ADN de un miembro afectado de la familia, se emplea el estudio de ligamientos utilizando los polimorfismos en la longitud de los fragmentos de restricción (RFLP). En caso de que no existan RFLP informativos, se puede realizar el diagnóstico en biopsias de hígado fetal. ^(44, 49, 37)

Para fetos con riesgo de deficiencia de OTC, el procedimiento de elección es la secuenciación marcada cuando la mutación se ha identificado previamente, o la secuenciación de todos los exones del locus OTC. ^(28, 52)

En fetos con riesgo de deficiencia de ASS y que tengan ausencia de RFLP informativo es necesaria la medición de la actividad de la enzima en vellosidades coriónicas, aunque este método tiene el riesgo del bajo nivel de actividad en fetos heterocigotos. ^(64, 52)

Existen dos técnicas confiables para el diagnóstico prenatal de la deficiencia de AL: medición de actividad enzimática en cultivo de amniocitos y medición de ácido argininosuccínico en líquido amniótico. ^(28, 63)

En fetos con riesgo de deficiencia de arginasa, la medición de actividad enzimática fetal en eritrocitos parece ser la técnica más satisfactoria a pesar de la disponibilidad de algunos marcadores intragénicos.

No existen referencias para el diagnóstico prenatal de la deficiencia de NAGS. ^(28, 37, 42, 65)

3.5 Tratamiento.

El coma hiperamonémico es una emergencia médica en la que debe instaurarse un tratamiento inmediato y agresivo en un intento de prevenir o minimizar un posible daño cerebral irreversible. ⁽⁶⁸⁾

En estos casos se requiere supresión absoluta de proteínas orales o parenterales, reintroduciendo éstas en 48 a 72 horas cuando se haya conseguido estabilizar las concentraciones de amonio plasmático, y valorando la tolerancia de las mismas con controles diarios de amonio. ⁽³⁹⁾

Se deben administrar líquidos suficientes para mantener una correcta situación hemodinámica, pero teniendo en cuenta la posible existencia de edema cerebral y aportar calorías necesarias por vía parenteral central en forma de solución glucosada para limitar el catabolismo endógeno y enteral. ^(1, 37, 68)

Para disminuir la absorción de amonio desde la luz intestinal se utiliza lactulosa por vía oral o en forma de enemas, junto con la administración de ciertos antibióticos como la neomicina. ⁽⁴⁶⁾

Una vez que el diagnóstico sea confirmatorio para algún defecto del ciclo de la urea podemos proseguir con un tratamiento de forma más específica.

El tratamiento para los DCU está encaminado a corregir las anormalidades bioquímicas y al mismo tiempo asegurarse que todos los nutrientes necesarios sean proporcionados al paciente. Las estrategias que se utilizan son:

- Reducir la ingesta de proteínas para que el flujo de nitrógeno a través del ciclo de la urea no aumente.
- Utilizar vías alternas para la excreción de nitrógeno.
- Administrar los nutrimentos que se ven afectadas por los DCU ejemplo de esto es la arginina que cuando se presenta la CPSD, OTCD, ASSD y la ASLD, no puede ser sintetizada y se convierte en un aminoácido esencial el cual es necesario suplementar en la dieta. ⁽⁶⁷⁾

3.5.1 Dieta baja en proteínas.

La mayoría de los pacientes con DCU requieren una dieta baja en proteínas. La cantidad exacta de proteínas dependerá del error innato, la edad del paciente y la severidad del desorden. Para algunos pacientes, en particular los casos severos y los que presentan poca tolerancia a las proteínas, la dieta puede sustituirse con fórmulas especiales que contienen sólo aminoácidos esenciales. ^(1, 67, 68)

En situación de restricción proteica importante, algunos aminoácidos no esenciales pueden convertirse en limitantes de la síntesis de productos importantes para el metabolismo intermediario como la carnitina (lisina y metionina) o glutatión (cisteína y glutamato) por lo que estos nutrimentos deben ser suplementados en la dieta.

La cantidad de proteína tolerada puede aumentar cuando se administran productos que proporcionan vías alternativas para la eliminación de amonio. La cantidad de proteína suministrada debe ser suficiente para permitir un crecimiento adecuado debido a que un aporte proteico bajo conlleva a la pérdida de peso, falla de medro, hipoalbuminemia, osteopenia y caída del cabello.

Se recomienda un aporte calórico elevado (tabla 6), superior a las necesidades para la edad, para evitar catabolismo excesivo y favorecer anabolismo. Los hidratos de carbono no deben ser superiores al 60% del total de calorías para evitar hipertrigliceridemias. Un tratamiento con

excesivo aporte de calorías induce a ganancia de peso y/o talla por encima del percentil 50. ^(37, 69, 70)

Tabla 6. Intervalo de proteínas totales y calorías recomendadas para los niños con DCU.

Edad (años)	Proteína total (g/KG/día)	Calorías (Kcal/Kg/día)
0-1	1.2-2.2	20-145
1-7	1.0-1.2	100-120
7-9	0.7-1.4	80-110
>19	0.5-1.0	35-65

3.5.2 Vías alternas para la eliminación del nitrógeno.

En muchos pacientes la dieta no es suficiente para el control del desarreglo metabólico y necesita una terapia adicional. Un gran avance en este campo ha sido el desarrollo de compuestos que aumentan la eliminación de residuos de nitrógeno.

Al suministrar estas sustancias, el nitrógeno se convierte en compuestos diferentes a la urea, que también son excretados. Por lo tanto la carga en el ciclo de la urea se reduce. El primer compuesto que se utilizó fue la arginina y el benzoato de sodio. Después se utilizó el fenilacetato pero éste ha sido sustituido por el fenilbutirato. ^(73, 74)

El benzoato de sodio se conjuga con la glicina formando hipurato, excretándose un mol de nitrógeno por cada mol de benzoato administrado. El benzoato de sodio se administra en dosis de hasta 250 mg/Kg por día, pero en caso de emergencia, la dosis puede incrementarse hasta 500 mg/Kg por día. ^(65,73)

El fenilbutirato es activado por el ester de CoA, el cual es metabolizado a fenilacetil-CoA en el hígado por β - oxidación, después este compuesto se conjuga con la glutamina, resultando en fenilacetilglutamina compuesto que es excretado por la orina. Por lo tanto 2 moles de nitrógeno son excretados por cada mol de fenilbutirato. El fenilbutirato se administra como sal de sodio en dosis de 250 mg/Kg por día pero puede darse en dosis de hasta 630 mg/Kg por día. ^(78,82)

El fenilbutirato de sodio es un tratamiento de por vida a menos que se decida un trasplante hepático.

3.5.3 Nutrimientos.

Arginina y citrulina: En el hombre la arginina es normalmente un aminoácido no esencial porque es sintetizado en el ciclo de la urea. Sin embargo, cuando hay un bloqueo en su ciclo, se convierte en esencial. Por esta razón, todos los pacientes con DCU excepto los que padecen de deficiencia de ARG1 necesitan un suplemento de arginina para compensar la que no está siendo sintetizada. Para deficiencia de OTC y CPS la dosis de arginina es de 100-150 mg/Kg por día. ⁽⁷⁶⁾

Los pacientes con citrulinemia y aciduria arginosuccínica precisan más cantidad de arginina (400-700 mg/kg/día) por la pérdida urinaria importante de ornitina incorporada a la citrulina y ácido argininosuccínico. ^(74,76)

Las vitaminas del complejo B (cianocobalamina, niacina, folato, ácido pantoténico y piridoxina) pueden mejorar la síntesis de glicina y la conjugación de glicina-benzoato y de fenilacetato con glutamina. ^(73, 74, 76)

En niños sometidos a dietas hipoprotéicas se ha observado una deficiencia de selenio, por lo que se recomienda un suplemento de elementos traza. Suplementar zinc y calcio según recomendaciones establecidas. ^(56,64)

3.5.4 Medicamentos extra.

En la deficiencia de NAGS, se administran dosis por vía oral de 100-300mg/Kg por día de N-carbamil Glutamato.

Algunos pacientes con DCU pueden necesitar anticonvulsivos, pero se recomienda no usar valproato de sodio debido a que este fármaco produce una grave descompensación, particularmente en pacientes con deficiencia de OTC. ^(67, 73, 76)

3.6 Mortalidad.

Los DCU son enfermedades poco estudiadas, hecho que conlleva a que la mortalidad aumente, sin embargo estudios recientes han demostrado que los casos en los que los pacientes son atendidos de manera oportuna y adecuada logran llevar una vida con un desarrollo prácticamente normal. Los casos más severos en los DCU se dan en las formas neonatales y por lo tanto es donde se observa mayor mortalidad (Tabla 7).

Tabla 7. Mortalidad de los DCU. ⁽⁵⁰⁾		
Inicio neonatal	Inicio tardío	General
50%	10%	30%

Objetivo.

Reportar las características clínicas y de laboratorio de pacientes con Defectos del Ciclo de la Urea en un hospital de tercer nivel de atención.

Material y Métodos.

Estudio retrospectivo de datos clínicos y de laboratorio de pacientes con DCU.

Se evaluó un total de 37 pacientes con DCU durante el período de 1991 a 2008. El estado actual de los pacientes fue actualizado por los estudios correspondientes hasta el mes de septiembre de 2008.

El diagnóstico de los pacientes se basó en criterios clínicos y bioquímicos (según tabla 5) y fue establecido por la cuantificación de aminoácidos en plasma, los niveles plasmáticos de amonio y la determinación de ácido orótico urinario durante la fase aguda de la enfermedad (Tabla 8).

Determinación de aminoácidos en plasma.

Reactivos
Solución de p-fluorofenilalanina 20 µM grado reactivo en metanol (estándar interno).
Metanol grado HPLC.
Solución sobresaturada de ácido bórico pH=9.
o-ftaldialdehído (OPA) 0.146mM en metanol: etanetiol; 98:2 (solución derivatizante).
Tetrahidrofurano grado HPLC.
Acetonitrilo grado HPLC.
Fosfato monobásico de sodio monohidratado, grado reactivo.
Fosfato dibásico de sodio anhidro, grado reactivo.
Filtros de nylon con poro de 0.05µm.

Todos los reactivos fueron adquiridos de Sigma (St. Luis, MO, EUA) excepto por el metanol, tetrahidrofurano y acetonitrilo (Caledon, Ont. Canadá), filtros de nylon (Titán, TN, EUA).

Equipo
Cromatógrafo de líquidos de alta resolución marca Waters modelo 2690.
Detector de fluorescencia marca Waters modelo 474.
Fase estacionaria: Columna Phenomenex Kingsorb C18 de 150 x 4.6mm con un diámetro interno de 3 µm.

La detección de los aminoácidos se realizó a una longitud de onda de excitación de 338nm y una longitud de onda de emisión de 425nm.

Procesamiento de la muestra.

A una alícuota de 50 µL de plasma se le adicionó 1 mL de solución de estándar interno para precipitar las proteínas, se centrifugó por 10 min a 10,000 rpm a 4°C, se filtró utilizando filtros de nylon con poro de 0.05µm, posteriormente se tomaron 100 µL de sobrenadante y se les agregaron 20 µL de solución amortiguadora de boratos y 20 µL de solución derivatizante, se utilizaron 10 µL de volumen de inyección.

Condiciones cromatográficas

Fase Móvil.

Disolvente A. Amortiguador de fosfatos 0.02mM (pH 7.0): tetrahidrofurano: agua; 91: 5: 4.

Disolvente B. Amortiguador de fosfatos 0.02mM (pH 7.0): acetonitrilo: agua; 40: 5: 55.

Condiciones de Gradiente:

TIEMPO (min)	FLUJO (mL/min)	% A	% B
Inicial	1.3	78	22
30	1.3	50	50
38	1.3	37	63
39	1.3	0	100
46	1.3	0	100
48	1.3	78	22

Temperatura de la columna: 45^oC

Temperatura de la muestra: 4^oC

Determinación de ácido orótico.

Reactivos
Buffer de citrato de sodio 0.2 M, pH 2.5
Solución saturada de bromo
Ácido ascórbico al 5% (W/V) en buffer de citrato de sodio 0.2 M, pH 2.5
Estándar de ácido orótico 200 µg/ml en buffer de citrato de sodio, pH 2.5
P – dimetilbenzaldehido en propanol al 2.5 %
Reactivo de Earlich

Procedimiento.

- 1.- Marcar 4 tubos para cada muestra y el control. Colocar en cada tubo entre 25 y 200 μl de orina.
- 2.- Si se adiciono una cantidad menor a 200 μl agregar agua hasta obtener el volumen deseado (200 μl).
- 3.- Preparar la curva patrón por duplicado agregando de 0, 4, 80, 120, 160 y 200 μl de la solución stock de ácido orótico (llevar cada uno a 200 μl como volumen final).
- 4.- Agregar 400 μl de buffer de citrato de sodio, pH 2.5 a cada tubo.
- 5.- En la campana de extracción agregar 200 μl de ácido ascórbico a los tubos con la muestra control y mezclar.
- 6.- Agregar en la campana 100 μl de la solución saturada de bromo a todos los tubos y mezclar inmediatamente.
- 7.- Después de un minuto de haber agregado la solución saturada de bromo agregar 200 μl de ácido ascórbico a los tubos restantes.
8. Agitar los tubos y colocarlos en un baño de 37⁰ C por 5 minutos.
9. Agregar 400 μl del reactivo de Earlich a todos los tubos agitar e incubar en un baño de 37⁰ C por 15 minutos.
10. Leer a 480 nm usando como blanco agua destilada.

Determinación de Amonio.

El amonio en sangre se determinó en un autoanalizador marca Beckman Coulter. ⁽⁷³⁾

Población de estudio.

Para este estudio se incluyeron treinta y siete pacientes que fueron diagnosticados y / o tratados en nuestro laboratorio. Cuatro de los 37 fueron diagnosticados fuera de nuestra institución (Tabla 8). Seis pacientes fueron diagnosticados por tamiz neonatal (3 con ARG1D y 3 con ASD), todos ellos iniciaron su tratamiento inmediatamente, hasta el último seguimiento no habían presentado ninguna crisis hiperamonémica, tenían un desarrollo neurológico normal con 5, 3 y 2 años y 10, 4 y 2 meses de vida. 31 pacientes fueron sintomáticos (alto riesgo) y en 5 casos (2 con Citrullinemia, 1 con Argininemia y 2 con aciduria argininosuccínica), no se obtuvo más información de ellos después de nuestro diagnóstico bioquímico. Aunque dos de ellos (los pacientes con ALD) tuvieron tamiz neonatal, los síntomas aparecieron antes de que los padres o el médico recibieran el resultado del tamiz.

Tabla 8. Perfil bioquímico de los pacientes con DCU al momento del diagnóstico.

	Pacientes	Enfermedad	Amonio (uM)	Ác. Orótico (ug/mg creat)	Gln	Ala	Arg	Cit	AS	Orn
	V. R. (uM)		70	< 17	376-709	131-710	6-140	10-45	ND	48-211
	1	ARGD	40	11	300	298	279	8	ND	14
	2	ARGD	50	*	*	*	*	*	*	*
	3	ARGD	62	4	305	133	452	12	ND	4
A	4	ASD	38	9	*	*	*	*	*	*
	5	ASD	55	5	338	281	23	666	ND	36
	6	ASD	52	ND	584	946	208	523	ND	322
	1	ALD	1795	1235	1141	506	42	81	192	26
	2	ALD	150	19	417	176	69	362	460	58
	3	ALD	226	25	423	443	76	127	51	42
	4	ASD	89	16	722	265	42	1520	ND	19
	5	ASD	120	13	598	381	96	2116	ND	22
	6	ASD	92	8	*	*	*	*	*	*
	7	ASD	135	22	*	*	*	*	*	*
IN	8	ASD	75	6	796	405	40	966	ND	10
	9	ASD	240	17	2712	724	19	5424	ND	52
	10	ASD	326	14	1028	441	21	1797	ND	28
	11	ASD	198	26	981	340	26	2330	ND	30
	12	OTCD	591	45	2096	1337	71	12	ND	84
	13	OTCD	1637	555	4590	3375	34	ND	ND	72
	14	OTCD	462	165	948	789	8	1	ND	11
	15	OTCD	2020	769	3143	937	59	10	ND	35
	1	ARGD	302	ND	422	319	329	15	ND	29
	2	ARGD	126	7	194	146	252	9	ND	30
	3	ARGD	92	ND	314	341	470	25	ND	6
	4	ARGD	112	ND	272	293	448	20	ND	8
	5	ASD	253	ND	641	264	ND	872	ND	18
	6	ASD	536	ND	460	231	24	939	ND	38
	7	ASD	431	88	849	356	49	1734	ND	11
	8	ASD	492	ND	338	182	10	312	ND	12
IT	9	ASD	514	ND	444	458	83	162	ND	41
	10	ASD	120	ND	704	426	15	1703	ND	7
	11	OTCD	103	107	1006	616	76	10	ND	24
	12	OTCD	279	36	3	90	6	18	ND	1
	13	OTCD	484	288	1126	586	64	23	ND	45
	14	OTCD	384	108	727	90	22	7	ND	29
	15	OTCD	230	51	1067	322	19	ND	ND	21
	16	OTCD	374	36	975	314	12	ND	ND	8

A: pacientes asintomáticos; IN inicio Neonatal; IT inicio tardío; * pacientes que no fueron diagnosticados en nuestra institución; VR valor de referencia

Resultados.

Se estudiaron un total de 37 pacientes en 33 familias; 2 pares de hermanos y una familia con 3 miembros afectados; 31 pacientes sintomáticos (15 con presentación neonatal y 16 con presentación tardía) y 6 con tamiz neonatal positivo.

La enfermedad diagnosticada con mayor frecuencia fue citrulinemia tipo 1 con 17 pacientes (46%), seguida por la deficiencia de OTC con 10 pacientes (27%), de los cuales 4 eran mujeres y 6 hombres, la deficiencia de ARG1 con 7 pacientes (19%) y la deficiencia de ASL con 3 pacientes (8%).

El análisis de los pacientes sintomáticos diagnosticados después de presentar un episodio hiperamonémico (n=31) fue realizado basándose en la edad en la que se presentaron los síntomas clínicos (inicio neonatal < 30 días de vida) e inicio tardío; en el caso de la deficiencia de OTC, fueron diferenciados por el sexo, dada su forma de herencia (ligada al cromosoma X), diferente de los otros DCU.

Edad de presentación y diagnóstico.

Nuestra serie de pacientes muestran ambas formas de presentación clínica (neonatal y tardía). En la figura 13 se muestra la edad en la cual se observaron los primeros síntomas y la edad al diagnóstico. La edad de inicio de síntomas varía entre los diferentes diagnósticos y el tiempo para llegar al diagnóstico después del primer síntoma es diferente dependiendo de la edad de presentación y la enfermedad (Fig. 13).

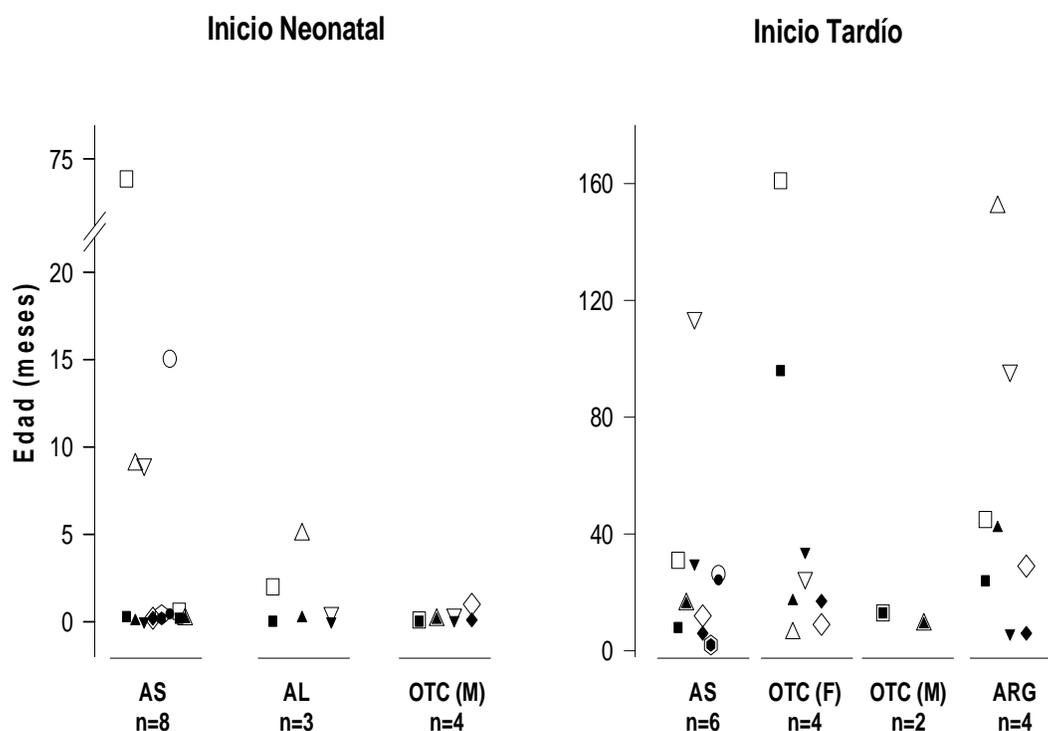


Figura 13. Pacientes con DCU. Edad en que se observaron los primeros síntomas (símbolos rellenos) y edad del diagnóstico (símbolos vacíos)

Signos y Síntomas.

Los síntomas neurológicos prevalecen en ambos grupos, sin embargo en los pacientes de inicio tardío los síntomas son mucho menos marcados; los síntomas gastrointestinales y de conducta se observan con mayor frecuencia en este grupo (Fig. 14).

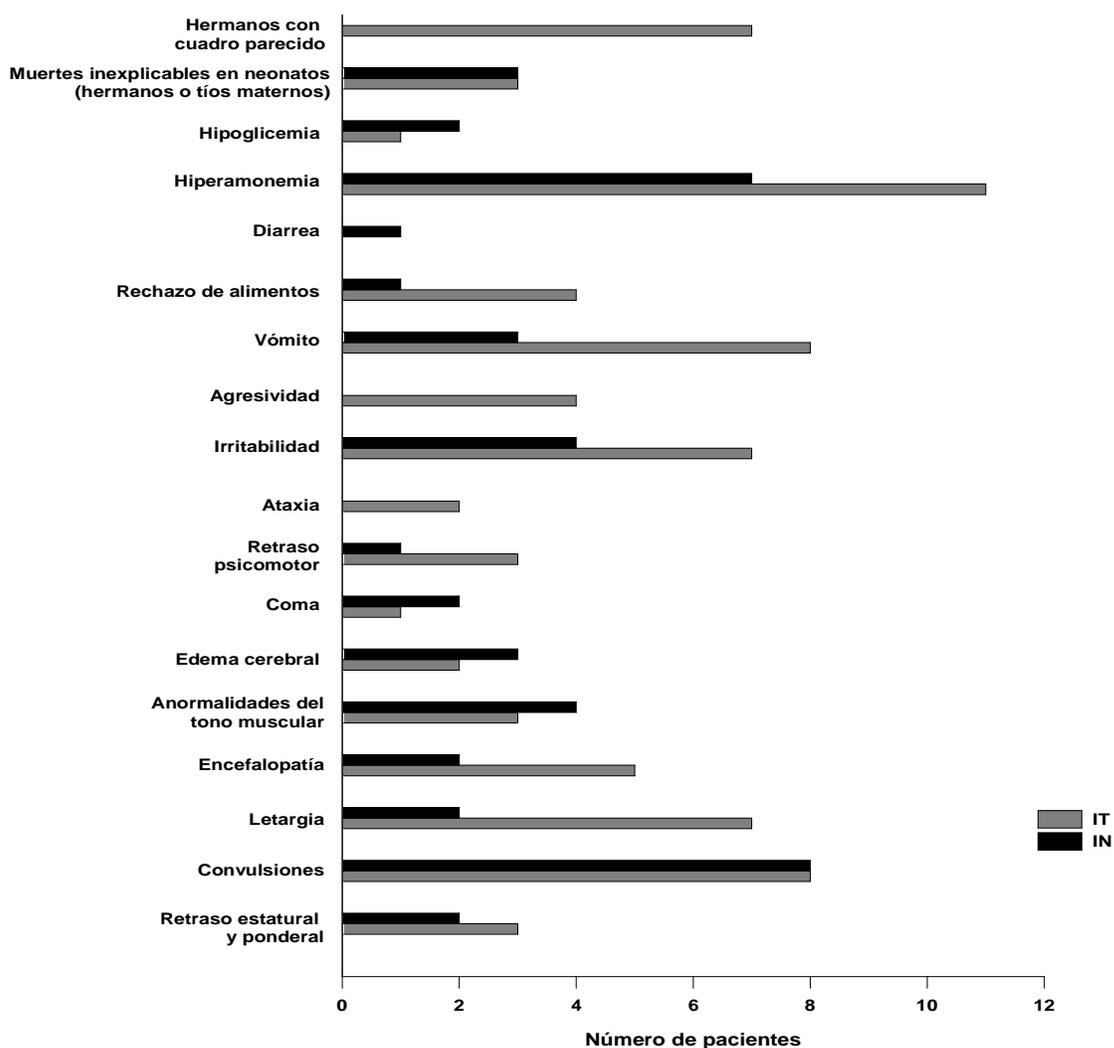


Fig. 14 Características clínicas de los pacientes con DCU en el momento del diagnóstico.

Mortalidad.

De los 31 pacientes sintomáticos 5 no regresaron a sus consultas de seguimiento: excluyendo a estos pacientes (n= 26) tenemos 12 pacientes de inicio neonatal y 14 de inicio tardío, 10 de ellos murieron, 6 de inicio neonatal 50% (3 de los cuales fallecieron antes de que el diagnóstico se realizara) y 4 de inicio tardío (28.5%), obteniendo una mortalidad general del 38%.

Los neonatos tuvieron la peor evolución con solo el 50% de sobrevivientes. Los pacientes que presentaron los primeros síntomas en la infancia tienen la mejor evolución, 10 de 14 (71.5%) permanecen con vida. Dos muertes ocurrieron solo un día después del diagnóstico. El porcentaje de supervivencia está definido como el intervalo de tiempo entre la fecha del diagnóstico y la fecha de muerte. (Fig. 15)

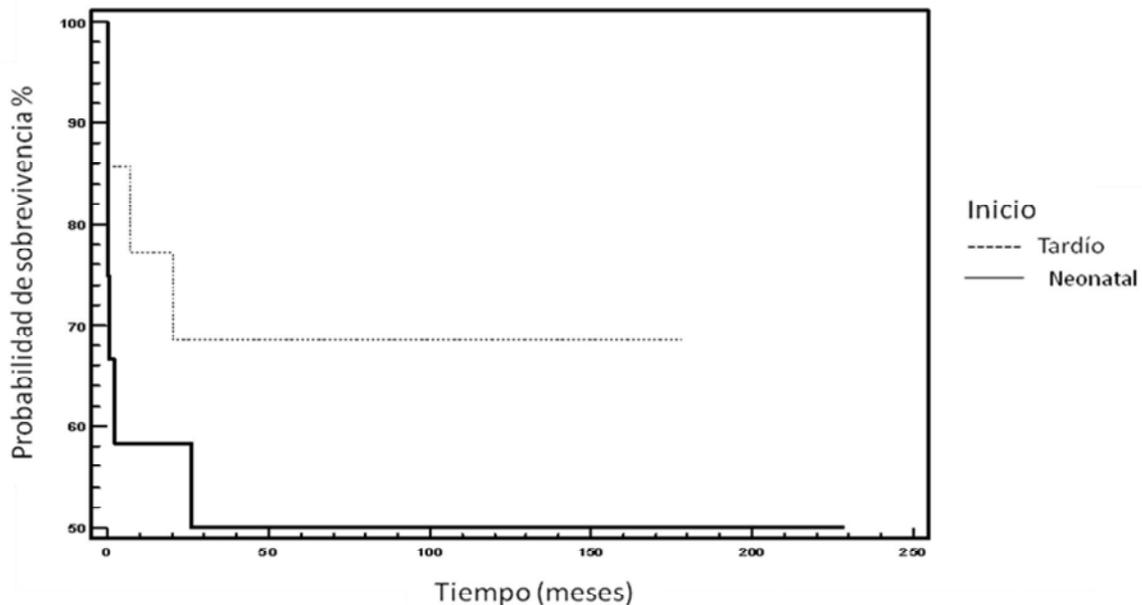


Figura 15. Curva de supervivencia de 24 pacientes con DCU de acuerdo con la formas de presentación.

Evolución Neurológica.

Se analizó la evolución neurológica de los 16 pacientes sobrevivientes sintomáticos y se clasificaron como:

Evolución neurológica

Mala con discapacidad severa: Pacientes con signos neurológicos, con limitaciones en la función intelectual y en el comportamiento adaptativo, con prácticas conceptuales y sociales pobres y que necesitan un alto nivel de supervisión con apoyo diario por el resto de su vida. ⁽⁷⁸⁾

Moderada: Pacientes con signos neurológicos moderados, con limitaciones en la función intelectual y el comportamiento adaptativo, que pueden llevar a cabo el cuidado de sí mismos con supervisión moderada. Son capaces de vivir y funcionar exitosamente en un ambiente supervisado. ⁽⁷⁸⁾

Buena sin discapacidad intelectual: Ausencia de signos neurológicos o retraso psicomotor, pacientes con función intelectual y comportamiento adaptativo normales. ⁽⁷⁸⁾

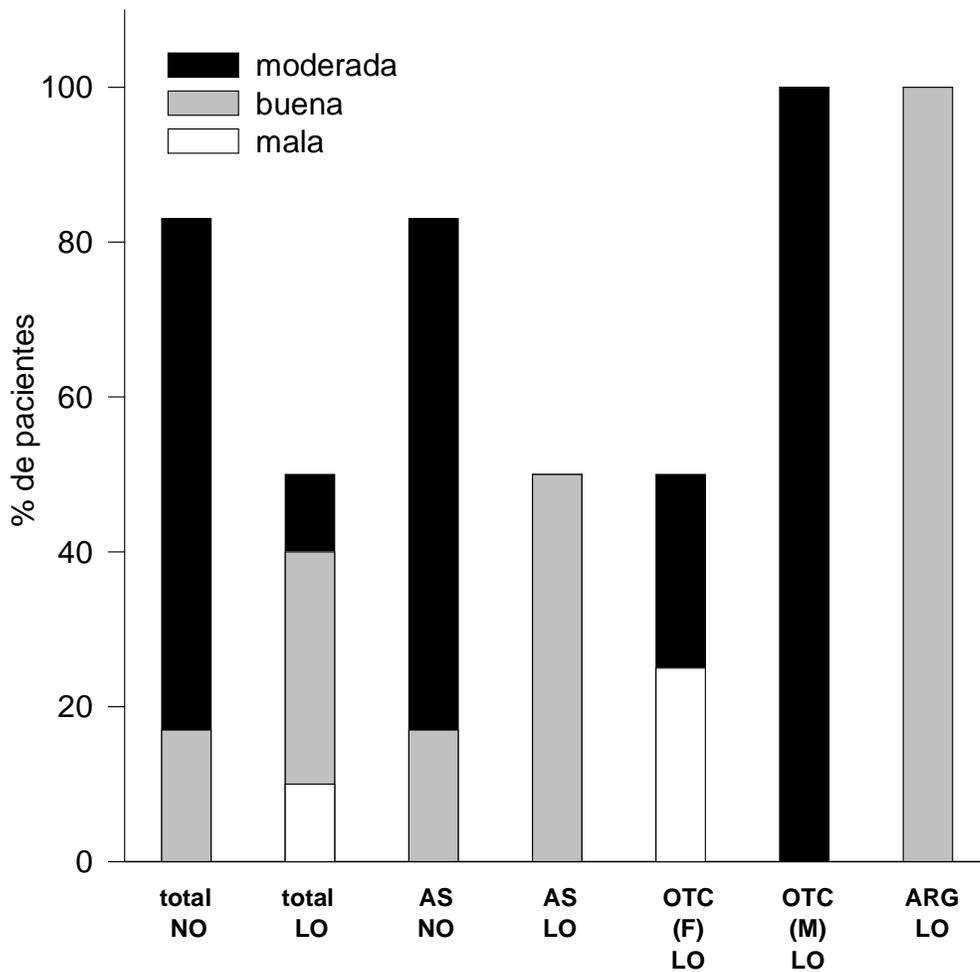


Figura 16. Evolución neurológica que presentaron los sobrevivientes (n=16).

Discusión.

A diferencia de otros estudios reportados, en nuestra cohorte la deficiencia de OTC no es la enfermedad con mayor frecuencia ^(28, 35, 66) en nuestro estudio el defecto más común fue la citrulinemia con 17 pacientes (46%), seguido por la deficiencia de OTC con 10 (27%), 4 de los cuales fueron de sexo femenino y 6 de sexo masculino, la deficiencia de ARG 1 con 7 pacientes (19%) y por último la deficiencia de ASL con 3 pacientes (8%).

En nuestros pacientes la edad promedio en la que se presentaron los primeros síntomas fue de 4 días para el grupo de IN y 20 meses para el grupo de IT. Al momento del diagnóstico la edad promedio en los pacientes fue de 231 días para el grupo de IN y 48 meses el de IT. Estos resultados son similares a los encontrados por otros autores, los cuales reportan que los pacientes con inicio neonatal de la enfermedad generalmente presentan un cuadro clínico típico y catastrófico que facilita el diagnóstico. ^(21, 39)

En 12/16 de nuestros pacientes de IT, el diagnóstico fue realizado varias semanas o meses después de presentar una larga historia de síntomas crónicos y/o cíclicos. Como fue reportado anteriormente por Nassogne et al. ⁽²¹⁾, en los pacientes que pertenecen al grupo de IT los síntomas se presentan de manera más sutil, lo cual dificulta el diagnóstico. En

nuestro estudio, 4/16 de los pacientes de IT, fueron diagnosticados al presentarse los primeros síntomas.

Los pacientes de inicio tardío representan el 43% de toda la cohorte estudiada, cifra un tanto diferente a la que está reportada en la literatura (21, 39, 28, 73), la cual muestra un menor porcentaje con respecto a la forma de inicio neonatal. Nuestros datos también son consistentes con los encontrados por otros autores en cuanto a que los DCU no son enfermedades que se presentan principalmente en el periodo neonatal. (21, 28, 71)

En los pacientes sintomáticos los episodios de hiperamonemia se caracterizaron por presentar vómito, convulsiones y trastornos de la conciencia, los síntomas neurológicos fueron predominantes en ambos grupos, siendo mucho menos severos en los pacientes de presentación tardía. Por otro lado, los síntomas gastrointestinales fueron más prevalentes en el grupo de IT. Todos estos datos son de gran importancia y deben alertar al médico sobre la posibilidad de tener un paciente con un DCU y proceder a mandar estudios confirmatorios (Fig. 14).

A diferencia de otras series reportadas en las que se describen las alteraciones del estado mental y la conciencia como signos predominantes en los pacientes (30, 31), en nuestra cohorte, el signo más común para ambos grupos fueron las convulsiones. Una posible

explicación para este hecho es que las alteraciones de la conciencia y el estado mental son síntomas difíciles de percibir por el médico y por los padres y son hechos que probablemente fueron subestimados, sin embargo, las crisis convulsivas son los acontecimientos más obvios y ostentosos, lo que conlleva a los padres a visitar al doctor, dando pie a la sospecha de algún trastorno y por lo tanto a la búsqueda de un diagnóstico.

La mortalidad en los pacientes de inicio neonatal está reportada como alta en comparación con los pacientes de inicio tardío^{28, 31, 72}, no obstante en nuestra población de estudio la mortalidad para el grupo de los pacientes de inicio tardío fue severa (28.5%). En nuestro país existen pocos hospitales y médicos con la capacidad de admitir y tratar a los pacientes con hiperamonemia; este hecho podría explicar el porcentaje de mortalidad encontrado en este grupo.

La deficiencia de OTC de inicio neonatal en los pacientes de sexo masculino fue muy severa y todos murieron muy rápidamente, presentando una sobrevivencia que fue de 3 días a 26 meses, coincidiendo con lo reportado por otros autores.^(1, 39) La sobrevivencia de los pacientes con OTCD de inicio tardío, fue de 29 a 178 meses. Esta diferencia de sobrevivencia entre ambos grupos puede deberse a la severidad del cuadro clínico que se presenta en los pacientes con presentación neonatal de la enfermedad.

Basados en reportes de la literatura ⁽⁷²⁾, la evolución neurológica de los sobrevivientes en nuestra serie en general fue moderada (Fig. 16), este hecho se relaciona con el retraso en obtener el diagnóstico correcto que permita la implementación del tratamiento. El 69% de los pacientes presentó secuelas de moderadas a severas y solo 5 de los 16 pacientes (31%) de este grupo presentó un desarrollo neurológico bueno. Las secuelas neurológicas y la gravedad de las mismas podrían ser consecuencia tanto de la concentración de amonio en el momento del diagnóstico como de la duración del cuadro de hiperamonemia. ^(48, 73) En el grupo de pacientes con presentación neonatal de la enfermedad la concentración más alta detectada en el momento del diagnóstico fue de 543.7 μM y en los pacientes del grupo de presentación tardía se encontraron valores menores (302 μM). Esto enfatiza la necesidad de diagnosticar a los pacientes antes de que presenten el cuadro severo de Hiperamonemia.

La mayoría de los pacientes que presentaron el cuadro de hiperamonemia fueron tratados con diferentes dosis de benzoato de sodio (250 – 500 mg/Kg/día), 4 estaban en diálisis y sólo uno recibió fenilbutirato. Cabe mencionar que este último medicamento no está disponible en nuestro país aún siendo el más eficaz para combatir la hiperamonemia, hecho que complica el tratamiento y por lo tanto la conservación de la homeostasis de los pacientes.

En cuanto a la administración de nutrimentos, los pacientes fueron tratados de formas muy variables, la mayoría de ellos fueron sometidos a una dieta restringida en proteínas tan pronto los médicos detectaban el cuadro de hiperamonemia, sin embargo, una vez estabilizados no todos recibieron una dieta calculada por expertos en nutrición metabólica ni suplemento con las fórmulas especiales que contienen los aminoácidos esenciales, las cuales son clave fundamental para el desarrollo físico y mental de estos niños.

Todos ellos mostraron algún grado de desnutrición proteico-calórica en el momento del diagnóstico.

Al realizar la interpretación del perfil de aminoácidos de un paciente hiperamonémico, los médicos deben estar conscientes de que se tiene que considerar el contexto clínico ej. Estado nutricional, si al paciente se le realizaron procedimientos invasivos como hemodiálisis o hemofiltración o si la muestra se colectó durante el periodo de ayuno.

En nuestra cohorte, se encontró un hallazgo inusual en el paciente número 12 el cual mostró un valor extremadamente bajo de Gln y valores bajos de todos los aminoácidos restantes, esto puede explicarse por el manejo terapéutico –nutricional que lleva el paciente.

Es bien sabido que el manejo nutricional de los DCU requiere el retiro inmediato de proteínas de 24 – 48 horas y que un período de restricción

mayor puede inducir catabolismo que empeora la hiperamonemia y conduce a otros problemas nutricionales. Esto en ocasiones confunde la interpretación del perfil de aminoácidos e incluso puede hacer que el médico descarte la presencia de un DCU.

Morton et al.⁽⁸³⁾ reportó que la deficiencia de aminoácidos esenciales por periodos prolongados causados por una excesiva restricción de proteínas causa deficiencias en el crecimiento, lesiones en la piel y otros daños como desnutrición, la cual hace susceptible al paciente a infecciones y eventos de inmunodeficiencias que pueden llegar a ser incluso más peligrosos que la enfermedad original. Estos hechos deben ser considerados por los médicos para evitar la desnutrición que es causada por restricción prolongada de proteínas.

Conclusiones.

Se realizó la evaluación de 37 pacientes con DCU atendidos en el INP durante un periodo de 17 años. El estudio de los datos clínicos y de laboratorio de estos pacientes nos permite llegar a las siguientes conclusiones:

- La deficiencia de ornitín transcarbamilasa fue el DCU más frecuente en la cohorte estudiada.
- La mortalidad en los pacientes de IN es más elevada que en el grupo de IT.
- Los métodos de diagnóstico para estas enfermedades utilizan tecnología moderna (HPLC, CG/MS y MS/MS), su interpretación analítica y bioquímica requiere de personal altamente especializado. En México existen muy pocos centros para el diagnóstico y seguimiento de pacientes con EIM que cuenten con Químicos capacitados en el arte de interpretar los perfiles bioquímicos.
- La inclusión de estas enfermedades en el programa de tamiz neonatal nacional existente permitiría la detección oportuna de las formas de inicio neonatal de los DCU.
- Los EIM en México están poco estudiados, esto es una oportunidad para aportar conocimiento a este campo en la búsqueda de nuevos biomarcadores que permitan hacer un

diagnóstico oportuno, principalmente en las formas de inicio tardío de la enfermedad.

- Una vez establecido el tipo de DCU, se debe brindar el asesoramiento genético a los padres de los pacientes con el fin de que estén informados acerca del modo de herencia de la enfermedad.
- La frecuencia de los DCU es baja en comparación con otras enfermedades neonatales, sin embargo, los pacientes con estos defectos genéticos existen. Los métodos de diagnóstico y el tratamiento se encuentran disponibles en nuestro país. Por lo anterior consideramos necesario establecer en México guías de práctica clínica e información integral para los profesionales de la salud que son el primer contacto con estos pacientes para que sepan canalizarlos a nuestro centro de referencia.

Bibliografía.

1. Childs B, Valle D, Jiménez-Sánchez. The inborn error and biochemical individuality. En: The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease. Scriver C, Beaudet A, Sly W, Valle D. (Eds). McGraw Hill Inc, 8ª edición, New York, EUA, 2001: 155- 166.
2. Ruiz M, Santana C. Enfoque práctico para el diagnóstico de los errores congénitos del metabolismo. Acta Pediatr Española 1998; 56: 167-189.
3. McCabe C. Newborn screening as a model for population screening. Molecular Genetics and Metabolism 2002; 75: 299-307.
4. Jiménez G, Childs B, Valle D. The Effect of Mendelian disease on human health. En: The Metabolic and Molecular Basis of Inherited Disease. Scriver C, Beaudet A, Sly W, Valle D (Eds). McGraw-Hill Inc., 8ª Edición, New York, EUA, 2001: 167-174.
5. Fernández LC. Elevada mortalidad y discapacidad en niños mexicanos con enfermedad de orina con olor a jarabe de arce. Tesis de Licenciatura, Facultad de Química, UNAM, 2008: 6, 8, 12, 23.
6. Couce ML, Fernández JR, Fraga JM. Manifestaciones en el periodo neonatal de los errores innatos del metabolismo. Rev Cubana Pediatr 2006, vol. 98: 3, 6, 8,10-15.

7. Rebage M, López J, Baldellou A. Errores congénitos del metabolismo en el período neonatal. En: Sanjurjo: 2007; 520-537.
8. Baldellou A. Diagnóstico y tratamiento de las enfermedades metabólicas hereditarias. Ergon 2001: 53-66.
9. Méndez C, Zaldivar C, González A. Errores innatos del metabolismo: Enfermedades lisosomales. Rev Cubana Pediatr 2002; 74: 68-76.
10. Fernández J, Saudubray J. Diagnostic procedures: Function test and postmortem protocols. En: Inborn Metabolic Diseases. Diagnosis and treatment. Springer V, 2ª edición 1995:41-46.
11. Fernández L. Errores innatos del metabolismo. Aspectos preventivos, Vox Pediatr 1999; 7: 49-55.
12. Couce ML, Fernández JL, Fraga JM. Manifestaciones en el periodo neonatal de los errores innatos del metabolismo. Protocolos diagnósticos y terapéuticos en pediatría; 2007: 204-220.
13. Gómez M, Danglot C, Vega L. Pautas para el diagnóstico temprano de los errores innatos del metabolismo. Revista Mexicana de Pediatría; 73: 139–147.
14. Velázquez A, Vela M, Cicerón I, Ibarra I, Pérez M, Olivares Z, Jiménez G. Diagnosis of Inborn Errors of Metabolism. Archives of Medical Research 2000; 31: 145–150.
15. Dalmau J, Aranda L, Vázquez RM. Trastornos del ciclo de la urea. Pediatric Integral 2002; 6:713-720.

16. Berg L, Jeremy M, Tymoczko, John L, Stryer L. Biochemistry. Sexta edición. cap 23: 425-436.
17. Stryer L. Bioquímica. Edit. Reverté. 3^{ra} edición 1988: 501-504.
18. Mathews C, Ahern KG. Bioquímica. Edit. Pearson. Tercera Edición. 2003: 814–816.
19. Devlin T. Bioquímica. Edit. Reverté. 4^{ta} Edición 2004: 787-790.
20. Ibarra I, Fernández C, Vela M. Clinical and biochemical characteristics of urea cycle disorders patients in a developing country. Clin Biochem 2010: 1-4.
21. Asad M, Brendan L. Urea-cycle disorders as a paradigm for inborn errors of hepatocyte metabolism. Trends in Molecular Medicine 2002; 8: 34-38.
22. Nassogne M, Heron B, Touati G, Rabier D, Saudubray J. Urea cycle defects: Management and outcome. J. Inherit Metab Dis 2005; 28:407–411.
23. Scaglia F, Carter S, Brien W, Leea B. Effect of alternative pathway therapy on branched chain aminoacid metabolism in urea cycle disorder patients. Mol Genet Metab 2004; 81: 79–85.
24. George J, Siegel BW, Agranoff R. Basic neurochemistry .Molecular, cellular, and medical aspects. Sexta edición. Cap. 10: 168-189.
25. Carretero M. Trastornos del ciclo de la urea. Avances científicos. Offarm 2004;23: 13-19.

26. Brusilow SW, Horwich AL. Urea cycle enzymes. In the metabolic and molecular bases of inherited disease. Ed. New York, Mc Graw-Hill 1995: 1187-1232.
27. Batshaw ML. Inborn errors of urea synthesis. *Ann Neurol* 1994; 35: 133-141.
28. Tuchman M, Lee B, Lichter – Konecki U. et al. Urea cycle Disorders Consortium of the Rare Diseases Clinical Research Network. Cross-sectional multicenter study of patients with urea cycle disorders in the United States. *Mol Genet Metab* 2008; 94: 397–402.
29. Steiner RD, Cederbaum SD. Laboratory evaluation of urea cycle disorders. *J Pediatr* 2001; 138: 21-29.
30. Sniderman L, Singh R, Rhead W, Smith W, Marshall L. Genetic Counseling Issues in Urea Cycle Disorders. *Crit Care Clin* 2005; 21: 37–44.
31. Summar ML. Presentation and Management of Urea Cycle Disorders outside the Newborn Period. *Crit Care Clin* 2005; 21: 43-49.
32. Sweet KM, Phelan MC, Tarleton JC. Counseling aids for geneticists. 3^a edición. Greenwood 1995: 46-55.
33. Pintos G, Briones MP, Marchante C, Sanjurjo P, Vilaseca MA. Protocolo para el diagnóstico, tratamiento y seguimiento de los trastornos del ciclo de la urea. *An Esp Pediatr* 1996; 2: 1-8.

34. Marcus A, Krupp L, Carmargo C. Diagnóstico clínico y de laboratorio. Edit. El manual moderno. 8ª edición 2007: 87 - 93.
35. Caldovic L, Morizono H, Tuchman M. Mutations and Polymorphisms in the Human N-Acetylglutamate Synthase (NAGS) Gene. Human mutation 2007: 1-6.
36. Ogino W, Takeshima Y, Nishiyama A. Mutation Analysis of the Ornithine Transcarbamylase (OTC) Gene in Five Japanese OTC Deficiency Patients Revealed Two Known and Three Novel Mutations Including a Deep Intronic Mutation. J Med Sci 2007;53: 229–240.
37. Al-Sayed M, Alahmed S, Alsmadi O, Khalil H, Rashed F. Identification of a common novel mutation in Saudi patients with argininosuccinic aciduria. J Inherit Metab Dis 2005; 28: 877–883.
38. Martín I. Una aproximación a los desórdenes hereditarios del ciclo de la urea en el hombre. Rev Biomed 2005; 16:193-206.
39. Singh RH. Nutricional management of patients with urea cycle disorders. J Inherit Metab Dis 2007; 30: 880-87.
40. Summar ML, Dobbelaere D, Brusilow S, Lee B. Diagnosis, symptoms, frequency and mortality of 260 patients with urea cycle disorders from a 21 year multicentre study of acute hyperammonaemic episodes. Acta Paediatr 2008; 97:1420 – 1425.

41. Nicolaides P, Liebsch D, Dale N, Leonard J, Surtees R. Neurological outcome of patients with Ornithine carbamoyltransferase deficiency. *Clin Chem*. 1999; 45: 995-1001.
42. Tcherkasa YV, Kartsovab LA, Krasnovac IN. Analysis of amino acids in human serum by isocratic reversed-phase high-performance liquid chromatography with electrochemical detection. *Journal of Chromatography* 2001; 913: 303–308.
43. Salerno C, Crifò C. Diagnostic value of urinary orotic acid levels: applicable separation methods. *Journal of Chromatography* 2002; 781: 57–71.
44. Tuchman M. Inherited hyperammonemia. En: Blau N, Duran M, Blaskovics ME, editores. *Physician's guide to the laboratory diagnosis of metabolic diseases*. Chapman & hall medical 1996. p. 209 -222.
45. Steiner R, Stephen D. Laboratory evaluation of urea cycle disorders. *The journal of Pediatrics* 2001: 290-302.
46. Wilcox WR, Cederbaum SD. Amino acid metabolism. En: Rimoin E, Connor JM, Pyeritz BR, editores. *Principles and practice of medical genetics*. 4a Ed. New York: Churchill Livingstone 2002; 2: 2405-40.
47. Hayakawa M, Kato Y, Takahashi R, and Tauchi N. Case of citrullinemia diagnosed by DNA analysis: including prenatal genetic diagnosis from amniocytes of next pregnancy. *Pediatr Int* 2003; 45: 196-8.

48. Haberle J, Koch HG. Genetic approach to prenatal diagnosis in urea cycle defects. *Prenat Diagn* 2004; 24: 378-83.
49. Endo F, Matsuura T, Yanagita K, Matsuda J. Clinical manifestation of inborn errors of the urea cycle and related metabolic disorders during childhood. *J Nutr* 2004; 13: 1605-9.
50. Online Mendelian Inheritance in Man: Arginosuccinate lyase, 608310. Disponible en: URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/OMIM>. Consultado el 9 de noviembre de 2009.
51. Chow SL, Gandhi V, Krywawych S, Clayton PT, Leonard JV, Morris AM. The significance of a high plasma ammonia value. *Arch Dis Child* 2004; 89:585–586.
52. Hoogenraad NJ, Mitchell JD, Teresa NA, Sutherland M. A Detection of carbamyl phosphate synthetase 1 deficiency using duodenal biopsy samples. *Archives of Disease in Childhood* 1980; 55: 292-295.
53. Gropman AL, Batshaw ML. Cognitive outcome in urea cycle. *Mol Genet Metab* 2004; 81: 58-62.
54. Smith W, kishnani P, Lee B. Urea Cycle disorders: Clinical Presentation outside the Newborn Period. *Critical Care Clinics* 2005; 21: 9–17.
55. Bosoi CR, Rose CF. Identifying the direct effects of ammonia on the brain. *Metabolism Brain Diseases* 2009; 24:95-102.

56. . Leonard JV, Morris AA. Urea cycle disorders. *Semin Neonatal* 2002; 7: 27-35.
57. Clinical Consequences of Urea Cycle Enzyme Deficiencies and Potential Links to Arginine and Nitric Oxide Metabolism. American Society for Nutritional Sciences 2004: 0022-3166.
58. Nussbaum R, Boggs BA, Beaudet A, Doyle S, Potter JL, Brien WE. New Mutation and Prenatal Diagnosis in Ornithine Transcarbamylase Deficiency. *Am J Hum Genet* 1986; 38:149-158.
59. P Nicolaidis, D Liebsch, N Dale, J Leonard y R Surtees, Neurological outcome of patients with Ornithine carbamoyltransferase deficiency. *Arch Dis Child* 2002; 86: 54-56.
60. Wraith JE. Ornithine carbamoyltransferase deficiency. *Arch Dis Child* 2001; 84:84–88.
61. Grompe M, Caskey T, Fenwick RG. Improved Molecular Diagnostics for Ornithine Transcarbamylase Deficiency. *Am J Hum Genet* 1991; 48:212-222.
62. Choi JH, Yoo W. Two cases of citrullinemia presenting with stroke. *J Inherit Metab Dis* 2006; 29: 182–183.
63. Raimann E, Cornejo V, Mellibosky D, Godoy X, Colombo M. Citrullinemia. *Rev Chil Pediatr* 1994; 65 (4): 215-218.
64. Haberle J, Pauli S, Schmidt E, Schulze B, Berning C, Koch HG. Mild citrullinemia in Caucasians is an allelic variant of argininosuccinate

- synthetase deficiency (citrullinemia type 1). *Mol Genet Metab* 2003; 80: 302–306.
65. Enns GM, Berry S, Berry G, Rhead W, Brusilow S, Hamosh A. Survival after Treatment with Phenylacetate and Benzoate for Urea-Cycle Disorders. *N Engl J Med* 2007; 356:2282-92.
66. Trevisson E, Salviati L, Baldoim MC, Toldo I, Casarin A, Sacconi S, Cesaro L, Basso G, Burlina A. Argininosuccinate Lyase Deficiency: Mutational Spectrum in Italian Patients and Identification of a Novel ASL Pseudogene. *Human mutation* 2007: 1-9.
67. Stadler S, Gempel K. Detection of neonatal argininosuccinate lyase deficiency by serum mass spectrometry. *J Inherit Metab Dis* 2001; 24: 370-378.
68. Diukman R, y Goldberg J. Prenatal Diagnosis of Inherited Metabolic Diseases. *Western Journal of medicine* 1993: 159-172.
69. Deignan JL, Cederbaum SD, Grody WW. Constrasting features of urea cycle disorders in human patients and knockout mouse models. *Mol Genet Metab* 2008; 93: 7-14.
70. Endo F, Matsuura T, Yanagita K, Matsuda I. Clinical Manifestation of Inborn Errors of the Urea Cycle and Related Metabolic Disorders during childhood. *Journal Pediatr* 2003; 160: 220-236.
71. Brusilow SW, Maestri NE. Urea cycle disorders: diagnosis, pathophysiology and therapy. *Adv Pediatr* 1996; 43: 127-170.

72. Wilcken B. Problems in the management of urea cycle disorders. *Mol Genet Metab* 2004; 81: 86-91.
73. Leonard J. The nutritional management of urea cycle disorders. *J Pediatr* 2001; 138, 40-45.
74. Krivitzy L, Babikian T, Lee NH, Burk- Paull KL, Batahaw ML. Intellectual, adaptive, and behavioral functioning in children with urea cycle disorders. *Pediatr Res* 2009; 66: 96-101.
75. Bachmann C. Outcome and survival of 88 patients with urea cycle disorders: a retrospective evaluation. *Eur J Pediatr* 2000; 162: 410-416.
76. Beckman and Coulter. Website. Disponible en <http://www.beckmancoulter.com/search/parametric.asp?QueryText=ammonia&formSubmitted=1&QuerySubmit=true>. Consultado Octubre 15, 2009.
77. Uchino T, Endo F, Matsuda I. Neurodevelopmental outcome of long-term therapy of urea cycle disorders in Japan. *J. Inher Metab Dis* 1998; 21: 151-159.
78. Enns GM, Berry S, Berry G, Rhead W, Brusilow S, Hamosh A. Survival after Treatment with Phenylacetate and Benzoate for Urea-Cycle Disorders. *N Engl J Med* 2007; 356:2282-92.
79. Feillet F. y Leonard J. V. Alternative pathway therapy for urea cycle Disorders. *J. Inher. Metab. Dis.* 21 (Suppl 1) (1998) 101-111.

80. Summar ML, Barr F, Dawling S, Smith W, Lee B, Singh R, Rhead W, King L, Christman B. Unmasked Adult-Onset Urea Cycle Disorders in the Critical Care Setting. *Crit Care Clin* 2005; 21: 1–8.
81. Vivian E., Shih M.D. Alternative-Pathway Therapy for Hyperammonemia. *The new england journal of medicine* 356 ;22, may 31, 200.
82. Schalock RL, Luckasson RA, Shogren KA, et al. The renaming of mental retardation: understanding the change to the term intellectual disability. *Intellect Dev Disabil* 2007; 45: 116-124.
83. Morton DH, Strauss KA, Robinson DL, Puffenberger EG, Kelley RI. Diagnosis and treatment of maple syrup urine disease: a study of 36 patients. *Pediatrics* 2006; 6: 998-1007.