



Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana

ISSN: 0325-2957

ISSN: 1851-6114

actabioq@fbpba.org.ar

Federación Bioquímica de la Provincia de Buenos Aires
Argentina

Saavedra, Damián Darío; Hourcade, Mónica Elsa; Alvarez, Clarisa Ester; Wiggenhauser, Julieta; Galván, Virginia; Gatti, Maximiliano; Cabrera, Analía; Müller, Gabriela Leticia
Análisis de los niveles de ácidos orgánicos en orina de la primera infancia y recién nacidos: un estudio de cromatografía gaseosa acoplada a espectrometría de masas con evaluación de rangos de referencia
Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana, vol. 58, núm. 3, 2024, Julio-Septiembre, pp. 227-239
Federación Bioquímica de la Provincia de Buenos Aires
Buenos Aires, Argentina

Disponibile en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=53578608004>

- ▶ Cómo citar el artículo
- ▶ Número completo
- ▶ Más información del artículo
- ▶ Página de la revista en redalyc.org

redalyc.org

Sistema de Información Científica Redalyc
Red de revistas científicas de Acceso Abierto diamante
Infraestructura abierta no comercial propiedad de la academia

Análisis de los niveles de ácidos orgánicos en orina de la primera infancia y recién nacidos: un estudio de cromatografía gaseosa acoplada a espectrometría de masas con evaluación de rangos de referencia

► Damián Darío Saavedra^{1ab}, Mónica Elsa Hourcade^{2bc}, Clarisa Ester Alvarez^{3ab}, Julieta Wigggenhauser^{4b}, Virginia Galván^{5b}, Maximiliano Gatti^{6d}, Analía Cabrera^{7e}, Gabriela Leticia Müller^{8ab*}

Resumen

El análisis de los ácidos orgánicos urinarios juega un papel crucial en el diagnóstico y seguimiento de pacientes con trastornos metabólicos congénitos. La falta de datos completos, las variaciones en los hábitos alimentarios entre países y el aumento del consumo de alimentos procesados subrayan la necesidad de realizar investigaciones actualizadas. Con el fin de establecer los intervalos de confianza y medianas de ácidos orgánicos urinarios se evaluaron mediante cromatografía gaseosa acoplada a espectrometría de masas, 125 muestras de orina de pacientes sanos, con edades comprendidas entre 2 días y 13 años. Los resultados fueron analizados teniendo en cuenta el grupo etario, y evidenciaron que las concentraciones de la mayoría de los ácidos orgánicos urinarios varían de acuerdo a la edad, lo que enfatiza la importancia de los valores de referencia emparejados con la edad para interpretar los datos de los pacientes. Existen pocos informes en esta área; sin embargo, la comparación de estos resultados con los valores de referencia informados por otros trabajos muestra una concordancia razonable y las pocas disparidades podrían atribuirse a factores genéticos o influencias dietéticas. Se presentan resultados e interpretaciones de niños previamente diagnosticados con trastornos metabólicos y otras afecciones, lo que confirma la confiabilidad de nuestros datos y métodos analíticos. Este estudio proporciona datos de referencia esenciales para los profesionales clínicos, destaca la importancia de los valores de referencia específicos de la edad para diagnosticar y tratar con precisión a pacientes con trastornos metabólicos y sirve como recurso fundamental para futuras investigaciones en este campo.

Palabras clave: Ácidos orgánicos urinarios; Intervalo de referencia; Errores innatos; Cromatografía de gases; Espectrometría de masas

¹ Licenciado en Biotecnología, Doctor en Ciencias Biológicas. (ORCID: 0009-0009-1564-5040)

² Bioquímica. (ORCID: 0009-0002-1712-9751)

³ Licenciada en Biotecnología, Doctora en Ciencias Biológicas. (ORCID: 0000-0001-7279-6974)

⁴ Bioquímica. (ORCID: 0009-0000-9742-486X)

⁵ Licenciada en Biotecnología, Doctora en Ciencias Biológicas. (ORCID: 0009-0006-9650-9259)

⁶ Médico. (ORCID: 0009-0003-4030-5378)

⁷ Médica.

⁸ Licenciada en Biotecnología, Doctora en Ciencias Biológicas. (ORCID: 0000-0002-9163-7159)

^a Centro de Estudios Fotosintéticos y Bioquímicos (CE-FOBI), Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas, Universidad Nacional de Rosario, Suipacha 531, (2000) Santa Fe, Rosario, Argentina.

^b Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas, Universidad Nacional de Rosario, Suipacha 531, (2000) Santa Fe, Rosario, Argentina.

^c Laboratorio CG/EM, Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas, Universidad Nacional de Rosario, Suipacha 531, (2000) Santa Fe, Rosario, Argentina.

^d Facultad de Medicina, Universidad Nacional de Rosario, (3100) Santa Fe, Rosario, Argentina.

^e Servicio de Nutrición y Metabolismo del Hospital Infantil Víctor J. Vilela, Virasoro 1855, (2000) Santa Fe, Rosario, Argentina.

* Autora para correspondencia.

Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana

Incorporada al Chemical Abstract Service.

Código bibliográfico: ABCLDL.

ISSN 0325-2957 (impresa)

ISSN 1851-6114 (en línea)

ISSN 1852-396X (CD-ROM)

Analysis of urinary organic acid levels in early childhood and newborns: a gas chromatography-mass spectrometry study with evaluation of reference ranges

Abstract

Analysis of urinary organic acids plays a crucial role in the diagnosis and monitoring of patients with congenital metabolic disorders. The lack of complete data, variations in dietary habits between countries, and increasing consumption of processed foods highlight the need for up-to-date research. In order to establish the confidence intervals and medians of urinary organic acids, 125 urine samples from healthy patients, aged between 2 days and 13 years, were evaluated by gas chromatography coupled to mass spectrometry. The results were analysed taking into account the age group, showing that the concentrations of most urinary organic acids vary according to age, which emphasises the importance of paired age reference values to interpret patient data. There are few reports in this area; however, comparing our results with those reference values reported by other papers demonstrates reasonable agreement, and minor disparities could be attributed to genetic factors or dietary influences. Results and interpretations from children previously diagnosed with metabolic disorders and other conditions are presented, confirming the reliability of our data and analytical methods. This study provides essential reference data for clinicians, highlighting the importance of age-specific reference values to accurately diagnose and treat patients with metabolic disorders and serves as a critical resource for future research in this field.

Keywords: *Urinary organic acids; Reference interval; Inborn errors; Gas chromatography; Mass spectrometry*

Análise dos níveis de ácidos orgânicos na urina da primeira infância e dos recém-nascidos: um estudo por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa com avaliação de intervalos de referência

Resumo

A análise dos ácidos orgânicos urinários desempenha um papel crucial no diagnóstico e monitoramento de pacientes com distúrbios metabólicos congênitos. A falta de dados completos, as variações nos hábitos alimentares entre países e o aumento do consumo de alimentos processados destacam a necessidade de realizar pesquisas atualizadas. Para estabelecer os intervalos de confiança e medianas de ácidos orgânicos urinários, 125 amostras de urina de pacientes saudáveis, com idades entre 2 dias e 13 anos, foram avaliadas por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa. Os resultados foram analisados levando em consideração o grupo etário, evidenciando que as concentrações da maioria dos ácidos orgânicos urinários variam de acordo com a idade, o que destaca a importância dos valores de referência pareados com a idade para interpretar os dados dos pacientes. Há poucos relatos nesta área; no entanto, a comparação destes resultados com os valores de referência informados por outros trabalhos demonstra uma concordância razoável, e as poucas disparidades poderiam ser atribuídas a fatores genéticos ou influências dietéticas. São apresentados resultados e interpretações de crianças previamente diagnosticadas com distúrbios metabólicos e outras condições, o que confirma a confiabilidade de nossos dados e métodos analíticos. Este estudo fornece dados de referência essenciais para profissionais clínicos, enfatizando a importância dos valores de referência específicos da idade para diagnosticar e tratar com precisão pacientes com distúrbios metabólicos, e serve como recurso fundamental para futuras pesquisas nesse campo.

Palavras-chave: *Ácidos orgânicos urinários; Intervalo de referência; Erros inatos; Cromatografia de gases; Espectrometria de massa*

Introducción

Los errores congénitos del metabolismo abarcan una amplia gama de trastornos genéticos complejos que típicamente surgen de deficiencias en procesos metabólicos, alterando el metabolismo normal de biomoléculas tanto exógenas (dietarias) como endógenas. En consecuencia, estas condiciones pueden conducir a la acumulación de

compuestos tóxicos dentro del cuerpo, mientras que sustancias vitales pueden ser deficientes y perjudican a la salud general. Estos trastornos se manifiestan con graves consecuencias clínicas, lo que los convierte en una causa importante de mortalidad y morbilidad, particularmente entre los recién nacidos y la población pediátrica en general (1); sin embargo, también pueden manifestarse a cualquier edad (2). En muchos casos, las interven-

ciones nutricionales sirven como enfoque terapéutico principal para controlar estas afecciones (3). Las manifestaciones clínicas comunes asociadas abarcan trastornos neurológicos, hipoglucemia, alteraciones del equilibrio ácido-base, hiperamonemia, miocardiopatía, enfermedad hepática aguda y colapsos repentinos (4).

A pesar de la rareza de estas enfermedades (1 en 10 000 a 1 en 1 000 000), la incidencia colectiva es alta ya que se han descrito más de 700 trastornos metabólicos hereditarios diferentes (5). La detección rápida es un desafío para los médicos y es fundamental para iniciar el tratamiento, evitar complicaciones y prevenir la muerte (4) (6). Muchas enfermedades metabólicas tienen presentaciones clínicas similares y el diagnóstico final sólo puede realizarse mediante el análisis de fluidos biológicos.

La orina humana contiene numerosos ácidos orgánicos y otras sustancias derivadas del metabolismo, en concentraciones muy variables. En la orina de un paciente con deficiencia de una enzima o cofactor hay un aumento pronunciado en la concentración de su sustrato o metabolitos relacionados debido a la activación de vías metabólicas secundarias. Así, los errores congénitos del metabolismo pueden diagnosticarse por la presencia o incrementos de estas moléculas en la orina, tales como ácidos orgánicos, acilcarnitina, aminoácidos, etc.

Los ácidos orgánicos comprenden metabolitos clave de casi todas las rutas metabólicas, por lo tanto su estudio proporciona información sobre el estado de las mismas. Cabe señalar que el diagnóstico puede complicarse debido a la variabilidad de la excreción, la cual depende de la genética, la edad, la dieta, y también puede tener un origen ambiguo (alteraciones en la excreción por otras enfermedades o por factores nutricionales o fuentes artificiales, como medicamentos) (7). La colaboración con los médicos y el conocimiento de los rangos de referencia de ácidos orgánicos urinarios en una población sana de la misma edad son fundamentales para la interpretación del resultado del cromatograma. Lamentablemente, en la literatura sólo se ha documentado un número limitado de rangos de referencia, los cuales fueron publicados hace más de 10 años y ninguno fue realizado en Latinoamérica (8) (9) (10) (11). Además, las notables variaciones en los hábitos alimentarios y el aumento sustancial del consumo de alimentos procesados en las últimas décadas recalcan la importancia de este estudio (12) (13) (14) (15).

En el presente trabajo se aporta al conocimiento del intervalo de confianza de ácidos orgánicos urinarios obtenidos de 125 individuos en la primera infancia y recién nacidos, lo que constituye una herramienta para la interpretación del perfil de ácidos orgánicos en la orina de pacientes con sospecha de enfermedad metabólica, como así también para dar seguimiento biomédico de aquellos que la poseen.

Materiales y Métodos

Para el análisis estadístico descriptivo de ácidos orgánicos urinarios se obtuvieron 125 muestras de orina no cronometradas de pacientes del Hospital Roque Sáenz Peña (Rosario, Santa Fe, Argentina), del Hospital Infantil Víctor J. Vilela (Rosario, Santa Fe, Argentina) y de hijos de amigos y familiares del personal del laboratorio. Todos se encontraban clínicamente en buen estado de salud, no medicados y con dieta libre. Las mismas se agruparon en: grupo I: 0-30 días, n=22; grupo II: 1-36 meses, n=20; grupo III: 3 a 6 años, n=27; grupo IV: 6 a 10 años, n=34 y, finalmente, grupo V: 10 a 13 años, n=22. Además, con el objetivo de comparar, se estudiaron orinas de niños que presentaban enfermedad metabólica congénita. Las muestras de orina se conservaron mediante congelación a -20 °C. Se midió el pH y se determinaron los valores de creatinina utilizando un *kit* de un método enzimático según el protocolo del fabricante (Wiener Lab., Buenos Aires, número de catálogo: 1260360). Todos los procedimientos se ajustaron a los estándares éticos y se obtuvo el consentimiento informado de los padres. Los procedimientos realizados han sido posteriores a la obtención del consentimiento informado de los pacientes, cuando esto fue posible. Este estudio cumplió con todas las regulaciones nacionales, con las políticas institucionales y se realizó de acuerdo con la Declaración de Helsinki.

Extracción de ácidos orgánicos urinarios y cromatografía de gases-espectrometría de masas

El procedimiento utilizado para la oximación, extracción y trimetilsililación fue esencialmente el mismo que el descrito por Semeraro *et al.* (16) con ligeras modificaciones. Se utilizaron volúmenes de orina correspondientes a 0,1 mg de creatinina y se ajustaron a 1,9 mL con agua destilada. Luego, se agregaron 50 µL de ácido undecanodioico 0,5 mg/mL a cada muestra antes de la extracción, como control para el procedimiento de extracción y relativización de áreas. A continuación, se añadieron 50 µL de hidroxilamina 150 mg/mL y 0,45 mL de NaOH 1 N y se purgó con nitrógeno. La mezcla se calentó a 80 °C durante 30 min. Después de acidificar con 600 µL de HCl 3 N hasta pH <1, se añadieron 70 mg de NaCl y 2 mL de acetato de etilo y se agitó durante 5 min. Posteriormente, la fase orgánica se separó mediante centrifugación durante 10 min a 5000 r.p.m. Se realizó una segunda extracción de la fase acuosa con acetato de etilo y las dos fases orgánicas se combinaron y secaron bajo corriente de nitrógeno. Para la sililación, se agregaron 100 µL de una mezcla de 99% de bis (trimetilsilil)-trifluoroacetamida (BSTFA) y 1% de trimetilclorosilano (TMCS) (Sigma-Aldrich, EE.UU., número de catálogo

15238) y 100 μL de acetonitrilo. Después de purgar el tubo de reacción con nitrógeno, se dejó reaccionar la mezcla durante 1 h a 80 °C.

Se inyectó 1 μL de muestra derivatizada en el cromatógrafo de gases-espectrómetro de masas como se describió anteriormente (17), excepto que se utilizó un cromatógrafo de gases Agilent 7890B acoplado a un espectrómetro de masas Agilent 5977A (Agilent Technologies Inc., Palo Alto, CA, EE.UU.) y un Ultra Inert HP-5ms de 30 m con un diámetro interior de 0,25 mm y un espesor de película de 0,25 μm (Agilent Technologies Inc., Palo Alto, CA, EE.UU.). La muestra se inyectó a 250 °C con un caudal de gas de 1 mL/min. El programa de temperatura fue isotérmico durante 5 min a 70 °C, seguido de una rampa de 5 °C/min hasta 310 °C y un mantenimiento a 310 °C durante 1 min. Los iones se generaron mediante un voltaje de ionización de 70 eV con un rango de escaneo de 70 a 600 Da.

Los componentes de cada uno de los picos de cromatografía gaseosa (CG) se identificaron mediante la comparación de índices de retención y los espectros de masas de la biblioteca de espectros de masas NIST 2011 y también con una base de datos interna creada con estándares propios. Las áreas de los cromatogramas iónicos se obtuvieron teniendo en cuenta que el ion de cuantificación y el ion de confirmación son únicos para los tiempos de retención de ese ácido orgánico. Es de destacar la importancia de un profesional altamente capacitado en los criterios definitivos para la identificación de compuestos en espectros mixtos. Se integraron las áreas de los picos de CG y los valores se relativizaron al área del pico de ácido undecanodioico.

Curva de calibración

Soluciones patrón de 24 ácidos orgánicos fueron preparadas por triplicado en NaOH 0,1 N en una concentración de 5 mg/mL (ácido 3-hidroxiisovalérico, ácido 3-hidroxiisovalérico, ácido etilmalónico, ácido maleico, ácido succínico, ácido glutárico, ácido metilsuccínico, ácido fumárico, ácido 3-metilglutárico, ácido málico, ácido salicílico, ácido 3-metiladípico, ácido 4-hidroxifenilacético, ácido orótico, ácido *cis*-aconítico, ácido cítrico, ácido 4-hidroxifenilacético, ácido 4-hidroxifenilpirúvico, ácido adípico, isovalerilglicina, tíglicilglicina, 3-metilcrotonilglicina, ácido metilmalónico, ácido 3 hidroxisebácico). Estos patrones se utilizaron para preparar mezclas de estándares y se agregaron a la orina de niños sanos o al agua en un rango de 0,002 a 0,35 μmol de cada ácido orgánico (Fig. 1). Las curvas se repitieron entre 3 y 5 veces en diferentes momentos durante dos años, usando diferentes mezclas de estándares, distintas matrices de orina y también usando agua para evaluar el efecto de la matriz. Se realizó un análisis de regresión lineal para calcular la pendiente, la intersección y el coeficiente de correlación de Pearson (r^2) (Tabla II). Los límites de detección (LD)

y de cuantificación (LC) se obtuvieron mediante tres y diez veces el desvío estándar (DE) de la señal del ruido, respectivamente según Currie (18).

Análisis estadístico

Las concentraciones de ácidos orgánicos urinarios (en mmol/mol de creatinina) se calcularon a partir de las relaciones de área de pico relacionadas con el estándar interno (ácido undecanodioico) y mediante las curvas de calibración para cada ácido. Para los compuestos para los cuales no se dispone de estándar (ácidos 2-hidroxiisovalérico, 3-hidroxiisovalérico, 3-metilglutacónico, piroglutámico-prolina, hipúrico-glicina), se realizó una semicuantificación utilizando las áreas del ion de cuantificación con respecto al área del ácido undecanodioico y relativizando a los moles de creatinina.

El conjunto de datos anterior (>130 individuos) se analizó a fin de establecer parámetros estadísticos, como la media, la mediana, la desviación estándar y el 95% de los intervalos de confianza considerando los grupos de edad. Los intervalos de referencia se obtuvieron mediante un método no paramétrico y se informaron los límites superior e inferior. El patrón de excreción de ácido con el aumento de la edad se analizó mediante un ANOVA unidireccional (el p está informado en la Tabla III). Cuando fue significativo ($p < 0,05$) se realizó el análisis de Bonferroni.

Para evaluar los rangos establecidos, se procedió a analizar la excreción de ácidos orgánicos en la orina en 7 pacientes previamente diagnosticados con diversas enfermedades. De cada paciente se evaluaron entre 1 y 3 muestras colectadas en distintos momentos. Se calcularon los valores de excreción de ácidos orgánicos en orina y se compararon con los rangos previamente establecidos en este trabajo.

Resultados

Veintinueve ácidos orgánicos urinarios fueron identificados mediante CG/EM, algunos de los cuales son indicativos de enfermedades metabólicas. Estos ácidos orgánicos (junto con el estándar interno) se cuantificaron mediante las áreas de los cromatogramas de iones extraídos (los tiempos de retención, iones de cuantificación, los LD y los LC se informan en la Tabla I). Se aplicó el análisis de regresión lineal de las curvas de calibración para los estándares de ácidos orgánicos analizando las relaciones de área (área ácido orgánico/área ácido undecanodioico) en función de la cantidad de cada ácido orgánico (Fig. 1). En todos los casos, el método fue lineal en el rango de 0,002 a 0,3 μmol y los coeficientes de correlación de Pearson (r^2) fueron >0,98 (Tabla II). Los parámetros obtenidos (Tabla II) se utilizaron luego para determinar las concentraciones

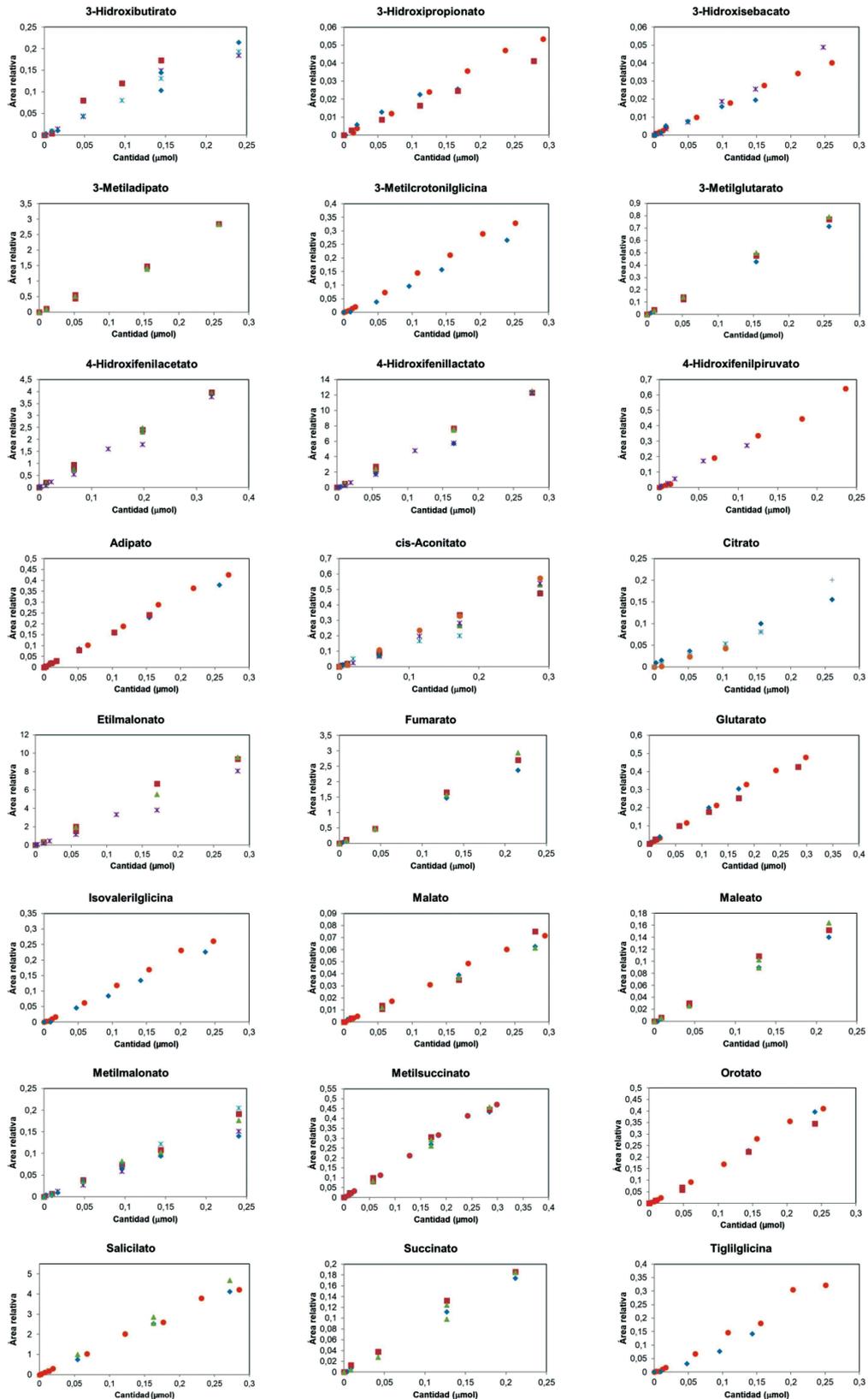


Figura 1

Curvas de calibración de ácidos orgánicos. Área relativa (área de pico del ácido orgánico/área del ácido undecanodioico) en función de los µmoles de ácido orgánico agregado. Cada símbolo representa una réplica realizada a partir de una nueva solución patrón utilizando una matriz de orina o agua.

Tabla I. *Tiempos de retención, ion de cuantificación (q ion), límites de detección (LD) y límites de cuantificación (LC) de ácidos orgánicos sililados mediante cromatografía de gases-espectrometría de masas en orina humana*

Ácido orgánico	Tiempo de retención (min)	q ion	LD*	LC*
2-Hidroxiisovalerato	12,41	145	0,00039	0,00130
3-Hidroxi butirato	12,27	191	0,00256	0,00853
3-Hidroxiisovalerato	13,73	131	0,00067	0,00223
3-Hidroxi propionato	11,62	177	0,00160	0,00532
3-Hidroxi sebacato	33,58	233	0,00019	0,00062
3-Metiladipato	22,45	125	0,00084	0,00281
3-Metilcrotonilglicina	23,29	286	0,00028	0,00093
3-Metilglutaconato	20,13	147	0,00079	0,00264
3-Metilglutarato	19,72	275	0,00046	0,00152
4-Hidroxi fenilacetato	24,82	179	0,00089	0,00296
4-Hidroxi fenil lactato	30,55	179	0,00269	0,00897
4-Hidroxi fenil piruvato	31,28	277	0,00050	0,00166
Adipato	21,64	275	0,00061	0,00203
cis-Aconitato	27,46	375	0,00018	0,00061
Citrato	29,12	273	0,00044	0,00148
Etilmalonato	15,86	147	0,01214	0,04046
Fumarato	17,67	245	0,00079	0,00265
Glutarato	19,08	261	0,00016	0,00053
Hipurato - glicina	28,49	323	0,00016	0,00052
Isovalerilglicina	21,90	176	0,00069	0,00229
Malato	21,56	233	0,00024	0,00080
Maleato	16,50	245	0,00085	0,00282
Metilmalonato	13,87	218	0,00154	0,00513
Metilsuccinato	17,08	261	0,00024	0,00080
Orotato	27,43	254	0,00162	0,00541
Piroglutamato - prolina	22,17	156	0,00072	0,00240
Salicilato	21,84	267	0,00110	0,00368
Succinato	16,77	245	0,00036	0,00119
Tigilglicina	22,96	286	0,00026	0,00086

*LD y LC están informados en áreas relativas al undecanodioico.

nes (en mmol/mol de creatinina) de muestras de orina desconocidas. No se observó ningún efecto de matriz cuando se evaluó según las pautas de la FDA (19). El error típico intra e interensayo fue <15%.

Se analizaron muestras de orina de un total de 125 individuos y se determinaron las concentraciones de ácidos orgánicos mediante las curvas mencionadas en el párrafo anterior. Si el estándar estaba ausente, se registraron las relaciones entre el área del pico de ácido orgánico y el estándar interno. De los 29 ácidos orgánicos

analizados, 13 estaban presentes en más del 90% de las muestras, mientras que 13 sólo se detectaron en determinadas muestras y tres ácidos (maleico, metil malónico y orótico) no se encontraron en ninguna de las muestras de los grupos de pacientes sanos. En la Tabla III se pueden ver los valores de la mediana y el rango del 95% de ácidos orgánicos en orina en pacientes clínicamente sanos, agrupados por edad. Es importante señalar que los grupos de edad no se fusionaron, ya que las concentraciones de ácidos orgánicos no se nivelaron en todos

Tabla II. Análisis de regresión lineal

Ácido orgánico	Regresión*: $Y=mX+h$			n
	m	h	r^2	
3-Hidroxibutirato	0,83	0,0005	0,994	4
3-Hidroxipropionato	0,18	0,0004	0,996	3
3-Hidroxisebacato	0,16	0,0002	0,997	3
3-Metiladipato	10,51	-0,0499	0,984	2
3-Metilcrotonilglicina	1,18	-0,0052	0,997	2
3-Metilglutarato	2,99	-0,0048	0,998	3
4-Hidroxifenilacetato	11,71	0,0008	0,999	3
4-Hidroxifenillactato	41,96	-0,0693	0,999	4
4-Hidroxifenilpiruvato	3,60	-0,0327	0,988	2
Adipato	1,59	0,0008	0,999	3
cis-Aconitato	1,71	-0,0047	0,992	6
Citrato	0,58	-0,0007	0,999	4
Etilmalonato	31,74	-0,0474	0,999	3
Fumarato	12,43	-0,0252	0,995	3
Glutarato	1,55	0,0039	0,999	3
Isovalerilglicina	0,99	-0,0024	0,998	2
Malato	0,25	-0,0005	0,999	4
Maleato	0,74	-0,0011	0,994	3
Metilmalonato	0,75	-0,0001	0,998	5
Metilsuccinato	1,62	0,0002	0,997	4
Orotato	1,63	-0,0038	0,987	4
Salicilato	15,69	-0,0026	0,996	3
Succinato	0,89	-0,0004	0,986	3
Tigililglicina	1,15	-0,0019	0,984	2

*Y: área relativa (área de pico de cada ácido relativa al área de pico de ácido undecanodioico), X: cantidad de ácido orgánico en μmol , Pendiente (m), intersección al origen (h) y coeficiente de regresión de Pearson (r^2) para el ajuste lineal de cada ácido orgánico, n: número de repeticiones de cada curva.

los grupos. Para el rango del 95%, el valor mínimo se estableció en el percentil 2,5 si estaba por encima del LD, y el rango de valores máximo se estableció en el percentil 97,5. Sin embargo, si el percentil 2,5 estaba por debajo del LD, el rango de valor máximo se estableció en el percentil 95. En la última columna de la Tabla III, se proporciona un esquema para mostrar el patrón de excreción de cada ácido al incrementarse la edad. Hay 12 ácidos con un patrón de excreción inalterado en función de la edad, algunos con medias indetectables (símbolo -0) y algunos con medias detectables (símbolo —). Diez ácidos mostraron menor excreción al aumentar la edad, 4 de forma regular (símbolo \) y 6 con niveles marcadamente elevados en los recién nacidos (símbolo L); incluso, en algunos casos fueron indetectables en los grupos de mayor edad. Siete ácidos

se excretaron en mayores niveles en infantes, Grupo II o III (símbolo ^). Tanto el patrón “\” como el “L” podrían explicarse parcialmente por la mayor excreción urinaria de creatinina al incrementarse la edad; los valores más bajos de creatinina se observaron en la orina de los recién nacidos.

Se analizó la orina de siete pacientes con enfermedad metabólica confirmada (Tabla IV). De los dos pacientes diagnosticados con aciduria metilmalónica, uno presentó una elevación significativa del marcador típico, el ácido metilmalónico, mientras que el otro paciente no mostró un aumento de éste ni de otros marcadores. Es probable entonces que el paciente 6 poseyera una deficiencia en cobalamina, posiblemente del tipo cblC. Cabe destacar que la cuantificación de metilmalónico en orina no aportaría información acerca de la

Tabla III. Excreción de ácidos orgánicos por grupos de edad

Grupo	I: Neonato 0-30 días			II: 1<edad<36 meses			III: 3< edad<6 años			IV: 6<edad<10 años			V: 10<edad< 13 Años			Patrón (p)
	Mediana	Rango		Mediana	Rango		Mediana	Rango		Mediana	Rango		Mediana	Rango		
		Min	Max		Min	Max		Min	Max		Min	Max				
2-Hidroxisovalerato*	nd	0,006	nd	0,002	nd	0,004	nd	0,014	nd	0,015	nd	0,015	nd	0,015	nd	0 (1,000)
3-Hidroxibutirato	nd	10,8	nd	10,8	nd	10,8	nd	10,8	nd	10,8	nd	10,8	nd	10,8	nd	0 (1,000)
3-Hidroxisovalerato*	0,009	0,062	0,056	0,190	0,057	0,123	0,039	0,149	0,010	0,149	0,027	0,004	0,171	0,004	0,171	0 (0,010)
3-Hidroxipropionato	8,3	8,3	nd	67,1	nd	34,3	nd	34,3	nd	34,3	nd	34,3	nd	34,3	nd	0 (0,394)
3-Hidroxisebacato	65,1	205,4	44,6	192,2	nd	71,1	nd	48,8	nd	48,8	nd	25,6	nd	25,6	nd	0 (<0,001)
3-Metiladipato	6,4	7,4	6,8	9,0	6,1	8,2	6,0	8,4	5,3	8,4	5,9	5,3	6,7	5,3	6,7	0 (<0,001)
3-Metilcrotomilglicina	nd	nd	nd	7,5	nd	64,0	nd	48,0	nd	48,0	nd	6,2	nd	6,2	nd	0 (1,000)
3-Metilglutaconato*	0,018	0,033	0,028	0,076	0,024	0,053	0,018	0,039	0,006	0,039	0,016	0,001	0,052	0,001	0,052	0 (0,017)
3-Metilglutarato	2,0	2,8	2,4	3,4	2,0	2,6	2,0	2,6	nd	2,6	2,0	nd	2,9	nd	2,9	0 (0,007)
4-Hidroxifenilacetato	9,9	94,7	11,9	46,9	13,8	65,6	10,1	45,9	3,0	45,9	8,6	2,4	48,2	2,4	48,2	0 (0,674)
4-Hidroxifenilactato	5,7	38,0	2,6	4,1	2,5	3,3	2,3	4,0	1,9	4,0	2,3	1,9	4,2	1,9	4,2	0 (0,004)
4-Hidroxifenilpiruvato	20,7	50,9	12,0	16,6	11,5	16,8	10,9	17,9	nd	17,9	11,3	nd	16,6	nd	16,6	0 (0,013)
Adipato	6,1	46,1	2,2	14,5	0,8	4,6	0,2	8,8	nd	8,8	nd	nd	3,4	nd	3,4	0 (<0,001)
cis-Aconitato	13,9	52,6	20,1	40,1	15,8	30,0	15,4	54,9	6,6	54,9	13,8	6,7	38,3	6,7	38,3	0 (0,305)
Citrato	293,2	1462,6	221,6	1212,1	115,8	758,0	136,3	508,9	23,1	508,9	131,2	8,2	790,6	8,2	790,6	0 (0,132)
Etilmalonato	6,5	19,4	5,5	20,2	4,0	6,5	3,5	6,3	nd	6,3	2,1	nd	5,3	nd	5,3	0 (<0,001)
Fumarato	11,3	75,4	4,97	15,8	3,0	4,5	2,8	9,0	nd	9,0	2,8	nd	4,5	nd	4,5	0 (0,003)
Glutarato	2,4	13,0	2,3	11,9	0,9	2,6	0,7	2,6	nd	2,6	0,5	nd	3,8	nd	3,8	0 (0,007)
Hipurato - Glicina*	nd	0,019	0,028	0,271	0,167	0,590	0,115	0,351	nd	0,351	0,039	0,001	0,326	0,001	0,326	0 (<0,001)
Isovalerilglicina	nd	nd	nd	3,4	nd	nd	nd	3,4	nd	3,4	nd	nd	nd	nd	nd	0 (1,000)
Malato	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	0 (1,000)
Maleato	26,5	147,2	nd	41,0	nd	13,3	nd	9,8	nd	9,8	nd	nd	17,7	nd	17,7	0 (<0,001)
Metilmalonato	2,4	34,8	nd	2,4	nd	2,4	nd	2,4	nd	2,4	nd	nd	2,4	nd	2,4	0 (1,000)
Metilsuccinato	2,1	4,2	1,6	4,3	0,9	3,8	1,0	3,4	nd	3,4	0,5	nd	1,3	nd	1,3	0 (0,977)
Orotato	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	0 (1,000)
Piroglutamato-Prolina*	0,04	0,16	0,13	0,23	0,11	0,31	0,07	0,20	0,03	0,20	0,07	0,03	0,20	0,03	0,20	0 (0,001)
Salicilato	0,5	1,3	0,7	2,3	0,9	1,8	0,8	2,5	0,3	2,5	0,8	0,3	1,6	0,3	1,6	0 (0,212)
Succinato	69,6	373,1	19,9	98,7	10,8	29,7	8,7	62,7	3,4	62,7	8,8	1,7	29,7	1,7	29,7	0 (<0,001)
Tigilglicina	nd	2,3	nd	4,4	2,9	17,4	nd	8,8	nd	8,8	nd	nd	8,4	nd	8,4	0 (<0,001)

Grupo I, n=22; grupo II, n=20; grupo III, n=27; grupo IV, n=34 y grupo V, n=22. Los valores se expresaron en mmol de cada ácido por mol de creatinina, excepto los ácidos marcados con asteriscos (*) en los cuales los valores se expresaron en área relativa al área del ácido undecanoico. Si el valor mínimo no pudo ser determinado (nd, por debajo del límite de detección), el percentil 95 era el máximo; de lo contrario, el rango los percentiles eran 2,5 y 97,5. El patrón de excreción de ácido con el incremento de la edad se indica en la última columna: patrón constante durante el crecimiento (-0; medianas igual a 0; --; medianas detectables); patrón con mayor excreción en infantes (∧); patrón de excreción disminuida a medida que aumenta la edad (∨; disminución regular; L; niveles altos en recién nacidos).

Tabla IV. Excreción de ácidos orgánicos de 13 muestras de orina de 7 pacientes con enfermedades metabólicas confirmadas

Paciente	1		2		3		4		5		6		7	
	Diagnóstico previo	Enfermedad mitocondrial	Acidemia isovalérica	Enfermedad de jarabe de arce	Aciduria metilmalónica	Fenilcetonuria	Aciduria metilmalónica	Fenilcetonuria	Aciduria metilmalónica	Enfermedad de Crohn	Aciduria metilmalónica	Enfermedad de Crohn		
Muestra	1	2	3	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	
Grupo etario	II	II	III	III	III	III	III	III	III	III	III	IV	IV	
2-Hidroxisovalerato*	0,004 (1,6)	0,04 (18,8)	0,003 (1,3)	nd	1,17 (2,90)	0,023 (4,7)	0,005 (1,3)	0,005 (1,3)	nd	nd	nd	nd	nd	
3-Hidroxiobutirato	nd	805,8 (70)	nd	17,3 (1,6)	nd	nd	33,1 (3)	26,2 (2,4)	nd	nd	nd	nd	nd	
3-Hidroxisovalerato*	0,06	1,44 (7,6)	0,10	0,06	0,23 (1,9)	0,05	0,11	0,52 (4,2)	0,01	0,01	0,01	0,01	0,02	
3-Hidroxiopropionato	nd	59,4	nd	nd	nd	8,3	8,3	89,0 (2,5)	nd	nd	nd	8,3	8,3	
3-Hidroxisecbacato	32,1	242,6 (1,3)	176,6	nd	38,3	17,5	87,4 (1,2)	nd	13,5	7,0	7,0	nd	nd	
3-Metiladipato	5,9	7,7	6,2	5,6	6,28	5,6	6,8	6,1	5,9	6,7	6,1	6,1	5,9	
3-Meticrotoniglicina	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	
3-Metilglutacato*	0,05	0,12 (1,6)	0,04	0,02	0,02	0,01	0,05	0,13 (2,5)	0,01	0,01	0,01	0,03	0,02	
3-Metilglutarato	2,0	3,4	2,0	nd	2,2	2,3	2,4	6,2	nd	2,0	2,0	2,6	2,0	
4-Hidroxiacetato	95,0 (2)	14,3	24,0	19,6	13,7	10,6	17,9	58,1	7,9	4,0	10,8	8,7	8,7	
4-Hidroxiacilactato	5,1 (1,2)	9,8 (2,4)	3,4	2,4	3,0	2,4	8,6 (2,6)	35,0 (1,3)	2,3	2,2	2,3	2,2	2,2	
4-Hidroxiisopiruvato	14,3 (1,8)	29,7 (1,8)	14,8	10,4	17,3 (1,1)	12,6	37,5 (2,2)	39,1,1 (2,2)	10,4	10,8	10,8	10,8	nd	
Adipato	5,9	48,3 (3,3)	5,9	3,2	3,5	3,3	9,4 (2)	15,7 (3,4)	1,1	nd	0,9	1,2	1,2	
cis-Aconitato	19,0	31,8	20,8	18,0	13,4	12,7	8,2	51,5 (1,7)	17,3	11,0	15,6	15,6	9,1	
Citrato	45,5	110,9	64,9	521,8	1094,2 (1,4)	730,2	13,4	701,8	187,3	179,2	118,2	118,2	102,2	
Etimalonato	8,8	15,5	8,0	4,9	14,3 (2,2)	8,2 (1,3)	7,1 (3,3)	21,7 (1,09)	2,1	2,1	2,1	2,1	3,6	
Fumarato	7,7	44,9 (2,8)	6,6	6,9	3,6	3,4	6,0 (1,3)	14,7,7 (32,3)	3,6	2,8	2,8	2,8	2,9	
Glutarato	2,1	4,4	3,2	7,7	1,3	1,6	2,2	31,6 (12,2)	1,7	nd	2,4	2,4	2,5	
Hipurato - Glicina*	0,005	0,01	0,03	0,01	0,01	0,02	0,06	0,4	0,2	0,01	nd	nd	nd	
Isovalerilglicina	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	
Malato	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	
Maleato	16,5	60,6 (1,5)	6,2	21,0	19,4 (1,5)	nd	nd	237,2 (18)	nd	6,2	6,2	nd	nd	
Metilmalonato	nd	nd	nd	nd	nd	nd	>10000 (>10000)	>10000 (>10000)	nd	nd	nd	nd	nd	
Metilsuccinato	0,04	1,8	2,3	2,2	2,8	2,2	2,8	2,9	1,2	1,6	1,5	1,5	1,6	
Orotato	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	
Piroglutamato-Prolina*	0,23	0,13	0,33 (1,4)	0,06	0,11	0,10	0,03	0,06	0,03	0,07	0,01	0,01	0,02	
Salicilato	0,6	0,5	0,7	0,6	1,3 (1,1)	2,0 (1,1)	0,7	0,5	0,3	0,9	0,8	0,8	0,7	
Succinato	32,4	38,9	50,8	426,6 (4,3)	31,3 (1,05)	28,1	10,2	182,0 (6,1)	24,1	8,9	25,8	37,6	37,6	
Tigilglicina	3,6	4,4	6,4 (1,5)	nd	nd	nd	8,9	3,3	2,4	nd	nd	nd	nd	

Los valores se expresaron en mmol/mol de creatinina o proporciones de área cuando las curvas de calibración no estaba disponible (indicadas con *). Los resultados cuantitativos se expresaron como media ± DE, y las veces en las que superaban el límite de referencia superior, se indicaron entre paréntesis cuando fuera pertinente. nd: no determinado (por debajo del límite de detección).

evolución del tratamiento e incluso su determinación en plasma muchas veces es confusa en estos pacientes. Otro paciente, previamente diagnosticado con una enfermedad mitocondrial, presentaba alterada la excreción de ácidos orgánicos urinarios relacionados con esta disfunción y se elevó por encima del límite superior en las tres muestras de orina. Un paciente con acidemia isovalérica mostró un nivel incrementado de excreción de 3-hidroxibutírico en una de sus muestras de orina, mientras que en otra presentaba otros cambios. Un paciente con enfermedad de jarabe de arce fue evaluado en dos ocasiones distintas y mostró altos incrementos en la excreción urinaria de ácido 2-hidroxiisovalérico. Un caso de fenilcetonuria no mostró niveles elevados de ácidos orgánicos en la orina. Finalmente, otro estudio de caso involucró a un individuo con la enfermedad de Crohn, cuyos niveles de ácidos orgánicos en la orina se mantuvieron dentro del rango normal.

Discusión y Conclusiones

El presente estudio implicó investigar y documentar las concentraciones de ácidos orgánicos en muestras de orina obtenidas de una población pediátrica sana categorizada por edad. La escasez de estudios sobre valores de corte basados en la edad y origen étnico añade una capa adicional de complejidad e importancia a este estudio. Estos datos son cruciales para detectar la excreción anormal de ácidos orgánicos en pacientes pediátricos, especialmente cuando la excreción de uno o más ácidos excede ligeramente el rango normal establecido. El rango etario de 30 días para el grupo de los neonatos fue intencionalmente estrecho para mitigar el impacto de las complicaciones cuando estos errores congénitos estaban presentes. En este grupo, los recién nacidos presentaban una gestación de entre 36 y 41 semanas, ya que la mayoría de las personas con errores congénitos del metabolismo nacen a término. El mayor riesgo observado en neonatos posiblemente se atribuya a la aparición temprana (dentro del primer año de vida) de los casos más graves (como enfermedad de jarabe de arce, aciduria metilmalónica, aciduria orótica, etc.) y las complejidades médicas asociadas a la corta edad. Son evidentes las variaciones significativas en la excreción promedio de varios ácidos dentro de cada grupo de edad, probablemente derivadas de diferencias metabólicas.

Pocos estudios han caracterizado la excreción de ácidos orgánicos urinarios según la edad en la profundidad en que se ha realizado en este trabajo (9) (10) (11). Al comparar los resultados obtenidos en este estudio con los mencionados anteriormente, se hace evidente que muchos de los valores mínimos de rango son en su mayoría indeterminados, y caen por debajo de los límites de detección, tanto en esta investigación como en estudios previamente publicados (9) (10) (11). Esta tendencia es

particularmente notable en los grupos I y II, donde 16 de los 29 ácidos investigados estaban por debajo del umbral de detección. En cambio, para los grupos de mayor edad se observó que los valores mínimos eran detectables. En concreto, de los 29 ácidos, 11 de los grupos III y IV y 6 del grupo V, fueron indeterminados [(9) (10) (11) y el presente trabajo]. Por el contrario, se cuantificaron valores máximos del rango para la mayoría de los ácidos orgánicos en la orina en todos los grupos, y fueron consistentes con los informados (9) (10) (11).

La observación de variaciones en los perfiles de excreción urinaria de ácidos orgánicos en función de la edad ha facilitado su categorización en tres grandes grupos: en primer lugar, aquellos con excreción constante (-0 o —); en segundo lugar, aquellos que disminuyen con la edad (L o \) y, en tercer lugar, los que presentan valores elevados en infantes (/\). El patrón de excreción identificado en este trabajo es similar al evidenciado por otros investigadores mencionados anteriormente, aunque existen ligeras variaciones en las medianas de algunos ácidos específicos, como el *cis*-aconitato, el citrato y el 3-hidroxibutirato (9) (10) (11). Dentro del primer grupo, aquellos ácidos con valores medios indetectables (metilmalónico, orótico, 2-hidroxiisovalerato, 3-hidroxipropionato, 3-metilcrotonilglicina, isovalerilglicina y maleato) se emplean comúnmente en la detección de aciduria metilmalónica, trastornos del ciclo de la urea o se los ha asociado con el metabolismo de los aminoácidos de cadena ramificada y otras acidurias que generalmente se detectan en el recién nacido. En este mismo grupo, pero con medias detectables, se destaca el 4-hidroxifenilacetato como marcador bien conocido de todas las tirosinemias. Sin embargo, cabe mencionar que el diagnóstico de tirosinemias se realiza por la presencia de succinilacetona, metabolito no incluido en el trabajo.

Si bien los salicilatos inicialmente se consideraron contaminantes debido a su uso como estabilizadores en la industria farmacéutica, su presencia ha sido confirmada en la orina de personas que no tomaban salicilatos (20) (21). La presencia de estos metabolitos podría ser relevante en casos de síndrome de *Reye's like*. En futuras investigaciones se considerará cuidadosamente la inclusión de metabolitos que puedan proporcionar información clínica relevante en diferentes contextos, tales como incluir el paracetamol en el análisis debido a su asociación con la aciduria piroglutámica, incluyendo casos de presentaciones atípicas o síndromes relacionados.

La tendencia observada en el segundo grupo (L o \) se alinea con una mayor excreción de creatinina en los grupos de mayor edad, lo que potencialmente podría contribuir a este comportamiento. Dentro de este grupo, nueve ácidos urinarios, 3-hidroxisebacato, adipato, glutarato, 4-hidroxifenilactato, 4-hidroxifenilpiruvato, citrato, fumarato, malato y succinato, muestran valores de rango y un perfil de excreción con el aumento de la

edad similares a los de la literatura (9) (10) (11). En este grupo se destaca la importancia de los valores máximos referenciados con la edad para la correcta interpretación de valores elevados. Algunos de ellos son marcadores de acidurias glutáricas (adipato y glutarato), tirosinemias (4-hidroxifenilactato, 4-hidroxifenilpiruvato), aciduria fumárica (fumarato) y trastornos mitocondriales (fumarato, malato, succinato y 3-hidroxisobacato). En el tercer grupo, sólo seis ácidos exhiben un patrón de excreción bimodal: la excreción aumenta en los grupos de edad intermedia y posteriormente disminuye en los grupos de mayor edad, y vuelve a los niveles bajos originales (3-hidroxiisovalerato, 3-metiladipato, 3-metilglutaconato, 3-metilglutarato, hipurato o glicina, piroglutamato o prolina y tiglilglicina).

Más allá de las variaciones en la excreción de creatinina, otros factores tienen importancia en la excreción urinaria de ácidos orgánicos. De hecho, es importante tener en cuenta la madurez enzimática y renal y las alteraciones en los hábitos dietarios durante la infancia. Como ocurre con el grupo antes mencionado, es fundamental considerar valores máximos de referencia específicos según la edad para la interpretación precisa de niveles elevados. Dentro de este grupo, el 3-hidroxiisovalerato se asocia con trastornos relacionados con la degradación de la leucina, mientras que el 3-metilglutaconato y el 3-metilglutarato están relacionados con la aciduria 3-metilglutacónica y la tiglilglicina es indicativa de aciduria propiónica.

Si bien no se pudieron cuantificar con precisión ciertos ácidos orgánicos debido a la ausencia de estándares, el patrón de excreción en relación con la edad y el crecimiento se alinea con los hallazgos informados anteriormente por otros autores (9) (10) (11). Se obtuvieron los valores estadísticos basados en esas áreas relativas y se sugiere este método para laboratorios que carecen de marcadores específicos, siempre que se realicen estudios estadísticos específicos por edad.

En la Argentina, los laboratorios bioquímicos que realizan este estudio a menudo dependen de la experiencia de especialistas para interpretar cromatogramas e identificar elevaciones máximas. Este método es menos preciso y puede variar según la habilidad del operador. Cabe destacar que la interpretación de los cromatogramas por parte de un profesional entrenado aún seguirá siendo una herramienta crucial en este estudio, ya que permite detectar posibles superposiciones de los compuestos entre otras situaciones en las cuales la inspección supera con creces la comparación numérica únicamente. En este sentido se insta a sumar a la interpretación del operador una comparación con los rangos de referencia a fin de mejorar las observaciones en aquellos casos en los que la elevación no es tan evidente. La concordancia entre los valores de referencia obtenidos en este estudio y los de investigaciones anteriores refuerza la confiabilidad del rango establecido.

Esto es particularmente crucial para detectar variantes más leves caracterizadas por cambios sólo moderados, que es más probable que pasen desapercibidas.

Al comparar pacientes diagnosticados con enfermedades metabólicas, se hizo evidente la importancia de utilizar rangos de referencia. Esto se puso de manifiesto en los diagnósticos precisos observados, así como en la exclusión efectiva de tales trastornos. En estos casos, posteriormente se diagnosticaron enfermedades alternativas como diabetes, enfermedad de Crohn u otras, lo que permitió a los médicos buscar métodos de prueba alternativos. El aumento sustancial de los niveles de ácido metilmalónico, observado en dos de tres orinas de dos pacientes con aciduria metilmalónica, se alinea con la literatura existente que enfatiza la utilidad diagnóstica de este marcador y la necesidad de un tratamiento apropiado a largo plazo para mejorar el pronóstico de la enfermedad (22) (23). Es esencial señalar que estos pacientes se sometieron a múltiples evaluaciones y la excreción urinaria de ácido metilmalónico sirvió como un indicador integral de la función renal y de los niveles de metabolitos tóxicos, incluidos el ácido metilmalónico sérico y la homocisteína (24). En el contexto del paciente con enfermedad mitocondrial, la elevación constante de los ácidos orgánicos asociados con la disfunción mitocondrial en tres momentos diferentes subraya la confiabilidad de estos marcadores tanto para identificar como para monitorear los trastornos mitocondriales (25). La comparación de los presentes hallazgos con un estudio exhaustivo sobre los trastornos causados por deleciones únicas de ADN mitocondrial a gran escala (16) podría indicar que el perfil metabólico observado en nuestro paciente ajusta mejor con el síndrome de médula/páncreas de Pearson (SPM). Esta apreciación se respalda por la presencia de un aumento de ácidos urinarios, como 3-hidroxiisovalerato, málico, fumarato, 3-metilglutaconato y tiglilglicina, que se identificaron con frecuencia en la orina de personas con este síndrome (16), sin embargo se destaca la necesidad de incluir otros estudios complementarios tales como secuenciación genómica o identificación de otros marcadores para su diagnóstico preciso. Además, al analizar los ácidos orgánicos urinarios de un paciente con acidemia isovalérica se observó el incremento del ácido 3-hidroxiisovalérico, el cual indicaría un estado metabólico cetogénico para este paciente. Este resultado fue encontrado en dos muestras de orina recolectadas en diferentes momentos durante un lapso de más de un año y se compararon con los rangos de referencia apropiados para la edad, lo que fortalece aún más el diagnóstico y ayuda en el proceso de la investigación en curso y el manejo de la condición (26). Un único paciente con enfermedad de jarabe de arce fue evaluado en dos ocasiones distintas. El análisis de los ácidos orgánicos urinarios reveló un aumento en el ácido 2-hidroxiisovalérico, lo que se alinea claramente con el estado metabólico del paciente durante la evaluación y, por lo tanto, permite a

los médicos estar atentos a las convulsiones y otros problemas neurológicos (27). En esta enfermedad es de vital importancia incluir el estudio de aminoácidos plasmáticos a fin de mejorar la interpretación del estado metabólico del paciente. La ausencia de un aumento de ácidos orgánicos en la orina de un paciente con fenilcetonuria, posiblemente debido a un tratamiento eficaz, resalta la importancia de una terapia temprana y controlada en el manejo de esta enfermedad (28). Finalmente, el caso del paciente con enfermedad de Crohn que mantuvo niveles normales de ácidos orgánicos en la orina es consistente con la ausencia de un componente metabólico en esta enfermedad y se alinea con investigaciones previas sobre su etiología (29). En conjunto, estos hallazgos subrayan la utilidad de los análisis de ácidos orgánicos en orina como herramienta de diagnóstico y seguimiento para diversas enfermedades metabólicas, pero también resaltan la importancia de considerar el contexto clínico de cada caso para una interpretación precisa. Debido al número limitado de casos positivos, no fue posible calcular la especificidad o sensibilidad de cada prueba metabólica individual.

La estrecha colaboración entre médicos y bioquímicos es crucial para interpretar estas pruebas, considerando los datos clínicos, las condiciones de recolección de muestras y los factores de transporte, ya que varios elementos externos pueden afectar la interpretación de los resultados de las pruebas metabólicas. Ciertos ácidos orgánicos fundamentales requieren una consideración particular, especialmente aquellos en el límite, al tiempo que se considera la información completa sobre el estado clínico y la progresión del paciente. Los niveles elevados de ácidos orgánicos individuales pueden indicar distintos trastornos. En la mayoría de los casos, el diagnóstico definitivo se logra evaluando meticulosamente metabolitos adicionales.

El análisis metabólico es una herramienta eficaz para detectar condiciones metabólicas y nutricionales anormales en los pacientes, incluidas deficiencias vitamínicas adquiridas, respuestas biológicas a los fármacos o carga excesiva de nutrientes, manifestando claramente la dieta y el metabolismo del paciente.

Considerando que el último trabajo sobre la excreción de ácidos orgánicos urinarios databa del año 2003, que en las últimas décadas hubo un aumento significativo en los alimentos procesados y debido a la ausencia de información para esta región con la posible variación en los hábitos alimentarios entre diferentes países (12) (13) (14) (15), es destacable que el presente estudio ofrece datos actualizados y referidos a nuestra área geográfica. En futuras investigaciones sería importante recolectar la información nutricional de los voluntarios. Los presentes resultados se refirieron a una población clínicamente sana y ofrecen información valiosa para profesionales de la salud, bioquímicos e investigadores dedicados al estudio de los trastornos metabólicos congénitos.

Agradecimientos

Los autores expresan su más sincero agradecimiento al Dr. Luis Aldamiz-Echevarría (Instituto de Investigación Sanitaria de Santiago de Compostela) y al Dr. Fernando Andrade Lodeiro (Laboratorio Metabólico, Biobizkaia, España) por brindar generosamente estándares de ácidos orgánicos.

Fuentes de financiación

Las fuentes de financiación para la realización de este trabajo fueron subsidios de la Secretaría de Políticas Universitarias (SPU), de la Universidad de Nacional de Rosario (UNR) y de la Secretaría de Ciencia, Tecnología e Innovación de Santa Fe, Directora: Dra. Müller. Los datos generados y analizados en el estudio están disponibles en el repositorio digital de acceso abierto de la Universidad de Nacional de Rosario, RDA UNR (<https://dataverse.unr.edu.ar/>, <https://doi.org/10.57715/UNR/HBL24Z>).

Conflictos de intereses

Los autores declaran no tener conflictos de intereses respecto del presente trabajo.

Correspondencia

Dra. GABRIELA LETICIA MÜLLER
Correo electrónico: muller@cefobi-conicet.gov.ar

Referencias bibliográficas

1. Waters D, Adeloye D, Woolham D, Wastnedge E, Patel S, Rudan I. Global birth prevalence and mortality from inborn errors of metabolism: a systematic analysis of the evidence. *J Glob Health* 2018 Dec; 8 (2): 021102.
2. Sedel F. Les maladies métaboliques héréditaires en neurologie adulte [Inborn errors of metabolism in adult neurology]. *Rev Neurol (Paris)* 2013 Feb; 169 Suppl 1: S63-9 (artículo en francés).
3. Camp KM, Lloyd-Puryear MA, Yao L, Groft SC, Parisi MA, Mulberg A, *et al.* Expanding research to provide an evidence base for nutritional interventions for the management of inborn errors of metabolism. *Mol Genet Metab* 2013 Aug; 109 (4): 319-28.
4. Couce ML, Baña A, Bóveda MD, Pérez-Muñuzuri A, Fernández-Lorenzo JR, Fraga JM. Inborn errors of metabolism in a neonatology unit: impact and long-term results. *Pediatr Int* 2011 Feb; 53 (1): 13-7.
5. Applegarth DA, Toone JR, Lowry RB. Incidence of inborn errors of metabolism in British Columbia, 1969-1996. *Pediatrics* 2000 Jan; 105 (1): e10.
6. Ghosh A, Morris AAM. Acute presentations of inherited metabolic disorders: investigation and initial management. *Paediatr Child Health* 2019; 29 (3): 99-104.
7. Kumps A, Duez P, Mardens Y. Metabolic, nutritional, iatrogenic, and artifactual sources of urinary organic acids: a comprehensive table. *Clin Chem* 2002 May; 48 (5): 708-17.

8. Thompson JA, Miles BS, Fennessey PV. Urinary organic acids quantitated by age groups in a healthy pediatric population. *Clin Chem* 1977 Sep; 23 (9): 1734-8.
9. Guneral F, Bachmann C. Age-related reference values for urinary organic acids in a healthy Turkish pediatric population. *Clin Chem* 1994 Jun; 40 (6): 862-6.
10. Hoffmann GF, Feyh P. Organic acid analysis. En: Blau N, Duran M, Blaskovics ME, Gibson KM, editors. *Physician's guide to the laboratory diagnosis of metabolic diseases*. Berlin-Heidelberg: Springer; 2003.
11. Boulat O, Gradwohl M, Matos V, Guignard JP, Bachmann C. Organic acids in the second morning urine in a healthy Swiss paediatric population. *Clin Chem Lab Med* 2003 Dec; 41 (12): 1642-58.
12. Imamura F, Micha R, Khatibzadeh S, Fahimi S, Shi P, Powles J, *et al*. Global burden of diseases nutrition and chronic diseases expert group (NutriCoDE). Dietary quality among men and women in 187 countries in 1990 and 2010: a systematic assessment. *Lancet Glob Health* 2015 Mar; 3 (3): e132-42.
13. Vandevijvere S, Jaacks LM, Monteiro CA, Moubarac JC, Girling-Butcher M, Lee AC, *et al*. Global trends in ultraprocessed food and drink product sales and their association with adult body mass index trajectories. *Obes Rev* 2019 Nov; 20 (Suppl 2): 10-9.
14. Miller V, Webb P, Cudhea F, Shi P, Zhang J, Reedy J, *et al*. Global dietary database. Global dietary quality in 185 countries from 1990 to 2018 show wide differences by nation, age, education, and urbanicity. *Nat Food* 2022 Sep; 3 (9): 694-702.
15. Małachowska A, Gębski J, Jeżewska-Zychowicz M. Childhood food experiences and selected eating styles as determinants of diet quality in adulthood - A cross-sectional study. *Nutrients* 2023 May 10; 15 (10): 2256.
16. Semeraro M, Boenzi S, Carrozzo R, Diodato D, Martinelli D, Olivieri G, *et al*. The urinary organic acids profile in single large-scale mitochondrial DNA deletion disorders. *Clin Chim Acta* 2018 Jun; 481: 156-60.
17. Scandiani MM, Luque AG, Razori MV, Ciancio Casalini L, Aoki T, O'Donnell K, *et al*. Metabolic profiles of soybean roots during early stages of *Fusarium tucumaniae* infection. *J Exp Bot* 2015 Jan; 66 (1): 391-402.
18. Currie LA. Recommendations in evaluation of analytical methods including detection and quantification capabilities. *Pure Appl Chem* 1995; 67: 1699-723.
19. EMA. Bioanalytical method validation: Guidance for industry. 2018. www.fda.gov
20. Baxter GJ, Lawrence JR, Graham AB, Wiles D, Paterson JR. Identification and determination of salicylic acid and salicyluric acid in urine of people not taking salicylate drugs. *Ann Clin Biochem* 2002 Jan; 39 (Pt 1): 50-5.
21. Lawrence JR, Peter R, Baxter GJ, Robson J, Graham AB, Paterson JR. Urinary excretion of salicyluric and salicylic acids by non-vegetarians, vegetarians, and patients taking low dose aspirin. *J Clin Pathol* 2003 Sep; 56 (9): 651-3.
22. Jin H, Zou LP, Zhang CH, Fang F, Xiao J, Wu H, *et al*. [Diagnosis and treatment of methylmalonic acidemia in 14 cases]. *Zhonghua Er Ke Za Zhi* 2004 Aug; 42 (8): 581-4. (artículo en chino).
23. Forny P, Hörster F, Ballhausen D, Chakrapani A, Chapman KA, Dionisi-Vici C, *et al*. Guidelines for the diagnosis and management of methylmalonic acidemia and propionic acidemia: First revision. *J Inher Metab Dis* 2021 May; 44 (3): 566-92. *Erratum* in: *J Inher Metab Dis* 2022 Jul; 45 (4): 862.
24. Sun S, Jin H, Rong Y, Song W, Li Q. Methylmalonic acid levels in serum, exosomes, and urine and its association with cbIC type methylmalonic acidemia-induced cognitive impairment. *Front Neurol* 2022 Dec 13; 13: 1090958.
25. Kanungo S, Morton J, Neelakantan M, Ching K, Saeedian J, Goldstein A. Mitochondrial disorders. *Ann Transl Med* 2018 Dec; 6 (24): 475.
26. Vockley J, Ensenauer R. Isovaleric acidemia: new aspects of genetic and phenotypic heterogeneity. *Am J Med Genet C Semin Med Genet* 2006 May 15; 142C (2): 95-103.
27. Chiong MA, Tan MA, Cordero CP, Fodra EG, Manliguis JS, Lopez CP, *et al*. Plasma amino acid and urine organic acid profiles of Filipino patients with maple syrup urine disease (MSUD) and correlation with their neurologic features. *Mol Genet Metab Rep* 2016 Oct 12; 9: 46-53.
28. Chen A, Pan Y, Chen J. Clinical, genetic, and experimental research of hyperphenylalaninemia. *Front Genet* 2023 Jan 4; 13: 1051153.
29. Feuerstein JD, Cheifetz AS. Crohn disease: epidemiology, diagnosis, and management. *Mayo Clin Proc* 2017 Jul; 92 (7): 1088-103.

Recibido: 16 de febrero de 2024

Aceptado: 28 de mayo de 2024