

Cálculo del intervalo de referencia de la histidina en sangre seca neonatal por suma.

Calculation of the histidine reference interval in neonatal dry blood by SUMA.

Jiovanna Contreras Roura,^I Lissette Evelyn Fuentes Smith,^{II} Zoe Robaina Jiménez.^{III}

Resumen

La Histidinemia es una enfermedad metabólica hereditaria rara, caracterizada por una deficiencia de la enzima histidasa, que ocasiona un aumento de las concentraciones de Histidina en sangre, orina y en líquido cefalorraquídeo y en ocasiones hiperalaninemia. Su cuadro clínico varía desde la presencia de retraso mental y un defecto del habla hasta la ausencia de manifestaciones. El diagnóstico de la enfermedad requiere de la aplicación de pruebas basadas en la cuantificación de L-Histidina en sangre. Se determinaron los niveles de Histidina en sangre seca neonatal a 348 muestras, con el propósito de establecer el intervalo de referencia en el laboratorio de este aminoácido. La cuantificación de las muestras se realizó empleando un método ultramicroanalítico, previamente validado en nuestro laboratorio para la cuantificación de Histidina en sangre. El intervalo de referencia en el laboratorio de histidina en sangre seca neonatal, para un 95 % de probabilidad, fue de 4,59-16,74 mg/dL (296-1079 μ M).

Palabras clave: Histidina, sangre seca, intervalo de referencia y tecnología SUMA.

Abstracts

Histidinemia is a rare inherited metabolic disorder characterized by deficient histidase enzyme, which results in elevated histidine levels in blood, urine and cerebrospinal fluid and, sometimes, hyperalaninemia. Histidinemia clinical picture varies from mental retardation and speech disorders to absence of any symptoms. This disease can be diagnosed by histidine-level-in-blood-quantitating tests. In the following work the levels of Histidina were determined in neonatal dry blood to 348 samples in order to establish the reference intervals in the laboratory of this amino acid. The quantification of the samples was carried out using an ultra micro analytic method, previously validated in our laboratory for the quantification of Histidina in blood. The obtained reference interval (95% probability) in the laboratory was of 4, 59 -16, 74 mg/dL (296-1079 μ M).

Keywords: Histidine, dried blood spot, reference interval and SUMA Technology.

^I Máster en Ciencias Farmacéuticas. Licenciada en Ciencias Farmacéuticas. Investigador Agregado. Centro Nacional de Genética Médica. La Habana, Cuba. E-mail: jcontreras@cngen.sld.cu

^{II} Licenciada en Matemáticas. Investigador Agregado. Centro Nacional de Genética Médica. La Habana, Cuba.

^{III} Doctora en Medicina. Especialista de Segundo Grado en Genética Clínica. Centro Nacional de Genética Médica. La Habana, Cuba.

Introducción

La Histidinemia es una enfermedad metabólica hereditaria, con herencia autosómica recesiva, que fue descrita por primera vez por Ghadimi en 1961. Es el desorden primario del metabolismo de la histidina y se caracteriza por una deficiencia de la enzima histidasa, que resulta en el bloqueo de la conversión de histidina a ácido urocánico, el cual ocasiona desde punto de vista bioquímico, un aumento de la concentración de histidina en sangre, orina y en líquido cefalorraquídeo, aumento de la concentración de sus metabolitos en orina e incapacidad de convertir la histidina en ácido urocánico, lo que se traduce en ausencia del ácido urocánico en sudor y estrato corneal.¹⁻⁴

El cuadro clínico de los pacientes con este déficit enzimático, es muy variable. Algunos presentan retraso del crecimiento, retraso mental y un defecto del habla y en otros hay ausencia de manifestaciones.⁹⁻¹⁰ El diagnóstico de la enfermedad requiere de la aplicación de pruebas basadas en la cuantificación de histidina en sangre. La confirmación del diagnóstico puede realizarse por dos vías: determinando la ausencia del ácido urocánico en muestras de sudor y mediante la determinación de la actividad enzimática de la histidasa en estrato corneal.¹⁻⁴

Los valores de referencia de una magnitud clínica son un grupo de datos de una magnitud medida en un grupo de individuos, o de uno solo, en un definido estado de salud. Generalmente, los intervalos de referencia incluyen el 95% de los individuos considerados sanos en la población. Los límites de referencia no se deben usar como fronteras rígidas dentro de las cuales se encuentran los pacientes sanos y los anormales en su exterior; ni tampoco usarlo de forma aislada sin tener en cuenta el cuadro clínico para no llegar a conclusiones erróneas.⁵

La obtención de un intervalo de referencia, para una variable biológica determinada, es importante para la correcta interpretación de los resultados, toma de decisiones y seguimiento clínico de los pacientes que integran la población.⁵⁻⁸ Debido a la importancia y la necesidad de establecer en el laboratorio de análisis de aminoácidos el intervalo de referencia para la histidina en sangre seca neonatal el objetivo de nuestro trabajo fue determinar el mismo a partir de los valores de concentración de histidina en sangre seca neonatal.

Se obtuvieron 348 muestras de sangre seca neonatal en papel de filtro procedentes de la Red Nacional de Genética. La cuantificación de las muestras se realizó por un método ultramicroanalítico (SUMA), previamente validado en nuestro laboratorio para la cuantificación de histidina en sangre.⁹

El procesamiento estadístico de los resultados se realizó mediante el software *Statistica* 6.0. Se realizó un estudio piloto para determinar un tamaño muestral que permitiera con un 95% de confianza y una precisión (d) determinada obtener el valor promedio de los valores de histidina neonatal. Una vez establecido el tamaño muestral, se aplicó el *test* de Kolmogorov-Smirnoff para comprobar que la variable en estudio seguía una distribución gaussiana en la muestra estudiada. Se calcularon los percentiles 0,5; 2,5; 97,5 y 99,5 como los límites de referencia.¹⁰

Resultados y Discusión

El estudio piloto (n = 30) determinó que para obtener el valor promedio de histidina con un 95% de confiabilidad y una precisión de 0,34 era necesario estudiar 348 neonatos. Una vez conocido el tamaño de la muestra, necesario para determinar el intervalo de referencia del laboratorio, se procedió al análisis y cuantificación de las muestras.¹⁰

El *test* de Kolmogorov-Smirnov ($p > 0,05$) permitió asumir que la variable estudiada sigue una distribución gaussiana (Figura 1) para posteriormente determinar el intervalo de referencia de Histidina en sangre seca neonatal con una probabilidad del 99 y 95 % (Tabla 1). Debido a que es frecuente y adecuado estimar los intervalos de referencia de variables biológicas para un 95 % de confiabilidad,^{5,7-9,11} se estableció como intervalo de referencia para el laboratorio de histidina en sangre seca neonatal: 4,59-16,74 mg/dL (296-1079 μ M).

Figura 1. Distribución de la muestra del estudio (n= 348).

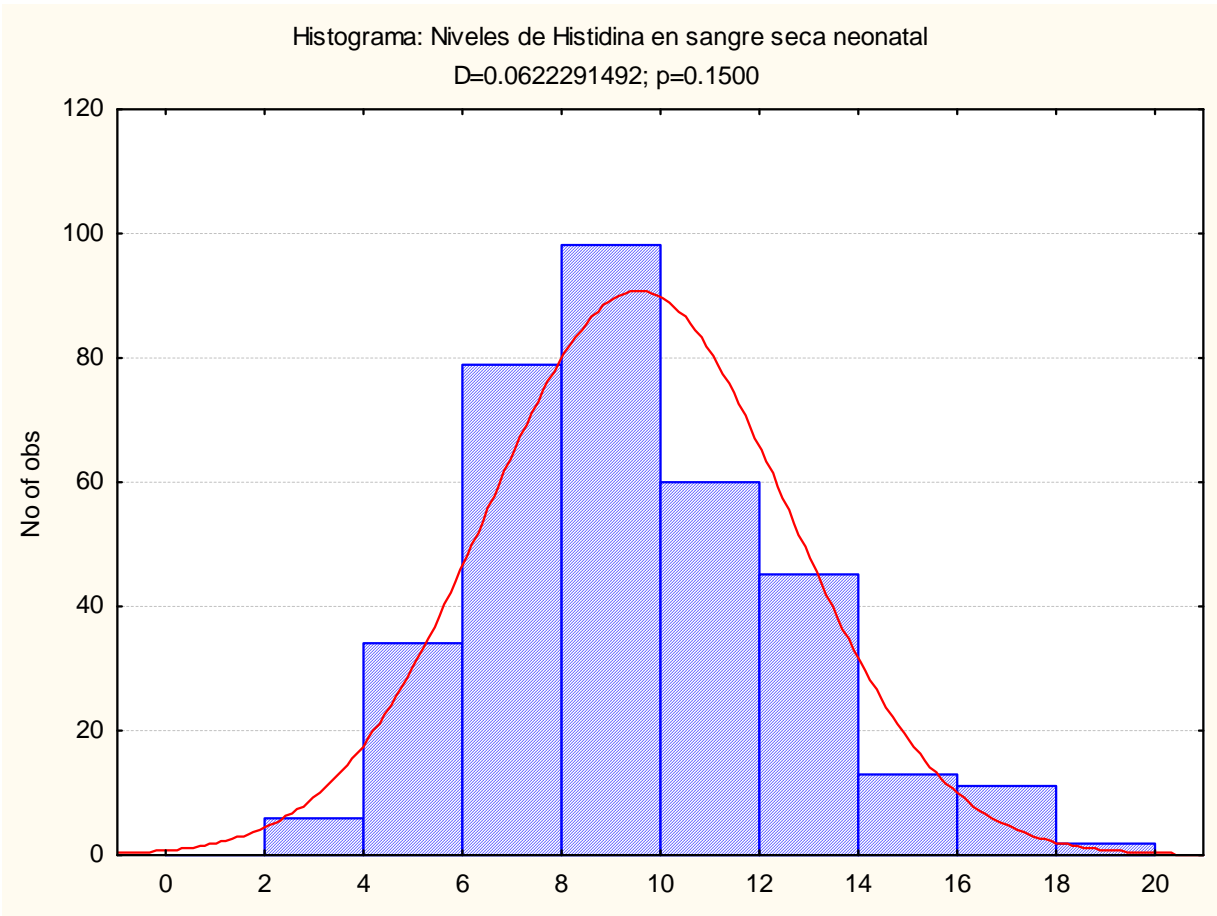


Tabla 1. Cálculo de los percentiles como los límites de referencia para el laboratorio correspondientes al 95 y 99 % de probabilidad.

	Percentiles			
Tamaño muestra (n= 348)	0,5	2,5	97,5	99,5
Histidina Neonatal (mg/dL)	3,11	4,59	16,74	18,03

El análisis y cuantificación de histidina en muestras de sangre seca en papel de filtro mediante el empleo de un método ultramicroanalítico produce una reducción del costo en general, porque se ahorra considerablemente el consumo de reactivos y permite analizar un volumen mayor de muestras en un período corto de tiempo. Además, debido a las ventajas que presenta el traslado de la muestra en papel de filtro, el método permite pesquisar una gran cantidad de niños.

El establecimiento del intervalo de referencia de histidina en sangre seca neonatal para el laboratorio, empleando el SUMA garantiza la correcta interpretación de los resultados y toma de decisiones; así como permite realizar el seguimiento clínico de los pacientes con antecedentes de Histidinemia. Estos resultados permitirán además realizar el pesquiasaje selectivo de esta enfermedad en neonatos con riesgo de padecerla.

Referencias Bibliográficas

1. Federación Española de Asociaciones de Enfermedades raras (FEDER). URL disponible en: <http://enfermedades-raras.org/es/default.htm>.
2. Levy HL. Disorders of histidine metabolism. En: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D: The metabolic basis of inherited disease. 8th ed. New York: McGraw-Hill; 2001.
3. Ramos Boluda E, Pascual Marcos M J. Tratamiento dietético de las enfermedades metabólicas. Inf Ter Sist Nac. 2005;29(4):81-95.
4. Matsuda I, Nagata N, Endo F: Blood histidine levels during course of histidinaemia. Lancet. 1982; 1:162.
5. Juan C. Azzimonti Renzo. Bioestadística aplicada a Bioquímica y Farmacia. 2ª ed. La Habana; 2003.
6. Uldall A. Garantía de Calidad en Química Clínica. La Plata: Federación Bioquímica de la Provincia de Buenos Aires;1991.
7. Andrea Elena Larregina, Juan Tentoni, Paula Mariela Bermúdez, Alejandra Larregina y Nélica Nora Polini. Intervalos de referencia para la microglobulina sérica empleando dos enzimoimmunoensayos. Acta Bioquím Clín Latinoam. 2009 ene/mar; 43(1).
8. Molinero M Luis. Estimación de intervalos de referencia de variables biológicas. [en línea] *Febrero 2004* [fecha de acceso 2 de enero 2010]. URL disponible en <http://www.seh-lilha.org/intervalref.htm>.
9. National Committee for Clinical Laboratory Standards. How to define and determine reference intervals in the clinical laboratory: Approved guideline. NCCLS document C-28. Villanova: PA; 1995.
10. Jiovanna Contreras Roura, Orietta Hernández Cuervo, Elsa Alonso Jiménez, Zoe Robaina Jiménez y Enna Gutiérrez. Validación de un micro método fluorimétrico para la cuantificación de L-Histidina en sangre periférica. Rev Cubana Genet Comunit. 2008;2(2):37-45.
11. Dawson Saunders B, Trapp RG. Estimación y comparación de medias. En: Dawson-Saunders B, Trapp RG. Bioestadística Médica. 2º ed. México DF: El Manual Moderno; 1994.