

**EVALUACIÓN DE UNA ESTRATEGIA METODOLÓGICA PARA TAMIZAJE DE
ERRORES INNATOS DEL METABOLISMO EN UNA POBLACIÓN
COLOMBIANA**

ALISSON GERALDINE POVEDA GUTIERREZ

TRABAJO DE GRADO

Presentado como requisito parcial

Para optar al título de

BACTERIÓLOGA

PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA

FACULTAD DE CIENCIAS

CARRERA DE BACTERIOLOGÍA

BOGOTÁ, D.C.

NOVIEMBRE DE 2013

NOTA DE ADVERTENCIA

Artículo 23 de la Resolución No 13 de Julio de 1946.

“La universidad no se hace responsable de los conceptos emitidos por sus alumnos en sus proyectos de grado. Sólo velará porque no se publique nada contrario al dogma y la moral católica y porque los trabajos no contengan ataques o polémicas puramente personales, antes bien que se vea en ellos el anhelo de buscar la verdad y la justicia”.

*Artículo 23 de la Resolución No. 13,
del 6 de julio de 1946, por la cual se
reglamentó concerniente a Tesis y
Exámenes de Grado en la Pontificia
Universidad Javeriana.*

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por permitirme cumplir cada una de mis metas con satisfacción y darme la sabiduría suficiente para afrontar cada reto en mi vida profesional,

A mis padres, quienes con su esmero, dedicación y amor me han apoyado a lo largo de este camino y han hecho hasta lo imposible por permitirme cumplir este gran logro, A ELLOS ESTE GRAN TRIUNFO!

A la Pontificia Universidad Javeriana, por ser el lugar donde las pequeñas ideas son capaces de construir grandes profesionales y ante todo grandes seres humanos,

Al Doctor Reggie García, por haberme dado la oportunidad de ser parte de sus ideas, quien nunca dudó de mis capacidades, y quien ante todo me brindó un apoyo incondicional en este arduo camino,

A la Doctora Martha Bermúdez, por transmitirme cada uno de sus conocimientos con gran paciencia y por permitirme ser parte de este gran proyecto.

TABLA DE CONTENIDOS

	CONTENIDO	Pág.
1-	INTRODUCCIÓN	11
2-	MARCO TEÓRICO	14
2,1	ERRORES INNATOS DEL METABOLISMO	14
2,2	AMINOACIDOPATÍAS	15
2,2,1	FENILCETONURIA (PKU)	15
2,2,2	GENÉTICA	
2,2,3	FISIOPATOLOGÍA	16
2,2,4	MANIFESTACIONES CLÍNICAS	16
2,2,5	DIAGNÓSTICO	17
2,2,6	TRATAMIENTO	17
2,2,7	DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL	17
2,3	HOMOCISTINURIA	18
2,3,1	GENÉTICA	18
2,3,2	METABOLISMO DE LA HOMOCISTEÍNA	19
2,3,3	FISIOPATOLOGÍA	21
2,3,4	MANIFESTACIONES CLÍNICAS	22
2,3,5	DIAGNÓSTICO	23
2,3,6	TRATAMIENTO	24
2,3,7	DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL	25
	ENFERMEDAD DE ORINA CON OLOR A JARABE DE	
2,4	ARCE (MSUD)	25
2,4,1	GENÉTICA	25
2,4,2	FISIOPATOLOGÍA	26
2,4,3	MANIFESTACIONES CLÍNICAS	27
2,4,4	DIAGNÓSTICO	28
2,4,5	TRATAMIENTO	28
	ERRORES INNATOS DEL METABOLISMO DE LOS	
2,5	CARBOHIDRATOS	29
2,5,1	GALACTOSEMIA	30

	2,5,2	GENÉTICA	30
	2,5,3	FISIOPATOLOGÍA	30
	2,5,4	MANIFESTACIONES CLÍNICAS	31
	2,5,2	DIAGNÓSTICO	32
	2,5,6	TRATAMIENTO	32
		ALTERACIONES DEL METABOLISMO DE LAS PURINAS Y	
	2,6	PIRIMIDINAS	32
	2,6,1	DÉFICIT DE ADENILOSUCCINATO LIASA	33
	2,6,2	GENÉTICA	33
	2,6,3	FISIOPATOLOGÍA	34
	2,6,4	MANIFESTACIONES CLÍNICAS	35
	2,6,5	DIAGNÓSTICO	36
	2,6,6	TRATAMIENTO	37
3-		FORMULACIÓN DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN	
	3,1	FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	38
	3,2	JUSTIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN	39
4-		OBJETIVOS	40
	4,1	OBJETIVO GENERAL	
	4,2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	
5-		MATERIALES Y MÉTODOS	
	5,1	DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN	41
	5,1,1	POBLACIÓN EN ESTUDIO Y MUESTRA	42
	5,2	MÉTODOS	
	5,2,1	FASE 1	43
	5,2,2	FASE 2	44
	5,3	ESTUDIO BIOQUÍMICO	
	5,3,1	Test de Cloruro férrico	45
	5,3,2	Test de Nitroprusiato de sodio	45
	5,3,3	Test de Dinitrofenilhidrazina	45
	5,3,4	Test de Benedict	45

5,3,5	Test de Saicar	46
5,4	ESTUDIO BIOQUÍMICO	
5,4,1	Cromatografía en capa fina	46
5,4,1,1	Reacciones coloreadas de aminoácidos	47
5,5	5,5 RECOLECCIÓN DE LA INFORMACIÓN	
6-	RESULTADOS	
6,1	FASE 1	49
6,2	FASE 2	52
7-	DISCUSIÓN	57
8-	CONCLUSIONES	63
9-	PERSPECTIVAS	64
10-	BIBLIOGRAFÍA	65
11-	ANEXOS	
11,1	Protocolo coloración de Cloruro férrico	68
11,2	Protocolo cloración de Nitroprusiato de sodio	68
11,3	Protocolo coloración de Dinitrofenilhidrazina	69
11,4	Protocolo test de Benedict	69
11,5	Protocolo test de Saicar	70
11.6	Consentimiento informado recién nacidos Clínica El Bosque	71
11.7	Documento de autorización de procedimientos	76

LISTA DE FIGURAS

	Pág
Figura 1. Vía metabólica de la Fenilalanina.....	15
Figura 2. Vía metabólica de la Homocisteína. (Trans-sulfuración y Remetilación).....	20
Figura 3. Estructura química de la homocisteína.....	21
Figura 4. Vías metabólicas de los aminoácidos ramificados.....	26
Figura 5. Vía de síntesis de las purinas.....	35
Figura 6. Esquema de metodología FASE 1.....	43
Figura 7. Esquema de metodología FASE 2.....	44
Figura 8. Reacción de aminoácidos con la ninhidrina.....	47
Figura 9. Resultados recolección de muestras de orina en neonatos de la Clínica El Bosque.....	50

Figura 10. Resultados de procesamiento de muestras obtenidas en neonatos de la Clínica El Bosque.....	50
Figura 11. Población en estudio (FASE 1).....	51
Figura 12. Justificación rechazo de participación en el estudio (FASE 1).....	51
Figura 13. Resultados recolección de muestras de orina en escolares con bajo rendimiento académico Colegio Distrital Agustín Fernández (Bogotá).....	52
Figura 14. Distribución recolección de las muestras de orina de acuerdo a la Sede (A, B, C).....	53
Figura 15. Resultados de procesamiento de muestras obtenidas en escolares con bajo rendimiento escolar en el colegio Agustín Fernández.....	54
Figura 16. Pruebas positivas para el Test de Cloruro Férrico.....	54
Figura 17. Resultados Test de SAICAR.....	56

RESUMEN

Los Errores Innatos del Metabolismo (EIM) son desordenes bioquímicos de origen genético causados por disfunciones enzimáticas involucradas en alguna vía metabólica. Dependiendo de cuál sea la función alterada, puede producirse un aumento del sustrato no metabolizado, la aparición de sustancias producidas a partir de dicho sustrato por vías alternas, o bien fenómenos derivados de la menor formación del producto final o de su ausencia. A pesar de que cada uno de los EIM tiene una incidencia muy baja, la incidencia acumulada para el conjunto de todos ellos es de 1/500 recién nacidos vivos. Debido a que en la actualidad en Colombia sólo se realiza tamizaje neonatal para hipotiroidismo congénito se hace necesaria la búsqueda de nuevas estrategias de tamizaje de EIM en la población colombiana.

El objetivo de este trabajo fue evaluar una nueva estrategia metodológica a partir de muestras de orina para el tamizaje de Homocistinuria en neonatos de la clínica El Bosque y Fenilcetonuria, Homocistinuria, Galactosemia, Enfermedad de la orina con olor a Jarabe de Arce y Déficit de la enzima adenilosuccinato liasa en individuos escolarizados con bajo rendimiento académico en el colegio distrital Agustín Fernández en la ciudad de Bogotá, utilizando pruebas bioquímicas por métodos colorimétricos estandarizados previamente. Los resultados demostraron que la estrategia metodológica implementada en neonatos no es viable debido a la alta complejidad de la recolección de las muestras de orina en dicha población, mientras que en la población escolarizada con bajo rendimiento académico se obtuvo una eficacia del 63.4% en la recolección de muestras óptimas que posteriormente fueron procesadas arrojando 2 muestras positivas para el test de Cloruro férrico y 14 para Saicar, postulándose como una metodología aplicable al tamizaje en dicha población.

1. INTRODUCCIÓN

Los Errores Innatos del metabolismo (EIM) son desordenes bioquímicos de origen genético en los que se producen disfunciones enzimáticas involucradas en alguna vía metabólica (aminoácidos, carbohidratos, ácidos orgánicos y lípidos) de carácter específico, en su mayoría con patrón de herencia autosómico recesivo, por lo que existe un riesgo del 25% que la descendencia resulte afectada. En la actualidad se han descrito alrededor de 800 EIM, de los cuales muchos son muy poco frecuentes y están prácticamente sin diagnosticar. El diagnóstico precoz de los EIM favorece la intervención médica temprana, lo que permite disminuir significativamente sus efectos y sintomatología clínica asociada reduciendo de esta manera la mortalidad y morbilidad neonatal (1,2).

El tamizaje es la identificación entre individuos aparentemente sanos de aquellos que están en riesgo de sufrir una enfermedad o desorden metabólico que justifica la aplicación de una prueba para tomar medidas de acción preventiva. Las cifras reportadas según la OMS (2005) para las muertes neonatales son preocupantes, alrededor de 10,6 millones de niños mueren cada año. Entre las diferentes poblaciones que hacen parte de la niñez, los recién nacidos se ha reportado que corren el mayor riesgo de mortalidad con cifras alrededor de los 3,3 millones al año; más de 10.000 recién nacidos mueren al día a nivel mundial siendo este un punto de partida para el planteamiento de nuevas estrategias de fácil ejecución y acceso para el tamizaje neonatal (3).

Los EIM se pueden clasificar considerando diversos aspectos, tales como la edad de debut, el cuadro general de presentación, el sistema orgánico más afectado, o bien a través de los llamados síntomas guía. Estas clasificaciones tienen en cuenta sobre todo aspectos clínicos, para orientar y facilitar el diagnóstico de los EIM. Según lo reporta la literatura y dada la dificultad que presenta la organización asequible de más de 800 enfermedades, la clasificación más sencilla y gráfica de los EIM es la que los agrupa según los sistemas enzimáticos o la vía metabólica

afectada; en estas se encuentran: EIM de los carbohidratos como la glucogenosis, acidemias lácticas, EIM de la galactosa, EIM de la fructosa; EIM de las grasas como alteraciones de la β -oxidación y del sistema carnitina; EIM de los aminoácidos y de las proteínas como fenilcetonuria, tirosinemia, hiperglicinemia no cetósica, homocistinuria, enfermedad de la orina de jarabe de arce, acidemia metilmalónica y propiónica, acidemia glutárica tipo I y acidemia isovalérica; EIM de los ciclos específicos como enfermedades del ciclo de la urea y trastornos del metabolismo de las purinas; EIM de las moléculas complejas (enfermedades lisosomales y peroximales) como mucopolisacaridosis, oligosacaridosis, mucopolipidosis, enfermedad de Krabbe, leucodistrofia metacromática, Gaucher, defectos congénitos de la glucosilación; defectos de transporte donde se incluyen la Lisinuria con intolerancia a las proteínas, fibrosis quística de páncreas, malabsorción congénita de los carbohidratos, hemocromatosis y síndrome de Fanconi y otras enfermedades metabólicas hereditarias como déficit de alfa-1 antitripsina, enfermedades hereditarias de los neurotransmisores y osteogénesis imperfecta. Dada la inespecificidad de los síntomas descritos en los EIM comunes a los de otras enfermedades, si éstos persisten, se debe realizar un estudio bioquímico basal, que se puede llevar a cabo en cualquier hospital y que debe efectuarse también en las formas neonatales. Dicho estudio consiste en una gasometría y en la determinación del pH, de la glucemia, del amonio, del ácido láctico y de los cuerpos cetónicos. La combinación de síntomas y las alteraciones analíticas más destacadas orientan hacia la sospecha de un EIM (4).

Este trabajo se propuso evaluar una estrategia metodológica para tamizaje de EIM (Fenilcetonuria, Homocistinuria, Galactosemia, Enfermedad de la orina con olor a Jarabe de Arce y Déficit de la enzima adenilosuccinato liasa) a partir de muestras de orina con pruebas bioquímicas cualitativas estandarizadas previamente en los recién nacidos de la Clínica del Bosque y en escolares con bajo rendimiento escolar que presentan trastornos de la conducta, hiperactividad y discapacidad intelectual de la institución educativa distrital Agustín Fernández en la ciudad de Bogotá.

1. MARCO TEÓRICO

1.1 ERRORES INNATOS DEL METABOLISMO

Los Errores Innatos del Metabolismo (EIM) fueron descritos inicialmente por Archibald Garrod a finales del siglo XIX. Los EIM son desordenes bioquímicos y genéticos que dan origen a disfunciones enzimáticas involucradas en alguna vía metabólica (aminoácidos, carbohidratos, ácidos orgánicos y lípidos) de carácter específico, en su mayoría con herencia autosómica recesiva. En la actualidad se han descrito alrededor de 550 EIM y casi el 25% de ellos afecta los niños desde el periodo neonatal. Aunque los EIM son raros individualmente, cuando se unen en un solo grupo pueden llegar a tener una frecuencia de 1:500 hasta 1:1.500 recién nacidos, por lo que se plantea que en algún momento de la práctica clínica se podrán evidenciar. La severidad de la enfermedad va a depender de la función que tenga la proteína alterada en el metabolismo. En lo que respecta al compromiso de tejidos y órganos, algunos trastornos son órgano-específicos, en tanto que otros pueden comprometer varios tejidos o manifestarse de manera sistémica, dependiendo si la proteína afectada se expresa sólo en un tipo o en todas las células del cuerpo. La edad de manifestación de estas alteraciones dependerá de la importancia de la proteína en el metabolismo y del grado de afectación que tengan debido a la mutación generada. Algunos EIM pueden manifestarse desde una edad muy temprana, mientras que otros sólo se podrán poner de manifiesto en la edad adulta cuando se desencadenen una serie de factores que propicien su aparición (1).

En término fisiopatológicos, los EIM pueden dividirse en: aminoacidopatías, acidemias orgánicas, alteraciones del ciclo de la urea, alteraciones del metabolismo de los carbohidratos y alteraciones en el metabolismo de las purinas.

1.2 AMINOACIDOPATÍAS

Las aminoacidopatías se producen debido a un déficit en alguna de las enzimas o cofactores que intervienen en el proceso de degradación de los diferentes aminoácidos. Dentro de las 39 aminoacidopatías reportadas en la actualidad, las más relevantes de acuerdo a su incidencia son, la fenilcetonuria, la homocistinuria, tirosinemia y la hiperglicinemia no cetósica. Sus manifestaciones clínicas se asemejan con cuadros infecciosos y de intoxicación. Su presentación más severa se ha evidenciado en los recién nacidos. La mayoría de las aminoacidopatías son tratables a partir de esquemas nutricionales a excepción de la hiperglicinemia no cetósica (1).

2.2.1 FENILCETONURIA (PKU)

Es un EIM resultante de la deficiencia enzimática de la fenilalanina hidroxilasa o su cofactor la tetrahidrobiopterina, los cuales son indispensables para el normal metabolismo del aminoácido fenilalanina el cual es fundamental para la síntesis de otros compuestos como tirosina, catecolaminas y serotonina, que son requeridos para un adecuado funcionamiento del sistema nervioso central y otros órganos. Su incidencia es de 1:10.000 individuos. Para el gen que codifica la enzima fenilalanina hidroxilasa se han reportado cerca de 500 mutaciones causantes de la PKU, encontrando una gran asociación entre el tipo de mutación y su expresión fenotípica condicionando de esta manera el tipo de tratamiento (5).

2.2.2 GENÉTICA

Esta enfermedad es de carácter autosómico recesivo, y se produce debido a mutaciones en el gen PAH, ubicado en el brazo largo del cromosoma 12 (12q22-q24.1); abarca 90 kb y contiene 13 exones (5). Actualmente se han descrito más de 500 mutaciones, que en diferentes combinaciones, pueden dar cuenta de la gran variedad clínica y bioquímica que presentan los pacientes con déficit en PAH. Este gen proporciona las instrucciones para la formación de la enzima llamada

fenilalanina hidroxilasa, que es la encargada de convertir la fenilalanina en tirosina, sustancia necesaria para el desarrollo del sistema nervioso central.

2.2.3 FISIOPATOLOGÍA

Al no presentarse la hidroxilación de la L-fenilalanina por la fenilalanina hidroxilasa, existe una disminución en la producción de tirosina y por ende en la producción de melanina y neurotransmisores del tipo L-DOPA. La activación de la vía alterna da lugar a la producción de fenil-lactato, fenilpiruvato, fenilacetato y fenilacetilglutamina. La hidroxilación de la L-fenilalanina por la enzima fenilalanina hidroxilasa requiere la intervención de un cofactor, la tetrahidrobiopterina (BH₄), cuyo déficit ocasiona cuadros similares a la fenilcetonuria (5).

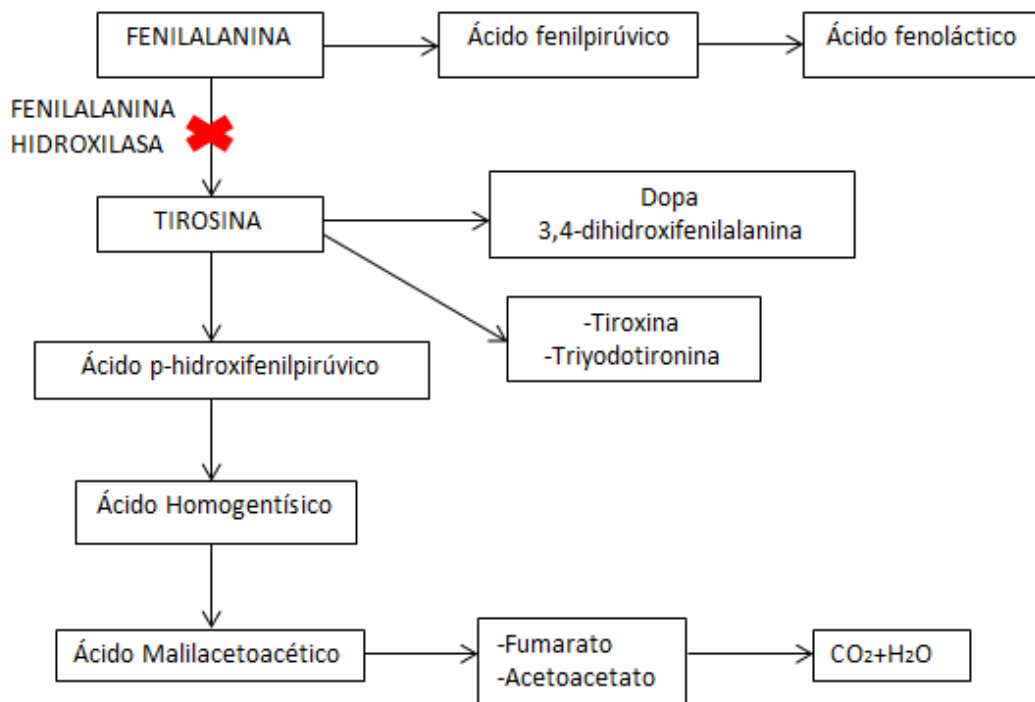


Figura 1. Vía metabólica de la fenilalanina. Tomado de Barrera Avellaneda, L. A.

2.2.4 MANIFESTACIONES CLÍNICAS

Los individuos afectados en los primeros meses de vida parecen estar sanos, aunque se ha descrito la presencia de vómitos en estos niños, y en un tercio de ellos se observa una irritabilidad desacostumbrada. Los síntomas de la fenilcetonuria se hacen evidentes por primera vez algunas semanas después del nacimiento. La enfermedad comienza con una elevación en el plasma de la fenilalanina, que alcanza un nivel 30 veces superior al normal, y con la excreción de ácido fenilpirúvico por la orina. El fenilpiruvato perjudica gravemente al cerebro durante el crecimiento y el desarrollo. Entre los tres y los seis meses los bebés pierden el interés por el entorno, y a partir de los seis meses es evidente el retraso del desarrollo mental. Presentan un olor característico a moho en el sudor y en la orina, son niños rubios, con piel blanca y ojos azules debido al déficit de melanina, puede haber presencia de malformaciones menores múltiples y convulsiones (5).

2.2.5 DIAGNÓSTICO

Los estudios diagnósticos de esta enfermedad deben incluir: pruebas de tamizaje iniciales que deben realizarse luego de que ha sido retado el metabolismo del recién nacido, cuantificación de aminoácidos, determinación enzimática (biopsia hepática) y estudios moleculares. Estudios radiológicos permiten monitorear la desmielinización cerebral.

Los criterios diagnósticos son:

- Nivel en plasma superior a 20mg/dL(1.2mM)
- Niveles normales o disminuidos de tirosina en plasma
- Aumento en la excreción de metabolitos de la fenilalanina
- Concentración normal del cofactor tetrahidrobiopterina.

2.2.6 TRATAMIENTO

Los pacientes afectados deben iniciar tratamiento nutricional el cual va a permitir un adecuado crecimiento y desarrollo, mediante el aporte necesario de fenilalanina, el cual es un aminoácido esencial, evitando un déficit que puede causar retraso en el crecimiento del individuo. La restricción de fenilalanina, dependerá de la actividad residual de la enzima, manteniendo un nivel adecuado en sangre y líquidos corporales. En la actualidad existen alimentos dietéticos especiales para pacientes con fenilcetonuria, con bajos contenidos o libres de fenilalanina (5).

2.2.7 DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL

Se debe realizar un diagnóstico diferencial con enfermedades hepáticas, tirosinemia tipo II y aquellas patologías que presenten retardo mental (5).

2.3 HOMOCISTINURIA

La homocistinuria es un error innato del metabolismo descrito por primera vez por Carson en 1962 (6,7). La homocistinuria abarca un grupo de errores innatos del metabolismo de los aminoácidos azufrados y de la cobalamina con una gran heterogeneidad etiológica y clínica; poseen sin embargo una serie de características comunes que justifican su revisión. (8,9). El déficit de la enzima Cistationina β sintasa (CBS) es la causa más frecuente de homocistinuria llamada también homocistinuria clásica. Su incidencia aproximada basada en el tamizaje neonatal es de 1/200.000-300.000 recién nacidos vivos, aunque varía de una población a otra, fluctuando desde 1/65.000 en Irlanda hasta 1/900.000 en Japón. Estudios recientes basados en análisis de mutaciones en las muestras de recién nacidos sugieren que puede ser más frecuente: 1/20.000 o incluso mayor. En Colombia se ha reportado que la homocistinuria es una patología prevalente en los

departamentos de Antioquía y Caldas, lo cual amerita programas de detección que conduzcan a la identificación de individuos afectados y portadores (26).

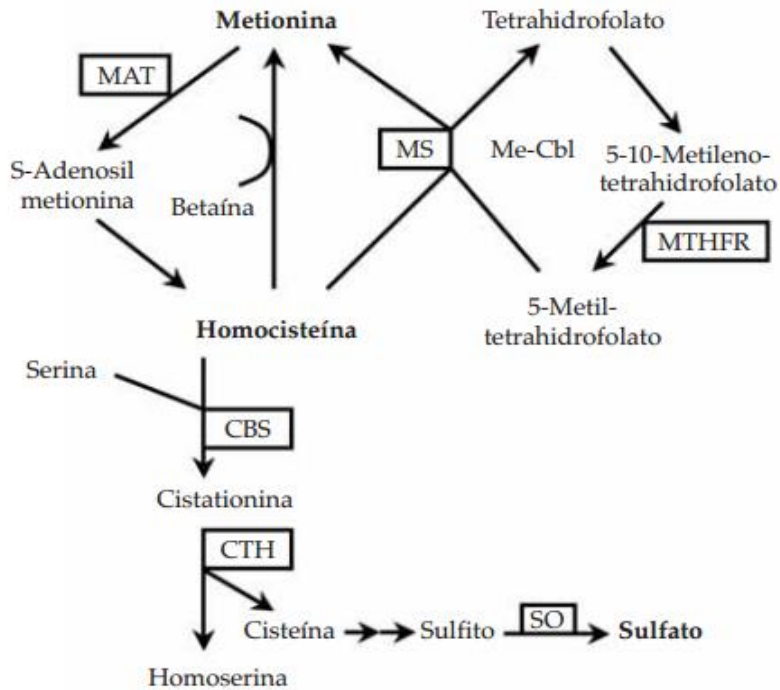
2.3.1 GENÉTICA

Las causas genéticas de homocistinuria son las deficiencias parciales o totales de las enzimas implicadas en su metabolismo, principalmente el déficit de la enzima Cistationina β sintasa (CBS) y los defectos del metabolismo de la cobalamina/folato: déficit de la enzima 5-10, metilen-tetrahidrofolato reductasa (MTHFR) y del sistema metionina sintasa (MS). La homocistinuria clásica es de herencia autosómica recesiva. El gen CBS que codifica a la proteína enzimática CBS se encuentra en el brazo largo del cromosoma 21 (21q22.3). Hoy en día se conoce que CBS es un tetrámero de subunidades idénticas de 63 kDa, y el gen CBS humano ha sido clonado y secuenciado en 1998 (10). Se extiende a lo largo de casi 30 kb y consta de 23 exones, 15 de los cuales son codificantes. Se han reportado cerca de 130 mutaciones, la mayoría de las cuales (72%) son mutaciones puntuales, muchas de ellas privadas. Las dos de mayor relevancia epidemiológica en países europeos son: G307S, en poblaciones de origen celta, principalmente en Irlanda, sin respuesta a piridoxina y la p.I278T, más frecuente en países centroeuropeos, sensibles a la piridoxina. No obstante en la Península Ibérica, la mutación p.T191M, sin respuesta a la piridoxina es la más frecuente (10).

2.3.2 METABOLISMO DE LA HOMOCISTEÍNA

La homocisteína (Hcy) es un aminoácido azufrado no esencial, que se origina a partir de la metionina, aminoácido esencial que proviene de las proteínas. La homocisteína participa en dos vías metabólicas: la de la trans-sulfuración y la de la remetilación. Por la vía de la trans-sulfuración, la homocisteína se transforma en cistationina, mediante la enzima Cistationina β sintasa (CBS), con ayuda del

cofactor piridoxal fosfato. La cistationina se transforma en cisteína, precursora del glutatión y la taurina, compuestos de gran importancia metabólica como antioxidante (glutatión) y neurotransmisor (taurina). La cisteína es finalmente catabolizada eliminándose por la orina en forma de sulfato (10). La homocisteína se puede también remetilarse transformándose en metionina por dos vías. La reacción de remetilación más importante es catalizada por la metionina sintasa (MS), que utiliza como sustrato el metiltetrahidrofolato (MTHF) y debe ser activada por la metionina sintasa reductasa (MSR). Esta reacción de remetilación requiere metil-cobalamina (MCbl) como coenzima. El MTHF constituye la mayor fuente de folato plasmático y proviene de la reducción de 5,10-metilentetrahidrofolato, catalizada por la enzima 5,10-metiléntetrahidrofolato reductasa (MTHFR) (Figura 1). Esta enzima tiene un papel indirecto, pero básico, en la remetilación de la homocisteína. La otra vía de remetilación se localiza principalmente en el hígado y riñón, siendo catabolizada por la betaína: homocisteína metiltransferasa (BHMT) (10).



MAT: Metionina adenosiltransferasa.
 MS: Metionina sintasa.
 MTHFR: 5-10-metilen-tetrahidrofolato reductasa.
 CBS: Cistationina β sintasa.
 CTH: Cistationasa.
 SO: Sulfito oxidasa.

Figura 2. Vía metabólica de la Homocisteína. (Trans-sulfuración y remetilación). Tomada de Couce ML.

El metabolismo de la homocisteína se halla estrechamente regulado por la ingesta de proteínas. Cuando existe un exceso de metionina debido a una elevada ingesta proteica, la homocisteína es catabolizada por la vía de la trans-sulfuración, transformándose en cisteína y eliminándose por orina en forma de sulfato. Si la ingesta de metionina es baja, la homocisteína se remetila, formándose metionina y S-adenosilmetionina (SAM), que es un importante donador de grupos metilo del organismo, actuando en la remetilación de más de 100 metabolitos (DNA, creatinina, hormonas, neurotransmisores) (11).

El grupo tiol presente en la molécula de Hcy, le confiere la capacidad de múltiples interacciones como son: la oxidación rápida de dos moléculas de Hcy y producir homocistina, la formación de puentes disulfuro con cisteína para originar cistina o con proteínas y la pérdida de una molécula de agua de la homocisteína originando una tiolactona. En la determinación de la concentración total de homocisteína plasmática, el 70 a 90% corresponde a la ligada a proteínas, del 5 al 10% a la homocistina, de 5 al 10% a homocisteína-cisteína, y sólo alrededor de 1% a la homocisteína reducida. La fracción no unida a proteínas es filtrada por los glomérulos y reabsorbida en los túbulos renales, por consiguiente su excreción renal es relativamente baja (11).

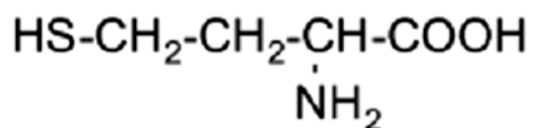


Figura 3. Estructura química de la homocisteína

2.3.3 FISIOPATOLOGÍA

La elevación plasmática de la homocisteína es el factor responsable de las principales manifestaciones clínicas, como las alteraciones vasculares y tromboembólicas, debido a su toxicidad sobre el endotelio de los vasos sanguíneos, mayor adherencia plaquetaria y aumento de la proliferación de las células del músculo liso. La hiperhomocisteinemia también afecta la síntesis de colágeno y de elastina del tejido conjuntivo, y por ello, en estos pacientes se observa alteraciones óseas, cutánea y ectopia lentis (10, 26).

El retraso mental que se llega a presentar hasta en un 50% de los pacientes con homocistinuria, parece ser debido al déficit de cistationina (aminoácido muy

importante en la composición cerebral) y a la inhibición competitiva del transporte de aminoácidos al cerebro y formación de neurotransmisores por la elevada concentración de metionina y homocisteína. Influyen así mismo los accidentes cerebrovasculares recidivantes secundarios a la enfermedad trombótica (10).

2.3.4 MANIFESTACIONES CLÍNICAS

Las manifestaciones clínicas de la deficiencia de la CBS son variables con compromiso de diferentes sistemas del organismo como el ocular, esquelético, sistema vascular y nervioso. Inicialmente el paciente es sano y, si no se trata, se desarrolla progresivamente el cuadro clínico completo (10, 26).

A nivel ocular se puede presentar dislocación del lente ocular (ectopia del cristalino) el cual se detecta en la mayoría de los pacientes no tratados a partir de los 5-10 años de edad y en casi todos los pacientes tratados para el final de la cuarta década, es a menudo la clave para el diagnóstico inicial. Generalmente la dislocación es leve en la homocistinuria clásica a diferencia del Síndrome de Marfan donde hay una presentación mucho más severa. Paralelamente, puede presentarse miopía y glaucoma las cuales son complicaciones frecuentes y graves de la patología. Pueden aparecer con el tiempo desprendimiento y degeneración de la retina, atrofia óptica y cataratas. En el sistema esquelético se puede evidenciar principalmente osteoporosis, característica clínica que tiene como consecuencia la escoliosis y una tendencia mayor a las fracturas y al colapso vertebral. Al igual que en el síndrome de Marfan, pacientes afectados por homocistinuria tienden a ser altos, con adelgazamiento y elongación (dolicoostenomelia) de los huesos largos cerca de la pubertad, metáfisis y epífisis agrandados, especialmente en las rodillas, y aracnodactilia, presente en aproximadamente la mitad de los pacientes (10).

Las complicaciones tromboembólicas a nivel sistémico constituyen la principal causa de morbilidad y mortalidad. El pronóstico se ve influenciado por el sitio y la

extensión de la oclusión vascular. La tromboflebitis y embolia pulmonar son los accidentes vasculares más comunes. La trombosis de grandes y medianas arterias, especialmente las arterias carótida y renal, es una causa frecuente de muerte y la cardiopatía isquémica es la menos frecuente en la homocistinuria. La presentación de episodios trombóticos en pacientes con homocistinuria está asociada con otros factores de riesgo vasculares. A nivel de sistema nervioso central se puede presentar retraso en el desarrollo y retraso mental, manifestaciones que afectan alrededor del 60% de los pacientes con un grado variable de severidad. Las convulsiones, alteraciones del electroencefalograma, trastornos psiquiátricos y trastornos en la conducta también han sido reportados en aproximadamente la mitad de los casos, siendo una sintomatología que genera un bajo rendimiento académico en la población escolarizada (10).

2.3.5 DIAGNÓSTICO

Tanto la metionina como la homocisteína han sido utilizados en la práctica clínica como marcadores diagnósticos. Los niveles de metionina pueden ser determinados directamente sin derivatización. Debido a que la homocisteína existe en tres formas diferentes en sangre: libre, como disulfuros y unida a proteínas requiere un procedimiento más complejo que comprende los pasos de reducción química, derivatización y deproteínización. Ensayos de inhibición bacteriana (BIA por sus siglas en inglés), espectrometría de masas (MS/MS) y HPLC han sido las metodologías utilizadas para determinar los niveles en sangre de metionina en el diagnóstico de homocistinuria. Aunque cada metodología tiene sus propias ventajas también tienen limitaciones. BIA ha sido ampliamente usada debido a su simplicidad y bajo costo, pero por lo general muestra una baja sensibilidad, aumentando el porcentaje de falsos negativos, especialmente en los niños que responden a piridoxina. El diagnóstico de homocistinuria por HPLC ha sido usado ampliamente, pero requiere la derivatización de metionina para una alta selectividad y sensibilidad. La espectrometría de masas en tandem (MS/MS) es la herramienta más poderosa en virtud de su alto rendimiento, pero requiere

instalaciones costosas para el análisis de metionina y su sensibilidad limitada para este aminoácido (6). Para la aplicación de técnicas en biología molecular es necesario hacer extracción de DNA, amplificación por PCR y genotipificación por diversas metodologías (7, 12, 13).

2.3.6 TRATAMIENTO

Los posibles tratamientos tienen como objetivo reducir la concentración de Hcy con el fin de retrasar el curso clínico de la enfermedad y prevenir o disminuir la severidad de sus complicaciones. Para tal objetivo, se disponen de tres estrategias terapéuticas: aumentar la actividad enzimática residual: la piridoxina a dosis farmacológicas puede llegar a disminuir las concentraciones de Hcy; el grado de respuesta varía ampliamente entre los pacientes. Se ha demostrado la eficacia de la piridoxina en prevenir complicaciones tromboembólicas por lo que se recomienda en todos los pacientes llevar este tratamiento. La respuesta a la piridoxina está relacionada con los niveles del folato, por lo que se recomienda su administración sistemática. Tratamiento nutricional: los pacientes deben iniciar tratamiento dietético con una fórmula láctea baja en metionina y suplementada con cisteína, así como pobre en proteínas totales. Algunos pacientes diagnosticados de manera tardía, pueden responder mal a este tratamiento por lo que se sugiere buscar otras opciones terapéuticas. Betaína: Actúa como cofactor en la remetilación de la homocisteína a metionina, ofreciendo una alternativa terapéutica adicional (10).

2.3.7 DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL

El diagnóstico diferencial de homocistinuria debe realizarse con las patologías que presentan alteraciones esqueléticas como en el síndrome de Marfan, y con los procesos que cursan con el aumento de la concentración sérica de Hcy. Los pacientes con síndrome de Marfan tienen un fenotipo similar (altos, aracnodactilia), luxación del cristalino y alteraciones cardiovasculares. El déficit de MTHFR y defectos en el metabolismo de la cobalamina cursan con un aumento

de Hcy, pero con un cuadro más severo. Además, aumentos en la concentración sérica de Hcy pueden estar relacionados con el estilo de vida, ciertas condiciones clínicas y fármacos (10).

2.4. ENFERMEDAD DE ORINA CON OLOR A JARABE DE ARCE (MSUD)

Es una aminoacidopatía causada por el déficit de un complejo enzimático conocido como α -cetoácido deshidrogenasa de cadena ramificada (BCKD), que participa en la descarboxilación oxidativa de los aminoácidos ramificados leucina, isoleucina y valina, generando una acumulación de éstos y sus respectivos α -cetoácidos. La prevalencia para la población en general es 1:185.000, con una alta incidencia en los Menonitas de Pensilvania de 1:760 nacidos vivos (14).

2.4.1 GENÉTICA

Es una enfermedad heredable en forma autosómica recesiva. Los genes que codifican el complejo BCKD tienen diferente localización cromosómica. El gen E1- α está ubicado en el cromosoma 19 (19q13.1-q13.2); el gen E1 β en el cromosoma 6 (6p21-p22), el gen E2 en el 1p31 y el gen E3 está en el cromosoma 7 (7q31-q32). Se han descrito 11 mutaciones principalmente de sentido equivocado y sin sentido en el polipéptido E1 α y 6 mutaciones en el gen E1 β (14).

2.4.2 FISIOPATOLOGÍA

En la MSUD hay un déficit en la actividad del complejo BCKD. Este complejo tiene 3 componentes catalíticos diferentes: E1 o descarboxilasa, dependiente de tiamina, que consta de 2 subunidades, E1 α y E1 β ; E2 o dihidrolipoil transacilasa, E3 o dihidrolipoil deshidrogenasa, y dos enzimas asociadas reguladoras, BCKD fosfatasa y BCKD quinasa. De acuerdo con esta distribución la enfermedad de la orina con olor a jarabe de arce se clasifica en: tipo IA cuando se afecta la subunidad α ; tipo IB si compromete la subunidad β , tipos II y III si afecta los polipéptidos E2y E3, respectivamente. El grado de disminución de la actividad del complejo BCKD no siempre se correlaciona con el fenotipo clínico. Se cree que

factores ambientales como la dieta, infecciones, hipoglicemia, acidosis y grado de maduración cerebral influye sobre el inicio y severidad de la enfermedad (14).

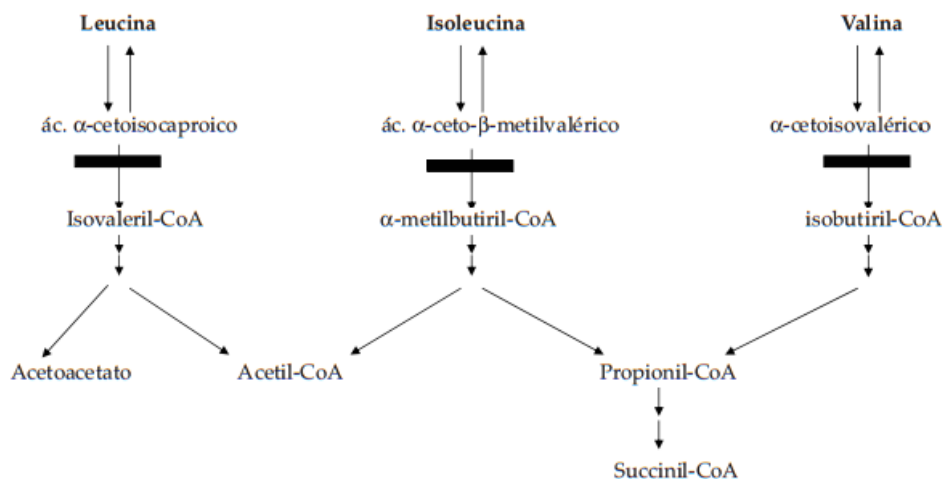


FIGURA 4. VÍAS METABÓLICAS DE LOS AMINOÁCIDOS RAMIFICADOS: bloqueo por deficiencia del complejo multienzimático deshidrogenasa de los cetoácidos de cadena ramificada (-). Tomada de Dalmau Serra J.

2.4.3 MANIFESTACIONES CLÍNICAS

La leucina y su cetoácido correspondiente, el α -cetoisocaproico, parecen ser los metabolitos más tóxicos. Las altas concentraciones de leucina y α -cetoisocaproico interfieren en el metabolismo de las neuronas y astrocitos, siendo la causa de la disfunción cerebral. Estos metabolitos se excretan por la orina siendo los responsables del olor a jarabe de arce. Existen cuatro formas clínicas: clásica, intermedia, intermitente y respondedora a tiamina (14).

FORMA CLÁSICA: Se caracteriza por presentar en los pacientes menos del 2% de la actividad enzimática residual. Los recién nacidos afectados de MSUD son aparentemente sanos al nacer, los síntomas se presentan en los primeros días de vida, entre el 4° y 7° día con una enfermedad progresiva y fulminante caracterizada por letargia, pobre succión e hiporexia, disminución de peso, desarrollo de encefalopatía tóxica con signos como irritabilidad, dificultades

respiratorias, olor a jarabe de arce o azúcar quemada en la orina, además pueden presentar acidosis metabólica, cetonuria, cetonemia y convulsiones antes del coma. Esta forma de presentación es la más severa y común, con pobre pronóstico para pacientes no tratados. Los niveles de aminoácidos de cadena ramificada, particularmente leucina son muy elevados en sangre en todos los líquidos biológicos (14).

FORMA INTERMEDIA: La actividad enzimática residual es mayor que en la forma clásica, siendo aproximadamente entre 3- 30% de lo normal. Estos pacientes presentan elevación permanente en los niveles de los aminoácidos de cadena ramificada y deterioro neurológico, sin la severidad de la forma clásica. Generalmente los pacientes son diagnosticados entre los 5 meses y los 7 años de edad, período en el cual presentan convulsiones y episodios severos de cetoacidosis. En estos pacientes los cetoácidos de cadena ramificada excretados son principalmente derivados de la isoleucina. También se percibe el olor típico en la orina, anemia e hiperuricemia. (14).

FORMA INTERMITENTE: La actividad enzimática residual varía entre 5-20% con respecto a la actividad normal. Los pacientes con esta forma de la enfermedad tienen un crecimiento y desarrollo psicomotor normales. Los síntomas pueden presentarse a cualquier edad, desencadenados por alguna situación de estrés oxidativo como cirugías, infecciones, quemaduras; y consisten en síntomas neurológicos graves semejantes a los de la forma clásica, con el olor característico en la orina. Estas crisis pueden ser letales (14).

FORMA RESPONDEDORA A TIAMINA: La actividad enzimática residual es del 2-40% con respecto a la actividad normal. La tiamina es un cofactor del complejo enzimático deshidrogenasa de los cetoácidos de cadena ramificada y algunos pacientes pueden responder a la administración de dosis farmacológicas de esta vitamina. En general, la sintomatología es semejante a la forma intermedia, con predominando el retraso psicomotor, aunque su intensidad es variable y hay casos con buena evolución neurológica, sin embargo, pueden surgir complicaciones a medio y largo plazo (14).

2.4.4 DIAGNÓSTICO

La espectrometría de masas en tándem con ionización por bombardeo atómico rápido (FAB) ha permitido detectar ácidos orgánicos y anormalidades de los aminoácidos en muestras de sangre y orina recogidas en papel filtro., como parte de las estrategias de tamizaje neonatal. El patrón característico es la elevación marcada de los aminoácidos ramificados y sus cetoácidos en los líquidos biológicos. El diagnóstico se confirma si al realizar la medición de la actividad de descarboxilación de la leucina en cultivos celulares (14).

2.4.5 TRATAMIENTO

El diagnóstico prenatal y neonatal por análisis de los aminoácidos en plasma permite que algunos pacientes sean tratados desde el nacimiento. El principal objetivo del tratamiento se enfoca hacia la disminución rápida de los niveles de leucina, para prevenir sus efectos neurotóxicos (14).

Durante la crisis metabólica se debe suspender la ingesta de proteínas por un período no mayor a 48 horas, para disminuir rápidamente los niveles de aminoácidos de cadena ramificada y así limitar la producción y acumulación de los compuestos tóxicos. Luego del período de restricción se debe iniciar una fórmula láctea o alimentos libre de aminoácidos de cadena ramificada para promover la síntesis de proteínas y de esta manera disminuir más eficientemente el nivel plasmático de leucina (14).

2.5 ERRORES INNATOS DEL METABOLISMO DE LOS CARBOHIDRATOS

La necesidad de un aporte constante de energía a la célula se debe a que ella lo requiere para realizar varias funciones, entre las que destacan: (a) la realización de un trabajo mecánico, por ejemplo, la contracción muscular y movimientos celulares, (b) el transporte activo de iones y moléculas y (c) la síntesis de moléculas. Para la mayoría de los animales, incluyendo al hombre, la energía útil para la célula es la energía química, la cual se encuentra contenida en los

nutrientes (carbohidratos y lípidos, principalmente) que se consumen. A través de un conjunto de procesos enzimáticos bien definidos, la célula extrae dicha energía y la hace disponible para que se realicen una gran variedad de procesos celulares, entre los que destacan los encaminados a la síntesis de (anabolismo) y degradación (catabolismo) de biomoléculas, a la suma de ambos procesos se le identifica como Metabolismo (15).

La glucosa es el único monosacárido que puede emplearse para la obtención de ATP en el metabolismo celular del ser humano, por lo que todos los tejidos corporales utilizan glucosa para la producción de energía a través de la glucólisis y del ciclo de Krebs. La glucosa pura raras veces es fuente de carbohidratos en la dieta habitual; suelen serlo la fructosa, la galactosa, la lactosa, la sacarosa y el almidón, los cuales deben incorporarse a la vía glucolítica, en el hígado, para poder ser metabolizados. Si el defecto genético afecta a uno de estos procesos de conversión, se acumulan los productos intermedios, algunos de los cuales pueden ser tóxicos para el organismo. Además, la incapacidad para convertir otras fuentes de hidratos de carbono en glucosa implica la pérdida de una posible fuente de energía para el cuerpo (15).

2.5.1 GALACTOSEMIA

La Galactosemia fue descrita por Gitzelman en Suiza, Boston, quien fue uno de los iniciadores de los estudios masivos. El Departamento de salud del estado de New York, informó que en 1980, la Galactosemia ocupó el segundo lugar entre los errores innatos del metabolismo (16). La Galactosemia es un EIM generado por la deficiencia de alguna de las enzimas involucradas en el metabolismo de la galactosa. Según el defecto enzimático se clasifica como tipo I el déficit de galactosa 1- fosfato uridil transferasa (Gal-PUT), tipo II el déficit de galactoquinasa y tipo III el déficit de UDP- galactosa epimerasa. La prevalencia es de 1:40000 a 1:60000 nacidos vivos, se presenta en todas las razas aunque es más común en

asiáticos, existe una alta mortalidad en neonatos por la asociación con sepsis por *E.coli* (17).

2.5.2 GENÉTICA

Enfermedad de herencia autosómica recesiva. Los padres son portadores sanos heterocigotos, transmiten la enfermedad a aproximadamente el 25% de sus hijos, el 25% de los hermanos de los individuos afectados son portadores asintomáticos y el 50% son sanos. El gen para la Gal-PUT se encuentra mapeado en (9p13), el de la galactoquinasa en 17p24 y el de la UDP-galactosa epimerasa en 1p36, tienen respectivamente 8, 11 y 11 exones (17).

2.5.3 FISIOPATOLOGÍA

El disacárido lactosa, (azúcar de la leche) fuente principal de galactosa en el organismo, se hidroliza por la lactasa en las microvellosidades del intestino y se transforma en glucosa y galactosa. La deficiencia de cualquiera de las tres enzimas involucradas en el metabolismo de la galactosa, la uridil transferasa, la galactoquinasa o la epimerasa, conducen a una acumulación de galactosa y por tanto se conocen tres tipos de galactosemia, asociadas con la deficiencia de una de estas tres enzimas. La deficiencia enzimática de la galactoquinasa, provoca elevación en la excreción de la galactosa y acumulación de galactitol en eritrocitos, hígado, riñón, cerebro y otros órganos. En el cristalino se presentan cataratas, resultado de la deshidratación osmótica de las fibras del cristalino y desnaturalización de las proteínas. En la deficiencia de la Gal-PUT, la galactosa ingerida puede fosforilarse pero no metabolizarse lo que conduce a acumulación de galactosa, galactosa 1-fosfato y galactitol, produciendo daño hepático, renal y cerebral (17).

2.5.4 MANIFESTACIONES CLÍNICAS

En la deficiencia de Gal-PUT la enfermedad se manifiesta pocos días después de iniciar la alimentación, presentándose como una enfermedad fulminante

caracterizada por somnolencia, intolerancia alimentaria, vómito, diarrea, deshidratación, hipoglicemia, pérdida de peso, disfunción hepática, alteraciones renales y también cataratas que aparecen en el periodo postnatal. Como complicaciones en pacientes no tratados suele presentarse cirrosis, ascitis, trastornos en la coagulación, hipertensión portal, hipoalbuminemia severa, retardo en el crecimiento y susceptibilidad a infecciones por *E.coli*, que progresan a sepsis y pueden causar la muerte. También se ha observado dificultad en el aprendizaje, retardo del crecimiento y 75% de ellas desarrollan insuficiencia ovárica (17).

En la galactosemia del tipo II, las alteraciones son de aparición tardía y se caracterizan por presentar altos niveles de galactosa en sangre y orina. La aparición de cataratas suele ser característico (17).

En la deficiencia de UDP-galactosa epimerasa, se pueden presentar manifestaciones muy heterogéneas que van desde sintomatologías muy leves y la forma generalizada severa que puede presentar los mismos síntomas que la galactosemia tipo I (17).

2.5.5 DIAGNÓSTICO

Las pruebas de tamizaje en orina deben mostrar Benedict positivo y Selliwanoff negativo. Además, los laboratorios muestran galactosuria, proteinuria y presencia de aminoácidos en orina generalizada. La identificación de galactosa se puede hacer por cromatografía de carbohidratos en orina. La confirmación del diagnóstico se realiza mediante la determinación de la actividad de las enzimas galactosa-1-fosfato uridil transferasa, galactoquinasa, UDP-galactosa epimerasa, pueden realizarse en eritrocitos, leucocitos o en tejidos de biopsia hepática (17).

2.5.6 TRATAMIENTO

El contenido de lactosa en la leche es de 4-6%, y en el yogur de 2-3%; el 40% de la lactosa que contienen estos alimentos se convierte en galactosa; por tanto, el

tratamiento se debe orientar a la supresión de estos alimentos, así como de aquellos productos artificiales que contienen galactosa. Para prevenir la acumulación de galactosa-1-fosfato y sus metabolitos en los tejidos, es indispensable una dieta estricta carente de lactosa (17).

2.6 ALTERACIONES DEL METABOLISMO DE LAS PURINAS Y PIRIMIDINAS

Las purinas (adenina y guanina) y las pirimidinas (citosina, timina, uracilo) tienen funciones esenciales en la replicación del material genético, transcripción génica, síntesis de proteínas y metabolismo celular. Los trastornos que implican anomalías en el metabolismo de los nucleótidos comprenden desde enfermedades relativamente frecuentes, como gota e hiperuricemia, en las que existe incremento de la producción o alteración de la eliminación de un producto final del metabolismo de las purinas, el ácido úrico, hasta deficiencias enzimáticas hereditarias raras que afectan la síntesis o degradación de las purinas y las pirimidinas (18).

2.6.1 DÉFICIT DE ADENILOSUCCINATO LIASA

Esta enfermedad fue descubierta en 1984, con ayuda del Departamento de Pediatría del Hospital Universitario Gasthuisberg en Leuven, siendo el primer déficit enzimático en el metabolismo de las purinas reportado en humanos. Durante el período de 1984 a 1990 la enfermedad fue descubierta en 9 niños, los cuales mostraron retraso psicomotor severo, convulsiones, síntomas autistas y en algunos casos hipoplasia cerebelar e hipotonía (19). El déficit de la enzima adenilosuccinato adenosín 5'-monofosfato liasa, (ADSL) es un defecto autosómico recesivo en la vía de síntesis de novo de las purinas, caracterizado por la acumulación de succiniladenosina (S-Ado) y succinil aminoimidazol carboxamida ribósido (SAICA ribósido) en los fluidos biológicos.

El desorden ha sido reportado en pacientes de diferentes nacionalidades, principalmente en Holanda y Bélgica (19).

2.6.2 GENÉTICA

El gen de la ADSL se ha mapeado en el cromosoma 22 (región 22q13.1-13.2); tiene 23 kb y 13 exones y da una proteína de 484 residuos de aminoácidos. En los casos de deficiencia en ADSL se ha informado de la existencia de 38 mutaciones distintas la mayoría de las cuales son mutaciones sin sentido que producen una ADSL alterada; en ningún caso se ha encontrado déficit total de la enzima (19).

2.6.3 FISIOPATOLOGÍA

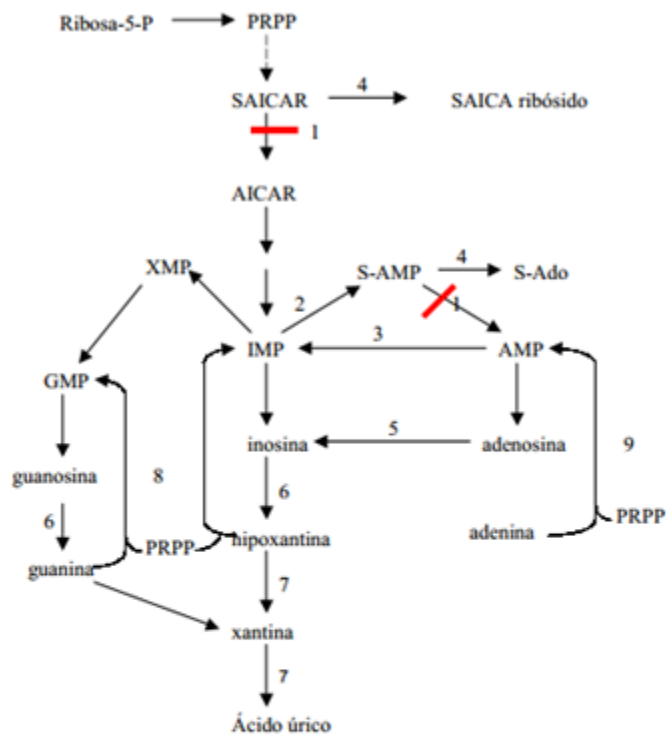
Este déficit enzimático se ha demostrado en tejidos como el riñón, hígado, pulmón y fibroblastos, aunque no en eritrocitos, granulocitos ni músculo esquelético. Esto demuestra la existencia de isoenzimas. Desde el punto de vista bioquímico se caracteriza por la acumulación S-Ado y SAICA ribósido, derivados desfosforilados de los sustratos iniciales de la enzima. Ambos compuestos son indetectables en condiciones normales. Su formación ocurre cuando la enzima se encuentra desactivada. Estudios de patogénesis de la enfermedad muestran que SAICA ribósido inhibe la glucólisis, la gluconeogénesis y la síntesis de ácidos grasos y colesterol en el hígado, además de interferir en las funciones neurológicas. Se plantea que la S-Ado puede proteger contra este efecto. Algunos autores plantean que el mecanismo fisiopatológico de esta enfermedad no se conoce. No obstante, otros exponen diferentes hipótesis acerca del efecto neurotóxico que pueden ejercer las succinilpurinas y la síntesis no balanceada de los nucleótidos purínicos (19).

Déficit de metabolitos intracelulares que se forman distantes de la enzima: Enzimas como la hipoxantina-guanina fosforibosil transferasa y la adenina fosforibosil transferasa pueden constituir “vías de salvamento” al aumentar la concentración de los nucleótidos purinas a partir de tejidos no afectados como los eritrocitos o granulocitos, compensando así la deficiencia. No obstante; puede ocurrir un déficit de nucleótidos producto de una baja actividad de estas enzimas.

Acumulación de intermediarios intracelulares próximos al defecto enzimático: La fosforilación eficiente por parte de la enzima 5'nucleotidasa citoplasmática puede explicar por qué ambos sustratos de la enzima, succinilaminoimidazol carboxamida ribótido (SAICAR) y adenilosuccinato (S-AMP), permanecen indetectables en la deficiencia de ADSL en hígado y músculo, aunque se han reportado bajas concentraciones de S-AMP en pulmón. El efecto deletéreo puede estar causado por acumulación intracelular (199).

Desbalance del ciclo de las purinas: El ciclo de los nucleótidos purinas está compuesto por 3 enzimas, la adenilosuccinato sintetasa, adenilosuccinasa y AMP deaminasa. Se ha reportado que es particularmente activo en cerebro y músculo, para la producción de amonio durante la contracción muscular. El desbalance en este ciclo puede jugar un papel importante en la patogénesis de la disfunción cerebral y en el retardo del crecimiento **(19)**.

Efectos directos de las concentraciones de SAICA ribósido y S-Ado extracelulares: Ambas sustancias pueden interferir con el receptor y/o en los sitios de transporte del modulador fisiológico de numerosas funciones celulares, incluyendo la neurotransmisión (19).



PRPP, fosforibosil pirofosfato; SAICAR, succinil amino imidazol carboxamida ribótido; AICAR, amino imidazol carboxamida ribótido; IMP, inosina monofosfato; 1- adenilosuccinato liasa, 2- adenilosuccinato sintetasa, 3- AMP deaminasa, 4- 5' nucleotidasa citosólica, 5- adenosín deaminasa, 6- nucleósido purina fosforilasa, 7- xantina oxidasa, 8- hipoxantina- guanina fosforibosiltransferasa, 9- adenina fosforibosiltransferasa.

Figura 5. Vía de síntesis de las purinas. Tomada de Vallejera A.

2.6.4 MANIFESTACIONES CLÍNICAS

La presentación clínica es variable, incluye retraso psicomotor y alteraciones en el lenguaje, convulsiones, hipotonía y autismo, trastornos no específicos del cerebro tales como pérdida de la mielinización y anomalías de la sustancia blanca (19).

Los niños afectados son normales al nacer, pero el retraso psicomotor, principal manifestación de este defecto, se hace evidente en los primeros dos años de vida. Otras manifestaciones clínicas son el retraso mental que puede ir desde moderado a severo, automutilación, movimientos involuntarios de las extremidades, hipertonicidad, epilepsia, hipotrofiacerebral y cerebelar (19, 20). Se han presentado casos con dismorfismos faciales que incluyen: circunferencia cefálica pequeña, braquicefalia, occipital plano, estrabismo divergente intermitente, nariz pequeña, filtro de la boca largo, labio superior fino y baja implantación de las orejas. La ocurrencia de convulsiones en el período neonatal puede provocar la muerte en el primer mes de vida, mientras que la presencia de retraso mental permite que los pacientes lleguen a la adultez (19).

En la actualidad se han descrito dos formas asociadas al déficit de la enzima adenilosuccinato liasa:

Tipo I: Incluye aquellos pacientes que muestran un retraso psicomotor severo frecuentemente acompañado por epilepsia y por comportamientos autistas. Puede también asociarse con desgaste muscular. No presenta características dismórficas. La relación S-Ado/ SAICA ribósido en orina y líquido cefalorraquídeo es aproximadamente 1, lo cual se asocia con la intensidad del retraso psicomotor presente (19).

Tipo II: Estos pacientes presentan retraso psicomotor moderado, frecuentemente asociado con epilepsia y comportamientos autistas. El retraso mental moderado fue asociado con la relación S-Ado/ SAICA ribósido alta (entre 3 y 4) y una pérdida no paralela de ambas actividades, con una actividad residual para S-AMP muy baja, aunque algunos pacientes han mostrado un retraso mental moderado con una relación S-Ado/ SAICA ribósido intermedia (19).

2.6.5 DIAGNÓSTICO

El diagnóstico de los errores congénitos del metabolismo de las purinas y pirimidinas es frecuentemente difícil. Existen factores que provocan la aparición de

falsos positivos, entre ellos se encuentra la administración de sulfonamidas y de medicamentos antiepilépticos. El diagnóstico certero para esta enfermedad se basa en la búsqueda de los compuestos S-Ado y SAICA ribósido. El método de tamizaje de preferencia es la prueba colorimétrica de Bratton Marshall en el que se usa orina en papel de filtro como muestra. La utilización de esta prueba tiene como ventaja el análisis cualitativo de la muestra de forma rápida y sencilla, lo cual permite clasificarla como positiva o negativa. En caso afirmativo se procede a la cuantificación. No obstante el diagnóstico conclusivo debe realizarse mediante el uso del HPLC en LCR y orina para identificar la presencia de S-Ado y SAICA ribósido. Para determinar la actividad enzimática residual se utilizan como muestras, leucocitos o fibroblastos. En el período prenatal se realiza el análisis de metabolitos o enzimas en vellosidades coriónicas, líquido amniótico o sangre fetal (19, 20).

2.6.6 TRATAMIENTO

Debido al desconocimiento del mecanismo fisiopatológico exacto que provoca la enfermedad, y aunque se han planteado varias hipótesis, no existe un tratamiento disponible para este trastorno. Se plantea que el tratamiento que se le administra a los pacientes afectados tiene el objetivo de aliviar alguno de los síntomas que se manifiestan. Muchos pacientes han sido tratados durante varios meses con adenina por vía oral (100-300 mg/día) asociado con alopurinol (60-240 mg/día) con el fin de aumentar la concentración de este nucleótido en los tejidos. No obstante, esto no ha mostrado avances de tipo clínico ni bioquímico. Más recientemente se ha reportado la administración oral de D-ribosa (1.5 g/ kg/ día) como vía para reducir la frecuencia de las convulsiones, al no producir efectos tóxicos (19, 20).

3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN

3.1 FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

Los Errores Innatos del Metabolismo (EIM) son de gran importancia debido a que generan síntomas graves en el neonato, secuelas de retardo mental en niños escolares e incluso la muerte temprana. Dentro de los EIM se incluyen las aminoacidopatías, las cuales son un grupo de aproximadamente 39 enfermedades causadas por el déficit de las enzimas o de los cofactores que participan en el catabolismo de los aminoácidos. Las manifestaciones clínicas varían desde alteraciones a nivel de sistema nervioso central hasta cuadros semejantes a infecciones e intoxicaciones. La severidad de las aminoacidopatías está directamente relacionada con el grado de afectación de la proteína tanto a nivel estructural como funcional como resultado de la mutación. Muchas de las aminoacidopatías generan en el individuo consecuencias irreversibles como retardo mental siendo el caso particular de la fenilcetonuria, homocistinuria, y la enfermedad de la orina con olor a jarabe de arce. Entre los pacientes con retraso mental en las instituciones especiales, la frecuencia reportada de homocistinuria ha sido tan alta como 1 de cada 300 a 4,500 (21). Además de las aminoacidopatías, dentro de los EIM se incluyen alteraciones en la degradación de los carbohidratos como es el caso de la galactosemia la cual afecta aproximadamente a 1 de cada 40.000 personas en el mundo. Su presentación clínica en niños no tratados, puede ser severa, y a veces mortal. El déficit en la enzima adenilosuccinato liasa asociado a la síntesis de purinas produce signos clínicos no-específicos e incluyen retraso psicomotor, ataques epilépticos, y alteraciones de la conducta.

3.2 JUSTIFICACIÓN

La experiencia científica mundial ha demostrado que del 20 a 30% de los casos de mortalidad pediátrica hospitalaria tiene como base una enfermedad genética. Los análisis de morbilidad infantil son aún más sorprendentes; entre el 2 y 3% de todos los recién nacidos se encuentran malformaciones congénitas, y cerca del 60% de todos los abortos espontáneos tienen como causa un trastorno genético embrionario (22); si a esto se le suman los trastornos que no son evidentes desde el nacimiento, como es el caso de las alteraciones bioquímicas de origen genético, se llega entonces a la conclusión de que cualquier programa que pretenda detectar tempranamente los EIM y otros tipos de patologías genéticas, debe tener especial relevancia dentro de las políticas de salud destinadas a la población pediátrica. En Colombia, son pocos los reportes en la literatura a cerca del diagnóstico de estos trastornos en recién nacidos y escolares con bajo rendimiento académico. En la población escolarizada con bajo rendimiento escolar, es importante identificar si las alteraciones cognitivas, trastornos de la conducta y estados de hiperactividad podrían estar relacionados con diversos EIM; razón por la cual se hace necesario realizar un diagnóstico multidisciplinario preciso y exacto de los individuos que cursan con estas alteraciones cognitivas para poder brindar un tratamiento y seguimiento adecuado, evitando de esta manera consecuencias a largo plazo y tratando de proporcionar una mejor calidad de vida; mientras que en los recién nacidos se busca realizar prevención secundaria con un tamizaje inicial evitando la afectación y presentación de manifestaciones clínicas a largo plazo.

4. OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GENERAL

Evaluar una estrategia metodológica basada en pruebas colorimétricas cualitativas a partir de muestras de orina para realizar tamizaje de Errores Innatos del Metabolismo (EIM) en la población Colombiana.

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 1 Realizar una prueba de tamizaje en neonatos de la Clínica El Bosque en la ciudad de Bogotá.
- 2 Realizar pruebas de tamizaje para Fenilcetonuria, Homocistinuria, Galactosemia, Enfermedad de la orina con olor a Jarabe de Arce y Déficit de la enzima adenilosuccinato liasa en escolares con bajo rendimiento académico en la institución educativa distrital Agustín Fernández en la ciudad de Bogotá.
- 3 Establecer estrategias que permitan brindar una aproximación inicial a individuos afectados con EIM.

5 MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN

Se realizaron estudios de cohorte descriptivos. La fase 1, se desarrolló en una cohorte de neonatos, mientras que la fase 2 consistió en una brigada de salud con aproximación paraclínica inicial. La fase 1 inicia con la implementación de una estrategia metodológica para tamizaje de homocistinuria en los recién nacidos de la Clínica El Bosque. La fase 2, se desarrolló a partir de una selección previa por la institución educativa distrital Agustín Fernández por el programa “Diseño y ejecución de proyectos para la construcción y conservación de la vida” del Colegio Agustín Fernández. En el 2002, la secretaria de educación exigió a todas las instituciones educativas realizar un proyecto educativo institucional de acuerdo a las necesidades particulares de la población. Este proyecto permite a la institución detectar estudiantes con bajo rendimiento escolar y realizar la evaluación de factores familiares, salud mental, salud general y educación a nivel grupal. A partir de estas poblaciones, se plantea el desarrollo de la estrategia metodológica para el tamizaje de Fenilcetonuria, Homocistinuria, Galactosemia, Enfermedad de la orina con olor a Jarabe de Arce y Déficit de la enzima adenilosuccinato liasaa partir de muestras de orina.

5.1.1 POBLACION EN ESTUDIO Y MUESTRA

En la fase 1, la población universo está conformada por todos los recién nacidos (8-36 horas de nacidos) en la Clínica El Bosque durante un período de 4 meses, iniciando el 01 de febrero del 2013 hasta el 31 de mayo del 2013. Para la fase 2, la población universo está conformada por los estudiantes con bajo rendimiento escolar detectados previamente por el programa “Diseño y ejecución de proyectos

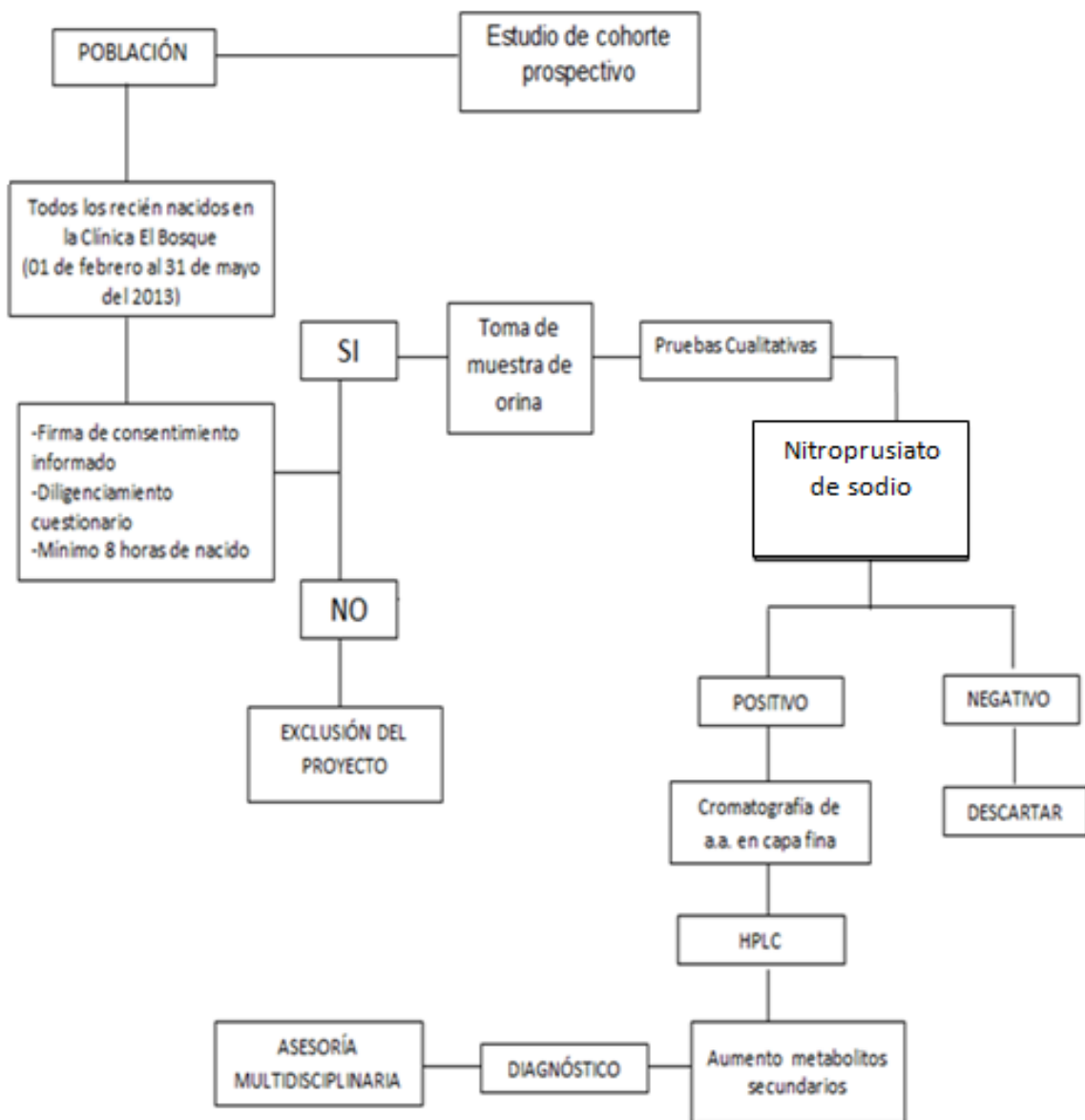
para la construcción y conservación de la vida” del Colegio Agustín Fernández de la ciudad de Bogotá.

Para la fase 1, fueron incluidos en el estudio todos los recién nacidos en la Clínica El bosque a los cuales sus padres y/o acudientes autorizaron el procedimiento con la firma del consentimiento informado. Así mismo, se excluyeron quienes manifestaron su deseo de no participar en el estudio e individuos con menos de 8 horas de nacidos. Para llevar a cabo la recolección de las muestras de orina en los recién nacidos de la clínica El Bosque se dispuso de un período entre 3 y 4 horas diarias, adicionalmente, luego de dos meses de puesta en marcha la metodología se buscó cubrir un periodo de tiempo mucho más largo (8-10 horas aproximadamente) para aumentar la recolección de las muestras de orina en los recién nacidos con la participación de una auxiliar de laboratorio de la clínica El Bosque.

Para la realización de la fase 2, se incluyeron todos aquellos estudiantes a quienes sus padres autorizaron participar en la brigada de salud que según previa determinación por los docentes a cargo, presentan un bajo rendimiento académico. Así mismo, se excluyeron a todos los individuos que por medio de sus padres manifestaron su deseo de no participar en el estudio. La recolección de las muestras en los estudiantes con bajo rendimiento académico se realizó mediante la ejecución de dos jornadas de toma de muestras, una en la sede A y la otra en la sede B y C con el apoyo de los orientadores.

5.2 MÉTODOS

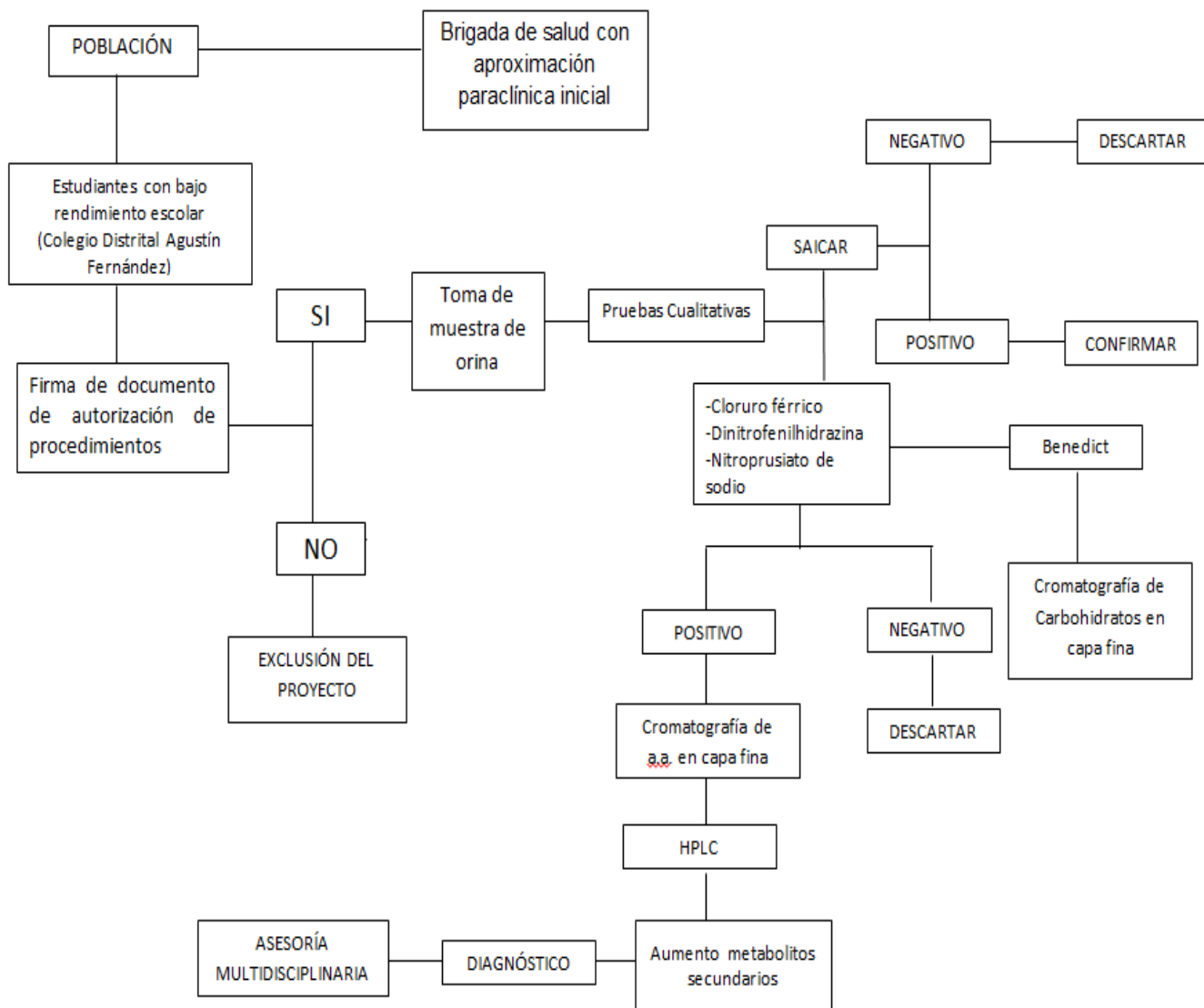
5.2.1 FASE 1



*a.a= Aminoácidos

Figura 6. Esquema de metodología FASE

5.2.2 FASE 2



*a.a= Aminoácidos

Figura 7. Esquema de metodología FASE 2.

5.3 ESTUDIO BIOQUÍMICO

5.3.1 Test de Cloruro férrico

Se basa en la reacción del cloruro férrico con el ácido fenil pirúvico excretado en la orina de los pacientes. Un color verde es indicativo de fenilcetonuria. Puede producirse una variedad de otras coloraciones a causa de la presencia de diversos compuestos, y una coloración verde similar puede observarse en la alcaptonuria o la histidinemia, así como en presencia de un metabolito de la clorpromacina. Esta prueba puede ser interferida por salicilatos, fenotiacidas, ácido nicotínico, metabolitos de la L-Dopa, yodoclorhidroquinona y bilirrubina (5).

5.3.2 Test de Nitroprusiato de sodio

La presencia de aminoácidos sulfurados como la homocisteína es evidenciado con la técnica colorimétrica de nitroprusiato de sodio. Utilizando esta técnica los sulfhídricos oxidados, son reducidos inicialmente con cianuro de sodio, para luego reaccionar con el nitroprusiato de sodio (con grupos sulfhidricos libres), produciendo una coloración de rosa a púrpura presuntiva de homocistinuria (6, 10).

5.3.3 Test de Dinitrofenilhidrazina

Los compuestos alfa ceto como el ácido fenil acético y el ácido fenil láctico reaccionan con la 2-4 dinitrofenil hidrazina formando compuestos de hidrazonas. La reacción es positiva cuando se forma una coloración amarilla con precipitado blanco presuntiva de la enfermedad de la orina con olor a jarabe de arce (5).

5.3.4 Test de Benedict

Detección de azúcares reductores (capaces de oxidarse, tienen OH libre). Glucosa, fructosa, lactosa, galactosa, maltosa, xilosa, ribosa, xilulosa, arabinosa. Los

grupos reductores aldehídos de algunos azúcares, en medio alcalino y bajo la acción del calor, reducen los iones de cobre a óxido cuproso. La reacción produce un cambio en el color: desde azul pasando por verde, anaranjado, hasta rojo presuntivo de Galactosemia (5).

5.3.5 Test de SAICAR

Esta prueba detecta SAICAR (aminoimidazol succinil carboxamida ribosil-5-fosfato). Mediante la amina libre en el compuesto de SAICAR reacciona con el nitrito de sodio formándose una sal en un medio ácido, luego, este compuesto forma un complejo con N-1 -naphthylenediamine dihydrochloride (NEDA) dando como resultado una coloración púrpura presuntivo del déficit de la enzima adenilsuccinato liasa. El método presenta interferencias en presencia de sulfamidas y vitamina C (19, 20).

5.4 ESTUDIO BIOQUÍMICO:

5.4.1 Cromatografía en capa fina

Esta técnica va a permitir la separación y visualización de los aminoácidos presentes en las muestras de orina. La cromatografía en capa fina consta de dos fases. La primera, es la fase estacionaria, para este estudio se van a utilizar como soporte láminas para cromatografía comerciales; en la segunda, la fase móvil, consta de un solvente el cual se va a desplazar a través del soporte por capilaridad provocando un reparto de solutos entre él y la fase estacionaria de acuerdo con sus solubilidades relativas (coeficientes de reparto). Una vez que el solvente haya alcanzado un punto máximo al otro extremo de la lámina, ésta se saca del tanque y se seca. La identificación de los aminoácidos se realiza comparando las posiciones de las bandas generadas a partir de las muestras y la de los compuestos de referencia (patrones) de naturaleza química conocida (20).

5.4.1.1 Reacciones coloreadas de aminoácidos

Para el revelado de las bandas se utiliza la reacción de ninhidrina. La ninhidrina (hidrato de tricetohidrindeno) reacciona con aminoácidos que tengan el grupo amino libre, dando lugar a la formación de amoniaco y anhídrido carbónico, con reducción del reactivo (ninhidrina) a hidrindantina (20).

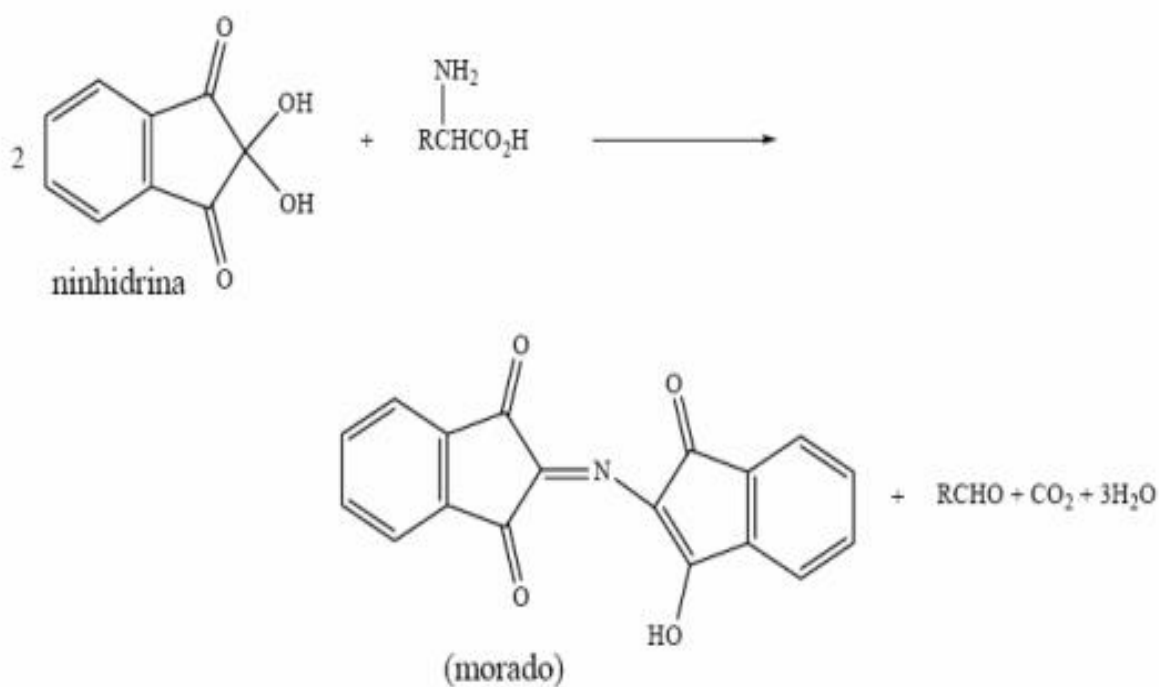


Figura 8. Reacción de aminoácidos con la ninhidrina.

5.5 RECOLECCIÓN DE LA INFORMACIÓN

La información de cada individuo del estudio, fue recolectada mediante formatos previamente estandarizados y verificados tanto para la fase 1 como para la fase 2, para determinar la claridad en el planteamiento de las preguntas a realizar y el lenguaje a utilizar.

El cuestionario aplicado en la fase 1, además de los datos personales interrogo acerca de datos como: edad de la materna, sexo, peso y horas de vida del recién nacido, si se le había realizado algún diagnóstico inicial y si se le estaba suministrando algún tipo de medicamento al momento de realizar la toma de la muestra de orina con el fin de evidenciar posibles interferencias en la técnica.

El cuestionario aplicado en la fase 2, además de los datos personales interrogo acerca de datos como: sexo, edad, manifestaciones clínicas, diagnósticos médicos previos y si se le estaba suministrando algún tipo de medicamento al momento de realizar la toma de la muestra de orina.

6 RESULTADOS

6.1 FASE 1

Se abordó una población de 180 recién nacidos en la Clínica El Bosque residentes en la ciudad de Bogotá, durante un período de 4 meses que abarcó desde el 01 de febrero del 2013 al 31 de mayo del 2013. A los padres responsables de los recién nacidos se les explicó todo lo referente al estudio y posteriormente se les solicitó la autorización para realizar la toma de la muestra de orina de los neonatos por medio de la firma de un consentimiento informado (Ver Anexo 11.6). De los 180 individuos abordados se logró obtener la aceptación por parte de los padres para ser parte del estudio de 148 individuos. Posterior a la autorización del procedimiento, se procedió a realizar la toma de datos personales de cada individuo en los cuales se incluía información acerca del peso, talla, horas de vida, número de veces que había sido alimentado, y si le había sido suministrado algún medicamento hasta el momento del estudio con el fin de evaluar posibles interferencias con la metodología en estudio, además de los datos de residencia y contacto; estos datos fueron almacenados posteriormente en una base de datos en Excel. Posterior al registro de datos personales, se procedió a realizar la toma de la muestra de orina de cada recién nacido mediante el uso de bolsas pediátricas recolectoras de orina durante un período entre 4-5 horas aproximadamente. De los 148 individuos que aceptaron ser parte del estudio, se logró recolectar la muestra de orina de 28 recién nacidos siendo la muestra de 20 neonatos óptima para la realización de pruebas bioquímicas, según previa estandarización de la metodología reportada en la literatura (Figura 8).

Periodo de recolección de muestras: 01 Febrero a 31 Mayo del 2013					
					%
Total Nacimientos			901		100
Total Nacimientos abordados			180		20,0
Aceptación			148		82,2
Muestra Exitosa			28		18,9
Muestra Escasa			8		5,4
Muestra no exitosa			120		81,1

Figura 9. Resultados recolección de muestras de orina en neonatos de la Clínica El Bosque.

Las 20 muestras procesadas por duplicado en dos tandas, cada una de 10 muestras con sus respectivos controles (positivo y negativo) terminaron por arrojar un resultado negativo para la prueba bioquímica cualitativa de nitroprusiato de sodio (Figura 10).

TEST	Muestras Procesadas	Muestras positivas	Muestras negativas
Nitroprusiato de sodio	20	0	20

Figura 10. Resultados de procesamiento de muestras obtenidas en neonatos de la Clínica El Bosque.

Según datos suministrados por el grupo de trabajo de ECLAMC (Estudio Colaborativo Latinoamericano de Malformaciones Congénitas) del Instituto de Genética Humana de la Pontificia Universidad Javeriana, se registraron un total de 901 nacimientos en la Clínica Del Bosque durante el período del 01 de febrero del 2013 al 31 de mayo del 2013, de los 901 nacimientos registrados se lograron abordar 180 nacimientos lo que equivale a un total del 20%. Las razones por las cuales se obtuvo un bajo cubrimiento de nacimientos incluyen el apoyo limitado por el personal de enfermería, corta estancia hospitalaria, angustia materna en la

recolección de las muestras de orina diarias, además en la ejecución del proyecto no se incluía fines de semana ni días festivos.

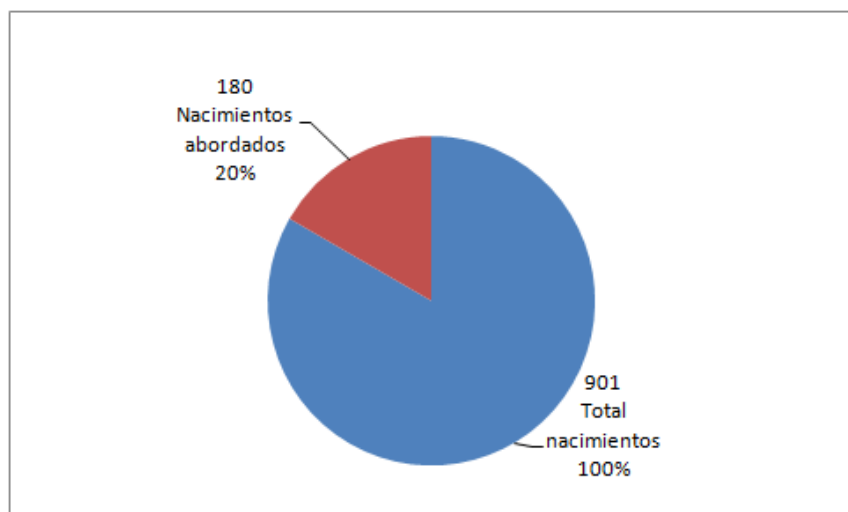


Figura 11. Población en estudio, Clínica El Bosque (01 de febrero al 31 de mayo del 2013)

El total de nacimientos abordados durante el periodo de estudio fue de 180 de los cuales 148 padres y/o acudientes de los neonatos autorizaron la participación en la investigación mediante el diligenciamiento del consentimiento informado. Las principales razones por las cuales los padres no aceptaron la participación en el estudio se describen a continuación (Figura 10).

	Justificación rechazo del proyecto.
1.	Hospitalización en URN
2.	No tiene relevancia
3.	No hay conocimiento sobre las patologías
4.	Orden de salida lista

Figura 12. Justificación rechazo de participación en el estudio.

6.2 FASE 2

Se estudió una población de 300 escolares con edades entre los 5 años hasta los 18 años de la institución educativa distrital Agustín Fernández (sedes A, B, C) en la ciudad de Bogotá, quienes fueron catalogados como individuos con bajo rendimiento académico gracias a un programa de seguimiento interno de la institución. Mediante una serie de reuniones con los padres de familia y/o acudientes responsables, se explicó la intencionalidad del estudio y paralelamente se les solicitó la firma del documento de autorización de procedimientos para realizar la toma de muestra de orina (Ver anexo 11.7). De los 300 escolares que fueron incluidos en el estudio, 280 padres autorizaron la participación en el estudio mediante la firma del documento de autorización de procedimientos. Posterior a esto, se citaron a los estudiantes en dos jornadas para realizar la respectiva toma de muestra de orina. De los 280 estudiantes citados a las jornadas de recolección de muestras se lograron recolectar 180 muestras de los estudiantes de las sedes A, B y C junto con el diligenciamiento de los respectivos datos personales para asegurar la trazabilidad de las muestras, siendo todas muestras óptimas para su procesamiento (Figura 11).

Recolección de muestras Colegio Agustín Fernández				
				%
Total Estudiantes			300	100
Total Estudiantes abordados			280	93,3
Aceptación			280	93,3
Muestra Exitosa			180	64,3
Muestra no exitosa			100	35,7

Figura 13. Resultados recolección de muestras de orina en escolares con bajo rendimiento académico Colegio Distrital Agustín Fernández (Bogotá).

De los 280 individuos que aceptaron ser parte del estudio se logró recolectar 180 muestras de orina óptimas para su procesamiento. El motivo por el cual no se logró cubrir a todos los estudiantes fue que principalmente en los estudiantes adolescentes (sede A), el apoyo fue escaso por parte de los mismos individuos y orientadores a cargo; mientras que durante la recolección de las muestras en las sedes B y C se contó con el apoyo adicional de los padres de familia quienes se encargaban de asesorar la toma de las muestras.

A continuación se observa la distribución de la recolección de las muestras obtenidas según la Sede en la que se encontraban en el momento del estudio los individuos, teniendo en cuenta que en la sede A se encontraban los estudiantes de grados sexto a once, mientras que en las sedes B y C se encontraban los estudiantes pertenecientes a los grados cero (0) hasta quinto de primaria.

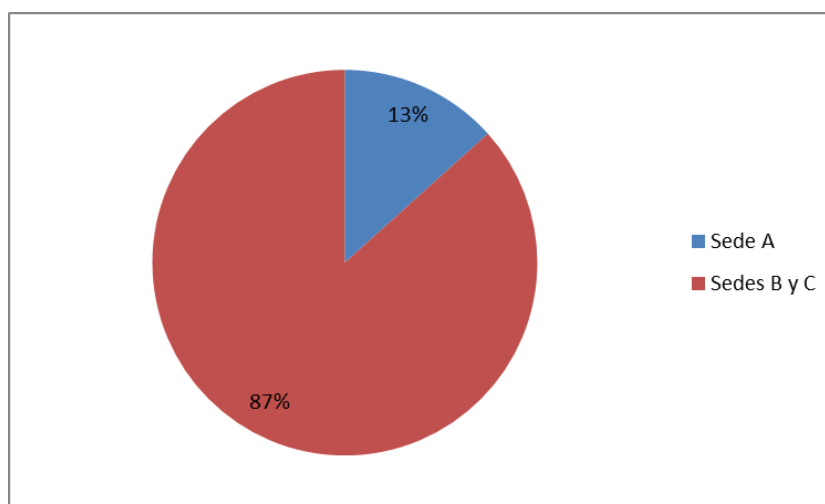


Figura 14. Distribución recolección de las muestras de orina en el colegio Agustín Fernández de acuerdo a la Sede (A, B, C).

A las 180 muestras de orina recolectadas en los escolares con bajo rendimiento de la institución educativa Agustín Fernández, se les logró realizar las pruebas

bioquímicas cualitativas: Cloruro férrico, Nitroprusiato de sodio, Dinitrofenilhidrazina, Benedict y Saicar junto con sus respectivos controles (positivos y negativos), obteniendo 2 muestra positivas para Cloruro férrico y 14 muestras positivas para Saicar (Figura 15).

TEST	Muestras Procesadas	Muestras positivas	Muestras negativas
Cloruro Férrico	180	2	178
Nitroprusiato de sodio	180	0	180
Dinitrofenilhidrazina	180	0	180
Benedict	180	0	180
Saicar	180	14	166

Figura 15. Resultados de procesamiento de muestras obtenidas en escolares con bajo rendimiento escolar en el colegio Agustín Fernández.



Figura 16. Pruebas positivas para el Test de Cloruro Férrico

A las muestras de orina #0045 y #0146 que fueron positivas para el test de cloruro férrico (figura 16) posteriormente se les realizó cromatografía en capa fina para separar los aminoácidos y evaluar el perfil de estos. En la cromatografía en capa fina se observó una banda muy leve que migra a la altura de la fenilalanina tanto en la muestra #0045 como en la muestra #0146. Este resultado se debe confirmar mediante la repetición de la cromatografía en capa fina para aminoácidos y dependiendo del resultado, se debe hacer cuantificación mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC).

Las muestras #0042, #0049, #0054, #0077, #0117, #0124, #0158, #0185, #0215, #0226, #0227, #0234, #0256 y #0260 arrojaron un resultado positivo para el test de Saicar (Figura 17).



De izquierda a derecha. Tubo 1: Control Negativo, Tubo 2: Control Positivo, Tubo 3: Muestra negativa, Tubo 4, 5 y 6: Muestras positivas, Tubo 7: Muestra negativa.

Test de SAICAR



De izquierda a derecha: Tubos 1, 2 y 3: Muestra positivas, Tubo 4: Control negativo. Test de SAICAR



De izquierda a derecha: Tubo 1: Muestra positiva, Tubo 2 y 3: Muestras negativas, Tubos 4 y 5: Muestras positivas. Test de SAICAR



Figura 17. Resultados Test de SAICAR

7. DISCUSIÓN

Los EIM son trastornos bioquímicos determinados genéticamente en la estructura y/o función de las moléculas proteicas. La experiencia científica mundial ha demostrado que del 20 a 30% de los casos de mortalidad pediátrica hospitalaria tiene como base una enfermedad genética. Los análisis de morbilidad infantil son aún más sorprendentes; entre el 2 y 3% de todos los recién nacidos se encuentran malformaciones congénitas, y cerca del 60% de todos los abortos espontáneos tienen como causa un trastorno genético embrionario; si a esto se le suman los trastornos que no son evidentes desde el nacimiento, como es el caso de las alteraciones bioquímicas de origen genético, se llega entonces a la conclusión de que cualquier programa que pretenda detectar tempranamente los EIM y otros tipos de patologías genéticas, debe tener especial relevancia dentro de las políticas de salud destinadas a la población pediátrica (22).

El diagnóstico precoz de los EIM en etapas tempranas de la vida es esencial para el éxito de los tratamientos (en los casos que sean susceptibles de éstos) y para realizar un buen cuidado médico y psicosocial de los pacientes y su familia. Además es un requisito previo para un asesoramiento genético óptimo. Estas enfermedades aunque tienen una baja incidencia (1/15000 aprox.), son muy importantes desde el punto de vista de su magnitud como problema de salud, por su gravedad y constituyen la causa de muertes prematuras, severos trastornos neurológicos, retraso mental y en general pobre calidad de vida; dependencia de otras personas, hospitalizaciones recurrentes, gastos de salud elevados y como consecuencia cargas familiares, sociales y económicas muy notables (23). Desde hace ya varios años, la mayoría de países desarrollados han implementado estrategias como la espectrometría de masas en tándem (MS/MS) para realizar tamizaje neonatal; a diferencia de esto, en Colombia solo existe el tamizaje ampliado obligatorio para hipotiroidismo congénito en todos los recién nacidos vivos, gracias a la Resolución aprobada 412, Decreto 1544 del 2000 y Resolución

3384 del 29 de diciembre del 2000 del Ministerio de la Salud. Debido a esto, surge la necesidad de iniciar la implementación de nuevas estrategias para realizar tamizaje de EIM en la población Colombiana.

Los programas destinados al tamizaje neonatal deben tener la capacidad de separar del grupo total de individuos, a aquellos que tienen más probabilidad de tener una enfermedad particular acompañados de técnicas altamente sensibles que permitan la exclusión de falsos negativos (23). Algunas de las pruebas empleadas en la actualidad por diversas instituciones para realizar la detección inicial de EIM en presencia de manifestaciones clínicas son las pruebas bioquímicas cualitativas en tubo; gracias a que son altamente sensibles permiten la detección indiscriminada de algunos compuestos presentes en la orina en condiciones anormales que reaccionaran con reactivos específicos para dar derivados coloreados; proponiéndose como estrategias con capacidad de detección inicial de EIM.

Los resultados encontrados en este estudio, demuestran que la estrategia metodológica planteada para realizar el tamizaje de Fenilcetonuria, Homocistinuria, Galactosemia, Enfermedad de la orina con olor a jarabe de arce y Déficit de la enzima adenilsuccinato liasa no es adecuada en los recién nacidos, puesto que contrario a lo que reporta la literatura científica, la recolección de las muestras de orina en neonatos es altamente compleja lo que dificulta la implementación de pruebas colorimétricas en el tamizaje neonatal. Esto debido a que en los centros hospitalarios colombianos, las madres luego de dar a luz tienen alrededor de 12-24 horas para ser dadas de alta, a excepción de cuando se presenta algún caso particular donde se ve afectada la vida del neonato o de la madre y se les debe hacer seguimiento permanente dentro de la clínica. Según la experiencia demostrada durante el tiempo del estudio en la Clínica El Bosque en la ciudad de Bogotá, los recién nacidos durante los primeros minutos de vida realizan su primera micción; el tiempo que permite la recolección de la muestra de

orina en los recién nacidos en la clínica es muy escaso, puesto que mínimo se deben esperar 8 horas para poder realizar la toma de la muestra ya que se debe retar el metabolismo del recién nacido. Luego de las 8 horas de vida, se puede realizar la recolección de la muestra pero la mayor problemática que se encontró fue que en general, los recién nacidos no orinan durante un periodo de 3-4 horas aproximadamente (tiempo que se dispuso para la implementación de la estrategia) y si lo hacen, la cantidad de orina que se recolecta es muy escasa lo cual impide el procesamiento de las mismas. A lo largo del estudio, se implementaron estrategias para favorecer la micción de los recién nacidos como colocar paños de agua fría a nivel abdominal, quitar algunas prendas de vestir para bajar la temperatura corporal y abrir la llave del agua para estimular el proceso, sin embargo, estas no fueron suficiente para aumentar la recolección de las muestras de orina en los recién nacidos. Adicionalmente, se pudo observar una situación preocupante en los padres de familia ya que muchos de estos no saben la existencia de este tipo de patologías y mucho menos la gravedad de su clínica, lo cual hace pensar en la falta de programas de salud pública enfocados hacia la educación sobre los EIM principalmente en etapas pediátricas. Si los padres lograran reconocer los síntomas y signos clínicos iniciales con los que cursan los EIM, los recién nacidos tendrían muchas más probabilidades de acceder a una atención rápida y evitar las posibles consecuencias a largo plazo de las patologías e inclusive, aumentar la esperanza de vida en los recién nacidos con alteraciones genéticas metabólicas.

Paralelamente, la edad de presentación de las manifestaciones clínicas de los EIM depende de la importancia de la proteína y de la severidad del defecto. En algunos casos el defecto comienza *in útero* o poco después del nacimiento. En otras la acumulación de los metabolitos tóxicos o deletéreos para el organismo es lo suficientemente lenta para que la entidad sólo se manifieste en la edad adulta o cuando se dan condiciones medioambientales que desencadenan su aparición (1). Las manifestaciones clínicas en su mayoría son del tipo inespecíficas que van

desde vómitos, letargia, diarreas, desequilibrio ácido básico y lesiones a nivel de sistema nervioso central (SNC) como alteraciones en la conducta y retardo mental; se ha reportado que cerca de setenta desórdenes metabólicos cursan con retardo mental (24). Se ha propuesto que estas alteraciones a nivel de SNC consecuencia del aumento y generación de metabolitos altamente neurotóxicos en múltiples EIM, pueden estar estrechamente ligados con el bajo rendimiento académico presentado en algunos escolares en las instituciones educativas. Teniendo en cuenta lo anterior, hace algunos años atrás, era mucho más probable identificar mediante una consulta médica a los individuos con algún tipo de trastorno metabólico de carácter genético pues debido a su bajo rendimiento académico evidenciado en la pérdida repetitiva de un año escolar, estos eran remitidos a las EPS con la finalidad de realizar una valoración multidisciplinaria y determinar la posible causa de las alteraciones en la conducta y retardo mental. En la actualidad, contrario a esto, debido a la instauración del Decreto 230 de 2002 artículo noveno (Promoción de los educandos), donde se determinó que “Los establecimientos educativos tiene que garantizar un mínimo de promoción del 95% de los educandos que finalicen el año escolar en cada uno de los grados”, dificulta la detección de posibles EIM en individuos escolares con bajo rendimiento académico, dejando una amplia población en estado de vulnerabilidad con respecto a la detección temprana y tratamiento necesario de estas patologías. En la segunda fase del estudio, se evaluó de igual manera la estrategia metodológica para detección de EIM pero en los estudiantes con bajo rendimiento académico de la institución educativa distrital Agustín Fernández en la ciudad de Bogotá. Se pudo observar que la estrategia en la población es estudio es viable, puesto que se lograron recolectar 180 muestras con cantidades óptimas para su procesamiento, logrando realizar las 5 pruebas colorimétricas planteadas en el estudio.

Las muestras #0045 y #0146 positivas para el test de cloruro férrico luego de realizar la cromatografía en capa fina para aminoácidos y observar una banda muy

leve que migra a la altura de la fenilalanina, se debe realizar la confirmación de la banda observada para las dos muestras mediante una segunda cromatografía en capa fina y posteriormente, dependiendo del resultado se deberá realizar cuantificación de aminoácidos en sangre y la respectiva asesoría multidisciplinaria.

Mientras que las muestras #0042, #0049, #0054, #0077, #0117, #0124, #0158, #0185, #0215, #0226, #0227, #0234, #0256 y #0260 que arrojaron un resultado positivo para la prueba de SAICAR, test presuntivo para la detección de autismo de origen metabólico, se debe confirmar mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) para separar, identificar y cuantificar las succinilpurinas presentes en los líquidos biológicos de los individuos afectados por el déficit de la enzima adenilsuccinato liasa.

A pesar que se encontraron dificultades a la hora de abarcar a toda la población identificada inicialmente debido a la escasa colaboración de los adolescentes en estudio, teniendo la respectiva autorización de procedimiento de sus padres; el estudio arrojó resultados valiosos para la instauración de nuevos protocolos de detección de EIM en la población Colombiana. Los resultados obtenidos en esta segunda fase, sugieren que la metodología planteada es viable para el tamizaje de EIM en la población con bajo rendimiento académico, por lo tanto, posteriormente puede llegar a ser implementada como un protocolo de detección de alteraciones metabólicas genéticas en muchos más centros educativos a nivel distrital, favoreciendo y mejorando la calidad de vida de estos individuos en su entorno social. Adicionalmente, al ser la población abordada, una población de escasos recursos se les pudo brindar la oportunidad de acceder al tamizaje de patologías complejas y desconocidas frecuentemente por la sociedad actual. El poder brindar una herramienta de detección totalmente gratuita y que ofreciera tantos beneficios simultáneamente, motivó a los padres de familia a permitir la recolección de las muestras en los escolares, colocando como antecedente que el abordar a la población más vulnerable ofreciendo detección para enfermedades a las cuales

es difícil acceder naturalmente, motivará la participación de los demás padres de familia en la capital en próximos programas de tamizaje de EIM.

Posteriormente, se pudo determinar que las pruebas cualitativas empleadas en el tamizaje de Fenilcetonuria, Homocistinuria, Galactosemia, Enfermedad de la orina con olor a jarabe de arce y Déficit de la enzima Adenilsuccinato liasa son de gran utilidad durante la detección inicial de dichas patologías gracias a su alta sensibilidad y su capacidad de exclusión de falsos negativos. Al ser estas pruebas sensibles se pueden establecer como pruebas de tamizaje en cualquier programa de tamizaje de EIM en la población Colombiana, además de ser pruebas de fácil acceso y bajo costo.

8. CONCLUSIONES

La estrategia metodológica planteada para el tamizaje de EIM no es viable en la población neonatal, puesto que es difícil recolectar las muestras de orina de estos individuos.

Los escolares en general son una buena población para implementar la estrategia metodológica para el tamizaje de Fenilcetonuria, Homocistinuria, Galactosemia, Enfermedad de la orina con olor a jarabe de arce y Déficit de la enzima Adenilsuccinato liasa a partir de pruebas cualitativas, puesto que se lograron obtener muestras adecuadas y detectar 2 casos positivos para el test de cloruro férrico y 14 para el método de Saicar.

El tener programas de seguimiento interno a los estudiantes dentro de las instituciones educativas distritales facilita la identificación de la población más vulnerable para el abordaje con programas de tamizaje de EIM.

Se demostró que las pruebas cualitativas son pruebas ideales para realizar el tamizaje de errores innatos del metabolismo en la población Colombiana gracias a su alta sensibilidad.

Las pruebas cualitativas ofrecen una gran posibilidad para realizar el tamizaje de EIM en individuos escolarizados gracias a su relación costo-beneficio y a su fácil realización y obtención de la muestra.

9. PERSPECTIVAS

Se realizaran pruebas paraclínicas para confirmar o descartar diagnósticos sugestivos y valoración por médico especialista en Genética Clínica, con entrega de informes y asesoría.

Realizar campañas educativas de sensibilización por parte del Ministerio de la Protección Social sobre la existencia e importancia de la detección temprana de errores innatos del metabolismo en la población Colombiana más vulnerable.

Implementar el protocolo de tamizaje de Fenilcetonuria, Homocistinuria, Galactosemia, Enfermedad de la orina con olor a jarabe de arce y Déficit de la enzima Adenilsuccinato liasa en otras instituciones educativas distritales con riesgo de presentación de EIM.

10. BIBLIOGRAFÍA

1. *Barrera Avellaneda, L. A.* (2009) Estudios bioquímicos de los errores innatos del metabolismo en Colombia, durante dos décadas. *Rev. Acad. Colomb. Cienc.* 33(128): 377-394, 2009. ISSN 0370-3908.
2. *Vela AM, Belmont ML, Fernández LC, Ramírez FC, Ibarra GI.* (2009) Frecuencia de enfermedades metabólicas congénitas susceptibles de ser identificadas por el tamiz neonatal. *Acta Pediatr Mex* 2009; 30(3):156-62.
3. *Ortiz Picón T.* Programa Nacional de Tamizaje y Diagnóstico Genético. In: Endocrinóloga pediatra y de la adolescencia, Laboratorio de Investigación Hormonal, Asesora programa Genetics Flux, Hospital Militar Central - Universidad Militar Nueva Granada.
4. *Ruiz PM, Sánchez VV, Dalmau SJ, Gómez LL.* (2007) Tratamiento nutricional de los errores innatos del metabolismo, Valdemoro-Madrid 2º edición.
5. *Barrera Avellaneda, L. A.* (2004) Manual De Enfermedades Metabólicas. Instituto de Errores Innatos del Metabolismo. PUJ
6. *Bermudez M, Bernal J, Espinosa E, Cornejo W, Briceño I, Prieto J.C.* Homocistinuria casos diagnosticados en Colombia. *Acta Neurol Colomb.* 2003; 19 (2).
7. *Urreizti R, Astiaggiano C, Bermudez M, Cordoba A, Szlago M, Grosso C.* The p.T191M mutation of the CBS gene is highly prevalent among homocystinuric patients from Spain, Portugal and South America. *J Hum Genet.* 2006; 51: 305-313.
8. *Alvear C, Uribe A, Barrera L.A.* Los errores innatos del metabolismo en Colombia. *Acta Médica Colombiana.* 1998; 23(1).
9. *García-Jiménez MC, Baldellov A, García-Silva M.T, Dalmon-Serra J, García-Carzola A, Gómez-Lopez L.* Estudio epidemiológico de las enfermedades metabólicas con homocistinuria en España. *An Pediatr (Barc).* 2012; 76(3): 133-139.
10. *Couce ML; Balcells S; Dalmau J; Grinberg D; Rodés M; Vilaseca MA* (2009) Homocistinuria. Protocolo de diagnóstico y tratamiento de homocistinuria. Hospital Clínico Universitario. Santiago de Compostela, pp 326-349.

11. *Menéndez A; Fernández JE* (1999) Metabolismo de la homocisteína y su relación con la aterosclerosis. *Rev Cubana Invest Biomed* 1999;18(3):155-68
12. *Bermúdez M, Bernal J, Espinosa E, Cornejo W, Briceño I, Prieto J.C.* Propuesta para un protocolo de diagnóstico bioquímico de homocistinuria. *Universitas Médica*. 2003; 44(3): 119-124.
13. *Bermúdez M, Carrillo Y.* Diagnóstico de homocistinuria y deficiencia de adenilosuccinato liasa a través de técnicas químicas, bioquímicas y moleculares. *NOVA*. 2005; 3: 1-120.
14. *Dalmau Serra J; Fernández Sánchez A; Sánchez-Valverde Visus F*(2009) Protocolo de diagnóstico y tratamiento de la enfermedad de Jarabe de arce. Unidad de Nutrición y Metabolopatías. Hospital Infantil La Fe, pp 109-126.
15. *Ruiz M y Col;*(2012) Manejo de las alteraciones del metabolismo de los carbohidratos. Protocolos diagnóstico-terapéuticos de Gastroenterología, Hepatología y Nutrición Pediátrica SEGHNPAEP
16. Asociación de Pacientes de Enfermedades Lisosomales de la República Argentina (2000) www.aperla.org.ar Consultado noviembre 15 2013.
17. *Barrera Avellaneda, L. A*(2004) Manual De Enfermedades Metabólicas. Instituto de Errores Innatos del Metabolismo. PUJ. pp161-165.
18. Harrison TR. (2004) Principios de medicina interna. 18ª Edición. Mc Graw Hill. Madrid, España. Cap. 359, Parte 16. Endocrinología y metabolismo- Sección 3. Trastornos del metabolismo intermediario
19. *Vallereja A; Monaga M,* (2004) Deficiencia de adenilosuccinato liasa: un breve repaso. *Rev Biomed* 2004; 15:243-250.
20. *Bermudez M, Carrillo Y,* (2005) Diagnostico de homocistinuria y deficiencia de Adenilosuccinato Liasa a través de técnicas químicas, bioquímicas y moleculares. *nova - publicación científica issn:1794-2470 vol.3 no. 3 enero-junio de 2005:1-120*
21. *Spaeth G, Barber W,* (1967) PREVALENCE OF HOMOCYSTINURIA AMONG THE MENTALLY RETARDED: EVALUATION OF A SPECIFIC SCREENING TEST *Pediatrics* 1967;40;586-589

- 22.** *Tamayo L*, (1997) Colección derecho a vivir en desventaja. La importancia del tamizaje neonatal Nuevas perspectivas en Colombia. Folleto n°3. Hospital la Victoria-Secretaría Distrital de Salud.
- 23.** *Menéndez C; Zaldívar C; González A;* (2002) ERRORES INNATOS DEL METABOLISMO: ENFERMEDADES LISOSOMALES. Instituto de Neurología y Neurocirugía- Rev. Cubana Pediatr 2002; 74(1):68-76.
- 24.** *Barrera Avellaneda, L. A.* (1993) Errores innatos del metabolismo: Seis años de investigación en Colombia. Acta Med Colomb Vol. 18 N° 1 ~ 1993.
- 25.** *Romero R*, (2007) Atención y cuidados en la prestación de servicios de salud, Apoyo Diagnóstico. Guía de manejo Errores Congénitos del Metabolismo Código AC-ADX-G009.
- 26.** *Bermúdez M; Bernal J; Espinosa E; Conejo W, Briceño I, Prieto J, Arrieta L;* (2003) Homocistinuria, Casos diagnosticados en Colombia. Acta Neurol Colomb • Vol. 19 No. 2 Junio 2003

ANEXO 11.1

TEST CLORURO FÉRRICO

CONTROL POSITIVO	CONTROL NEGATIVO
4 gotas de cloruro férrico	4 gotas de cloruro férrico
4 gotas control positivo	4 gotas control negativo
Esperar de 3 a 5 minutos	
Color verde o púrpura	Color amarillo

ANEXO 11.2

TEST NITROPRUSIATO DE SODIO

CONTROL POSITIVO	CONTROL NEGATIVO
5 gotas Cianuro de sodio (5%)	5 gotas Cianuro de sodio (5%)
20 gotas de control positivo	20 gotas de control negativo
2 gotas de hidroxido de amonio (3%)	2 gotas de hidroxido de amonio (3%)
Mezclar y dejar en reposo a temperatura ambiente por 10 minutos	
1 gota de nitroprusiato de sodio (5%)	1 gota de nitroprusiato de sodio (5%)
Observar el color	
Color violeta a púrpura	Color amarillo

ANEXO 11.3

TEST DE DINITROFENILHIDRACINA

CONTROL POSITIVO	CONTROL NEGATIVO
4 gotas de dinitrofenilhidracina	4 gotas de dinitrofenilhidracina
4 gotas de control positivo	4 gotas de control negativo
Esperar 10 minutos	
Precipitado de color amarillo	No precipitado

ANEXO 11.4

TEST DE BENEDICT

CONTROL POSITIVO	CONTROL NEGATIVO
10 gotas reactivo de Benedict	10 gotas reactivo de Benedict
1 gota de control positivo	1 gota de control negativo
Colocar en baño de agua hirviendo por 5 minutos	
Color ladrillo	Color azul

ANEXO 11.5

PROTOCOLO TEST SAICAR

- 1- Colocar 4 microlitros de orina sobre papel filtro dejar secar y repetir el procedimiento 3 veces, posteriormente congelar el papel con las respectivas muestras.

PROCESAMIENTO

- 2- Colocar el papel donde está la muestra en un tubo con 1.5 mL de agua destilada.
- 3- Agitar los tubos durante 5´ en el vórtex.
- 4- Centrifugar los tubos y extraer la muestra.

Realice el siguiente procedimiento:

			BLANCO	MUESTRA
Agua destilada			1ml	
Orina				1ml
HCl 4N (colocar los tubos en hielo)			100µl	100µl
Nitrito de sodio 0,1%			100µl	100µl
	Incube durante 3 minutos en hielo			
Sulfamato de amonio 0,5%			100µl	100µl
	Incube 2 minutos en hielo			
NEDA 0,1%			100µl	100µl
	Incubar a 25° durante 5 minutos			

Leer en espectrofotómetro a 555nm.

ANEXO 11.6

CONSENTIMIENTO INFORMADO DEL ESTUDIO: PROGRAMA PILOTO PARA TAMIZAJE NEONATAL DE HOMOCISTINURIA

Su hijo (a) y usted (es) están siendo invitado(s) a participar en este estudio de investigación que realiza el Instituto de Nutrición, Genética y Metabolismo de la Universidad el Bosque, en colaboración con el Centro de Investigación Bioquímica de la Universidad de los Andes y el Instituto de Genética Humana de la Pontificia Universidad Javeriana. Este proyecto está avalado por la División de Investigaciones y comité de ética de investigaciones de la Universidad El Bosque. Los investigadores de este proyecto son: Dr. Reggie García Robles, Investigador principal; Dr. Alfredo Uribe (Universidad los Andes), Jacqueline Benavides, (Bacterióloga, universidad de los Andes), Dra. Martha Bermúdez (Universidad Javeriana), Dra. Paola Liliana Páez Rojas (Genetista Clínico, Universidad el Bosque), Joan Pardo (nutricionista, Universidad el Bosque) y María Zoraida Rojas (Enfermera, Universidad El Bosque). Participa en este proyecto bajo la tutoría de los investigadores un estudiante de pregrado de Medicina de la Universidad el Bosque. Es muy importante que usted lea y entienda ciertos puntos importantes en la realización de este estudio: (a) Su participación en este estudio es totalmente voluntaria. (b) la participación en este estudio puede no producir beneficio su hijo(a) directo a su hijo (a), pero esta investigación nos permite clarificar muchos conceptos sobre el diagnóstico de la enfermedad de manera que los beneficios posteriores sean para usted, su familia u otros individuos afectados (c) Usted puede retirar a su hijo(a) del estudio cuando lo desee. La revocación de este consentimiento no tendrá perjuicio alguno sobre la relación médico-paciente. No dejará de ser atendido de forma adecuada ni Usted(es) ni su hijo(a) por no participar en este estudio. (d) Ninguna persona involucrada en este estudio recibirá beneficios económicos como pago por su participación. (e) Este estudio no tiene ningún interés económico por parte nuestra o de las instituciones colaboradoras, así como tampoco el desarrollo de patentes con base en el material genético. (f). Este estudio no tiene fin lucrativo. La única financiación que presenta es a través de insumos y reactivos suministrados por el laboratorio MetabolicaMed y los laboratorios de investigación mencionados. Los investigadores del estudio declaran no tener ningún conflicto de interés ni relación contractual con el laboratorio MetabolicaMed. (g) Confidencialidad: los registros con la información de cada individuo permanecerán archivados en el Instituto de Nutrición, Genética y Metabolismo. Los datos médicos, los resultados de exámenes y la información que usted nos ha dado son de carácter absolutamente confidencial, de manera que, solamente usted y el equipo de investigación tendrá acceso a estos datos. Por ningún motivo se divulgará esta información sin su consentimiento. Cuando los resultados de este estudio sean reportados en revistas médicas científicas o en congresos científicos, los nombres de todos aquellos que tomaron parte en el estudio serán omitidos. (h) La naturaleza de este estudio, sus riesgos, sus inconvenientes, incomodidades y cualquier información importante está resumida a continuación y será explicada por el grupo investigador. (i) Si tiene algún interrogante sobre el estudio por favor no dude en manifestarlo a alguno de los investigadores, quien con mucho gusto, le contestará sus preguntas.

EXPLICACIÓN DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

1. INTRODUCCION Y JUSTIFICACION

La homocistinuria es una enfermedad genética que afecta los procesos normales del metabolismo del ser humano. El metabolismo comprende los procesos por los cuales el cuerpo puede digerir y asimilar las sustancias (proteínas, grasas, azúcares) que consume de la dieta y transformarlas en energía. El metabolismo normal hace que un niño pueda crecer y desarrollarse de forma adecuada. Para que el metabolismo funcione se requiere: 1) Una maquinaria en la sangre y los tejidos que aproveche al máximo las sustancias que ingiere el niño (proteínas, grasas, azúcares, por ejemplo de la leche materna) para producir lo necesario para el funcionamiento del cuerpo, y 2) Una maquinaria que rompa y degrade las sustancias que ya no le sirven al cuerpo para que sean eliminadas por la orina. Nuestra información genética es la que hace posible que esa maquinaria funcione. Las enfermedades metabólicas conocidas como errores innatos del metabolismo son defectos en esa maquinaria porque existe un error genético que hace que el metabolismo sea ineficiente. Dentro de esas enfermedades metabólicas se encuentra la homocistinuria. En la homocistinuria se altera el metabolismo de las proteínas que se consumen en la dieta. El defecto genético en la homocistinuria hace que a los niños se les eleve en la sangre un compuesto denominado homocisteína que causa daño cerebral, esquelético, ocular y cardiovascular principalmente. Los niños pueden sufrir problemas del desarrollo de la capacidad de aprender, problemas motores y convulsiones. Esta enfermedad tiene tratamiento y un manejo específico. En general el manejo se hace con medicamentos que disminuyen el compuesto “homocisteína” en la sangre. También se requiere un manejo nutricional restringiendo las proteínas que pueden acumularse. En Colombia hemos notado muchos casos de esta enfermedad pero desafortunadamente los casos han sido diagnosticados muy tarde cuando ya hay secuelas irreversibles y el tratamiento no es tan efectivo. Esta enfermedad puede pasar desapercibida en los primeros meses o incluso años de vida pero el daño se esta produciendo desde que el niño nace. Los síntomas pueden ser muy inespecíficos o simplemente no existir. Es por esta razón que se deben diseñar estrategias para detectar esta enfermedad antes de que comiencen los síntomas y así evitarle a los niños daños cerebrales, oculares, esqueléticos y cardiacos causados por la acumulación de homocisteína. Las pruebas que detectan enfermedades antes que produzcan síntomas para iniciar el tratamiento se denominan pruebas de tamizaje. Queremos con este estudio implementar un sistema de pruebas de tamizaje que pueden detectar esta enfermedad de forma temprana (en el neonato) y así iniciar el manejo y tratamiento adecuado de forma oportuna y bajo la guía de personas especializadas en estas enfermedades. Otros países ya tienen programas de tamizaje avalados por los gobiernos para esta y otras enfermedades metabólicas y han podido evitar mucho daño y discapacidad en la población infantil. Esperamos con este estudio demostrarla necesidad de hacer pruebas de tamizaje de estas enfermedades en Colombia.

2. OBJETIVOS DEL PROYECTO:

General:

Implementar una estrategia dirigida a la detección temprana de homocistinuria en recién nacidos que permita generar una propuesta protocolo para el tamizaje y diagnóstico de homocistinuria en nuestra población.

Específicos:

- Realizar pruebas de laboratorio que permitan detectar a recién nacidos posiblemente afectados por homocistinuria
- Establecer estrategias que permitan brindar un diagnóstico oportuno, asesoría genética y manejo adecuado de homocistinuria en nuestra población así como la estimación de la frecuencia de homocistinuria en recién nacidos de una institución hospitalaria.
- Determinar el papel de enfermería como apoyo indispensable en el protocolo propuesto.

3. PROCEDIMIENTO:

Una vez usted haya autorizado y firmado el consentimiento informado la participación de su hijo (a) incluye los siguientes aspectos:

1. Toma de muestra de orina de aproximadamente 5 a 10 ml (volumen similar a medio frasco de orina) a través de una bolsa de recolección de orina. La bolsa es un recipiente estéril de plástico que es ideal para tomar muestras de orina en niños muy pequeños como su hijo(a). Esta bolsa será puesta por la enfermera del estudio. Ella estará supervisando constantemente para retirar bolsa una vez se consiga el volumen que necesitamos.
2. A partir de la historia clínica y directamente en entrevista con usted(es) se obtendrán los siguientes datos: documento de identificación, teléfono fijo 1, teléfono fijo 2, teléfono celular madre, teléfono celular padre, dirección, sexo y edad gestacional de su hijo (a), peso al nacer y el diagnóstico de su hijo(a) (recién nacido sano(a) o el diagnóstico principal si su hijo (a) está hospitalizado en Unidad de Recién nacidos). Este registro lo hará la enfermera del estudio y a cada individuo se le asignará un número consecutivo de cuatro dígitos para asegurar la confidencialidad de los datos.
3. La muestra de orina será marcada con el número de documento de identificación de la madre y el nombre completo de la misma, se congelará y se enviará al laboratorio de la Universidad Javeriana para ser procesada con la prueba "nitroprusiato de sodio". Esta prueba puede tener dos resultados: positivo o negativo. Un resultado positivo indica que existe probabilidad de que su hijo tenga la enfermedad homocistinuria. Es importante que comprenda que esta prueba solo puede decirnos que existe la posibilidad de que tenga la patología y deberán hacerse

- otros estudios para saber si su hijo esta realmente enfermo o no de homocistinuria. Si el resultado de la prueba de su hijo es negativo, no se necesitan más exámenes ni valoraciones, no lo tendremos que llamar ni contactar. Su participación y la de su hijo (a) habrá terminado.
4. Si la prueba de nitroprusiato de sodio es positiva, el equipo investigador enviará la muestra de orina a laboratorio de los Andes pues habrá que confirmar si su hijo tiene o no la enfermedad a través del examen denominado “cromatografía de aminoácidos en orina”. Las posibilidades de resultado de este examen son positivo o negativo. Un examen positivo quiere decir que en la orina hay presencia del compuesto “homocistina”. Esto significa que su hijo (a) podría estar acumulando esa sustancia y por lo tanto estar enfermo de homocistinuria. Si es así tendremos que contactarlo inmediatamente a los teléfonos que Ud. nos suministró para citar a su hijo(a) al Laboratorio del Hospital San Ignacio y obtener una muestra de 5 ml de sangre para realizar el examen “cuantificación de homocisteína” que es la prueba que definitivamente nos dirá si su hijo(a) tiene o no la enfermedad. Si el resultado de la prueba cromatografía de aminoácidos de su hijo es negativo, no se necesitan más exámenes ni valoraciones, no lo tendremos que llamar ni contactar. Su participación y la de su hijo (a) habrá terminado.
 5. El equipo investigador lo contactará inmediatamente tenga el resultado del examen “cuantificación de homocisteína” para que su hijo reciba la atención por el equipo investigador a través de consulta de Genética Médica (hecha por especialista en Genética Clínica) y una consulta de nutrición (hecha por nutricionista) con el fin de 1) Recibir consejería genética, 2) Manejo médico inicial, 3) Orientación y remisión a través de su EPS para continuar el manejo y seguimiento indicado 4) Orientación y manejo nutricional inicial
 6. Desde la toma de la primera muestra hasta la última pasarán máximo 10 días. En ese lapso de tiempo si no recibe contacto telefónico con el equipo es porque su hijo no tiene la sospecha de la enfermedad de homocistinuria. Es necesario aclarar que ninguna de las intervenciones mencionadas (consulta, tomas de muestras, análisis) tienen algún costo para usted o su familia.
 7. Las muestras de sangre y orina solo se utilizarán para los exámenes descritos y una vez se realicen tales pruebas serán destruidas. Las muestras serán rotuladas con el número consecutivo asignado a cada individuo reclutado en el proyecto para mantener la confidencialidad de la información. Solamente el personal del proyecto tendrá acceso a los datos de cada individuo y podrá identificarlo a partir del número consecutivo en caso de ser necesario.

4. RIESGOS E INCOMODIDADES

La participación en este estudio representa riesgo mínimo para la salud e integridad y las molestias y efectos adversos estarán representados por 1) Colocación de bolsa recolectora de orina. En algunos casos se ha reportado irritación local leve por el adhesivo 2) Toma de muestra de sangre periférica por venopunción (una vez y por volumen máximo de 5ml): dolor, inflamación, irritación local 3) Traslado a la Clínica El Bosque para consulta médica y nutricional si los resultados son positivos en algún momento del proceso

5. BENEFICIOS:

Este estudio tiene para su hijo (a) y usted(es) el(los) siguiente(s) beneficio(s):

1. Detectar de forma temprana y oportuna si su hijo padece homocistinuria
2. Recibir la orientación y manejo necesario si las pruebas son positivas por parte de profesionales especialistas en el tema

6. RESPONSABILIDADES DE LOS SUJETOS PARTICIPANTES

Debe comprender la importancia que tiene la veracidad de los datos clínicos y no clínicos que le suministre al equipo investigador, principalmente los datos telefónicos y dirección, pues si es necesario contactarlos para hacer los exámenes confirmatorios de la enfermedad del niño(a) esos datos deben ser reales y veraces. Igualmente, si el niño(a) es diagnosticado con homocistinuria Ud. debe comprometerse con asistir a las valoraciones por genética y nutrición para que reciba toda la orientación necesaria para el manejo a corto y mediano plazo del pacientes

7. MANEJO DE RESULTADOS:

Los resultados de las pruebas solo le serán revelados cuando sean positivos pues representan una ayuda diagnóstica para la entidad objeto de este estudio; estos resultados le serán entregados durante consulta clínica en presencia de un MEDICO GENETISTA CLINICO. Los datos de los exámenes de su hijo (a) le serán únicamente revelado a usted (es) y serán del conocimiento del equipo investigador únicamente. Los resultados y su análisis serán socializados para la comunidad científica y comunidad general en publicación en revista científica y presentación en congreso. Usted(es) será(n) invitados a una reunión de socialización de resultados en la Clínica el Bosque una vez se tengan los datos finales del estudio.

Yo, _____ identificado con cédula de ciudadanía No. _____, o siendo representante legal de _____, en pleno uso de mis facultades mentales e intelectuales, certifico que:

1. Fui informado de los objetivos del proyecto.
2. Tuve la oportunidad de haber preguntado y comprendido todas mis dudas sobre este proyecto investigativo.
3. Entendí que la participación en este proyecto es libre y voluntaria, así como los beneficios por la participación en el estudio.
4. Que el grupo de salud pondrá todo su empeño, pericia, diligencia, conocimiento prudencia, y cuidado para su correcta ejecución.

ANEXO 11.7

AUTORIZACIÓN DE PROCEDIMIENTO

BRIGADA DE TAMIZAJE DE ERRORES INNATOS DEL METABOLISMO EN POBLACIÓN EN RIESGO

(PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA-UNIVERSIDAD EL BOSQUE)

Por medio del presente documento autorizo proporcionar una muestra de orina y realización de un análisis para evidenciar la presencia de Errores Innatos del Metabolismo (IEM), con el único propósito de obtener un diagnóstico diferencial para detección de Homocistinuria. Comprendo que la toma de esta muestra de orina es voluntaria y se me ha explicado que no hay riesgo alguno ni eventos adversos.

Finalmente, entiendo que la información y resultados de esta prueba tendrán un uso confidencial por parte de los investigadores y que los resultados de ésta me serán comunicados personalmente.

He leído y comprendido la información anterior.

Nombre del estudiante

Curso- Jornada-Sede

Nombre del acudiente - Firma