



Cuba Salud

IV Convención
Internacional de Salud
17-21 de octubre, 2022

Diagnóstico de la enfermedad de la orina con olor a jarabe de arce en Cuba en el período 2013-2022.

Ivette Camayd Viera¹
Laritz Martínez Rey²
Beliany Pacheco Suarez³
Alina Concepción Alvarez⁴

¹ Centro Nacional de Genética Médica, La Habana, Cuba. ivettecamayd@infomed.sld.cu

² Centro Nacional de Genética Médica, La Habana, Cuba. laritzam@infomed.sld.cu

³ Centro Nacional de Genética Médica, La Habana, Cuba

⁴ Centro Nacional de Genética Médica, La Habana, Cuba. alina@cngen.sld.cu

Resumen

Introducción: La enfermedad de la orina con olor a jarabe de arce es un error innato del del metabolismo de los aminoácidos de cadena ramificada. El trastorno aparece por un déficit en la actividad de la deshidrogenasa de los α -cetoácidos de cadena ramificada, complejo enzimático necesario en la segunda reacción del catabolismo de los aminoácidos: leucina, isoleucina y valina. Desde el punto de vista clínico, se describen cuatro subtipos fenotípicos solapantes de la enfermedad. **Objetivos:** Este trabajo tiene el objetivo de describir los principales hallazgos a partir de la introducción de esta tecnología en el esquema para el diagnóstico de la enfermedad de la orina con olor a jarabe de arce en Cuba. Resultados: se analizaron 1104 muestras de pacientes con sospecha clínica de padecer una aciduria orgánica u otra enfermedad metabólica. entre los años 2013 y junio de 2022. **Resultados:** Se diagnosticaron seis casos como positivos para la enfermedad, con edades comprendidas entre los 11 días y nueve años de vida. En cuatro de ellos los síntomas comenzaron durante el periodo neonatal. **Conclusiones:** El uso del perfil de ácidos orgánicos ha permitido el diagnóstico de pacientes con enfermedad de la orina con olor a jarabe de arce, dentro de los pacientes en los que se sospecha un error innato del metabolismo. En este sentido, la variante neonatal parece ser la más frecuente. Los resultados alertan sobre la posibilidad de que queden en el país casos con enfermedad de la orina con olor a jarabe de arce sin diagnosticar.

Palabras clave: Enfermedad de la orina con olor a jarabe de arce, aciduria orgánica, error innato del metabolismo, cromatografía gaseosa, espectrometría de masas.

I. INTRODUCCIÓN

La enfermedad de la orina con olor a jarabe de arce (EOOJA) es un error innato del del metabolismo (EIM) de los aminoácidos de cadena ramificada. El trastorno aparece por un déficit en la actividad de la deshidrogenasa de los α -cetoácidos de cadena ramificada, complejo enzimático necesario en la segunda reacción del catabolismo de los aminoácidos ramificados: leucina, isoleucina y valina. Este complejo está compuesto por cuatro componentes catalíticos: E1 o descarboxilasa, con dos subunidades E1a y E1b, que están codificadas por los genes BCKDHA (19q13.1-q13.2) y BCKDHB (6q14.1); E2 o dihidrolipoil transacilasa, codificada por DBT (1p31) y E3 o dihidrolipoil deshidrogenasa, que codifica el gen DLD (7q31-q32).^(1, 2)

La EOOJA sigue un patrón de herencia autosómico recesivo y se produce por variantes patogénicas (homocigóticas o heterocigóticas compuestas) en al menos tres genes: BCKDHA, BCKDHB y DBT. Las mutaciones en la subunidad E3 de este complejo enzimático provocan una deficiencia de piruvato-deshidrogenasa y causan un fenotipo similar pero más severo. Aunque algunos autores se han referido a esta entidad como un subtipo de EOOJA, se trata con más frecuencia como deficiencia de dihidrolipoil deshidrogenasa.^(2, 3)

Desde el punto de vista clínico, se describen cuatro subtipos fenotípicos solapantes de la enfermedad: clásica, intermedia, intermitente y sensible a tiamina. La variante clásica se caracteriza por un inicio neonatal: un recién nacido a término, que permanece asintomático durante un período de cinco a diez días, presenta rechazo al alimento y somnolencia y evoluciona al coma inexplicado. El paciente sin tratamiento evoluciona a una falta de regulación vegetativa y en la mayoría de los casos muere durante los primeros meses de vida por crisis metabólicas recurrentes. Sin embargo, los pacientes tratados antes de los 10 días de vida pueden llevar una buena calidad de vida, con un coeficiente intelectual normal.⁽⁴⁾ Esta variante es la que se describe con mayor frecuencia, se estima afecta a un 75 % de los pacientes con la EOOJA.

La forma intermitente aparece en un rango variable, que puede ser la etapa preescolar o la adolescencia. Los síntomas más importantes son letargia, vómitos, ataxia y deshidratación, y aparecen desencadenados por infecciones o ingestas importantes de proteínas. Los pacientes con la forma intermedia padecen anorexia persistente, vómitos crónicos y retraso del crecimiento junto a la discapacidad intelectual. La variante que responde a tiamina es muy poco frecuente, clínicamente se asemeja a la forma intermedia pero los pacientes responden favorablemente a dosis muy variables de tiamina, además de las restricciones dietéticas de los aminoácidos ramificados.

Se ha estimado que la prevalencia de la enfermedad es de 0,67/100000 en Europa⁽²⁾, en las poblaciones anglosajonas en 1/185000 y en poblaciones latinas en alrededor de 1/60000⁽⁵⁾. Un estudio reciente estima que la prevalencia de la EOOJA al nacer que se encuentra en alrededor de 1,22/100000 nacidos vivos a nivel global⁽⁶⁾. La enfermedad es particularmente frecuente en la población menonita, con una incidencia de 1/176 nacidos vivos⁽²⁾.

El diagnóstico de la EOOJA se realiza a partir de las manifestaciones clínicas típicas, como son los signos neurológicos y el olor a jarabe de arce en la orina y el cerumen. En el laboratorio, el diagnóstico se establece a partir de la presencia de niveles elevados de aminoácidos ramificados en plasma (leucina, valina e isoleucina) y de aloisoleucina. En orina, se detectan niveles aumentados de los 2-hidroxiácidos y 2-cetoácidos correspondientes. Varios países han introducido la EOOJA dentro de los programas de pesquisa neonatal. En Cuba, el diagnóstico se realiza en pacientes con hallazgos clínicos compatibles con este trastorno. EL Laboratorio de Genética Bioquímica del Centro Nacional de Genética Médica

implementa dentro de los métodos de laboratorio, la prueba del 2,4-dinitrofenilhidrazina en orina, como un método cualitativo, el análisis de aminoácidos en suero, que ha estado disponible en placa delgada o por cromatografía líquida de alta resolución, y el análisis del perfil de ácidos orgánicos en orina por cromatografía gaseosa acoplada a espectrometría de masas (CG-EM).

El primer caso de EOOJA en el país se describió en el año 2013⁽⁷⁾, a partir de la introducción de la cromatografía gaseosa acoplada a espectrometría de masas para el diagnóstico de acidurias orgánicas.⁽⁸⁾ Este trabajo tiene el objetivo de describir los principales hallazgos a partir de la introducción de esta tecnología en el esquema para el diagnóstico de la EOOJA.

II. MÉTODO

A. Pacientes

El perfil de ácidos orgánicos se obtuvo a solicitud del especialista y en aquellos pacientes cuyo motivo de indicación refirió, sin causa definida, alguno de los signos y síntomas siguientes: encefalopatía, disfunción neurológica (por convulsiones, coma, hipotonía, ataxia, retraso del desarrollo psicomotor), crisis de apnea o hiperapnea, hepatopatía, anemia, acidosis metabólica, hipoglicemia, acidemia láctica, cetonuria, hiperamonemia, atrofia u otros hallazgos en estudios de neuroimagen que sugiriesen una enfermedad metabólica, consanguineidad, historia de muertes inexplicables en la infancia y otros miembros afectados con un cuadro clínico similar dentro de una misma familia. Se procesaron muestras de todo el país y en todos los casos se pidió consentimiento de sus tutores legales para la recolección y análisis de las muestras.

B. Muestras

Se utilizaron las muestras de orina de la primera micción de la mañana, con ayuno superior a 6 horas; en algunos casos se colectó orina después de una crisis, si el especialista describía una enfermedad intermitente y el primer perfil resultaba no informativo para un EIM. Se colectaron de 2 a 10 mL de orina que se transportaron en frío y sin preservantes.

C. Reactivos

El acetato de etilo, ácido clorhídrico, cloruro de hidroxilamina, cloruro de sodio, hidróxido de sodio, sulfato de sodio anhidro, ureasa, y el N-metil- N(trimetilsilil) trifluoracetamida fueron suministrados por Merck (Alemania).

D. Métodos

Para preparar las muestras de orina se empleó una modificación del método experimental descrito por Duez et al. para el análisis cuantitativo de ácidos orgánicos en orina (15). En un tubo de ensayo se añadió la cantidad de orina equivalente a 0,25 mg de creatinina y se trató con 60 U de ureasa durante 30 min a temperatura ambiente. La muestra se alcalinizó con hidróxido de sodio (8 N) hasta pH 14 y se oximó con cloruro de hidroxilamina (40%). Posteriormente se acidificó con ácido clorhídrico (6 N) hasta pH 1 y se saturó con 1 g de cloruro de sodio. Luego se realizaron dos extracciones líquido/líquido con

6 mL de acetato de etilo. La fase orgánica se recuperó y secó en sulfato de sodio anhidro y se evaporó a 50 °C en atmósfera de nitrógeno. Una vez secas las muestras, se trataron con 2,2,2-trifluoro-N-metil-N-trifluoroacetamida durante 30 min a 70 °C y se inyectó 1 µL en el CG-EM con una relación de *split* de 1/10.

E. Condiciones cromatográficas para el análisis por cromatografía de gases y espectrometría de masas

El procesamiento analítico para el análisis de ácidos orgánicos se efectuó en un CG-EM (QP-2010S, Shimadzu, Kioto, Japón) con una columna capilar SLB-5ms de 30 m de longitud, diámetro interno 0,25 mm, espesor de película de 0,25 µm, con helio como gas portador. Las condiciones de adquisición del equipo fueron: temperatura del inyector de 250 °C, temperatura de la interface de 280 °C y temperatura del horno de 80 °C hasta 300 °C, con una rampa de temperatura de 7 °C por min. La adquisición se realizó en modo SCAN. Todos los compuestos se identificaron por su espectro de masas y su tiempo de retención.

III. RESULTADOS

En el periodo comprendido entre los años 2013 y junio de 2022 se analizaron un total de 1104 muestras de pacientes con sospecha clínica de padecer una aciduria orgánica u otra enfermedad metabólica. En seis casos se obtuvieron perfiles metabólicos sugestivos de una EOOJA (Tabla 1). Los seis casos diagnosticados tuvieron edades comprendidas entre los 11 días y los nueve años de edad y se identificaron en seis provincias del país. (Tabla 1). En este trabajo solo se incluyeron los subtipos producidos por deficiencias probables en los genes BCKDHA, BCKDHB E2 y DBT.

Tabla 1 Pacientes diagnosticados en Cuba con la enfermedad de la orina con olor a jarbe de arce. Periodo 2013-2022.

Paciente	Edad a la que se realiza el diagnóstico	Provincia	Año en el que se realiza el diagnóstico
1	24 días	Matanzas	2013
2	20 meses	Ciego de Ávila	2015
3	11 días	Camagüey	2017
4	9 años	Villa Clara	2020
5	20 días	Sancti Spíritus	2021
6	26 días	La Habana	2022

Por la edad a la que se realiza el diagnóstico, es muy probable que los casos 1, 3, 5 y 6 presentaran la variante neonatal, mientras que los casos 2 y 6 presentaron una variante menos severa. Otros autores han descrito que la variante neonatal clásica predomina en los casos diagnosticados, como ocurre en Cuba. En estos pacientes, es imprescindible sospechar la presencia de una enfermedad metabólica en los primeros días de vida, pues el pronóstico de la enfermedad resulta muy desfavorable si no se asume una conducta terapéutica adecuada durante esta etapa.

Cuba pesquisa un grupo de enfermedades metabólicas, pero la EOOJA no está incluida en los programas de pesquisa neonatal. Con alrededor de 100000 nacimientos al año, es de esperar el diagnóstico

de al menos un caso de EOOJA al año en Cuba. La tabla 1 alerta sobre la posibilidad de que en Cuba queden casos sin diagnosticar, aunque se ha identificado al menos un caso anual a partir del año 2020. En la medida en que los genetistas clínicos, así como otros especialistas vinculados a las salas de neonatología han ganado experiencia en el diagnóstico de estas enfermedades de inicio en los primeros días de vida, deben identificarse más casos de EOOJA y otras enfermedades que debutan en el periodo neonatal.

Por otro lado, es muy probable que los pacientes con las variantes más leves de la enfermedad convivan con su padecimiento sin un diagnóstico. En el caso de las variantes intermitentes, los perfiles metabólicos, tanto de aminoácidos como de ácidos orgánicos, pueden ser poco informativos si la muestra no se toma durante los periodos de descompensación del paciente. De cualquier forma, identificar estos pacientes es fundamental para establecer conductas de mantenimiento nutricional, así como para el tratamiento en periodos de descompensación.⁽⁹⁻¹¹⁾

La figura 1 muestra un perfil de ácidos orgánicos obtenido por GC-EM de uno de los pacientes diagnosticados con una EOOJA. En estos cromatogramas, pueden identificarse los 2-hidroxiácidos y 2-cetoácidos correspondientes a los aminoácidos de cadena ramificada. Los cromatogramas son específicos para la EOOJA, y permiten distinguir la enfermedad de otros trastornos que cursan con aumento de leucina: la acidemia isovalérica, la 3-metilcrotonilglicinuria, la aciduria 3-metilglutacónica tipo 1, la aciduria 3-hidroxi-3-metilglutárica y la aciduria 3-hidroxi isobutírica. Asimismo, la deficiencia de E3 o dihidrolipoil deshidrogenasa, que algunos autores abordan como una variante de EOOJA, cursa con una acidosis láctica muy marcada, y un aumento en los niveles del ácido 2-cetoglutárico en orina, también detectables por GC-MS.⁽⁹⁻¹¹⁾

El uso de la GC-EM en pacientes en estado crítico de enfermedad permite, en este sentido, diagnosticar con rapidez la EOOJA y varios autores han referido la conveniencia del análisis de ácidos orgánicos, además de la cuantificación de aminoácidos para diagnosticar la enfermedad. No obstante, un diagnóstico confirmatorio requeriría de la búsqueda de mutaciones específicas en los genes BCKDHA, BCKDHB E2 y DBT que codifican para el complejo deshidrogenasa de los α -cetoácidos de cadena ramificada. Asimismo, la pesquisa neonatal masiva permitiría la identificación de los pacientes, así como obtener estimados reales de la prevalencia de la enfermedad en Cuba.⁽⁹⁻¹¹⁾

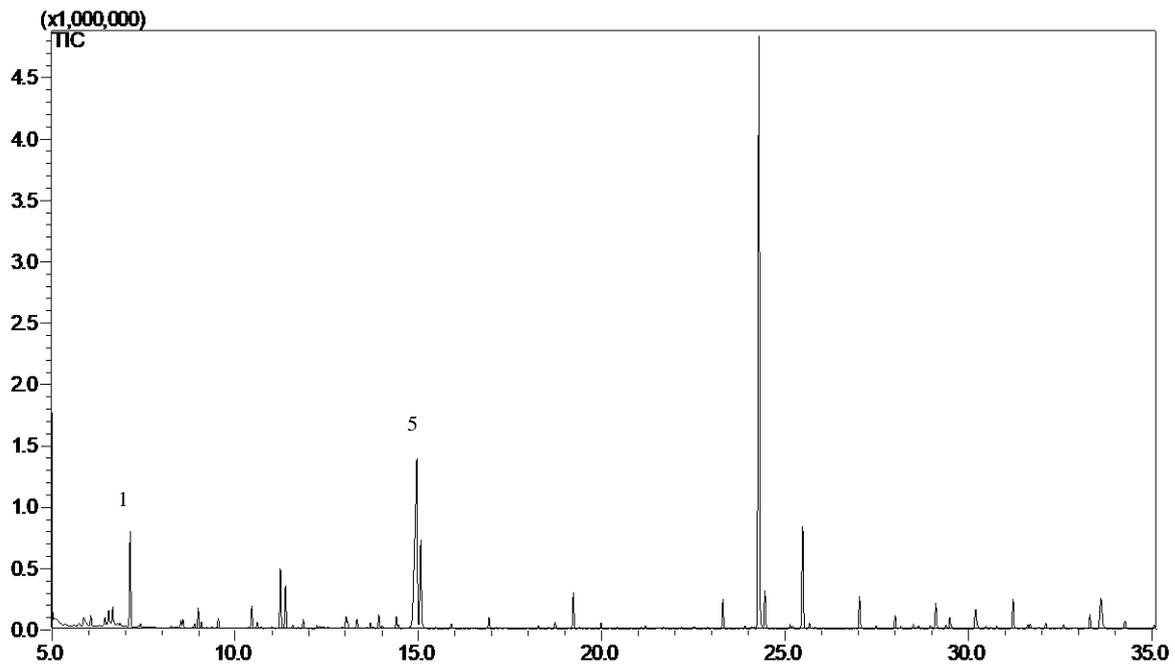
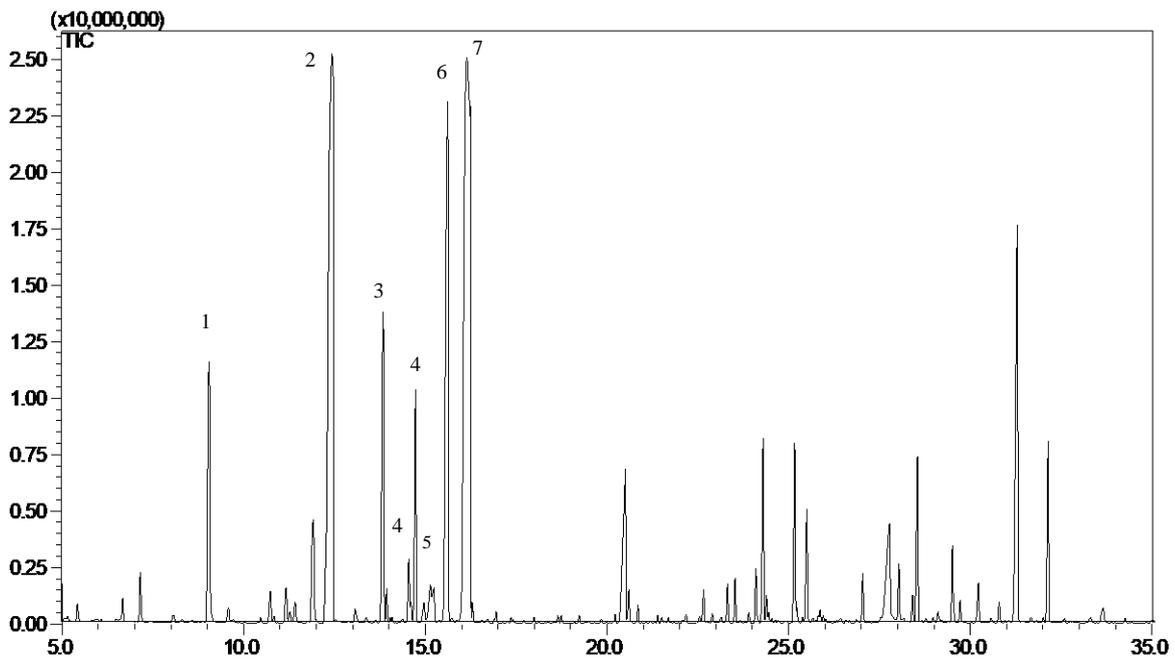


Figura 1. Perfiles cromatográficos en (A) Paciente con diagnóstico positivo para la enfermedad de la orina con olor a jarabe de arce y (B) orina utilizada como control negativo. Los picos cromatográficos identificados corresponden a: (1) ácido láctico, (2) ácido 2-hidroxi-isovalérico, (3) ácido 2-cetoisovalérico, (4) ácido 2-hidroxi-isocaprónico, (5) ácido 2-hidroxi-3-metilvalérico, (6) urea, (7) ácido 2-ceto-3-metilvalérico, (8) ácido trópico (patrón interno).

IV. CONCLUSIONES

El uso del perfil de ácidos orgánicos ha permitido el diagnóstico de pacientes con EOOJA, dentro de los pacientes en los que se sospecha un EIM. En este sentido, la variante neonatal parece ser la más frecuente, a partir de lo observado en los casos diagnosticados. Los resultados alertan sobre la posibilidad de que queden en el país casos con EOOJA sin diagnosticar.

REFERENCIAS

1. Khalifa OA, Imtiaz F, Ramzan K, Zaki O, Gamal R, Elbaik L, et al. Genotype-phenotype correlation of 33 patients with maple syrup urine disease. 2020;182 (11):2486-500. 2020. .
2. Wasim M, Awan FR, Khan HN, Tawab A, Iqbal M, Ayesha H. Aminoacidopathies: Prevalence, Etiology, Screening, and Treatment Options. *Biochemical genetics*. 2018;56 (1-2):7-21. 2018. [acceso].
3. Strauss KA, Carson VJ, Soltys K, Young ME, Bowser LE, Puffenberger EG, et al. Branched-chain α -ketoacid dehydrogenase deficiency (maple syrup urine disease): Treatment, biomarkers, and outcomes. *Molecular genetics and metabolism*. 2020;129 (3):193-206. 2020. .
4. Frazier DM, Allgeier C, Homer C, Marriage BJ, Ogata B, Rohr F, et al. Nutrition management guideline for maple syrup urine disease: an evidence- and consensus-based approach. *Molecular genetics and metabolism*. 2014;112 (3):210-7. 2014. .
5. Medina MF, Castro G, Falcon F, Cabello JF. Maple syrup urine disease: Characteristics of diagnosis and treatment in 45 patients in Chile. 2021;187 (3):373-80. 2021. .
6. Waters D, Adeloye D, Woolham D, Wastnedge E, Patel S, Rudan I. Global birth prevalence and mortality from inborn errors of metabolism: a systematic analysis of the evidence. *Journal of global health*. 2018;8 (2):021102. 2018.
7. Busto Aguiar R, Castellanos Farreras M, Font Pavón L, Rodríguez E, Rodríguez B. Enfermedad de la orina con olor a jarabe de arce. Caso único en Cuba. *Rev Méd Electrón [Internet]*. 2014;36 (5); 2014. [acceso] Disponible en: <http://www.revmatanzas.sld.cu/revista%20medica/ano%202014/vol5%202014/tema13.htm>.
8. Viera IC, Paz LN, Alvarez AC. Diagnóstico bioquímico de acidurias orgánicas en Cuba: periodo 2008-2013. *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana*. 2015;49 209-14. 2015. .
9. Wajner M. Neurological manifestations of organic acidurias. *Nature reviews Neurology*. 2019;15 (5):253-71. 2019. [acceso].
10. Villani GR, Gallo G, Scolamiero E, Salvatore F, Ruoppolo M. "Classical organic acidurias": diagnosis and pathogenesis. *Clinical and experimental medicine*. 2017;17 (3):305-23. 2017. .
11. Dimitrov B, Molema F, Williams M, Schmiesing J, Mühlhausen C, Baumgartner MR, et al. Organic acidurias: Major gaps, new challenges, and a yet unfulfilled promise. 2021;44 (1):9-21. 2021.