

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA

Determinación de la frecuencia de fenilcetonuria, galactosemia e hipotiroidismo congénito, en personas con retraso mental que asisten a dos Centros de Cuidado Especial en la Ciudad de Guatemala.

Carlos Enrique Serrano

Químico Biólogo

Guatemala, marzo de 2006

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA

Determinación de la frecuencia de fenilcetonuria, galactosemia e hipotiroidismo congénito, en personas con retraso mental que asisten a dos Centros de Cuidado Especial en la Ciudad de Guatemala.

Informe de Tesis
Presentado por:

Carlos Enrique Serrano

Para optar al título de:
Químico Biólogo

Guatemala, marzo de 2006

ÍNDICE

	Página
I. RESUMEN	1
II. INTRODUCCION	3
III. ANTECEDENTES	5
A. Fenilalanina	5
1. Metabolismo	5
2. Enfermedades relacionadas con la fenilalanina	5
B. Fenilcetonuria	7
1. Fisiopatología	7
2. Clínica	8
3. Diagnóstico	10
4. tratamiento	12
C. Otras Hiperfenilalaninemias	13
D. Galactosa	14
1. Galactosemia	14
2. Fisiopatología	16
3. Clínica	16
4. Diagnóstico	17
5. tratamiento	19
E. La Tiroides y su función	21
1. Química y Fisiología	21
2. El Yodo y su deficiencia	22
3. Indicadores de la Deficiencia de Yodo	23
F. Hipotiroidismo	23
G. Hipotiroidismo Congénito	24
1. Tipos de Hipotiroidismo Congénito	24
i) Aplasia	24
ii) Dishormonogénesis	25

2. Características Clínicas	25
3. Diagnóstico de Laboratorio de Hipotiroidismo Congénito	26
4. Métodos de laboratorio para diagnóstico de Hipotiroidismo	28
5. Incidencia	31
IV. JUSTIFICACION	34
V. OBJETIVOS	35
VI. HIPOTESIS	36
VII. MATERIALES Y METODOS	37
VIII. RESULTADOS	48
IX. DISCUSION	51
X. CONCLUSIONES	57
XI. RECOMENDACIONES	59
XII. REFERENCIAS	61
XIII. ANEXOS	66

I. RESUMEN

Los errores innatos del metabolismo son aquellos que se caracterizan por la incapacidad del organismo metabolizar algunas sustancias como aminoácidos (fenilalanina), carbohidratos (galactosa), proteínas, así como deficiencias hormonales (hormonas tiroideas), causando trastornos en el desarrollo normal de aquellos pacientes que los padecen, dentro de los cuales se pueden mencionar: retraso mental, ceguera, cirrosis, afecciones cardíacas e incluso la muerte neonatal, de allí la importancia en la detección y tratamiento oportuno para evitar dichas complicaciones.

El objetivo del presente estudio fue determinar la frecuencia del hipotiroidismo, fenilcetonuria y galactosemia en niños afectados con retraso mental, ya sea leve, moderado o severo, excluyendo aquellos niños que presentan Síndrome de Down, o parálisis cerebral, y demostrar también, la importancia de evaluar fenilcetonuria y galactosemia en los programas de tamizaje neonatal existentes en el país.

Las muestras fueron obtenidas mediante punción venosa del dorso de la mano de niños que asisten a dos centros de cuidado especial para niños con retraso mental, obteniéndose varias gotas de sangre; colocando estas gotas en papel filtro especial (Schlicher & Schuell 903), según el procedimiento estandarizado en programa de TSH neonatal del Hospital General San Juan de Dios.

El método utilizado para la medición de TSH, fue por radioinmunoanálisis (RIA); mientras que para la medición de fenilalanina y galactosa total fue utilizado un método inmunoenzimático colorimétrico de punto final (ELISA), (BIO RAD®).

En las 90 muestras incluidas en el estudio, las frecuencias obtenidas para cada patología fue: 1.11% de fenilcetonuria, 4.44% de hipotiroidismo y 0% de galactosemia.

Para la confirmación de los casos positivos de Hipotiroidismo, se cuantificaron las hormonas TSH (Hormona estimulante de la tiroides) y Tiroxina (T_4 Total) utilizándose un método de quimioluminiscencia; estableciéndose así, que los casos correspondían a Hipotiroidismo secundario.

Para la confirmación del único caso de fenilcetonuria, se realizaron repeticiones seriadas de la cuantificación de fenilalanina, de la muestra de sangre, utilizando el mismo principio, (método inmunoenzimático colorimétrico de punto final), en días diferentes; por carecerse en el país de otra prueba confirmatoria.

No se logró establecer la frecuencia de galactosemia, al no encontrarse ningún caso positivo de este error congénito del metabolismo en la población estudiada.

Estos resultados manifiestan la necesidad de implementar nuevas pruebas para la detección de errores innatos del metabolismo en programas de tamizaje neonatal para hipotiroidismo congénito, principalmente la prueba de fenilalanina para la detección de fenilcetonuria, por reportarse casos en el país, confirmándose en el presente estudio, tomando en cuenta el tipo y el tamaño de muestra seleccionada tan pequeña, asimismo la cobertura de estos programas, a nivel nacional es muy baja, resultado de esto que el diagnóstico sea en la mayoría de los casos, hallazgo pediátrico, siendo éste ya demasiado tarde cuando las manifestaciones propias de la enfermedad son evidentes, y en muchos casos irreversibles.

II. INTRODUCCIÓN

La fenilcetonuria es uno de los primeros errores innatos del metabolismo que fueron descritos. Los primeros estudios acerca de esta enfermedad se llevaron a cabo en la década de 1930. La fenilcetonuria es heredada por un rasgo recesivo autosómico que causa deficiencia de la fenilalanina hidroxilasa, enzima hepática que normalmente transforma la fenilalanina en tirosina. La fenilalanina es un aminoácido esencial para el crecimiento y el balance de nitrógeno.

Debido a la deficiencia de la enzima fenilalanina hidroxilasa, es activada una vía metabólica de la fenilalanina que normalmente es utilizada muy raramente. En esta vía, la fenilalanina sufre la transaminación con alfa-cetoglutarato y forma fenilpiruvato. Esta última sustancia no es metabolizada posteriormente, por lo que se acumula, junto a la fenilalanina en la sangre y el tejido. Como resultado de la acumulación de dicha fenilalanina, ácido fenilpiruvico y otros metabolitos alteran el desarrollo normal de las células del sistema nervioso central causando retraso mental irreversible en las personas que padecen de fenilcetonuria.

El hipotiroidismo congénito es una de las patologías endocrino-pediátricas más frecuentes. Consiste en la deficiencia de la hormona tiroidea en período crítico del desarrollo del niño, afectando principalmente el sistema nervioso central y esquelético, y que al no ser detectada oportunamente lleva irremediablemente a un retardo mental severo e irreversible.

El hipotiroidismo congénito constituye la causa más frecuente de retardo mental evitable, con una frecuencia aproximada a escala mundial de 1:3.500 a 1:4.000 recién nacidos vivos. De allí que el desarrollo de esta enfermedad puede evitarse sólo si el tratamiento sustitutivo comienza en los primeros momentos de la vida, por lo cual el diagnóstico precoz constituye la clave para el tratamiento exitoso de la enfermedad.

En Guatemala, desde 1991, el Programa de Tamizaje neonatal para hipotiroidismo congénito del Hospital General San Juan de Dios, ha determinado únicamente la frecuencia del hipotiroidismo congénito en el área central de manera continua.

La galactosemia es una enfermedad hereditaria, causada por la incapacidad del cuerpo para transformar la galactosa. Cuando se ingiere la lactosa, el cuerpo la transforma en glucosa y galactosa. La galactosa, es degradada por la acción de una enzima llamada galactosa-1-fosfato uridil transferasa. Al 95% de las personas que padecen galactosemia no producen dicha enzima, y sin ella, la galactosa comienza a acumularse en el cuerpo. Los niveles altos de galactosa en la sangre pueden causar daños graves como hepatomegalia, fallo renal, deficiencia del crecimiento y cataratas en los ojos y retardo mental irreversible. Si el niño recibe un tratamiento con una dieta especial, dentro de los primeros días de su vida, se podrá prevenir este daño.

El presente estudio tiene como principal objetivo establecer la frecuencia de Fenilcetonuria, Galactosemia e Hipotiroidismo Congénito en una población afectada por Retraso Mental, y así determinar si el retraso se debió a alguna de las tres enfermedades mencionadas, e implementar la detección de Fenilcetonuria y galactosemia dentro el Programa de Tamizaje neonatal para hipotiroidismo congénito del Hospital General San Juan de Dios.

III. ANTECEDENTES

A. Fenilalanina

1. Metabolismo

Es un aminoácido esencial aromático (junto con el triptófano y la tirosina) cuyo grupo R contiene un anillo bencénico. Uno de los aspectos más relevantes de su biosíntesis es el mecanismo a través del cual los anillos aromáticos se forman a partir de precursores alifáticos. También se le clasifica, junto con el triptófano, como un aminoácido hidrofóbico con estructura cíclica. Según los últimos estudios sobre los aminoácidos esenciales parece que en la fenilalanina, la estructura carbonada sería su parte considerada esencial ya que esta estructura es transaminada con rapidez por el organismo (1).

La mayor parte de este compuesto se transforma, por medio de hidroxilación, en tirosina que es otro aminoácido, en este caso considerado como semiesencial (2).

Además la fenilalanina es el precursor de las catecolaminas en el organismo. También es un constituyente importante de los neuropéptidos cerebrales, como la somatostatina, vasopresina, melanotropina, encefalina, ACTH, angiotensina, sustancia P y colecistoquinina. Muchas drogas psicotrópicas, contienen fenilalanina (2,3).

La fuente más importante de fenilalanina son los alimentos ricos en proteínas, como es la carne y los productos lácteos. La fenilalanina tiene utilidades en la industria de la alimentación, por ejemplo, en la elaboración de edulcorantes artificiales. La fenilalanina en su catabolismo forma acetyl-CoA pero sin transformarse previamente en piruvato, sino por medio de la producción de acetoacetato (4,5).

2. Enfermedades Relacionadas con la Fenilalanina

En los casos en que se consume grandes dosis de fenilalanina pueden darse síntomas que van desde cambios de humor, hasta dolor de cabeza y crisis convulsivas. Por lo tanto, no se recomienda que lo consuman embarazadas ni pacientes fenilcetonúricos (6).

La fenilcetonuria es una enfermedad congénita debida a la ausencia de la enzima fenilalanina hidroxilasa, que cuando no esta presente la fenilalanina es convertida a fenilpiruvato, un potente neurotóxico del cerebro, sobre todo, en su desarrollo y maduración, dando lugar a la oligofrenia fenilpirúvica. La mayoría de los pacientes tiene un CI menor de 20. La hiperactividad, sobre todo en niños, a veces, es una fenilcetonuria no descubierta y se puede controlar con una dieta sin fenilalanina (5-7).

Desde hace más de 20 años, se ha aceptado la hipótesis de las catecolaminas como causa de la depresión. Ahora se sabe que los precursores de las catecolaminas son la L-dopa, L-tirosina y la fenilalanina. Por lo cual, se ha utilizado la fenilalanina con buenos resultados, se han administrado hasta 6 gramos diarios (5-7).

Se ha visto que la fenilalanina tiene la habilidad única de bloquear ciertas enzimas, las encefalinasas en el sistema nervioso central, que normalmente, son las encargadas de degradar las endorfinas y encefalinas que actúan como potentes analgésicos (5-7).

Los niveles de la fenilalanina, están aumentados en ciertas enfermedades como en la hipertensión portal, la cirrosis biliar primaria y la cirrosis hepática. Se ha constatado que todas estas enfermedades mejoran si se le administra al paciente aminoácidos de cadena (leucina, isoleucina y valina). La ingestión de grasas y carbohidratos pueden elevar la concentración de aminoácidos aromáticos en el cerebro (es decir, la fenilalanina, la tirosina y el triptofano) y pueden disminuir los aminoácidos de cadena (leucina, isoleucina y valina) (7).

El triptofano tiene la capacidad de disminuir los niveles de fenilalanina. Se han recomendado dietas bajas en fenilalanina para el tratamiento de varios tipos de cáncer. Los melanomas y los adenocarcinomas serosos requieren mas fenilalanina. Hay varios reportes de tratamientos exitosos con una dieta sin fenilalanina (4).

Otra estrategia es darle al paciente una terapia con megadosis de los aminoácidos antagonistas de la fenilalanina (4).

B. Fenilcetonuria

La fenilcetonuria (FC) es un error innato del metabolismo en el que existe un defecto de hidroxilación de la fenilalanina (FA), que no puede convertirse en tirosina, como consecuencia del déficit de fenilalanin-hidroxilasa (FAOH) o de la dihidropterina reductasa (DPHR). Esta última enzima, necesita para su actuación de la presencia de tetrahidrobiopterina (BH4). La tirosina se convierte así en un aminoácido esencial para el organismo, a la vez que se produce un aumento de fenilalanina (FA) en la sangre y aumenta su transaminación como vía metabólica alternativa. Se acumulan asimismo los ácidos fenilpirúvico, feniláctico y fenilacético. El defecto en la síntesis de FAOH se debe a una anomalía génica localizada en el cromosoma 12, y el de la DPHR en el cromosoma 4. Existen también formas con déficit parciales (8).

La FC produce un retraso psicomotor y un deterioro intelectual, irreversibles en poco tiempo. Estos trastornos pueden prevenirse si se instaura precozmente una dieta pobre en fenilalanina. Pueden producirse cuadros sicóticos de tipo autista, convulsiones, síndrome de West, convulsiones generalizadas y también un eczema facial muy rebelde. Los niños con FC suelen ser de tez pálida, rubios y con un olor característico a paja mojada (8,9).

1. Fisiopatología

Los elevados niveles de FA en la sangre, dan lugar a alteraciones estructurales del sistema nervioso central, con interferencia en el proceso de maduración cerebral, en la migración de los neuroblastos y en la estratificación del córtex. Hay también zonas corticales con heterotopía. Todo ello sugiere una alteración del desarrollo en el tercer trimestre de la gestación. Existen alteraciones en la mielinización, zonas de degeneración quística, tanto en la sustancia blanca como en la gris, e hipo pigmentación del *locus coeruleus*. Estas alteraciones neuropatológicas producen un grave retraso mental si no se inicia precozmente una alimentación pobre en fenilalanina. El defecto fundamental es la ausencia de la fenilalanina hidroxilasa. La fenilalanina no puede ser convertida en tirosina, que es un aminoácido esencial (7,8).

La fenilalanina-hidroxilasa contiene dos fracciones proteicas distintas: una fracción lábil, existente sólo en el hígado, y otra estable, extensamente distribuida en los tejidos animales. En la fenilcetonuria, la anormalidad radica en el factor lábil, que es la enzima que en realidad cataliza la hidroxilación. Cuando la hidroxilasa es deficiente, se usan vías alternativas para metabolizar la fenilalanina. La fenilalanina es convertida por transmutación en ácido fenilpirúvico, que es reducido a ácido feniláctico, o forma, por descarboxilación, ácido fenilacético que, por conjugación, origina la feniacetilglutamina. Finalmente, la fenilalanina puede convertirse también en ácido alfa-hidroxifenilacético. En la fenilcetonuria, la fenilalanina y estos productos metabólicos se acumulan en los líquidos del organismo. Estos compuestos no son metabolitos anormales, sino metabolitos normales aunque en cantidades anormales (3).

En presencia de este ambiente químico no usual, constituido por concentraciones elevadas de fenilalanina y metabolitos, ocurren otros cambios. La pigmentación menos acentuada se ha distribuido a la inhibición de la tirosinasa por la fenilalanina y puede lograrse el oscurecimiento del cabello dando con el alimento un suplemento de tirosina o disminuyendo la fenilalanina de la dieta. Las concentraciones más bajas de 5-hidroxitriptamina (serotonina) en los fenilcetonúricos guardan relación con el hecho de que los metabolitos que se acumulan en la fenilcetonuria inhiben la 5-hidroxitriptófano-descarboxilasa. Estos metabolitos inhiben también el ácido glutámico-descarboxilasa, de lo que resultaría una menor cantidad de ácido gamma-aminobutírico, lo que podría ser importante para la función cerebral. Las menores cantidades de adrenalina, noradrenalina y dopamina en la fenilcetonuria se han atribuido a la inhibición de la dopadescarboxilasa por estos metabolitos (4).

2. Clínica

Aparentemente son normales al nacer luego desarrollan irritabilidad, vómito, retardo en el desarrollo psicomotor, retardo pondoestatural, eczemas, cabello claro, piel blanca, escleras azules, convulsiones en el 25% de los pacientes tipo mioclonias. Retardo mental,

espasmos infantiles y tónico-clónicas generalizados, hiperactividad, autismo y trastornos de conducta. El marcador de esta enfermedad es el daño neurológico progresivo con retardo psicomotor el cual puede ser de severo a profundo (10-14).

La incidencia de enfermedad es de 1:10.000 a 1:20.000 personas. Se manifiesta por igual a ambos sexos. Los estudios de la genética de la población revelan claramente una herencia autosómica recesiva. Las concentraciones plasmáticas elevadas de fenilalanina y una menor capacidad para formar tirosina indican a los individuos heterocigóticos para este estado (11).

La deficiencia mental es la característica más importante de fenilcetonuria. Los niños fenilcetonúricos parecen normales al nacer y el retraso de su desarrollo intelectual puede pasar inadvertido un tiempo. Una tercera parte de los enfermos no presentan signos neurológicos, mientras que en otra tercera parte de los enfermos, sobre todo los más gravemente afectados pueden sufrir una parálisis cerebral grave. Un 80% de los examinados presentan una electroencefalograma anormal, estas anormalidades son múltiples, y alrededor de una cuarta parte de los enfermos sobre todo los más gravemente retrasados, sufren convulsiones (11).

Se ha descubierto que la formación de mielina está retrasada en este trastorno, e igualmente hay una menor cantidad de cerebrósidos en el cerebro de los enfermos fenilcetonúricos (6).

En algunos casos, los vómitos han sido lo suficientemente graves como para promover la intervención quirúrgica de algunos niños fenilcetonúricos por creer que se trataba de estenosis pilórica. La irritabilidad, eczema y un color peculiar pueden manifestarse precoz o tardíamente. El olor de un enfermo fenilcetonúrico ha sido descrito como el de un ratón o rancio, y se ha correlacionado con la excreción por la orina de ácido fenilacético (6).

2. Diagnóstico

Para el diagnóstico de la Fenilcetonuria se emplean varios métodos que difieren en su principio, dentro de los cuales están:

- a. Test de cloruro férrico: Muchos falsos positivos durante las primeras semanas de vida.
- b. Test de Guthrie (positivo si es mayor 4 mg/dl) Siempre requiere reconfirmar con cromatografía.
- c. Cromatografía de aminoácidos en orina y sangre (Positivo si fenilalanina es mayor de 20 mg/dl con concentraciones normales o bajas de tirosina).
- d. Ensayo colorimétrico enzimático de punto final con un sistema de detección del aceptor de electrones tetrazólico/intermedio, el cual determina la concentración de NADPH formado, medido fluorométricamente.
- e. RMN cerebral: Atrofia cerebral con retardo de la mielinización y con leucoencefalopatía (12-15).

Para el diagnóstico, se emplean dos tipos de programa de selección, el primero y más simple permite la selección de los que sufren retraso mental. Este tipo de selección es terapéuticamente importante, ya que ofrece la mejor posibilidad de un diagnóstico precoz de los hermanos subsiguientemente afectados (16).

El otro tipo de programa de selección consiste en examinar la población entera para poder descubrir lo más pronto posible a todos los enfermos de fenilcetonuria. El diagnóstico se puede realizar por diferentes tipos de ensayos (16).

2.1 Ensayo Fluorométrico

El procedimiento fluorométrico reportado proporciona un análisis químico cuantitativo de la fenilalanina cuando eluye de manchas de sangre seca recolectada en papel filtro. Este procedimiento se ha utilizado con éxito para confirmación y cuantificación de muestras inicialmente analizadas por el procedimiento de Guthrie y también es aplicable para tamizajes de poblaciones de recién nacidos para fenilcetonuria (16).

Esta prueba puede ser realizada de una forma automatizada de modo que se puede analizar aprox 125,000 muestras usando un sólo técnico y un autoanalizador. Una mancha de ¼ de pulgada es perforada del papel filtro, y la fenilalanina es extraída con un buffer de elución. La muestra es aspirada y analizada en contra de un recipiente con flujo de buffer de succinato. La determinación de fenilalanina se basa en un dipéptido que aumenta la reacción de la nihidrina por la excitación del fluorocromo a 405nm y emisión a 485nm (16).

2.2 Test De Cloruro Férrico

Se practica generalmente examinando la orina con solución al 10% de cloruro férrico o con tiras de papel impregnadas con el reactivo. En presencia de ácido fenilpirúvico aparece una coloración verde, que se acentúa pronto. 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. El diagnóstico debe ser confirmado por la determinación cuantitativa de la concentración plasmática de fenilalanina (7,8).

La prueba del cloruro férrico resulta útil para el diagnóstico de la fenilcetonuria clásica una vez establecida la presencia de una hiperfenilalaninemia. En cambio, no puede ser utilizada para el examen selectivo de la enfermedad. El ácido fenilpirúvico es muy inestable, y desaparece rápidamente de la orina. Esta es la principal objeción al estudio de la orina de los pañales con cloruro férrico o con Phenistix (6).

2.3 Test de Guthrie

Se basa en la inhibición del crecimiento de la *B. Subtilis* por un análogo, la beta-2-tiennilalanina. Si una gota de sangre contiene una cantidad de fenilalanina, que excede de una determinada concentración, se anula la inhibición y el organismo se desarrolla una serie considerable de hechos que indican que éste es un método eficaz para descubrir

concentraciones de fenilalanina que excede de 15 a 20 mg/100 mL y puede faltar en la orina de los fenilcetonúricos durante uno o dos meses. Con el cloruro férrico, se han obtenido reacciones positivas en la orina ya muy precozmente en la vida de estos enfermos.

La prueba de inhibición bacteriana de Guthrie es una prueba que se emplea para el diagnóstico presuntivo temprano del aumento de fenilalanina sanguínea y en Guatemala específicamente en el Hospital General San Juan de Dios cuenta con los reactivos necesarios para llevar a cabo dicha prueba; según estudios realizados en 1995 por Chuy logró establecer que la prueba de Guthrie es una prueba rápida, sencilla, sensible, exacta la cual la hace adecuada como prueba de tamizaje neonatal, aunque también estableció que este ensayo microbiológico no es repetitivo aunque con pocas variaciones asimismo se puede tomar la prueba de Guthrie de una manera semicuantitativa por ser lineal entre el halo de inhibición bacteriana en concentraciones de 2 a 20 mg/dL (7-10).

Para establecer el diagnóstico, el primer paso consiste en llevar a cabo un análisis cuantitativo de la concentración de fenilalanina y de tirosina en la sangre, porque durante el tiempo que se administra una dieta normal, el paciente afecto de una fenilcetonuria presenta generalmente un rápido aumento de los niveles séricos de fenilalanina, hasta alcanzar valores superiores a 30mg/100 ml, mientras que la concentración de tirosina es baja. En los pacientes que excretan estos metabolitos y que presentan una concentración elevada de fenilalanina en sangre debe instaurarse un tratamiento dietético (4).

4. Tratamiento

El tratamiento es una dieta baja en fenilalanina, se debe iniciar en el período neonatal para modificar el fenotipo metabólico y prevenir las consecuencias neuropsicológicas de la hiperfenilalaninemia (17,18).

Para un óptimo tratamiento se requiere:

- a. Diagnóstico temprano, inicio del tratamiento, (antes del 1er mes de vida) que consiste en: tratamiento continuo a lo largo de la niñez y la adolescencia. Restricción de fenilalanina cuando hay valores de 250 a 500 mg/Kg/día. Excesiva restricción lleva a alteraciones en el desarrollo y crecimiento; La tolerancia precisa de fenilalanina varía entre pacientes (11).
- b. Mantener niveles de fenilalanina en 250 a 500 mg/día, 0.6 mg/dl con dieta baja en fenilalanina y adecuada en otros nutrientes; Existen productos comerciales (proteínas hidrolizadas modificadas o mezclas de aminoácidos libres). Estos productos tienen nutrientes muy diferentes a la leche humana, por lo cual es importante ajustar niveles proteicos y de fenilalanina en todas las edades, especialmente en niños pretérmino.
- c. Administrar tirosina extra para aportar la que no es producida con ingesta adecuada de otros aminoácidos, vitaminas, proteínas y grasas. Calorías adicionales deben ser administradas en forma de carbohidratos. Generalmente los alimentos que no deben administrarse son carnes, queso, huevo, pescado y legumbres.
- d. Control de niveles séricos de fenilalanina cada 2 a 3 semanas por 4 a 6 meses, luego cada mes por 1 año y luego cada 4 a 6 semanas dependiendo del control clínico.
- e. Se ha visto en estos pacientes niveles bajos de elementos traza (Zn, Se; Fe, Cr) y colesterol, por lo tanto debe suplementarse en la dieta.
- f. Manejo interdisciplinario: Pediatría, neurólogo pediatra, nutricionista, rehabilitación (19).

C. Otras Hiperfenilalaninemias

La implantación de los programas de examen selectivo neonatal ha puesto de manifiesto la existencia de cierto número de pacientes que presentan un aumento de la concentración de fenilalanina, pero que no padece de fenilcetonuria, además pueden presentar una tirosinemia transitoria del recién nacido, y pueden diagnosticarse mediante

estudio de la concentración de tirosina en la sangre. Existen datos que indican que algunos de estos pacientes corresponden a casos de heterogeneidad molecular de la fenilalanina hidroxilasa en los que el déficit de la actividad de esta enzima es menos completa que en la fenilcetonuria clásica. Sin embargo, esta posibilidad es difícil de confirmar, ya que para el estudio de la enzima se necesita una muestra de tejido hepático de tamaño considerable. En consecuencia, la clasificación de estos enfermos se lleva a cabo normalmente a partir del grado de fenilalaninemia y del ritmo de aumento de la concentración de fenilalanina después de instaurarse una dieta normal, así como a partir de la presencia o ausencia de metabolitos del tipo de ácido fenilpirúvico en la orina, el curso de la hiperfenilalaninemia y el desarrollo intelectual. La mayoría de los pacientes hiperfenilalaninémicos no tratados que no sufren una fenilcetonuria presentan una inteligencia normal (14).

D. Galactosa

Es un monosacárido que se obtiene en el intestino, por medio de la acción de la enzima lactasa, al actuar sobre la lactosa (azúcar de la leche), en esta reacción aparecen: glucosa y galactosa. Por tanto, este compuesto se obtiene desde la dieta (20).

La galactosa necesaria para la actividad de las células cerebrales, especialmente para los cerebrósidos. Por su parte, la ceramida se une a través del grupo -OH de la esfingosina a un monosacárido mediante un enlace b-glicosídico. Si el monosacárido es la galactosa, tendremos la estructura denominada cerebrósido (20).

1. Galactosemia

La galactosemia puede ser ocasionada por la deficiencia de tres enzimas diferentes:

Galactosa-1-fosfato uridiltransferasa (GALT)

Galactoquinasa

Uridindifosfoglucosa -4- epimerasa (UD glucosa)

Estas enzimas catalizan la conversión de galactosa-1-fosfato y UDP-glucosa a UDP-galactosa y glucosa-1- fosfato. La carencia de estas enzimas ocasiona una elevación de los niveles sanguíneos de galactosa, altos niveles titulares de galactosa-1-fosfato, y algunas veces incrementan la excreción urinaria de galactosa (20).

La deficiencia de GALT fue probablemente descrita por primera vez por Goppert en 1917, y es algunas veces referida como galactosemia tipo I, o galactosemia clásica, es un desorden autosómico recesivo, el cual es el más frecuente de los tres. La frecuencia en la población varía de 1:26,000 y 1:667,000. La deficiencia de esta transferasa en infantes inicia hasta que ingieren leche que contiene lactosa (20).

Los síntomas más comunes son defecto para tragar, con vómitos, diarrea, hepatomegalia e ictericia, que se manifiestan al final de la primera semana de vida. Las complicaciones de la enfermedad pueden ser agudas y fulminantes y pueden ser confundidas con sepsis neonatal. Sin embargo pueden manifestarse los síntomas por más de tres meses ocasionando hipoglucemia, cataratas y retraso mental, los cuales pueden evitarse con la pronta suspensión de la leche en la dieta. Sin embargo, la demora en el tratamiento conlleva a que estos síntomas crónicos se vuelvan irreversibles, con riesgo incrementado de muerte por sepsis bacteriana (21).

La deficiencia de Galactoquinasa fue descrita en 1965, la Galactoquinasa cataliza la transferencia de fosfato desde ATP, hasta galactosa-1- fosfato. La ausencia de esta enzima es conocida como galactosemia por deficiencia de o Galactoquinasa galactosemia tipo II. Los pacientes con esta deficiencia excretan galactosa en la orina y el síntoma más grave es el apareamiento de cataratas. Su incidencia es alrededor de 1:40,000 (19,20).

La deficiencia de Uridindifosfoglucosa -4- epimerasa (UD glucosa) epimerasa es la tercera causa de galactosemia. La epimerasa cataliza la conversión de UDP glucosa a UDP galactosa. La condición es usualmente benigna, pero se conoce una forma severa con

características similares a las presentadas por la deficiencia de GALT. Su incidencia es alrededor de 1:60,000 (21).

2. Fisiopatología

Acumulación de galactosa en el cerebro con degeneración de neuronas corticales y degeneración espongiiforme, fibrosis de dendrocitos, degeneración de las células de Purkinge cerebrales además de hipoglicemia (12,23-25).

3. Clínica

Tríada característica: Retardo mental, cirrosis y cataratas. Los síntomas aparecen al iniciar la alimentación láctea llevando a ictericia y disfunción hepática progresiva, aparece al final de la primera semana o al principio de la segunda, caracterizándose por: vómito, diarrea, pobre ganancia de peso y ocasionalmente cataratas. Se puede observar hipoglicemia, hiperbilirrubinemia indirecta y alteraciones del SNC como letargo, hipotonía e hipertensión endocraneana. A largo plazo alteraciones del lenguaje, aprendizaje y comportamiento. En mujeres con galactosemia pueden desarrollar falla ovárica prematura, amenorrea, oligomenorrea, infertilidad y osteoporosis por deficiencia de estrógenos (22-25).

La galactosa aparece en la orina como consecuencia de las alteraciones de su metabolismo que se asocian a deficiencias enzimáticas, a consecuencia de las cuales, la galactosa, que deriva de la lactosa de la dieta, no pasa a glucosa en el hígado. La deficiencia de Galactoquinasa produce una enfermedad más leve: la galactosa se acumula y se reduce a galactitol en el cristalino con formación de cataratas. La deficiencia de Galactosa-1-fosfato uridiltransferasa causa la acumulación de galactosa, galactosa-1-fosfato y galactitol. Clínicamente aparece diarrea con retraso ponderostatural desde la primera infancia. La disfunción hepática con ictericia es precoz y la toxicidad renal va seguida de una aminoaciduria generalizada con formación de proteinuria y formación de cataratas. El tratamiento precoz consiste en una dieta sin lactosa (galactosa) puede inducir una regresión de los síntomas, pero el tratamiento precoz puede no evitar el retraso mental (9).

4. Diagnóstico

El método para detectar D(+)galactosa total, es un método de punto final, colorimétrico y enzimático con un sistema de detección del aceptor de electrones tetrazólico/intermedio, por el método de Beutler, el cual determina la concentración de NADPH formado, medido fluorométricamente (20,21).

4.1 Ensayo de la enzima GALT

i) El test de Beutler

El uso de l ensayo de la enzima transferasa en tamizaje se ha desarrollado por Beutler y cols. Ambos métodos específicamente miden la enzima transferasa y actualmente se reconoció que la fluorescencia exhibida por el NADP se pueden utilizar para medir el punto final de la reducción de la glucosa –6-fosfato deshidrogenasa por el NADPH (16).

Este método es el más popular en los laboratorios de tamizaje en Estados Unidos de Norteamérica, aunque el procedimiento es afectado adversamente por la exposición de las muestras al calor y/o a los ambientes húmedos y no detectan deficiencias de epimerasas y kinasas (16).

4.2 Ensayos Microbiológicos

Los ensayos microbiológicos para galactosa son ampliamente utilizados en tamizajes neonatales, todos han sido ajustados para obtener resultados confiables de muestras de sangre colectada en papel filtro (16).

4.3 Ensayo de inhibición de metabolitos

La prueba de inhibición de metabolitos se desarrolló en 1963 y fue presentado por Guthrie para el congreso Internacional de pediatría. La prueba sugerida por Paigen, utiliza un mutante galactosemico de *E. coli* sepa w-3101. el microorganismo acumula galactosa –1-

fosfato , el cual inhibe el crecimiento del microorganismo. El círculo o disco de sangre se ve rodeado de una zona de inhibición proporcional al tamaño de la cantidad de galactosa y galactosa-1-fosfato en la mancha de sangre (16).

4.4. Ensayo de inhibición del Bacteriofago. (prueba de Paigen)

Este se basa en el trabajo de Paigen, quien reportó que el bacteriófago Phage (fago) C-21 caus bacteriolisis de *E. coli* , pero que la galactosa previene este proceso. El sugirió una prueba de tamizaje para galactosemia utilizando este principio (16).

El ensayo de bacteriófago, utiliza la *E. coli* que tiene una deficiencia de una enzima que previene la síntesis de una pared celular normal con fuentes ordinarias de carbono. La pared anormal permite que el bacteriofago c-21 ataque, causando infección y lisis de la *E.coli*. En presencia de la galactosa, la *E. coli* puede producir una pared celular normal resistente a la infección debido a que el sitio de absorción se encuentra enmascarado (16).

El crecimiento ocurrirá únicamente alrededor del disco de sangre que contiene galactosa, y el crecimiento de la zona depende de la cantidad de galactosa presente. La sensibilidad de la prueba para la galactosa-1-fosfato puede aumentar al añadir fosfatasa alcalina con los microorganismos. Ya que esta prueba detecta el metabolito, se identificará cualquiera de los tres defectos descritos en el metabolismo de la galactosa (16).

4.5 Ensayo Microquímico

El primer método par tamizaje de galactosemia en manchas de sangre seca por ensayo microquímico fue publicado por Fujimora y col. En 1981. el método se basa en la detección fluorescente de NADH, l cual se produce cuando la galactosa es reducida por la galactosa deshidrogenasa y el NAD. La reacción mixta también contiene fosfatasa alcalina para que la medición fluorescente sea debida a la galactosa y galactosa-1-fosfato (galactosa total) o a los metabolitos de la galactosa (16).

La clave del éxito de este método es la fijación de la hemoglobina de las manchas con vapores de ácido fórmico o acético. El mismo año Misuma y cols. Reportaron un método de medición de galactosa más galactosa-1-fosfato en manchas tratadas con mezcla de metanol y acetona(16).

El metabolito comúnmente más usado en métodos de tamizaje hoy en día usa esta química con una técnica similar a la propuesta por Hill y cols (16).

El diagnóstico prenatal es posible valorando el galactitol en líquido amniótico o la actividad transferasa en vellosidades coriónicas o amniocitos cultivados (21).

Otras formas de realizar el diagnóstico de galactosemia son:

- a. Prueba de benedict en orina; Hace sospechar el diagnóstico
- b. Medición de galactosa por cromatografía (hace diagnóstico definitivo)
- c. Medición de galactosa 1 uridiltransferasa
- d. RMN con cambios inespecíficos de retardo en la mielinización, atrofia cortical y cerebelosa (12,23-25).

5. Tratamiento

El tratamiento consiste en la eliminación de la galactosa de la dieta de por vida. El cumplimiento debe controlarse de forma rigurosa. Para ello es aconsejable valorar la galactosa- 1-fosfato y el galactitol. Estos metabolitos, aunque disminuyen notablemente con la dieta, nunca se normalizan y conviene que su concentración se mantenga lo más baja posible (22).

Una vez instaurado el tratamiento, los síntomas desaparecen. En muchos de los casos las cataratas revierten. Sin embargo, estudios de pacientes galactosémicos tratados muestran que, en cierto número de casos, la dieta exenta de galactosa no es capaz de prevenir totalmente el daño neurológico y que la mayoría de las mujeres afectas presentan fallo ovárico, la dieta previene el fallo hepático y las cataratas pero no el trastorno neurológico ni

el fallo ovárico que suele producirse. Los síntomas aparecen ya durante la 2ª semana de vida (20).

Esta falta de total eficacia del tratamiento se ha relacionado con varios factores: con el posible efecto *in útero*, con la toxicidad de la galactosa-1-fosfato que no logra eliminarse por completo y con el efecto de la propia restricción de galactosa. Aunque se aconseja la restricción materna de lactosa durante el embarazo para evitar el daño prenatal, su efectividad no está bien establecida (20).

- a. La terapia es la eliminación completa de la lactosa en la dieta (fórmulas lácteas, lactancia materna, leche de vaca).
- b. La eliminación completa de la lactosa aunque puede ser difícil de conseguir, se debe intentar. Las preparaciones en la infancia son: caseína hidrolizada, que puede contener pequeñas cantidades de lactosa si es preparada de leche, pero si éstas aparecen no afectan la eficacia de la terapéutica.
- c. También se cuenta con el Alimentum que es preparado a partir de caseína. El uso de fórmula de soya a sido cuestionado por la presencia de azúcares que contienen galactosa como la rafinosa y stachtose, pero algunos autores han concluido que estos oligosacaridos no son hidrolizados y no son absorbidos.
- d. Es importante que a medida que van creciendo los niños se vayan concientizando de las fuentes de galactosa en otros alimentos, hay una lista de frutas y vegetales especialmente el melón y los tomates que son libres de galactosa.
- e. Adicionar una cantidad adecuada de proteínas, calcio y vitaminas y con esto tratar de prevenir la pobre ganancia de peso, ictericia, anemia, enfermedad hepática, disfunción tubular renal, cataratas.
- f. Asesoría genética para todos los casos ya que se observa de forma hereditaria y las parejas afectadas tienen un 25% de probabilidades de tener un hijo con galactosemia (12,23-25).

E. La Tiroides y su función

La glándula tiroides consta de 2 lóbulos, uno a cada lado de la tráquea, con una porción conectora haciendo que la glándula entera tenga la forma más o menos de una "H". En el adulto, la glándula pesa 25-30 gr. aproximadamente. Aunque existe evidencia de producción extratiroidea de hormonas semejantes a las tiroideas, la glándula tiroides es la fuente primaria de su producción (26).

La función principal de la hormona tiroidea es la de un catalizador para las reacciones oxidativas y la regulación de las tasas metabólicas en el organismo (26,27).

En concentraciones moderadas, la hormona tiroidea tiene un efecto anabólico causando un incremento en la síntesis de ácido ribonucleico (ARN) y proteínas, acción que precede al aumento de la tasa metabólica basal. La facilitación de la síntesis de proteínas sucede no solo por aumento en la síntesis de ácido ribonucleico (ARN) a nivel nuclear, sino también incrementando la traducción del mensaje que porta el ácido ribonucleico (ARN) mensajero en el ribosoma donde se realiza la síntesis de proteínas. Alrededor de 90% de las hormonas que produce el tiroides es Tiroxina (T4) y un 10% es Triyodotironina (T3), sin embargo una porción considerable de T4 es convertida a T3 en sangre y tejidos periféricos y las dos tienen gran importancia funcional. La función de ambas es cualitativamente la misma, pero difieren en rapidez e intensidad de acción (26,27).

1. Química y Fisiología

En el organismo, el yodo inorgánico en su mayor parte es captado en el tiroides en conexión con la síntesis de hormona tiroidea. De un total de 50 mg de yodo en el cuerpo, cerca de 10-15 mg se encuentran en esta glándula. La ingestión diaria normal de yoduro es de 100-200 µg. Este yoduro, absorbido principalmente en el intestino delgado, es transportado en el plasma unido a las proteínas. Cerca de las dos terceras partes del yoduro

ingerido son excretadas por el riñón, la tercera parte restante es captada por la glándula tiroides (26,28).

Para fabricar cantidades normales de T₄, se necesita ingerir más o menos 50 mg de yodo cada año o aproximadamente 1 mg por semana. Para evitar la carencia de yodo, la sal de mesa común debe estar yodada y contener una parte de yoduro de sodio por 100,000 partes de cloruro de sodio (27).

2. El Yodo y su deficiencia

El yodo fue uno de los primeros oligoelementos al que se le reconoció su importancia en la nutrición, siendo uno de los más valiosos. La presencia de yodo en la dieta es necesaria, ya que si existe un déficit de yodo en el organismo, se producen patologías a nivel de la glándula tiroides, repercutiendo además en una baja producción de hormonas tiroideas, por lo que el organismo trata de compensar la falta de yodo con la hipertrofia de esta glándula conllevando a la aparición del bocio. Se sabe que la dieta es la fuente principal de yodo, su cantidad en el suelo es irregular y existen regiones en las que el suelo es pobre en yodo en especial en el área montañosa. Igualmente se ha estudiado que los alimentos de tipo marino como los mariscos y las algas son una fuente natural de yodo (29).

Las mujeres lactantes contienen cierta cantidad de yodo en la leche, dicha cantidad es consumida por el lactante y si existe una deficiencia de yodo se origina bocio en el niño o la madre (30,31).

La deficiencia de yodo y sus complicaciones son un problema de salud mundial, en las regiones cuyos suelos son carentes de dicho elemento se vuelve endémica la aparición de bocio en su población (31).

Se estima que un billón de la población mundial está en riesgo de sufrir deficiencia de yodo, 200 millones padecen de bocio, 20 millones tienen algún grado de daño cerebral y

más de 3 millones son cretinos obvios. En los países de América Latina la población a riesgo se estima entre 20 y 25 millones, en su mayoría del área Andina (30,31).

El bocio en los niños generalmente pasa desapercibido y su incidencia es alta; su presencia denota un trastorno hormonal que compromete el crecimiento y el desarrollo. En el adulto causa molestias físicas y el riesgo de degeneración maligna; lo más crítico es el compromiso cerebral, cuya expresión extrema es el cretinismo (26).

3. Indicadores de la deficiencia de Yodo

La deficiencia de yodo altera la función tiroidea disminuyendo la síntesis y secreción de hormonas tiroideas y la función del eje hipófiso-tiroideo, aumentándose así la secreción de la hormona estimulante del tiroides (TSH) y con esto la estimulación tiroidea lo que ocasiona la hipertrofia de dicha glándula y el apareamiento del bocio (26).

El diagnóstico de la deficiencia de yodo es de carácter regional, es importante establecer su presencia y el grado de severidad. Los indicadores para evaluar el grado de deficiencia de yodo son tres:

- Excreción urinaria de yodo
- Prevalencia de bocio.
- Nivel de TSH neonatal (26).

F. Hipotiroidismo

Se llama así a toda hipofunción del tiroides el cual libera menor cantidad de sus hormonas a la circulación, y por ello reduce el metabolismo del cuerpo. Es un estado hipometabólico con disminución de los niveles de T3, T4 y aumento de los valores de la TSH (32,33).

En estudios realizados sobre la función tiroidea, los niños hipotiroideos fueron divididos en tres grupos: Casos con falla tiroidea primaria o hipotiroidismo primario, casos con

hipotiroidismo hipotalámico o hipofisiario, y casos con biosíntesis hormonal tiroidea defectuosa (dishormonogénesis) (34).

Dependiendo de si el hipotiroidismo ocurre desde el nacimiento o bien si los síntomas aparecen después de un período de vida normal, se pueden distinguir dos formas clínicas: Hipotiroidismo congénito e hipotiroidismo adquirido (34).

Aproximadamente el 33% de los casos de hipotiroidismo se presentan en la lactancia y en el resto de la niñez . La disgenesia tiroidea es la causa predominante de hipotiroidismo congénito, alcanzando un 90% de los casos. De estos, aproximadamente dos tercios representan tiroiditis ectópica y un tercio agenesia tiroidea. El 10% restante incluye dishormonogénesis tiroidea, hipotiroidismo hipotalámico-hipofisiario y desórdenes transitorios de hipofunción tiroidea (35).

La mayor parte de los casos de hipotiroidismo primario en la niñez (mayores de 6 años) corresponden a tiroiditis linfocítica crónica (Tiroiditis de Hashimoto o Tiroiditis autoinmune), y en términos generales, es la enfermedad tiroidea más frecuente y la causa de hipotiroidismo en niños (28,36).

La incidencia de disgenesia tiroidea neonatal compensada o defectos compensados en el metabolismo tiroideo en niños que desarrollan hipotiroidismo "tardío" no está clara. Datos derivados de programas norteamericanos sugieren una incidencia baja de 1:30,000 a 1:40,000 nacimientos (37).

G. Hipotiroidismo Congénito

1. Tipos de Hipotiroidismo Congénito

i) Aplasia

Se debe a una anomalía en el desarrollo embrionario de la glándula o destrucción del tiroides fetal por autoanticuerpos transmitidos por la madre. El 30 por ciento de las madres

que han tenido algún hijo hipotiroideo presenta anticuerpos antitiroideos. A pesar de que no todos obedecen a esta causa, los anticuerpos deben ser buscados en las madres sospechosas de haber tenido trastornos tiroideos y sus hijos deben ser examinados durante los primeros meses en busca de un posible hipotiroidismo (26).

Puede existir ausencia completa de la glándula o restos de ella en posición normal o ectópica (cuello o base de la lengua). En la forma atireósica los síntomas son más pronunciados y más precoces en aparecer que cuando existe un remanente de glándula (38).

ii) Dishormonogénesis

Se han descrito ocho errores innatos de la síntesis, la secreción o la utilización de hormona tiroidea; todos originan suministro insuficiente de hormonas tiroideas para la necesidad celular. El aumento de la secreción de la TSH origina hiperplasia tiroidea o bocio, excepto cuando hay incapacidad para responder a esta hormona (39,40).

2. Características Clínicas

Las manifestaciones clínicas del hipotiroidismo en la niñez usualmente son características y elaborar el diagnóstico no ofrece grandes dificultades; sin embargo, los signos en la etapa neonatal suelen no presentarse, son inespecíficos o sutiles, de modo que la mayoría de los pacientes tienen aspecto completamente normal al nacer. Además la aparición de los caracteres del hipotiroidismo dependerá de la clase de defecto, edad de comienzo, duración y gravedad de la deficiencia de hormonas tiroideas (41).

El hipotiroidismo materno puede también estar directamente relacionado con el hipotiroidismo congénito; las tiroiditis autoinmunes crónicas, las linfocíticas o enfermedad de Hashimoto, con formación importante de anticuerpos antitiroideos susceptibles de alcanzar el feto y alcanzar su glándula tiroidea, constituirán una forma de hipotiroidismo materno y fetal (42,43).

Es importante tomar en cuenta la edad gestacional, la cual generalmente es prolongada (20 por ciento es mayor de 42 semanas) aspecto que se cita con frecuencia dentro de las características de hipotiroidismo congénito y mayor peso al nacer (39,44).

Entre los signos y síntomas encontramos que algunos niños tienen expulsión tardía de meconio al nacer y estreñimiento ulterior a causa de la disminución del apetito y letargo e ictericia más duradera dependiente de la inmadurez de la glucoriniltransferasa hepática (45).

En la exploración física de los neonatos, en pocos se advierten las características clásicas de cara regordeta, fontanelas y suturas anchas, aplanamiento del puente de la nariz y pseudohipertelorismo, lengua voluminosa y saliente con boca abierta, llanto ronco, abdomen saliente con hernia umbilical, piel fría o icterica y reflejos lentos, vómito, macroglosia, distensión abdominal, rechazo al alimento, edema, constipación intestinal, insuficiencia respiratoria y bradicardia (39,43,45,46).

Los lactantes con hipotiroidismo secundario pueden presentar el cuadro descrito antes, pero a menudo el comienzo es gradual, pues en general la deficiencia de TSH solo es parcial y hay algo de producción de hormonas tiroideas (42).

Los efectos del hipotiroidismo congénito que se observan en el esqueleto; consisten en maduración epifisaria tardía, disgenesia epifisaria. Un neonato normal mostrará osificación de las epífisis distal del fémur, proximal de la tibia y del cuboides del pie. Cuando faltan estos datos la edad ósea es inferior a la del neonato. En la disgenesia epifisaria, la epífisis tiene aspecto desigual con focos esparcidos de descalcificación y se les llama epífisis punteadas. Asimismo, las radiografías de los dientes muestran retraso en la formación de las yemas dentales (39,43,45).

3. Diagnóstico de Laboratorio de Hipotiroidismo Congénito

El diagnóstico de laboratorio es de suma importancia en el caso del hipotiroidismo,

ya que como se indicó anteriormente, la presentación clínica de esta entidad aparece como un desorden asintomático, el cual es solamente posible detectarlo por los resultados de laboratorio (46-48).

En estudios realizados en Suecia, se observó que la incidencia del hipotiroidismo congénito detectado durante los dos primeros años de vida en base a los síntomas y signos clínicos fue de 1:6,800 y durante los primeros 5 años de vida de 1:5,800, mientras que la incidencia encontrada basándose en un estudio de laboratorio fue de 1:2,800 (48).

Esto indica que mediante el diagnóstico clínico únicamente se detectará el 5% de los casos de hipotiroidismo congénito en los primeros meses de vida (32).

También es importante tomar en cuenta la necesidad de un diagnóstico temprano para iniciar el tratamiento oportunamente y prevenir daños cerebrales, ya que se ha visto que niños hipotiroideos tratados adecuadamente antes del primer mes de vida, se desarrollan normalmente y antes del segundo mes de vida poseen un coeficiente intelectual mayor de 85 (49,50).

Las pruebas de laboratorio establecen su utilidad, ya que en forma objetiva establecen el diagnóstico de hipotiroidismo y cuantifican la severidad química del desorden, diferenciándose si el paciente posee hipotiroidismo primario o secundario, o bien una enfermedad hipofisaria-hipotalámica, incluso se puede establecer el diagnóstico en desordenes como el hipotiroidismo leve (34).

Las pruebas más útiles para el diagnóstico del hipotiroidismo congénito son: T4 libre (T4 I), concentración de la Hormona Estimuladora de la Tiroides (TSH) y como pruebas confirmatorias están el índice sérico de T4 libre, el radio de T3 (rT3)), tiroglobulina (TBG) y respuesta de TSH a la hormona liberadora de Tirotropina (TRH), por último raramente se utilizan la concentración sérica de T3 y captación de T3. Estas pruebas han sido

determinadas en suero o sangre del cordón umbilical y/o en muestras obtenidas en papel filtro por punción capilar del recién nacido (51).

Se han sugerido estas pruebas, ya que en un estudio sobre el desarrollo mental de niños hipotiroideos, se observó una correlación positiva entre el desarrollo psiconeurológico y la naturaleza y severidad del defecto tiroideo (39).

4. Métodos de laboratorio para Diagnóstico de Hipotiroidismo

i) Radioinmunoanálisis

RIA es una técnica de análisis en el que una pequeña cantidad de sustancia marcada radioactivamente, es desplazada de su unión específica por otra similar no marcada que va a competir con la sustancia marcada radioactivamente (52).

Al sistema de fijación elegido se le agrega una cantidad x de antígeno marcado, posteriormente se le agrega una cantidad x de antígeno sin marcar o sea el suero problema, así se establece la competencia por los sitios de unión del anticuerpo, sigue la incubación a 37 grados Celsius, procediendo a los lavados mediante los cuales se realiza la separación del antígeno unido y del libre, de la cantidad de antígeno marcado fijado a diferentes concentraciones se hace una curva que permite encontrar cualquier concentración de antígeno no marcado que sea desconocido (52).

Es necesario contar con una forma muy purificada del antígeno en cuestión para el marcaje. Las formas menos purificadas de antígeno no pueden servir perfectamente para usar como inmunógeno y estándar. Los requerimientos de pureza del material a marcar son muy estrictos, porque en última instancia lo que se mide es la radioactividad. Si ésta última se asocia en grado significativo con especies moleculares ajenas a la que va a medirse, en ese grado el análisis será no específico y quizás inútil. Por otra parte, siempre que el antígeno sea inmunógeno puede estar contenido en una mezcla relativamente muy impura, pues la

especificidad de la inhibición de unión observada depende exquisitamente de la pureza de la especie marcada con ligando presente. El requerimiento más crítico del ligando a usar como estándar es un análisis es que se comporte en el sistema de análisis en forma idéntica al comportamiento del ligando de interés en el líquido biológico analizado. También un agente de unión con características apropiadas es indispensable para un buen análisis. Para sustancias de peso molecular bajo, especialmente aquellas en las que puede introducirse tritio por vías biosintéticas en niveles muy altos de actividad específica, este isótopo puede ser apropiado para usar en análisis de unión competitiva, aunque el marcador de elección es el I125, la vida media es de alrededor de 60 días y permite gran actividad específica pero no requiere uso inmediato de análisis. Para la elección del agente de unión se tiene que tomar en cuenta diversos factores. Si el ligando en cuestión es un inmunógeno potente, la producción de antisuero puede no ser difícil y éste puede ser el método de elección. Si hay interés especial en medir la porción biológicamente activa de un grupo heterogéneo pero estrechamente relacionado de moléculas, un análisis radiorreceptor que emplea un receptor tisular puede ser el método de elección. Casi todos los análisis de unión competitiva son satisfactorios con valores de pH aproximados de 7.0 a 8.6 pero hay excepciones, y cuando se emprende un análisis es conveniente hacer por lo menos un experimento de dependencia del pH para asegurarse de que no habrá pérdida de tiempo experimental siguiente (52,53).

ii) Técnica de ELISA

La técnica de Elisa es un procedimiento de ensayo inmunoenzimático cuyo nombre resulta de la asociación de las iniciales de su denominación inglesa (enzyme linked inmuno sorbent assay). Como todo ensayo inmunoenzimático, la prueba recurre al empleo de inmunógenos, haptenos ó anticuerpos marcados con una enzima, para revelar el reactivo complementario a nivel de distintos fluidos biológicos (53).

De un modo general se procede a la fijación de uno de los componentes de la reacción inmunológica (antígeno Ag o anticuerpo Ac) a un soporte sólido, poniendo luego ese sistema en contacto con una fase fluida que contiene el reactivo complementario. El complejo

inmunológico formado es enfrentado luego a las moléculas capaces de reconocer a su componente más superficial, marcadas con una enzima (peroxidasa de rábano picante); agregándose posteriormente un sustrato cromogénico de la enzima marcadora. La existencia de una reacción inmunológica se demuestra y se cuantifica midiendo espectrofotométricamente la cantidad de producto enzimático resultante (52).

4.1 Metodos confirmatorios para el Diagnóstico de Hipotiroidismo

i) Quimioluminiscencia

La luminiscencia es definida como la emisión de luz asociada con la disipación de energía con una sustancia electrónicamente excitada (53).

Si los electrones de un componente luminiscente son estimulados por una luz en estado normal, estos dan energía en forma de luz cuando ellos regresan al estado (53).

Hay diferentes formas de luminiscencia, distinguiéndose por el mecanismo que causa la emisión de luz. En fotoluminiscencia también conocida como fluorescente la sustancia es estimulada por fotones de luz, la emisión de la luz con un trazador fluorescente es diferente (53).

En bioluminiscencia, una reacción química medida por enzimas es responsable por la excitación, y esta reacción está siempre emparentada a organismos vivos (53).

En quimioluminiscencia, la emisión de luz es causada por los productos de una reacción específica química, en la cual se involucran las siguientes sustancias según el sistema automatizado que sea utilizado: éster de acridina, peróxido-ácido, hidróxido de sodio, fosfatasa alcalina. En el caso de esta reacción el agente quimioluminiscente es el éster de acridina que es oxidado por el peróxido-ácido y el hidróxido de sodio(16).

Los sistemas que la llevan a cabo esta reacción fueron especialmente diseñados para realizar inmunoensayos de una forma automatizada con tecnología de vanguardia como lo es la quimilumiscencia, método de lectura con mayor sensibilidad en la actualidad la cual se basa en el principio de emisión de energía luminosa a través de una reacción química (Enzima – Sustrato). La gama de pruebas que conforman su menú permite realizar diferentes perfiles de casi todas las áreas del laboratorio clínico, empleando reactivos de alta calidad que permiten obtener resultados muy confiables (16,52,53).

El ensayo quimioluminiscente puede ser de tipo sándwich, el cual el antígeno en la muestra del paciente es sometido en la reacción sándwich, el anticuerpo covalentemente unido a las partículas paramagnéticas y el anticuerpo marcado con éster de acridina. Una relación directa existe entre la concentración de antígeno en el muestra del paciente y la cantidad de luz emitida durante la oxidación de el éster de acridina en la cubeta (53).

5. Incidencia

La prevalencia global de HC verdadero es aproximadamente 1: 4,000 nacidos vivos, esto incluye 1 por 2,000 orientales e hispanos, 1 por 5,500 blancos y 1 por 32,000 en la población negra (50,51).

Según los estudios estadounidenses realizados por Brown y colaboradores en 1981 sobre las diferencias raciales en la incidencia del hipotiroidismo congénito, se observó una baja incidencia del hipotiroidismo primario en niños negros, siendo de 1:32,377, en contraste en la incidencia en blancos siendo de 1: 5,526 (55).

En otra investigación llevada a cabo por Frasier en 1980, se observó una incidencia de 1:2,222 en niños con apellido latino, lo cual es casi el doble de la incidencia vista en niños norteamericanos, y de aproximadamente quince veces mayor de la observada de niños negros norteamericanos (56,57).

El 95% de todos los casos son esporádicos y 5% son genéticos, más a menudo como reflejo de una dishormonogénesis (56).

Se han reportado distintos datos sobre la incidencia del hipotiroidismo congénito. Estos datos varían según el lugar en donde se realizó el estudio, el método empleado y condiciones del mismo (48).

Los datos reportados en Norteamérica (EE.UU. y Canadá), Sudamérica (Argentina), Europa y Asia (Japón) muestran incidencias que van desde 1:3,000 a 1:4,000 para los primeros, hasta de 1:6,000 para Japón (33,43).

Los datos reportados para el hipotiroidismo primario en Norteamérica y Europa son de 1:4,000 y para el hipotiroidismo secundario es de 1:6,800 en Norteamérica y 1:110,000 en Europa en el año de 1990 (34).

México, reportó durante los últimos diez años, una frecuencia global de 1:2,500 recién nacidos (55).

En 1995, en Guatemala un estudio sobre la relación costo-beneficio del programa de tamizaje para hipotiroidismo congénito, reveló que es 21 veces más costosa la manutención de un paciente que desarrolla la enfermedad, que la implementación de dicho programa; tomando en cuenta que el análisis se realiza con reactivos producidos localmente. Ante dichos resultados, se recomendó la expansión del programa a todo el país (60).

En España hasta el año 2000, se estableció por medio del Programa de tamiz neonatal una incidencia de hipotiroidismo congénito de 1:2,355 (33).

En Guatemala, en el 2003 se realizó una capacitación al personal de salud que trabaja en la mayoría de áreas de salud pública (exceptuando Alta Verapaz y Retalhuleu); y en los Hospitales San Juan de Dios y Roosevelt, para la toma y manejo de muestras de recién

nacidos que se le incluyeron dentro del tamiz para hipotiroidismo congénito con una cobertura a nivel nacional de un 7%.

Otros estudios realizados en Guatemala, establecieron que la utilización la técnica de radioinmunoanálisis con muestras recogidas en papel filtro mostraron buenos resultados, presentando precisión, reproducibilidad, sensibilidad, sensibilidad y especificidad requeridas para la determinación de TSH neonatal (61,62).

IV. JUSTIFICACIÓN

Los programas de tamizaje neonatal se desarrollan desde 1960 en el ámbito mundial y su principal objetivo es prevenir enfermedades clínicamente inaparentes, y con complicaciones graves. En Guatemala, únicamente está establecido el programa para diagnosticar hipotiroidismo congénito a nivel nacional, sin embargo no se han tomado las acciones necesarias para evitar otras patologías metabólicas que ocasionan retraso mental o muerte prematura.

Es de interés conocer la frecuencia de patologías como hipotiroidismo congénito, fenilcetonuria y galactosemia en poblaciones de individuos que padecen algún grado de retraso mental, para inferir si dicho retraso se debe a un error innato del metabolismo o a una deficiencia hormonal, y aunque en ellos ya no se pueda revertir el retraso mental se pueda iniciar tratamiento para evitar otras complicaciones graves como ceguera, problemas cardiacos y otros inherentes a estas patologías, así mismo demostrar la importancia de implementar estos programas a nivel nacional.

V. OBJETIVOS

General

- Establecer la frecuencia de tres errores innatos del metabolismo en niños con retraso mental de 2 instituciones de salud mental.

Específicos

- Determinar la frecuencia de fenilcetonuria en niños con retraso mental mediante un ensayo colorimétrico de punto final.

- Determinar la frecuencia de galactosemia en niños con retraso mental mediante un ensayo colorimétrico de punto final.

-Determinar la frecuencia de hipotiroidismo congénito en niños con retraso mental mediante un ensayo inmunorradiométrico (IRMA).

-Demostrar la importancia de evaluar fenilcetonuria y galactosemia en el Programa de Tamizaje Neonatal existente en el país.

VI. HIPÓTESIS

Por tratarse de un estudio descriptivo prospectivo, no es necesario plantear una hipótesis.

VII. MATERIALES Y MÉTODOS

A. Universo de Trabajo

Niños con retraso mental que asisten a dos centros de cuidado especial en la Ciudad de Guatemala.

B. Recursos Humanos

Tesista: Br. Carlos Enrique Serrano

Asesora: Licda. Karla Lange de Kiesling

Revisoras: Licda. Alba Marina Valdés de García
Licda. Amanda Gálvez de Matheu

C. Recursos Institucionales

Departamento de Medicina Nuclear del Hospital General San Juan de Dios

Centro Experimental Psiquiátrico Pedagógico.

Centro de Educación Especial "Alida España de Arana"

D. Materiales

1. Material para Obtención de Muestras

- Agujas desechables No. 21 x 1 1/2"
- Alcohol
- Algodón
- Papel filtro (Schlicher & Schuell 903.)

2. Material para Procesamiento de las Muestras

a. Fenilcetonuria

i) Equipo

- Gradillas de pozos para titulación
- Distribuidor al Vacío Millipore Multiscreen
- Bomba de Vacío
- Pipetas de Repetición o de Canales Múltiples

ii) Reactivos

- Reactivo Enzimático (Deshidrogenasa de Fenilalanina liofilizada, con tampón estabilizador)
- Diluyente Enzimático Reactivo (ázida de sodio al 0.1%)
- Reactivo coenzimático (NAD⁺ liofilizado y tamponado)
- Reactivo Colorante (solución tamponada de sal tetrazólica, con aceptor de electrones)
- Controles de mancha de sangre Fenilcetonuria
- Estándares de mancha de sangre Fenilcetonuria

iii) Materiales

- Gradillas para tubos 12X5 mm
- Pipetas repetidoras Eppendorf con rango de 1 a 50 ml
- Pinzas
- Guantes
- Sacabocados, 3/16"
- Sellador de Placas

b. Galactosemia

i) Equipo

- Gradillas de pozos para titulación
- Distribuidor al Vacío Millipore Multiscreen
- Bomba de Vacío
- Pipetas de Repetición o de Canales Múltiples

iii) Reactivos

- Reactivo Enzimático No. 1 (Suspensión de D(+) Galctosa Deshidrogenasa Bacteriana en solución de sulfato de amonio)
- Reactivo Enzimático No. 2 (Suspensión de Fosfatasa alcalina Bovina en solución de sulfato de amonio)
- Diluyente Enzimático Reactivo (ázida de sodio al 0.1%)
- Reactivo coenzimático (NAD+ liofilizado y tamponado)
- Reactivo Colorante (solución tamponada de sal tetrazólica, con aceptor de electrones)
- Controles de mancha de sangre Fenilcetonuria
- Estándares de mancha de sangre Fenilcetonuria

iii) Materiales

- Gradillas para tubos 12X5 mm
- Pipetas repetidoras Eppendorf con rango de 1 a 50 ml
- Pinzas
- Guantes
- Sacabocados, 3/16"
- Sellador de Placas

c. Hipotiroidismo Congénito

i) Equipo

- Refrigerador marca ADMIRAL con una temperatura de refrigeración de 4^a C
- Contador para radiación alfa de 12 pozos
- Balanza electrónica marca SARTORIUS
- Computadora, programa Office
- Calculadora

ii) Reactivos

- Buffer fosfato 0.05 M pH 7.5
- Solución de lavado (buffer fosfato 0.05 M y azida de sodio al 1%)
- Anticuerpo Anti-TSH unido a Yodo 125
- Estándares de TSH neonatal
- Controles de calidad del Center for Disease Control de Atlanta (bajo, normal y alto)

iii) Materiales

- Gradillas para tubos 12X5 mm
- Tubos de poliestireno de 12X5 mm recubiertos de anticuerpo monoclonal anti -TSH 5404
- Pipetas repetidoras Eppendorf con rango de 1 a 50 ml
- Perforadora
- Pinzas
- Guantes
- Mascarillas

E. Metodología

1. Obtención de muestras

- Se estableció contacto con Directores de Instituciones de Salud Mental, públicas y privadas de la Ciudad de Guatemala.
- Se obtuvo consentimiento por escrito de padres o encargados de los pacientes para la realización del estudio.
- Se extrajo 5 gotas de sangre venosa del dorso de la mano mediante punción con agujas desechables No. 21 x 1 1/2" colocando las gotas de sangre sobre papel filtro (Schlicher & Schuell 903.)

2. Procesamiento de las muestras

a. Fenilcetonuria

- Con un sacabocados, se cortó 1 disco 3/16" de diámetro de los estándares con Mancha de Sangre y controles y transfiriéndolos a los respectivos pocillos de una placa de filtro.
- Se cortaron los discos que llevan las muestras del paciente, transfiriéndolos a los pocillos de la placa de filtro.
- Con una pipeta se sirvieron 50µl de elusión tamponada diluida en cada pocillo y agitando la placa.
- Se incubó la placa filtro durante 30 minutos a temperatura ambiente, en un agitador de placas.
- Se cargó la sección inferior de distribuidor de vacío Milipore Multiscreen con una placa limpia de microtitulación, de fondo plano. (Placa de Prueba)
- Se conectó el distribuidor a una bomba de vacío y concluyó la elusión.

- Cuando el eluato se transfirió a la Placa de Prueba, se retiró la placa de prueba de la bomba de vacío.
- Se transfirió con pipeta 100 µl de reactivo enzimático de trabajo a cada pocillo.
- Se incubó la placa de prueba durante 30 minutos a temperatura ambiente en un agitador de placas.
- Se agregó 100 µl de reactivo colorante a cada pocillo.
- Se incubó la placa a temperatura ambiente en un agitador de placas, con agitación de 2 minutos.
- Se leyó la absorbancia de la placa a 570/690 nm de 2-5 minutos después de la adición de reactivo colorante.
- La concentración de Fenilalanina se determinó por medio de una relación lineal, estableciéndose una curva de concentraciones con los valores estándar (curva control) y se tomó como válido el ensayo si los controles de calidad guardaban correlación con la curva.
- La muestra que presentó una concentración superior a los 4.0 mg/dL (punto de corte) se procesó de nuevo en dos ocasiones, bajo la misma metodología, por carecer de otro método confirmatorio para la detección de Fenilcetonuria en el país.

TABLA 1

Concentraciones de los estándares para determinación de Fenilalanina Método de ELISA

St A	St B	St C	St D	St E
0.0 mg/dl	1.47 mg/dl	4.15 mg/dl	7.47 mg/dl	15.68 mg/dl

TABLA 2

Concentraciones de controles de calidad para Fenilalanina Método de ELISA

Qc 1	Qc 2
2-4 mg/dl	6-11 mg/dl

Tabla 3
Valores de Referencia para la Medición de Fenilalanina en mancha de sangre en Papel Filtro

Prueba	Valores de Referencia
Fenilalanina	0.0 – 4.0 mg/dl

Valores de referencia de la metodología empleada en el estudio.

b. Galactosemia:

- Con un sacabocados, se cortó 1 disco 3/16" de diámetro de los estándares con Mancha de Sangre y controles y transfiriéndolos a los respectivos pocillos de una placa de filtro.
- Se cortaron los discos que llevan las muestras del paciente, transfiriéndolos a los pocillos de la placa de filtro.
- Con una pipeta se sirvieron 50µl de elución tamponada diluida en cada pocillo y agitando la placa.
- Se incubó la placa filtro durante 30 minutos a temperatura ambiente, en un agitador de placas.
- Se cargó la sección inferior de distribuidor de vacío Milipore Multiscreen con una placa limpia de microtitulación, de fondo plano. (Placa de Prueba)
- Se conectó el distribuidor a una bomba de vacío y concluyó la elusión.
- Cuando el eluato se transfirió a la Placa de Prueba, se retiró la placa de prueba de la bomba de vacío.
- Se transfirió con pipeta 100 µl de reactivo enzimático de trabajo a cada pocillo.
- Se incubó la placa de prueba durante 30 minutos a temperatura ambiente en un agitador de placas.
- Se agregó 100 µl de reactivo colorante a cada pocillo.
- Se incubó la placa a temperatura ambiente en un agitador de placas, con agitación de 2 minutos.

- Se leyó la absorbancia de la placa a 570/690 nm de 2-5 minutos después de la adición de reactivo colorante.
- La concentración de Galactosa Total se determinó por medio de una relación lineal, estableciéndose una curva de concentraciones con los valores estándar (curva control) y se tomó como válido el ensayo si los controles de calidad guardaban correlación con la curva.

TABLA 4

Concentraciones de los estándares para determinación de Galactosa total Método de ELISA

St A	St B	St C	St D	St E
0.0 mg/dl	4.6 mg/dl	10.5 mg/dl	20.4 mg/dl	53.4 mg/dl

TABLA 5

Concentraciones de controles de calidad para Galactosa Total Método de ELISA

Qc 1	Qc 2
5-15 mg/dl	20-30 mg/dl

Tabla 6

Valores de Referencia para la Medición de Galactosa Total en mancha de sangre en Papel Filtro

Prueba	Valores de Referencia
Galactosa Total	0.0 – 10.0 mg/dl

Valores de referencia de la metodología empleada en el estudio.

c. Hipotiroidismo Congénito

La TSH se cuantificó con el método inmunoradiométrico (IRMA).

- En cada tubo recubierto de anticuerpo monoclonal Anti-TSH 5404, se colocó con la perforadora un círculo de papel filtro de 5 mm de diámetro impregnado con sangre (muestra). Este paso se incluyó la perforación y procesamiento de los controles de calidad y de los estándares:
- Se agregaron 250 μ l de solución de Anticuerpo Anti-TSH unido a Yodo 125 (1:40) a cada tubo, agitando.
- Se cubrió el ensayo y se incubó 24 horas.
- Se decantó la solución de Anticuerpo Anti-TSH unido a Yodo 125 y retirando cada círculo con pinzas
- Se lavó 2 veces cada tubo con 1.5 ml de solución de lavado.
- Se decantó la solución de lavado y dejando secar.
- Se contó la actividad derivada de la radiación gamma.
- La concentración de TSH se determinó por medio de una relación logarítmica, estableciéndose una curva de concentraciones con los valores estándar (curva control) y se tomó como válido el ensayo si los controles de calidad guardaban correlación con la curva.
 - Las muestras que presentaron una concentración superior a los 32 mUI/ml (punto de corte) se procesaron de nuevo y se confirmaron por el método de quimioluminiscencia, en suero, midiéndose TSH y T4 total.
- Los cálculos para establecer la curva control, se basaron en la relación del porcentaje obtenido de las cuentas por minuto de cada estándar divididas entre las cuentas por minuto totales, menos el porcentaje de enlace no específico; versus la concentración de cada estándar. Dicha relación se linealizó mediante la transformación logarítmica de la concentración de la hormona versus el logit (ver anexo 2) de las cuentas por minuto para cada muestra, según los siguientes cálculos:

Porcentaje de
Radiación Beta = $\frac{\text{(cuentas por minuto de cada muestra * 100\%)}}{\text{cuentas por minuto totales}}$ - %e
En la unión TSH-Ac

%e : Porcentaje de enlace no específico.

TABLA 7

Concentraciones de los estándares para TSH Método de RIA

St A	St B	St C	St D	St E	St F	St G
0 μUI / ml	5 μUI / ml	15 μUI / ml	40 μUI / ml	50 μUI / ml	80 μUI / ml	120 μUI / ml

TABLA 8

Concentraciones de controles de calidad para TSH Método de RIA

Qc 1	Qc 2	Qc 3
15-27 μUI / ml	29-44 μUI / ml	68-85 μUI / ml

Tabla 9

Valores de Referencia para la medición de TSH en mancha de sangre en Papel Filtro

Prueba	Valores de Referencia
TSH	> 37.0 μUI / ml

Valores de referencia de la metodología empleada en el estudio.

Tabla 10

Rangos de Referencia par TSH y T₄ Total

Prueba	Rango de Referencia
T ₄ Total	4.5 – 12.0 μg / dl
TSH Sérica	0.3 – 5.0 mUI / ml

Datos del método por quimioluminiscencia, para Inmulite 2000.

F. DISEÑO DE INVESTIGACIÓN

1. Muestra

Noventa niños que asistieron a los 2 Centros de Cuidado Especial en la Ciudad de Guatemala, durante el ciclo escolar 2004.

- Centro Experimental Psiquiátrico Pedagógico.
- Centro de Educación Especial "Alida España de Arana"

Que cumplan con los siguientes criterios:

- No presenten Síndrome de Down
- No hayan presentado parálisis cerebral al nacer
- Presenten algún tipo de retraso mental de leve, moderado a severo

2. Variables de interés

- Concentración en sangre de fenilalanina
- Concentración en sangre de galactosa
- Concentración en sangre de TSH

3. Análisis de resultados

- Detección de Fenilcetonuria
- Detección de galactosemia
- Detección de hipotiroidismo congénito

5.1. Estadística Descriptiva:

- Frecuencia y % de casos positivos de fenilcetonuria en la muestra
- Frecuencia y % de casos positivos de galactosemia en la muestra
- Frecuencia y % de casos positivos de hipotiroidismo en la muestra
- Tablas y gráficos

Según la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de frecuencia: } \frac{\text{número de casos detectados}}{\text{número de casos evaluados}} * 100$$

VIII. RESULTADOS

A. Resultados Obtenidos en la Medición de Fenilalanina para la Detección de Fenilcetonuria.

Utilizando el método inmunoenzimático colorimétrico de punto final para la medición de la concentración fenilalanina, para la detección de fenilcetonuria, se obtuvo 1 caso positivo para fenilcetonuria, lo que corresponde a una frecuencia de 1.11% del total de 90 muestras recolectadas en los dos centros de cuidado especial para niños con retraso mental, se confirmó el resultado por medio de dos repeticiones. En esta muestra se obtuvo una concentración de fenilalanina de 13.9 mg/dL. Encontrándose en un rango muy superior al rango normal de fenilalanina.

Tabla 11
Frecuencias de errores genéticos del metabolismo
(n = 90)

Enfermedad	No. casos encontrados	Porcentaje
Fenilcetonuria	1	1.11
Hipotiroidismo	4	4.44
Galactosemia	0	0
Total	5	5.55

Fuente: Datos obtenidos experimentalmente en niños que asisten a dos centros de cuidados especiales.

Tabla 12
Determinaciones de Fenilalanina
Método de ELISA
(n = 90)

No. determinaciones	rango	Media
89	0.0-5.0 mg/dL	0.34 mg/dL
0	5.0-10 mg/dL	0 mg/dL
1	10.0-15mg/dL	13.9 mg/dL

Fuente: Datos obtenidos experimentalmente en niños que asisten a dos centros de cuidados especiales.

B. Resultados obtenidos en la medición de TSH para la detección de Hipotiroidismo Congénito.

Con el método inmunorradiométrico (IRMA) que esta basado en la cuantificación de la actividad de radiación gamma, se detectaron 4 casos de las 90 muestras obtenidas en los 2 centros de cuidado especial para niños con retraso mental, estos 4 casos corresponden al 4.4% de frecuencia. Estos datos se confirmaron con el método de quimioluminiscencia.

De los 4 casos detectados, 3 casos fueron sometidos a las pruebas de confirmación; se estableció que no correspondían a casos de hipotiroidismo congénito por encontrarse en valores normales tanto de TSH y T₄ total que sirven como parámetros junto a datos clínicos para el diagnóstico de Hipotiroidismo (ver tabla 13), siendo imposible confirmar 1 de los 4 casos, no fue posible la obtención de la muestra del niño incluido en el estudio.

Tabla 13
Resultados de las pruebas de confirmación de los casos positivos para Hipotiroidismo

Número de Caso	TSH Sérica	T ₄ Total
1	0.510 mUI / ml	3.75 μ g / dl
2	0.77 mUI / ml	7.14 μ g / dl
3	2.18 mUI / ml	5.27 μ g / dl

Fuente: Datos obtenidos experimentalmente en niños que obtuvieron resultados positivos en el primer muestreo. Inmulite 2000.

De los resultados de la determinación de TSH, la mayoría se encontraron en el rango de 0.001- 5.0 μ UI/mL. Esto se debe a que el límite inferior de detección para el método de RIA, es muy bajo, lo que permite detectar concentraciones muy pequeñas de la Hormona Estimulante de la Tiroides (TSH), esto hace que la prueba presente una gran sensibilidad.

Tabla 14
Determinación de TSH utilizando Papel Filtro
 Método de RIA
 (n = 90)

No. determinaciones	Rango	media
56	0.001- 5.0 μ UI/mL	1.00 μ UI/mL
2	5.0-10.0 μ UI/mL	9.26 μ UI/mL
0	10.0-15.0 μ UI/mL	0 μ UI/mL
1	15.0-20.0 μ UI/mL	19.85 μ UI/mL
15	20.0-25.0 μ UI/mL	22.78 μ UI/mL
10	25.0-30.0 μ UI/mL	27.40 μ UI/mL
3	30.0-35.0 μ UI/mL	31.99 μ UI/mL
3	35.0-40.0 μ UI/mL	38.45 μ UI/mL

Fuente: Datos obtenidos experimentalmente en niños que asisten a dos centros de cuidados especiales.

C. Resultados obtenidos en la medición de Galactosa Total para la detección de Galactosemia.

La determinación de galactosa total para la detección de galactosemia, se realizó por un método inmunoenzimático colorimétrico de punto final. No se logró establecer ningún caso de de las 90 muestras obtenidas de los 2 centros de cuidado especial para niños con retraso mental.

Tabla 15
Determinación de Galactosa
 Método de ELISA
 (n = 90)

No. determinaciones	Rango	Media
88	0.0-1.0 mg/dL	0.06 mg/dL
1	1.0-2.0 mg/dL	1.35 mg/dL
0	2.0-3.0mg/dL	0 mg/dL
0	3.0-4.0mg/dL	0 mg/dL
1	4.0-5.0mg/dL	4.90 mg/dL

Fuente: Datos obtenidos experimentalmente en niños que asisten a dos centros de cuidados especiales.

IX. DISCUSION DE RESULTADOS

La fenilcetonuria es una enfermedad metabólica que se caracteriza por la incapacidad de convertir la fenilalanina en tirosina como déficit de la enzima fenilalanin-hidroxilasa; los datos a nivel mundial reportan una incidencia de 1:10,000, 1:20,000, Costa Rica reporta 1:39,000 teniendo una cobertura de 95.1%. En Guatemala se desconocen datos epidemiológicos que corroboren estos valores teniendo en cuenta que actualmente se carece de esta prueba en Programas de Tamizaje Neonatal. La fenilcetonuria produce un retraso psicomotor y un deterioro intelectual irreversible para lo que se requiere un diagnóstico oportuno.

Las técnicas empleadas para la detección de fenilcetonuria como el Test de Gutrie, no se realiza de rutina en los laboratorios del país, y esto hace que muchos pacientes estén subdiagnosticados al no presentar rasgos característicos de la enfermedad.

El método empleado para la detección de fenilalanina en sangre, en el presente estudio fue un Inmunoensayo colorimétrico de punto final (BIO RAD[®]), estos reactivos son utilizados en Colombia y Brasil, en programas de Tamizaje Neonatal.

Como en la mayoría de los trabajos que existen a nivel mundial para estudios de tamizaje se utilizó el método de detección de fenilcetonuria a través de la determinación del valor de fenilalanina (12), tomando como valor de referencia 0-4mg/dl, y el método de confirmación recomendado es un ensayo fluorométrico. Se tomó como caso positivo, aquel valor mayor al valor de referencia para localizar a los niños sospechosos de padecer la enfermedad sin lograr confirmar los resultados obtenidos debido a que no hay disponible otro método de detección para fenilcetonuria en el país.

El único caso de fenilcetonuria detectado en el estudio fue repetido en 2 ocasiones, utilizando la misma muestra, pero diferente mancha de sangre en el papel filtro, en días diferentes, presentando siempre valores muy por encima de lo normal estableciendo así,

como positivo el caso de fenilcetonuria en un niño de 6 años de edad notificando a los padres para ser visto por un endocrinólogo pediatra, para establecer diagnóstico y tratamiento.

Tomando en cuenta que el niño que padece la enfermedad es de raza mestiza, como gran parte de la población guatemalteca, sin tener su origen en razas europeas donde la incidencia de la enfermedad es mayor, principalmente de origen irlandés y del norte de Europa (10), se puede inferir que esta patología está presente en el país. Lo que nos indica la importancia de establecer la prueba de fenilalanina en programas de Tamizaje Neonatal. Con el fin de establecer la incidencia de la enfermedad en el país, y más importante aún, detectar precozmente la enfermedad para evitar retraso mental en niños, o muerte prematura, como complicaciones posteriores en aquellos niños que presenten la enfermedad.

El hipotiroidismo congénito es una enfermedad que se caracteriza por la incapacidad de la tiroides de producir hormonas (T_3 y T_4), y constituye el error más frecuente de metabolismo a nivel mundial de 1:3,500 a 1:4,000 recién nacidos vivos (33,43) y en Guatemala con una incidencia de 1:2,500 (59), con la consecuencia más severa el retraso mental, y de no ser tratada a tiempo la enfermedad, el retraso mental es irreversible, por lo cual el diagnóstico precoz constituye la clave para el tratamiento exitoso de la enfermedad.

El método empleado para la medición de TSH fue radioinmunoensayo (IRMA), el cual es el método diagnóstico establecido en el programa de Tamizaje Neonatal del Hospital San Juan de Dios, debido a su alta sensibilidad, su bajo costo y a la producción de los reactivos utilizados, por parte del personal que labora en la Unidad de Medicina Nuclear de dicho hospital, el cual es garantizado mediante Programas de Control de Calidad (Center of Diseases Control –CDC-) en Estados Unidos, y el Programa Deutsche Vereinte Gesellschaft für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin e.V de Alemania, y a nivel Latinoamericano en Programa de Calidad de Buenos Aires Argentina; el método de confirmación utilizado fue el de quimioluminiscencia.

Del total de muestras incluidas en el estudio (90) se les cuantificó la concentración de TSH, obteniéndose de éstas, cuatro casos presuntamente positivos, de los cuales únicamente fue posible confirmar tres de los cuatro casos positivos, utilizándose otro método para la confirmación (quimioluminiscencia), de dónde las concentraciones de TSH y T₄ total fueron normales y en uno de los casos la concentración de T₄ Total está disminuido con relación a los valores de referencia, aunque el valor obtenido de TSH para esta misma muestra fue normal, lo que no concuerda con un hipotiroidismo congénito como tal, en los que los valores de T₄ Total están bajos y de TSH están aumentados, pero puede tratarse de un Hipotiroidismo secundario o adquirido durante la niñez, en donde la deficiencia de TSH es parcial y la producción de hormonas tiroideas (T₃ y T₄) no es tan escasa (42).

Lamentablemente no se confirmó el último caso positivo de hipotiroidismo por no localizar al niño recluido en el centro de cuidado especial quien fue trasladado a otro centro fuera de la capital, siendo imposible el acceso al niño.

La galactosemia es otro error genético que se caracteriza por la incapacidad del organismo de metabolizar la galactosa, un carbohidrato presente en productos lácteos, por una deficiencia enzimática; la galactosemia es causante de varias complicaciones muy graves para la vida de las personas que la padecen, que va desde ceguera, problemas cardíacos, además de retraso mental (25). Por lo que se requiere un diagnóstico oportuno para evitar las complicaciones, la incidencia a nivel mundial es muy baja, que varía de 1:26,000 hasta a 1:667,000 en cualquiera de sus tres variantes (20), en comparación con otros desordenes metabólicos como el hipotiroidismo congénito.

En el estudio no se logró establecer algún caso de galactosemia con una frecuencia de 0 %. Para establecer pues, la incidencia de galactosemia en el país es necesario implementar la prueba de galactosa total, en programas de tamizaje neonatal en un período de tiempo de por lo menos un año, tomando en cuenta todas las muestras que sean tamizadas, que abarquen una población mínima de 60,000 niños según reportes de incidencia en otros países (21).

En muchos países, principalmente en Europa y Estados Unidos de Norteamérica, en donde poseen programas de tamizaje neonatal, y que cuentan con las pruebas para la detección de fenilcetonuria y galactosemia en el panel de pruebas, el método empleado es el de fluorescencia, obteniendo buenos resultados, en cuanto a sensibilidad y reproductividad.

La metodología empleada en el estudio, para la detección de galactosemia y fenilcetonuria, (ensayo inmunoenzimático colorimétrico de punto final) tiene la ventaja de ser fácil para su realización, pues requiere poco tiempo, a su vez se pueden manejar un volumen grande de muestras, y el personal requerido es de solamente un individuo, necesitándose básicamente una incubadora, un lector de absorbancia para la técnica de ELISA, y materiales que en cualquier laboratorio clínico se pueden disponer, ventajas que hacen viable la implementación de estas pruebas en programas de Tamizaje Neonatal.

La metodología empleada en el estudio para la detección de Hipotiroidismo (ensayo inmunoradiométrico IRMA) presenta varias ventajas como lo son: facilidad de aplicación, bajo costo de los reactivos empleados, manejo de un gran número de muestras y la sencillez del proceso, teniendo la desventaja de manejar sustancias radioactivas.

Para la obtención de las muestras, en el procedimiento empleado, se requirió realizar una punción venosa en el dorso de la mano del sujeto de estudio, que en este caso se trataba de niños de edades comprendidas entre los siete a once años, que padecen retraso mental, y en su mayoría presentaron gran agresividad, necesitándose la intervención de 2 personas para obtener la muestra de sangre, (4 a 5 gotas de sangre colocadas en un papel filtro Schlicher & Schuell 903) para su posterior análisis.

La diferencia de la toma de muestra de sangre para el presente estudio y la toma de muestra en programas de tamizaje neonatal radica en que: en los programas de Tamizaje neonatal el sitio de la punción es el talón del pie del neonato, utilizando una lanceta adecuada para evitar lastimar el área de punción, asimismo que el manejo del paciente es mucho más sencillo por tratarse de un neonato de 24 a 72 horas de haber nacido,

necesitándose una persona calificada, ya sea un médico pediatra o una enfermera para el manejo de muestra, mientras que en este estudio se dificulta la toma de muestra por: el área de punción, (dorso de la mano), edad del paciente (7 a 11 años de edad) y el estado mental del paciente (retraso mental leve, moderado a severo), quién puede presentar agresividad al momento de tomar la muestra de sangre.

Una vez tomada la muestra de sangre, ya sea para un programa de tamizaje neonatal o para un estudio como el presente, la estabilidad de la muestra es bastante grande, ya que para procesarla es necesario únicamente dejar secar las gotas de sangre en el papel filtro Schlicher & Schuell 903, al menos durante cuatro horas a temperatura ambiente en un lugar fresco libre de humedad; si no se va a procesar inmediatamente se puede almacenar en un sobre de papel a temperatura ambiente hasta por cuatro meses, y si se prolonga el tiempo para procesar la muestra, se puede refrigerar (de 4 a 8 grados centígrados) hasta por un máximo de un año obteniendo resultados satisfactorios al momento del procesamiento de las muestras.

Otra ventaja de la estabilidad de la muestra es que al enviarla a un centro de acopio, se puede realizar incluso por algún medio de correo, ventaja que hace posible el envío de muestras de todo el país a un centro de procesamiento, en el caso de un Programa de Tamizaje Neonatal a nivel nacional.

Para la fenilcetonuria, los tratamientos se basan principalmente, en la supresión de la dieta de aquellos alimentos que contengan grandes cantidades de fenilalanina, desde el primer mes de vida para evitar daño neurológico y complicaciones propias de la enfermedad. Por lo que la intervención a tiempo en programas de Tamizaje Neonatal puede garantizar la recuperación completa de los niños que lo padezcan, aunque en Guatemala se carece de fórmulas alimenticias especiales, para aquellos pacientes que padecen la enfermedad, únicamente se puede proporcionar una dieta con alimentos que se contengan bajas cantidades de fenilalanina. A su vez, en aquellos niños no diagnosticados a tiempo, que presenten un retraso mental irreversible, se puede mejorar su calidad de vida si son detectados. Al igual que en el caso de fenilcetonuria, en la galactosemia, una rápida

intervención puede evitar la triada de esta enfermedad (ceguera, cirrosis y retraso mental) en neonatos que sean incluidos en Programas de Tamizaje Neonatal.

X. CONCLUSIONES

1. La frecuencia de fenilcetonuria en niños con retraso mental fue de 1.11%, lo que permite establecer una relación entre la fenilcetonuria y el retraso mental en la población estudiada.
2. La frecuencia de hipotiroidismo congénito transitorio fue de 4.4% en niños con retraso mental, que de haberse diagnosticado oportunamente, pudo evitarse el desarrollo del retraso mental en estos pacientes. Derivando de ello la importancia de tamizar a toda la población.
3. No se detectó ningún caso de galactosemia por lo que la galactosemia, como error congénito del metabolismo, no se relacionó directamente como causa de retraso mental en la población estudiada, obteniéndose una frecuencia de 0%, dada también a la baja incidencia a nivel mundial, ya que es ligada a distintas razas ausentes en el país.
4. La carencia de pruebas que detecten errores innatos de metabolismo en Programas de Tamizaje Neonatal no permiten establecer un diagnóstico certero en niños que presenten retraso mental, ya sea para su prevención o para evitar complicaciones propias de cada enfermedad.
5. Es necesario implementar otras pruebas de tamizaje de errores innatos de metabolismo, además de TSH neonatal en el Programa de Tamizaje Neonatal existente en el país, así como ampliar la cobertura a nivel nacional.
6. La importancia de prevenir errores innatos del metabolismo se enfoca no sólo en el número de casos diagnosticados sino en las complicaciones de la enfermedad, ya que aún la incidencia no es tan alta como otras patologías frecuentes en el país, tomando

en cuenta que las repercusiones metabólicas pueden conducir a la muerte prematura o retraso mental grave e irreversible.

7. El diagnóstico oportuno de las enfermedades tamizadas, pudo evitar el retraso mental y complicaciones propias de dichas enfermedades, en cinco niños incluidos en el estudio.

XI. RECOMENDACIONES

1. Realizar estudios de frecuencia, incidencia de fenilcetonuria en programas de tamizaje neonatal para la obtención de datos epidemiológicos de dicha patología en un periodo de tiempo establecido en Guatemala.
2. Realizar estudios de frecuencia, incidencia de galactosemia en programas de tamizaje neonatal para la obtención de datos epidemiológicos de dicha patología en un periodo de tiempo establecido en Guatemala.
3. Establecer la incidencia de hipotiroidismo congénito en los Programas de Tamizaje Neonatal existentes en el país, así como extender la cobertura de los Programas de Tamizaje Neonatal.
4. Realizar estudios similares a éste, evaluando otras enfermedades o errores de metabolismo que pudieran afectar a la población guatemalteca tomando en cuenta la incidencia de estas enfermedades en distintas poblaciones de la región, específicamente México y Centroamérica.
5. Incrementar pruebas que detecten desordenes genéticos en Programas de Tamizaje Neonatal, así como en niños afectados con retraso mental que no este diagnosticada la causa de dicho retraso mental para evitar complicaciones principalmente, la prueba de fenilalanina para la detección de fenilcetonuria, y otras.
6. Establecer un protocolo de tratamiento dietético para pacientes afectados con fenilcetonuria y galactosemia, en el que intervengan nutricionistas y endocrinólogos a fin de procurar el mejoramiento en la calidad de vida de los pacientes afectados.

7. Establecer líneas de seguimiento de aquellos pacientes afectados con algún error de metabolismo, para evaluar la efectividad del tratamiento revisando periódicamente, el desarrollo mental y físico de los pacientes ya diagnosticados.

XII. REFERENCIAS

1. Herrera, E.(Eds.). Bioquímica. Aspectos estructurales y vías metabólicas. (Vols. I y II) (2ª edición). Interamericana-McGraw-Hill. Madrid, 1991.
2. Siegel, GJ, Agranoff, BW, Wayne Albers, R y Molinoff, PB. Basic Neurochemistry (5ª edición). Raven Press. New York, 1994.
3. ExPASy (Expert Protein Analysis System) proteomics server of the Swiss Institute of Bioinformatics (SIB). <http://expasy.proteome.org.au/>
4. Reed, G y Underkofler, LA. Enzymes in food processing. Academic Press Inc. New York, 1996.
5. Ligand Chemical Database, Institute for Chemical Research, Kyoto University. <http://www.genome.ad.jp/>. Consulta 7/11/03. 14:30 h
6. Bradford, HF. Fundamentos de Neuroquímica. Editorial Labor, SA. Barcelona, 1998.
7. Devlin, TM. (Ed.). Bioquímica. Libro de texto con aplicaciones clínicas (Tomos I y II) (2ª edición). Editorial Reverté, SA. Barcelona, 1988.
8. Baldellou A, Tamparillas M, Salazar I. Investigación sistemática neonatal de las hiperfenilalaninemias. Bol Soc Ar Ped (Zar) 1993; 23 (5): 138-44.
9. Menkes J. Enfermedades metabólicas del Sistema Nervioso. En: Menkes J. ed. Neurología Infantil. Barcelona. Salvat.1997: 4.
10. Chuy, S., Producción, optimización, validación e implementación de la prueba de Guthrie para la detección de fenilalanina sanguínea. Guatemala: Universidad de San Carlos, Tesis de graduación, Facultad Ciencias Químicas y Farmacia. 1995.
11. Goodman y Gilman (Eds.). Las bases farmacológicas de la conducta. (9ª edición) (Vols. I y II). McGraw-Hill-Interamericana. México, 1996.
12. García E. Encefalopatías metabólicas. Errores innatos del metabolismo, Neuropediatría ;Espinosa E y Dunoyer C, Santafé de Bogotá. 1999: 111-123.
13. Painter M, Convulsiones neonatales, NP de Swaiman, 1996; 35: 567-76

14. Ampola Mary, Metabolic Disorders Phenilketonuria and related disorders, Currente Pediatric Therapy, Gellis and Kagan, 1999; 16: 791-4.
15. Scriver, Beaudet, Úrea cicle enzymes, The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease, Graw Hill, 1998; 1213.
16. Bradford L., Therrell Jr. Laboratory Methods for Neonatal Screening. American public Health Association. Washington DC. 1993. 77-95
17. Burton B, Inborn Errors of Metabolism in Infancy: A guide to diagnosis, Pediatrics, 1998; 102:
18. Iraj Rezvani. Enfermedades Metabólicas, Pediatría de Nelson, 1997; 70: 411-412:
19. Paige Kaplan, Metabolic Disorders. Amino and Organic acid disorders, Current Pediatric Therapy, Gellis and Kagan, 1999; 16:794-7.
20. Kaplan, M. et al. Comparison of commercial screening test for glucose -6- fosfato deshidrogenasa deficiency in the neonatal period. Clinical Chemistry 43, 7, 1997, 1236-1237.
21. Farreraz/Rozman. Galactosemia Clásica. Medicina Interna. Decimotercera Edición. Edición en CD-ROM AVT Consultores (Productos Multimedia) Ed. Mosby-Doyma 1999: 1185, 1192-1193
22. <"/newborn.htm">www.tdh.state.tx.us/newborn/newborn.htm. Consultada 11/11/03. 14:30 h
23. Burton B, Inborn Errors of Metabolism in Infancy: A guide to diagnosis, Pediatrics, 1998; 102:
24. Irons Mira, Metabolic Disorder, Carbohydrates Disorders, Current Pediatric Therapy, Gellii and Kagan, 1999; 16:787-8.
25. Sly Valle, Carbohydrates. Disorder of galactose metabolism, The Metabolic and molecular Bases of Inherited Disease, Graw Hill, 1998: 974.
26. Jadresic A. Endocrinología; Fundamentos y Clínica. Santiago de Chile: Ediciones de la Universidad de Chile, 1978; 450 p
27. Netter FH, ed. Colección Ciba de Ilustraciones Médicas; Sistema Endocrino y Enfermedades Metabólicas. Barcelona: Salvat Editores, S.A. 1980. 960 p.

28. Sanders Company. Clínicas Pediátricas de Norteamérica; Endocrinología Pediátrica. México: Interamericana. Vols. 28, Vol. 1, 1986. 260 p.
29. Agencia de los Estados Unidos para el Desarrollo Integral, Recife Tercer Taller regional sobre deficiencia de Vitamina A y otros nutrientes En América Latina y el Caribe. Recife, Brazil; Publica USAID, Agosto 1997.
30. Medenos, G., *et al.*, Iodine deficiency disorders and congenital hipotiroidism Division of Endocrinology, Ecola Paulista de Medicina, Sao Pablo, Brazil 1996.
31. Comisión Nacional para la fortificación, enriquecimiento y/o equiparación de los alimentos (CONAFOR), Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá (INCAP), Situación de los alimentos fortificados. Guatemala 2001
32. Alm J *et al.* Congenital Hypothyroidism in Sweden. *Acta Pediatr Scan* 1988; 67:1-3.
33. Burrow GN. Ed . Neonatal Thyroid Screening in Europe. New York: Raven Press 347 p. 2000.
34. Report of the New Born Comitee of the European Thyroid Assotiation. Neonatal Screening for Congenital Hypothyroidism in Europe. *Acta Endocrinol* 1990; 223:1-29.
35. Fisher DA, ed. Simposium on Hypothyroidism. Current Concepts in Diagnosis and Treatment. USA: Ames Division Miles Laboratories, Inc. 1998. 59 p.
36. Bellanti J. Inmunología II. 2 ed. México, D.F.: Nueva Editorial Interamericana, S.A. de C.V., 1981. 695 p.
37. Sanders Company, eds. Clinicas Pediátricas de Norteamerica; Endocrinología Pediátrica. México: Interamericana. Vols. 28, Vol 4, 1990. 960 p. (p. 913-1022).
38. Mitchell ML *et al.* Preliminary Results on the Mental Development of the Hypothyroid Infants Detected by the Quebec Screening Program. *J Pediatr* 1983; 102:19.
39. Hamfelt A. Screening of Newborn for Hypothyroidism. *Clin Chem* 1982; 28:722.
40. Fisher DA *et al.* Screening for Congenital Hypothyroidism; Results of Screening one Million North American Infants. *J Pediatr* 1979; 94:700-705.
41. Dussault JH *et al.* Preliminary Report on a Mass Screening Program for Neonatal Hypothyroidism. *J Pediatr* 1975; 86:670.
42. Smith DW, Klein AM, Henderson JR, Myriantopoulos NC. Congenital Hypothyroidism signs and symptoms in the Newborn Period. *J Pediatr* 1975; 87:958.

43. Larsson A *et al.* Screening for Congenital Hypothyroidism; II Clinical Findings in Infants with Positive Screening tests. *Acta Paediatr* 1981; 70:147-153.
44. Klein AA *et al.* Developmental Changes in Pituitary Thyroid Function in the Human Fetus and the Newborn. *Early Hum Dev* 1982; 6:321-330.
45. Espinosa, A *et al.* Manifestaciones Neonatales del Hipotiroidismo Congénito. *Bol Med Hosp Infant Mex* 1982; 39:742-747.
46. Dussault JH *et al.* Early Recognition of Congenital Hypothyroidism. *J Paediatr* 1983; 103:662-3.
47. Kilbride HW *et al.* Screening for Hypothyroidism. *Pediatrics* 1983; 72:263-264.
48. Velásquez A. El diagnóstico de errores congénitos del metabolismo. *Neurología-Neurocirugía-Psiquiatría (Mex.)*, 1973. 14:7-19.
49. Smith DW. The Mental Prognosis in Hypothyroidism from Infancy and Childhood; A review of 128 cases. *Pediatrics* 1957; 18:1011.
50. Klein AH. Improved Prognosis in Congenital Hypothyroidism Treated before age three months. *J Pediatrics* 1972; 81:912.
51. Dussault AN, *et al.* Interlaboratory Surveys of the quantification of Thyrotropin in Screening for Congenital Hypothyroidism; A Mith, *J Clin Endocrinol Metab* 1983; 56:849-852.
52. Larry J. Kricka, sensitive detection systems, Chemiluminescent and Bioluminescent techniques; *Clin. Chem.* 37/9,1991, 1472-1481.
53. Law Sj, Chang, Palmacci Sa: Polysubstituted aryl acridinium esters. U.S: patent 1988; 181.
54. Hiroshi Naruse. Neonatal screening in the 21st century: Establishment of screening system in East Asia. Tokyo institute of Medical Science. Tokyo Japan 1999.
55. Coelho Neto JR, Shimizu MSO, Loghin-Grosso NS, Carvalho TN, Schmidt BJ. Congenital hypothyroidism: T4 screening x TSH sequential to T4 (p10) screening – A comparative study. In: Levy HL, Hermos RJ, Grady GF, editors. *Proceedings of the Third Meeting of the International Society for Neonatal Screening*; 1996 Boston, EUA:IKON/MAP; 1996. p. 263-4.

56. Prieto L, Gruñeiro de Papendieck L, Chiesa A, Bregada C. Screening for congenital hypothyroidism (CH): experience in cord blood. In: Levy HL, Hermos RJ, Grady GF, editors. Proceedings of the Third Meeting of the International Society for Neonatal Screening; 1996 oct 20-23 Boston, EUA: IKON/MAP; 1996. p. 271-2.
57. Yhong Wang. Simultaneous determination of thyrotropin (TSH) and thyroxin (T4) in blood spots on filter paper for hypothyroidism- screenig in the newborn. In: Webster D, Editor. Neonatal Screening in the nineties. Proceeding of the 8th Internacional Neonatal Screening Symposium; 1991 nov 11-15; New South Wales, Australia: Fairmont resort, Leura Blue Mountains, NSW; 1991. p. 67-8.
58. Vela M., Velásquez A. Tamiz neonatal del hipotiroidismo congénito en México, frecuencia en los últimos diez años. Acta pediátrica de México, Vol. 21, Núm 4, Julio-agosto, 2000.
59. Lange, K., Mendoza, J., Velasco, R. y Zambrano, F. Hipotiroidismo congénito: Rescate de niños en Guatemala condenados al retraso mental. Pediatría Edición Electrónica 2003; 1(1).
60. Rodas M., Estimación de la relación costo-beneficio de un programa de detección precoz del Hipotiroidismo Congénito en Guatemala. Guatemala: Universidad de San Carlos, Tesis de graduación, Facultad Ciencias Químicas y Farmacia. 1995.
61. Richter C., Detección temprana del Hipotiroidismo Congénito mediante la cuantificación de TSH y T4 por método de Radioinmunoanálisis. Guatemala: Universidad de San Carlos, Tesis de Graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. 1986.
62. García S., Producción y optimización de Radioinmunoanálisis para la cuantificación de T4 y TSH Neonatal. Guatemala: Universidad de San Carlos, Tesis de Graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. 1993.

XIII. ANEXOS

ANEXO 1

Resultados de la determinación de tres errores del metabolismo

No. Muestra	Fenilalanina	TSH	Galactosa
1	0.00 mg/dL	35.13 µUI/mL*	0.00mg/dL
2	2.29 mg/dL	22.70 µUI/mL	0.00 mg/dL
3	0.01 mg/dL	26.03 µUI/mL	0.00 mg/dL
4	0.47 mg/dL	21.69 µUI/mL	0.00 mg/dL
5	1.45 mg/dL	24.84 µUI/mL	0.00 mg/dL
6	2.64 mg/dL	27.94 µUI/mL	0.00 mg/dL
7	1.04 mg/dL	22.57 µUI/mL	0.00 mg/dL
8	3.80 mg/dL	28.12 µUI/mL	0.00 mg/dL
9	2.07 mg/dL	22.35 µUI/mL	0.92 mg/dL
10	1.84 mg/dL	39.93 µUI/mL*	0.00 mg/dL
11	2.18 mg/dL	29.90 µUI/mL	0.46 mg/dL
12	1.04 mg/dL	22.92 µUI/mL	0.00 mg/dL
13	0.92 mg/dL	22.42 µUI/mL	0.00 mg/dL
14	0.00 mg/dL	25.88 µUI/mL	0.00 mg/dL
15	0.00 mg/dL	30.71 µUI/mL	0.00 mg/dL
16	0.58 mg/dL	26.66 µUI/mL	0.00 mg/dL
17	0.00 mg/dL	40.28 µUI/mL*	0.00 mg/dL
18	0.00 mg/dL	19.85 µUI/mL	0.20 mg/dL
19	0.00 mg/dL	22.72 µUI/mL	0.00 mg/dL
20	0.00 mg/dL	23.36 µUI/mL	0.00 mg/dL
21	0.00 mg/dL	23.63 µUI/mL	0.00 mg/dL
22	0.70 mg/dL	29.02 µUI/mL	0.00 mg/dL
23	0.00 mg/dL	21.41 µUI/mL	0.92 mg/dL
24	0.00 mg/dL	31.20 µUI/mL	0.00 mg/dL
25	0.00 mg/dL	24.27 µUI/mL	0.92 mg/dL
26	0.00 mg/dL	22.20 µUI/mL	4.90 mg/dL
27	0.00 mg/dL	22.13 µUI/mL	0.92 mg/dL
28	0.00 mg/dL	25.96 µUI/mL	1.35 mg/dL
29	0.00 mg/dL	26.60 µUI/mL	0.00 mg/dL
30	0.36 mg/dL	22.42 µUI/mL	0.00 mg/dL
31	0.00 mg/dL	27.90 µUI/mL	0.90 mg/dL
32	0.00 mg/dL	34.06 µUI/mL*	0.00 mg/dL
33	1.97 mg/dL	0.88 µUI/mL	0.00 mg/dL
34	0.0 mg/dL	0.88 µUI/mL	0.00 mg/dL
35	0.64 mg/dL	0.88 µUI/mL	0.00 mg/dL
36	0.19 mg/dL	0.88 µUI/mL	0.00 mg/dL
37	0.0 mg/dL	0.88 µUI/mL	0.00 mg/dL
38	0.0 mg/dL	0.88 µUI/mL	0.00 mg/dL
39	0.0 mg/dL	2.27 µUI/mL	0.00 mg/dL
40	0.64 mg/dL	0.88 µUI/mL	0.00 mg/dL
41	0.19 mg/dL	0.88 µUI/mL	0.00 mg/dL
42	0.0 mg/dL	0.88 µUI/mL	0.00 mg/dL
43	0.0 mg/dL	0.88 µUI/mL	0.00 mg/dL
44	0.0 mg/dL	0.88 µUI/mL	0.00 mg/dL
45	0.0 mg/dL	0.88 µUI/mL	0.00 mg/dL
45	0.0 mg/dL	0.88 µUI/mL	0.00 mg/dL
47	0.0 mg/dL	0.88 µUI/mL	0.00 mg/dL
48	0.0 mg/dL	0.88 µUI/mL	0.00 mg/dL

49	0.0 mg/dL	8.80 µUI/mL	0.00 mg/dL
50	0.0 mg/dL	0.88 µUI/mL	0.00 mg/dL
51	0.0 mg/dL	0.88 µUI/mL	0.00 mg/dL
52	0.0 mg/dL	0.88 µUI/mL	0.00 mg/dL
53	0.0 mg/dL	0.88 µUI/mL	0.00 mg/dL
54	0.0 mg/dL	0.88 µUI/mL	0.00 mg/dL
55	0.0 mg/dL	0.88 µUI/mL	0.00 mg/dL
56	0.0 mg/dL	0.88 µUI/mL	0.00 mg/dL
57	0.0 mg/dL	0.88 µUI/mL	0.00 mg/dL
58	0.0 mg/dL	0.88 µUI/mL	0.00 mg/dL
59	0.0 mg/dL	0.88 µUI/mL	0.00 mg/dL
60	0.0 mg/dL	0.88 µUI/mL	0.00 mg/dL
61	1.08 mg/dL	0.88 µUI/mL	0.00 mg/dL
62	0.0 mg/dL	0.88 µUI/mL	0.00 mg/dL
63	3.59mg/dL	0.88 µUI/mL	0.00 mg/dL
64	0.0 mg/dL	0.88 µUI/mL	0.00 mg/dL
65	0.0 mg/dL	0.88 µUI/mL	0.00 mg/dL
66	0.0 mg/dL	0.88 µUI/mL	0.00 mg/dL
67	0.64mg/dL	0.88 µUI/mL	0.00 mg/dL
68	0.0 mg/dL	0.88 µUI/mL	0.00 mg/dL
69	0.0 mg/dL	0.88 µUI/mL	0.00 mg/dL
70	0.0 mg/dL	0.88 µUI/mL	0.00 mg/dL
71	0.0 mg/dL	0.88 µUI/mL	0.00 mg/dL
72	0.0 mg/dL	0.88 µUI/mL	0.00 mg/dL
73	0.0 mg/dL	0.88 µUI/mL	0.00 mg/dL
74	0.0 mg/dL	1.47 µUI/mL	0.00 mg/dL
75	0.0 mg/dL	0.88 µUI/mL	0.00 mg/dL
76	0.0 mg/dL	3.72 µUI/mL	0.00 mg/dL
77	0.0 mg/dL	0.88 µUI/mL	0.00 mg/dL
78	0.0 mg/dL	1.12 µUI/mL	0.00 mg/dL
79	0.19mg/dL	1.78 µUI/mL	0.00 mg/dL
80	0.0 mg/dL	0.88 µUI/mL	0.72 mg/dL
81	13.9 mg/dL*	0.88 µUI/mL	0.00 mg/dL
82	0.0 mg/dL	0.88 µUI/mL	0.00 mg/dL
83	0.0 mg/dL	0.88 µUI/mL	0.00 mg/dL
84	0.0 mg/dL	0.88 µUI/mL	0.00 mg/dL
85	0.0 mg/dL	0.88 µUI/mL	0.00 mg/dL
86	0.0 mg/dL	0.88 µUI/mL	0.00 mg/dL
87	0.0 mg/dL	0.88 µUI/mL	0.00 mg/dL
88	0.0 mg/dL	9.62 µUI/mL	0.00 mg/dL
89	0.0 mg/dL	1.69 µUI/mL	0.00 mg/dL
90	0.0 mg/dL	0.88 µUI/mL	0.00 mg/dL

Datos obtenidos experimentalmente en niños que asisten a dos centros de cuidado especial. (n = 90)

* Casos positivos para cada error de metabolismo.