

Tirosinemia neonatal transitoria: diagnóstico bioquímico de un caso.

Transitory neonatal tyrosinemia: biochemical diagnosis of one case.

Jiovanna Contreras Roura,^I Elsa Alonso Jiménez,^{II} Ivette Camayd Viera,^{III} Orieta Hernández Cuervo,^{IV} Daniurys De la Peña,^V Lien Nogueras.^{VI}

Resumen

La tirosinemia neonatal transitoria se caracteriza por niveles elevados de tirosina en sangre y una excreción urinaria elevada de tirosina y sus metabolitos. No es hereditaria y dentro de las posibles causas se encuentran: una deficiencia o inmadurez de la enzima p-hidroxifenilpiruvato oxidasa hepática producto a variaciones en su formación en el periodo perinatal, consumo elevado de fenilalanina o tirosina y por deficiencia de ácido ascórbico. Se presentan los hallazgos bioquímicos obtenidos en el laboratorio mediante el empleo de los siguientes métodos analíticos: cromatografía en capa delgada, cromatografía líquida de alta resolución y cromatografía gaseosa acoplada a espectrometría de masa que permitieron realizar el diagnóstico de un caso de tirosinemia neonatal transitoria.

Palabras clave: Tirosinemia, tirosinemia neonatal transitoria, relación Fen/Tir, métodos cromatográficos.

Abstract

The transitory neonatal tyrosinemia is characterized by high levels of tyrosine in blood and high urinary excretion of tyrosine and their metabolites. This is a non-hereditary disease, which principal possible causes are either the immaturity or deficiency of p-hydroxyphenylpyruvate oxidase hepatic enzyme, produced by variations in its perinatal formation, a high phenylalanine or tyrosine consumption or an ascorbic acid deficiency. In order to obtain a diagnosis, several laboratory methods of analyses were applied, including thin layer chromatography, high performance liquid chromatography and gas chromatography combined with mass spectrometry. The biochemical findings leading to a case diagnosis with transitory neonatal tyrosinemia are presented.

Keywords: Tyrosinemia, transitory neonatal tyrosinemia, Phen/Tyr ratio, chromatographic methods.

Introducción

La tirosina es un aminoácido no esencial que se obtiene en el organismo a partir de las proteínas ingeridas en la dieta o mediante una reacción de hidroxilación de la fenilalanina. Además de participar en la síntesis de proteínas, la tirosina es precursor de la biosíntesis de los neurotransmisores: dopamina, noradrenalina, adrenalina, melanina y tiroxina.^{1,2}

Las tirosinemias son un grupo de enfermedades heredometabólicas caracterizadas por la acumulación

de tirosina y de sus derivados en sangre y otros fluidos corporales, debido al déficit de alguna de las enzimas hepáticas involucradas en su metabolismo. Se han descrito cinco defectos enzimáticos que permiten la clasificación de las tirosinemias:³⁻⁵ tirosinemia neonatal transitoria (déficit enzima p-hidroxifenilpiruvato-oxidasa), tirosinemia hepatorenal o tipo I, a y b (por déficit de las enzimas fumarilacetoacetasa hidrolasa y de la maleilacetoacetato isomerasa, respectivamente), tirosinemia oculocutánea-Síndrome Richner-Hanhart

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

^{II} Técnico en Medios Diagnósticos e Investigaciones Médicas. Centro Nacional de Genética Médica. La Habana. Cuba

^{III} Licenciada en Bioquímica. Laboratorio de Cromatografía Gaseosa-Espectrometría de Masa. Centro Nacional de Genética Médica. La Habana. Cuba

^{IV} Licenciada en Laboratorio Clínico. Laboratorio Pruebas Metabólicas. Centro Nacional de Genética Médica. La Habana. Cuba

^V Técnico Especialista B en laboratorio. Laboratorio de Cromatografía Gaseosa-Espectrometría de Masa. Centro Nacional de Genética Médica.

^{VI} Técnico Especialista B en laboratorio. Laboratorio Pruebas Metabólicas. Centro Nacional de Genética Médica. La Habana. Cuba

o tipo II (déficit enzima tirosina aminotransferasa citosólica) y la tirosinemia tipo III (déficit enzima 4-hidroxifenilpiruvato dioxigenasa).

La tirosinemia neonatal transitoria (TNT) se caracteriza por niveles elevados de tirosina en sangre y una excreción urinaria elevada de tirosina y sus metabolitos. No es hereditaria y dentro de las posibles causas se encuentran una deficiencia o inmadurez de la enzima p-hidroxifenilpiruvato oxidasa hepática producto a variaciones en su formación en el periodo perinatal, consumo elevado de fenilalanina o tirosina y por deficiencia de ácido ascórbico.^{2,5-8} Es la alteración más común del metabolismo de los aminoácidos en humanos.⁷ Los factores de riesgo de una TNT incluyen prematuridad y una dieta hiperproteica.^{2,5-15} En estudios realizados en recién nacidos se presenta entre un 0,2 % y 10 %, con predominio en prematuros.^{5,6} Este trastorno se ha relacionado con la aparición de retraso mental en neonatos que la padecieron.^{12, 16} A diferencia de la tirosinemia tipo I y II, la variante transitoria es asintomática en la mayoría de los casos.⁵⁻⁸

Presentación del caso

El caso se presenta una vez obtenido el consentimiento

de los padres para la difusión de sus características clínicas y resultados de laboratorio a través de su genetista clínico.

Neonato de sexo masculino, de 12 días de nacido, padres no consanguíneos, producto de un embarazo con evolución normal, nacido a las 39 semanas de gestación con peso de 2500 g y alimentación con lactancia artificial. Presentó niveles ligeramente elevados de fenilalanina en sangre seca en papel de filtro (valor promedio de 348 μM , $n=3$) en el Programa de Pesquiasje Neonatal por el Sistema Ultra Microanalítico (SUMA) de la fenilcetonuria (Punto de corte: 240 μM). Se envió una muestra de suero al Centro Nacional de Genética Médica (CNGM) para realizar el diagnóstico confirmatorio y diferencial para las hiperfenilalaninemia por el método de Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC, por sus siglas del inglés *High Performance Liquid Chromatography*) que permite realizar la cuantificación simultánea de los niveles de fenilalanina y tirosina en suero.

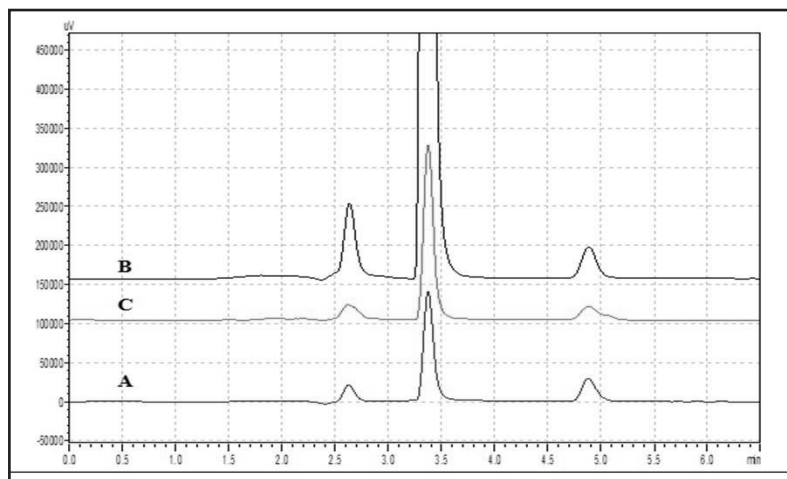
En la primera cuantificación sérica de fenilalanina (Phe) y tirosina (Tyr) se obtuvieron valores de concentración de 174 μM y 1023 μM , respectivamente, con una relación Phe/Tyr de 0,2 (Figura 1).

Figura 1. Cromatogramas obtenidos en el análisis por HPLC de las muestras de suero correspondientes al paciente con TNT y a un neonato sano. Tiempos de retención: tirosina (3,3 min) y fenilalanina (4,8 min).

A: Suero control (Tyr: 71,5 μM y Phe: 72 μM)

B: Primera muestra de suero paciente (Tyr: 1023 μM y Phe: 174 μM)

C: Segunda muestra de suero paciente (Tyr: 159 μM y Phe: 114 μM)



Fuente: Datos del laboratorio de Genética Bioquímica del CNGM.

A la muestra también se le realizó la Cromatografía en Capa Delgada (TLC, por sus siglas del inglés *Thin Layer Chromatography*) para aminoácidos, observándose una aminoacidemia generalizada con aumento marcado de tirosina y ligero aumento de metionina (Figura 2).

Figura 2. Cromatografía en placa delgada (Celulosa) para aminoácidos.

Carril 1: Suero control (Normal).

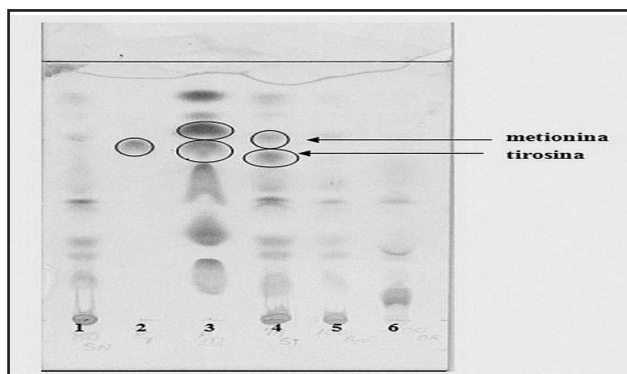
Carril 2: Patrón de tirosina a concentración de 0,4 mg/mL (2200 μ M).

Carril 3: Patrones de aminoácidos (n= 6): en orden ascendente: histidina, glicina, glutámico, tirosina, metionina e isoleucina) a concentración de 1 mg/mL (Tyr: 5500 μ M).

Carril 4: Primera muestra de suero del paciente (tirosinemia, Tyr: 1023 μ M).

Carril 5: Segunda muestra de suero del paciente (normal, Tyr: 159 μ M).

Carril 6: Muestra de orina del paciente (Normal).



Fuente: Datos del Laboratorio de Genética Bioquímica del CNGM.

Debido a que el paciente presentó niveles normales para la fenilalanina, niveles muy elevados para la tirosina, una baja relación Phe/Tyr (Phe/Tyr < 0,5); así como una aminoacidemia generalizada, se considera que son hallazgos característicos de una probable tirosinemia.^{4, 11, 17-18}

Adicionalmente se analizó otra muestra de suero y de orina de la primera micción de la mañana para confirmar o descartar una TNT. Las muestras se recibieron nueve días después de la primera cuantificación sérica de fenilalanina y tirosina.

A la muestra de orina se le realizaron las siguientes determinaciones: 1,2 Nitroso-naftol, la cromatografía de capa delgada para aminoácidos y determinación de succinilcetona y ácidos orgánicos por cromatografía Gaseosa acoplada a Espectrometría de Masa (GCMS, por sus siglas en inglés *Gas Chromatography-Mass*

Spectrometry). En la prueba de 1,2-Nitroso-naftol no se detectaron niveles elevados de tirosina. En el análisis por TLC no se observó aminoaciduria generalizada ni excreción elevada de tirosina y metionina, hallazgos específicos para las tirosinemias hereditarias (tipo I, II y III). Al analizar el perfil de ácidos orgánicos, obtenido por GC-MS, se encontraron niveles muy bajos del ácido 4-hidroxifenilpiruvato, 4-hidroxifenilactato, 4-hidroxifenilacético y N-acetiltirosina, compuestos presentes en muy altos niveles en la orina de pacientes con tirosinemias hereditarias o con TNT. Además, no se detectaron el ácido γ -aminolevulínico y la succinilcetona, metabolitos patognomónicos de la tirosinemia hepatorenal o tipo I, forma más frecuente de las tirosinemias hereditarias.^{2, 17, 19} Los niveles séricos de Phe y Tyr obtenidos en el análisis de la segunda muestra (recibida 9 días después) fueron de 114 μ M y 159 μ M, respectivamente, con una relación de Phe/Tyr de 0,7 (Figura. 1), valor que se encuentra dentro de los límites normales.²⁰⁻²¹

Discusión

De acuerdo con estos resultados se concluye que este paciente, en los primeros 15 días de nacido, fue identificado como un caso falso positivo del Programa de Pesquiasaje Neonatal para la fenilcetonuria porque en la primera confirmación en suero por HPLC se obtuvieron valores normales para la fenilalanina (< 240 μ M) y niveles muy elevados de tirosina (> 138 μ M). Debido a estos hallazgos podemos afirmar que el paciente tuvo de una TNT por los niveles séricos tan elevados de tirosina, baja relación Phe/Tyr (< 0,5) y ausencia de manifestaciones clínicas. Además, estos valores se normalizaron nueve días después de la primera cuantificación sérica de fenilalanina y tirosina. Por otra parte, el perfil de ácidos orgánicos obtenidos en orina resultó normal, con niveles bajos de los marcadores de las Tirosinemias hereditarias (Tipo I, II y III); y en particular, no se detectó el ácido γ -aminolevulínico ni la succinilcetona, característicos de la Tirosinemia Hepatorrenal o Tipo I. Es importante señalar que en la TNT hay ausencia de succinilcetona en orina, lo que facilita realizar el diagnóstico diferencial de las tirosinemias.^{2, 17, 19}

Los resultados obtenidos durante el análisis de las muestras de suero y orina en el laboratorio, y en particular la normalización alcanzada en un periodo de nueve días de los niveles séricos de tirosina; así como de la relación Phe/Tyr, sugieren que entre las posibles causas de la TNT en este paciente se encuentre una inmadurez hepática, característica en el periodo neonatal, conjuntamente con una dieta

hiperproteica (lactancia artificial), acompañada o no de una deficiencia de ácido ascórbico en los primeros días de vida.

El análisis confirmatorio de las muestras que resultan positivas en el Programa de Pesquisaje Neonatal para la fenilcetonuria, se comenzó a realizar por HPLC a partir de mayo de 2010 en el CNGM. Los resultados obtenidos sugieren que las TNT no son infrecuentes, lo cual coincide con lo descrito en la literatura.^{2,5-9,12,15,16} Por lo tanto, es importante que los profesionales de la salud estén alertas en el seguimiento de los casos que resulten positivos en el pesquisaje neonatal

de fenilcetonuria, específicamente a los resultados obtenidos en el diagnóstico confirmatorio por HPLC en suero. También es recomendable realizar el control bioquímico y nutricional en estos casos.

Agradecimientos: A la Dra. María Antonia Ocaña, Especialista en Genética Clínica del Centro Provincial de Genética Médica de Cienfuegos, por su colaboración en la localización del paciente, la obtención del consentimiento de los padres para la toma y el envío de las muestras al Centro Nacional de Genética Médica para su análisis.

Referencias bibliográficas

1. Nardiello N A, Salgado B A, Bravo P. Tirosinemia tipo I, reporte de un caso. *Rev Chil Pediatr.* 2002;73(6):590-594.
2. Pierre A. Russo, Grant A. Mitchell and Robert M. Tanguay. Tyrosinemia: A Review. *Pediatric and Developmental Pathology.* 2001;4:212-221.
3. Pontón RA. Errores Congénitos del Metabolismo: Tirosinemias. *INVENIO.* 2004.
4. Rodríguez Lanza MA. Tirosinemia. 2007. URL disponible en: <http://www.Cyberpediatria.com/marl2.htm>.
5. Burgos LC, Manotas RJ. Tirosinemia neonatal. *IATREIA.* 1995;8(4).
6. Informe de un grupo científico de la OMS. Investigación de las aberraciones congénitas del metabolismo. *Org Mund Salud Ser Inf Tecn.* 1968;p. 401.
7. Berger R. Tyrosinemia. In: Blau N, Duran, Blaskovics, eds. *Physician's guide to the laboratory diagnosis of metabolic diseases.* 1996; p.107-16.
8. Rodwell VW. Conversión de aminoácidos a productos especializados. In Murray RK, Granner BK, Mayes PA, Rodwell VW, eds. *Bioquímica de Harper.* 24ª ed. México D.F. – Santa Fé de Bogotá: Editorial El Manual Moderno; 1997. p. 389-400.
9. The Metabolic and Molecular Basis of Inherited Disease en CD-ROM. Mitchell GA, Lambert M, Tanguay. Hypertyrosinemia. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, eds. 7ª ed. New York: McGraw Hill Book Company;1997.
10. Goldsmith LA. In: Stanbury JB, Wyngaarde JB, Fredrickson DS, Goldstein JL, Brown MS, eds. In: *The Metabolic Basis of Inherited Disease.* 5ª ed. New York: McGraw Hill Book Company; 1983. p. 287-299.
11. Prevalencia de la Tirosinemia Transitoria. [en línea] 2010 [fecha de acceso 12 de octubre de 2010]. URL disponible en: <http://www.centrodedesarrolloinfantil8.blogspot.com/>
12. Menkes JH, Welcher DW, Levy HS, Dallas BA, Gretskey NE. Relationship of elevated blood tyrosine to the ultimate intellectual performance of premature infants. *Pediatrics.* 1972;49:218-224.
13. Scriver CR, Rosemberg LE. Tyrosine. In: *Aminoacid metabolism and its disorders.* Scriver CR, Rosemberg LE, eds. Philadelphia: Saunders; 1973.
14. Fernanbach SA, Summons RF, Pereira WE, Duffield AM. Metabolic studies of transient tyrosinemia in premature infants. *Pediatr Res.* 1975;9:172-175.
15. Scriver CR, Perry TJR, Lasley L, et al. Neonatal Tyrosinemia in the Eskimo. Result of protein polymorphism. *Pediatr Res.* 1977;11:411-413.
16. Mamunes P, Prince PE, Thornton NH, Hunt PA, et al. Intellectual deficits alter transient tyrosinemia in the term neonato. *Pediatrics.* 1976;57:675-680.
17. García Romero R, Gómez López L, García Puig R, Arellano M, et al. Tirosinemia tipo I: dos formas atípicas de presentación clínica. *Acta Pediatr Esp.* 2006;64:286-289.
18. Fernández. Screening neonatal de Fenilcetonuria. *PRODYTEC.* Provincia de Buenos Aires. [en línea] 2010 [fecha de acceso 31 de mayo de 2010]. URL disponible en: http://www.ub.edu.ar/centros_de_estudio/ceegmd/documentos/UBelgrano1.pdf.
19. Fernando L, Alméciga C J., Morales I and *et al.* Cuantificación de aminoácidos en plasma empleando la cromatografía líquida de alta eficiencia. *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana.* 2009;43(4).
20. Contreras Roura J, Alonso Jiménez E, Fuentes LE y Gandarilla Ada. Comportamiento preliminar de la relación Fenilalanina/ Tirosina en niños sanos y con Hiperfenilalaninemias en Cuba. *Rev Cubana Gen Comun.* 2011; 6(2). (en prensa).
21. Ramírez-Farías C, Pérez-Andrade ME, Ibarra-González I, Vela-Amieva M. Controversias en la clasificación de las Hiperfenilalaninemias. Propuesta de unificación. *Acta Pediatr Mex.* 2007; 28(6):261-69.