

Artículo de revisión

Interpretación del tamiz metabólico. Análisis de ácidos orgánicos (III de IV partes)

Dra. Marcela Vela, * Enfra. Isabel Cicerón, * QFB Martha Pérez, * QFB Joel Ortiz, * M en C Isabel Ibarra, * M en C Zazil Olivares, * T. Lab. Ricardo Morales, * QC Claudia González, * Biól. Salvador Gamboa, * Dr. José Rivera*

Concepto de ácidos orgánicos

Los ácidos orgánicos son compuestos que contienen en su fórmula uno o más grupos carboxílicos (-COOH), generadores de protones, que pueden tener además diferentes grupos funcionales tales como hidroxiácidos, cetoácidos, ácidos aromáticos, compuestos heterocíclicos así como amidas y lactonas.¹ Los ácidos orgánicos se producen durante el catabolismo de los carbohidratos, lípidos y aminoácidos; en condiciones fisiológicas usuales los protones generados por estos compuestos son neutralizados por los sistemas amortiguadores celulares y de los fluidos biológicos.² Un ejemplo de estos ácidos orgánicos son los cuerpos cetónicos que se producen en el ayuno y el ácido láctico que se acumula después de realizar un ejercicio vigoroso.

Además de los cuerpos cetónicos y del lactato existen otros ácidos orgánicos que pueden producirse en exceso bajo ciertas condiciones del huésped.³ Estos ácidos orgánicos generalmente son difíciles de detectar en condiciones fisiológicas normales; sin embargo, se acumulan en grandes proporciones cuando la actividad enzimática encargada de su metabolismo es deficiente o presenta algún bloqueo.⁴ Estos bloqueos generalmente son de índole genética (errores innatos del metabolismo), pero en ocasiones son debidos a inhibición enzimática por factores ambientales^{5,6} o por deficiencias nutricionales.^{7,8}

El análisis de los ácidos orgánicos es valioso en el diagnóstico de una amplia gama de trastornos de los aminoácidos, de los lípidos y de otras áreas del metabolismo intermedio, también pueden observarse alteraciones en su excreción relacionadas con algunos fármacos como el ácido valproico y los salicilatos.⁹

* Unidad de Genética de la Nutrición, Instituto Nacional de Pediatría.

Correspondencia: Dra. Marcela Vela. Unidad de Genética de la Nutrición, Instituto Nacional de Pediatría. Insurgentes Sur 3700-C. Col. Insurgentes Cuicuilco. 04530, México, DF.
Recibido: julio, 2001. Aceptado: enero, 2002.

Estudio de ácidos orgánicos por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (CGEM)

El año 1966 marcó un hito en el estudio de ácidos orgánicos cuando Tanaka¹⁰ introdujo la técnica de la CGEM, que consiste en una combinación de procedimientos cromatográficos y de espectrometría de masas. La parte cromatográfica del procedimiento sirve para separar compuestos, y la parte de espectrometría de masas para identificarlos e interpretarlos en función de sus tiempos de retención.¹¹ Mediante la conjunción de ambos métodos, Tanaka, describió por primera vez la acidemia isovalérica, acidemia orgánica en la que hay una acumulación característica de ácido 3-hidroxivalérico.

El enfoque analítico de los ácidos orgánicos es de gran complejidad y hasta hace muy poco tiempo (tanto por razones de costo del equipo como por la alta especialización requerida para su manejo e interpretación de los resultados) era causa de que estos estudios se efectuaran en muy pocos lugares del mundo, todos en países altamente industrializados.¹⁰

La CGEM tiene gran utilidad potencial pues con una sola muestra de orina es posible estudiar varios cientos de compuestos cuyos cambios indican la presencia de alteraciones en un número muy grande de vías metabólicas.

Actualmente se sabe que cuando un metabolito característico de estas enfermedades se acumula en la sangre, el mismo metabolito y frecuentemente otros acompañantes aparecen en la orina. Por eso en estos padecimientos se estudia más frecuentemente la orina que la sangre.¹²

En general, los pasos principales para hacer un perfil de ácidos orgánicos son: a) aislar o extraer los ácidos orgánicos del fluido biológico que se estudiará; b) formar derivados volátiles; c) analizarlos con un cromatógrafo de gases acoplado a un espectrómetro de masas. El valor del análisis aumenta si los resultados se obtienen tanto cualitativamente (cromatograma o perfil) como cuantitativamente utilizando las unidades aceptadas internacionalmente, expre-

sadas como mmol/mol de creatinina, o bien mg/mg de creatinina, para el caso concreto de que el fluido biológico en estudio sea orina.^{1,13,14} El punto crítico del estudio de ácidos orgánicos con CGEM es lograr un aislamiento real y efectivo de dichos ácidos, evitando que otros compuestos que comúnmente se encuentran en la orina interfieran con el análisis de los resultados (la urea, los fosfatos y los sulfatos son algunos compuestos que pueden causar interferencia). También es importante evitar la pérdida de compuestos volátiles. Sweetman y Hoffman^{15,16} han simplificado el método de extracción para hacerlo uniforme y reproducible. Esta variante metodológica es la que se utiliza

sistemáticamente en la Unidad de Genética de la Nutrición para el análisis de ácidos orgánicos urinarios.

Concepto de aciduria orgánica

En términos bioquímicos estrictos, la aciduria orgánica es la presencia anormal de ácidos orgánicos en la orina. Se consideran anormales las siguientes circunstancias: el exceso de uno o varios ácidos orgánicos, o la presencia de algún ácido orgánico inusual que en condiciones fisiológicas no existe en la orina. En términos médicos, las acidurias orgánicas son un grupo numeroso de enfermedades con características clínicas muy variables.¹⁷

Cuadro 1. Indicaciones para el análisis de los ácidos orgánicos

Alteración de parámetros bioquímicos básicos	<p>Acidosis metabólica inexplicable Incremento en la brecha aniónica Hipoglicemia inexplicable, hipocetósica, de difícil control o ambas causas Cetosis (sin ayuno) Cetonuria (especialmente sugestiva en los recién nacidos) Acidosis láctica Hiperamonemia Hiperuricemia Hipertrigliceridemia Granulocitopenia y trombocitopenia</p>
Manifestaciones clínicas sugestivas en neonatos y lactantes menores	<p>Historia clínica materna de abortos repetidos, muertes inexplicables perinatales o en la infancia</p> <p>Datos de intoxicación sistémica</p> <ul style="list-style-type: none"> • Taquipnea, respiración acidótica • Rechazo al alimento • Reacción inusual después de ser alimentado • Vómito periódico • Estenosis pilórica (con acidosis) • Síndrome de Reye o cuadro clínico parecido • Hepatoesplenomegalia • Síndrome mieloproliferativo • Detención o poca ganancia de peso • Olor <i>sui generis</i> <p>Encefalopatía metabólica aguda</p> <ul style="list-style-type: none"> • Hipotonía/letargia/coma • Crisis convulsivas de difícil control (especialmente mioclonías) • Disquinesia aguda progresiva • Seudotumor cerebral • Hemorragia cerebral/intraventricular en neonatos de término
Manifestaciones clínicas sugestivas en niños mayores	<p>Neurológicos</p> <ul style="list-style-type: none"> • Retraso psicomotor progresivo • Crisis convulsivas o comas episódicos o fluctuantes • Macrocefalia • Crisis metabólicas • Ataxia progresiva • Hipotonía • Distonía, atetosis

- Mioclonías
- Crisis convulsivas de difícil control
- Neuropatía periférica progresiva
- Signos piramidales, parálisis cerebral, retraso del lenguaje
- Miopatía, cardiomiopatía o ambas
- Malformaciones cerebrales congénitas

Enfermedades multisistémicas fluctuantes

- Detención de crecimiento y desarrollo
- Pancreatitis (crónica/recurrente)
- Hepatoesplenomegalia
- Síndrome de Reye o cuadro similar
- Infecciones recurrentes severas
- Anemia hemolítica no inmune
- Síndrome mieloproliferativo

Signos neuroradiológicos y neurofisiológicos Cambios patológicos simétricos, progresivos, aparentemente independientes de regiones definidas de aporte vascular

Enfermedades de la materia blanca

- Leucodistrofia
- Encefalopatía espongiiforme

Atrofia cerebelosa

Alteraciones de los ganglios basales

- Calcificaciones
- "Perforación"
- Atrofia

Atrofia frontotemporal

Derrames subdurales crónicos, hematomas o ambos

Modelos electroencefalográficos de ruptura-supresión

Modificado de Hoffmann¹⁸

Requisitos para la toma de la muestra

Para el éxito del estudio de los ácidos orgánicos es muy importante la recolección adecuada de las muestras de orina, las cuales deben ser congeladas inmediatamente; si dichas muestras han de procesarse dentro de los primeros siete días después de su recolección, será suficiente mantenerlas a -20 °C. Si la muestra debe guardarse por un tiempo más prolongado, es recomendable almacenarla a -70 °C. Los motivos para congelar las muestras son los siguientes:

1° La temperatura ambiente hace que muchas sustancias químicas (por ejemplo, los oxoácidos o la succinilacetona, que son inestables o volátiles) se pierdan y no puedan ser detectados.

2° Evitar el crecimiento bacteriano, puesto que las bacterias pueden metabolizar casi todos los ácidos orgánicos característicos de los errores innatos del metabolismo, causando su incremento o su decremento, especialmente el ácido láctico y los ácidos tricarbóxicos. En ocasiones esto pue-

de interpretarse erróneamente como un defecto mitocondrial.

Interpretación del análisis de ácidos orgánicos

La interpretación del análisis de ácidos orgánicos depende tanto de los metabolitos "clave" como del patrón característico de anomalías. Las elevaciones de un solo componente frecuentemente aportan menor información que las distorsiones de ciertas concentraciones. En la evaluación de pacientes para acidemias orgánicas debe considerarse que en muchas ocasiones el diagnóstico definitivo sólo puede hacerse con el análisis cuantitativo de los ácidos orgánicos. Preferentemente se debe realizar durante la crisis metabólica y contar con otros estudios como el análisis de aminoácidos en el plasma y análisis bioquímicos. En algunos casos los pacientes pueden tener un defecto enzimático y el análisis de los ácidos orgánicos urinarios puede ser

normal. Por otro lado, pueden encontrarse metabolitos elevados en repetidas ocasiones o dentro de los límites normales superiores durante todo el proceso morboso del paciente sin que éste acuse un error innato del metabolismo. La interpretación final requiere información detallada del cuadro clínico y bioquímico del paciente y, en ocasiones, estudios repetidos de análisis de ácidos orgánicos.

REFERENCIAS

- Sweetman L. Organic acid analysis. En: Hommes FA, ed. *Techniques in diagnostic human biochemical genetics*. New York: Wiley-Liss, 1991;pp 143-76.
- Chalmers RA, Lawson AM. Organic acids in man. *Analytical chemistry, biochemistry and diagnosis of the organic acidurias*. London: Chapman and Hall, 1982;pp 83-102.
- Kreisberg RA. Glucose-lactate interactions in man. *N Engl J Med*, 1973;287:132-7.
- Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, (eds). *The metabolic basis of inherited disease*, 6th ed. New York: McGraw-Hill, 1989.
- Tanaka K. Disorders of organic acid metabolism. En: *Biology of brain dysfunction*, 3. New York: Gaulle, ed. Plenum Press, 1975;pp 145-214.
- Tanaka K, Kean E A, Johnson B. Jamaican vomiting sickness. *N Engl J Med* 1976;295:461-7.
- Hogginbottom MG, Sweetman L, Nyhan WL. A syndrome of methylmalonic aciduria, homocystinuria, megaloblastic anemia and neurologic abnormalities in a vitamin B12-deficient breast-fed infant of a strict vegetarian. *N Engl J Med* 1978;299:317-23.
- Chalmers RA, Healy MJR, Lawson AM, Watts RWE. Urinary organic acids in man II. Effects of individual variation and diet on the urinary excretion of acidic metabolites. *Clin Chem* 1976;22:1288.
- Tanaka K, Hine D, West-Dull, Lynn B. Gas-chromatographic method of analysis for urinary organic acids I. Retention indices of 155 metabolically important compounds. *Clinical Chemistry* 1980;13:1839-46.
- Tanaka K, Budd MA, Efron ML, Isselbacher KJ. Isovaleric acidemia: A new genetic defect of leucine metabolism. *Proc Natl Acad Sci USA* 1966;56:236.
- Jellum E, Stokke O, Eldjarn L. Combined use of gas chromatography, mass spectrometry, and computer in diagnosis and studies of metabolic disorders. *Clinical Chemistry*, 1972;18:800-9.
- Tanaka K, West-Dull A, Hine G, Lynn B, and Lowe T. Gas-Chromatographic method of analysis for urinary organic acids. II. Description of the procedure, and its application to diagnosis of patients with organic acidurias. *Clinical Chemistry* 1980;13:1847-53.
- Holmes B, Jones JL, Nyhan WL. Use of a thick-film capillary column for the analysis of organic acids in body fluids. *Journal of Chromatography*, 1993;615:127-35.
- Ramsdell HS, Tanaka K. Gas chromatographic retention indices of twenty metabolically important acylglycines as trimethylsilyl derivatives. *J Chromatogr* 1980;181:90-4.
- Sweetman L. Qualitative and quantitative analysis of organic acids in physiologic fluids for diagnosis of the organic acidurias. En Nyhan WL, ed: *Abnormalities in Amino Acid Metabolism in Clinical Medicine*. Norwalk, CT: Appleton-Century-Crofts, 1984;pp419-53.
- Hoffman G, Aramaki S, Blum-Hoffman E, Nyhan, *et al*. Quantitative analysis for organic acids in biological samples: Batch isolation followed by gas chromatographic-mass spectrometric analysis. *Clin Chem* 1989;35:587-95.
- Duran M, Dorland L, Bruinvis L, Ketting D, van Sprang FJ. Organic acidurias. En: Schuab J, Van Hoof F, Vis HL (eds). *Inborn errors of metabolism*. Nestlé Nutrition Workshop Series Nestlé Ltd. vavey/Raven Press, New York, 1991;pp93-109.
- Hoffmann GF. Organic acid analysis. En: Blau N, Duran M, Blaskovics M. (eds). *Physician's guide to the laboratory diagnosis of metabolic diseases*. London: Chapman & Hall, 1996;pp 31-50.

El Colegio Mexicano de Alergia, Asma e Inmunología Pediátrica, A.C.

Invita al

X Congreso Nacional de Alergia, Asma e Inmunología Pediátrica

Del 24 al 27 de julio del 2002

Centro de Convenciones de Morelia, Michoacán

Conferencias magistrales, simposios, talleres, desayuno con expertos, trabajos libres, actividades sociales y recreativas

Informes y reservaciones: Turismo & Convenciones, tel.: 5148-7500, fax: 5148-2010, página web: www.comaaipe.org.mx