



Asociación entre el polimorfismo Ala62Thr en el gen ZNF365 con la uricosuria y la citraturia en recién nacidos sanos yucatecos

**Dr Alberto Carlos Déciga Campos
Dra. Martha Medina Escobedo
Dr. Francisco Javier Flores Murrieta**



Epidemiología

España 1/ 5500 niños

Inglaterra: 1 de cada 1000 ingresos

Estados Unidos:
1/ 7600 a 1 /10000
admisiones

En México 2.4 por 10000
habitantes
En Yucatán 5.8 casos por
10000 habitantes

Japón: 4.5%

Litiasis renal



Presencia de litos (piedras) en la vía urinaria.

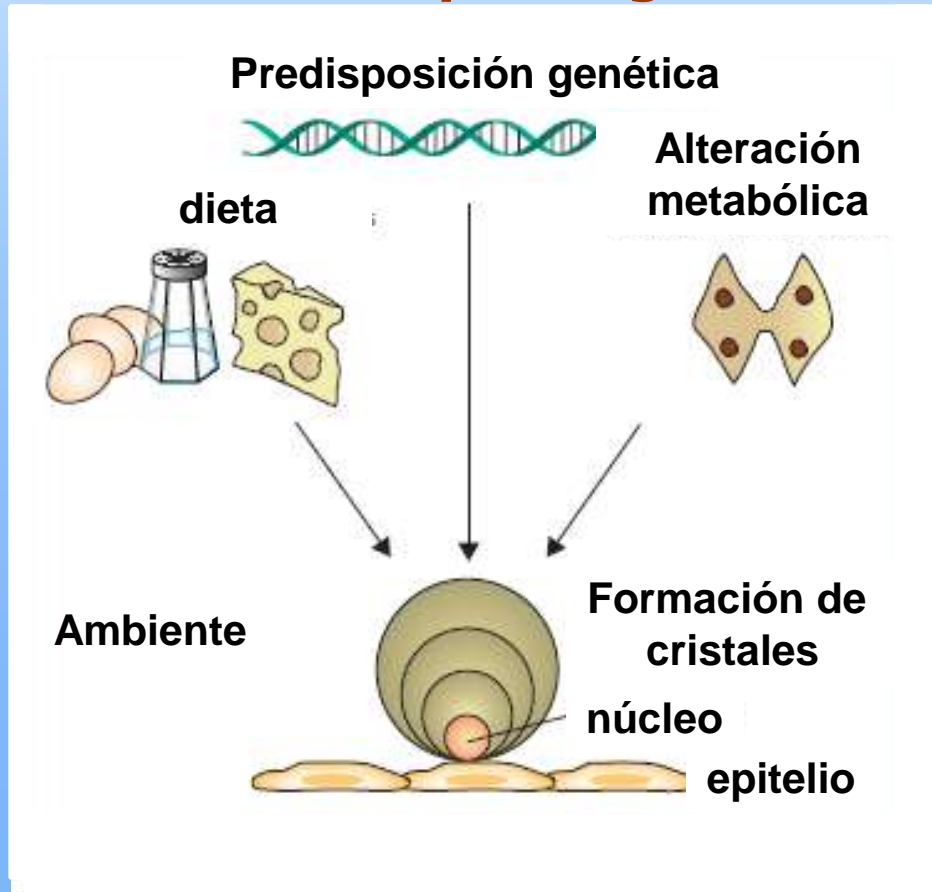


Medina.-Escobedo y col, Rev. Med. del IMSS. 2008, 33(3):103-108.

Litiasis renal



Fisiopatología



Aspectos Inhibidores

- ✓ Citrato
- ✓ Magnesio
- ✓ Orina alcalina

Aspectos Promotores

- ✓ Acido Úrico
- ✓ Acidez urinaria
- ✓ Volumen urinario bajo



Distribución por edad

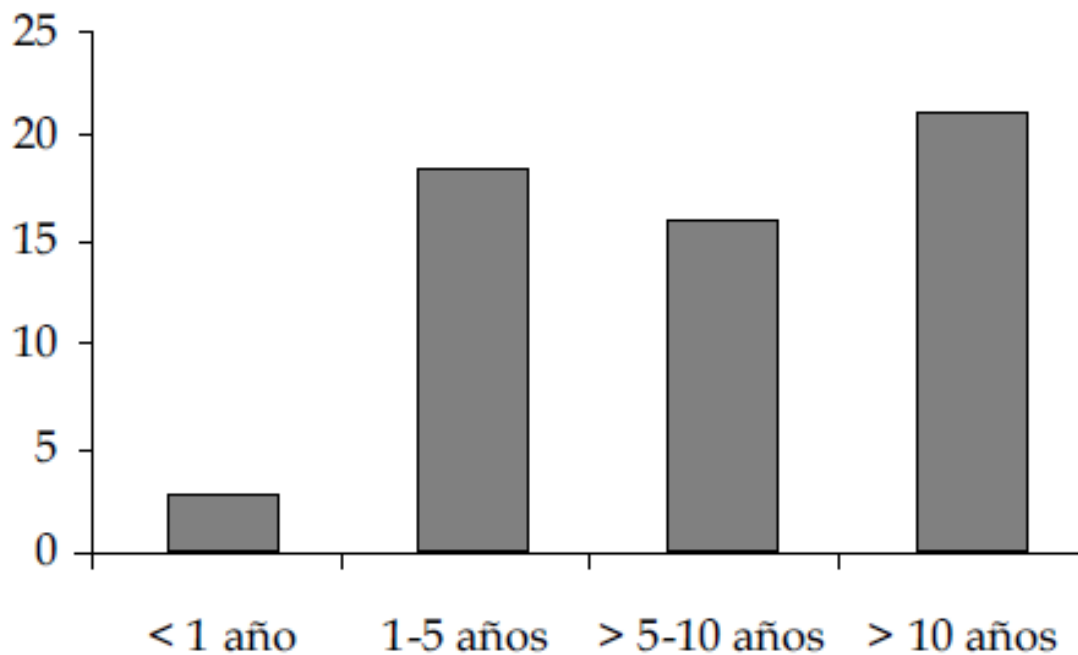


Figura 1. Distribución por edades.

Santos y cols. Urolitiasis en la infancia... Vox Pediatrica 2004;12(1)::13-19

Litiasis

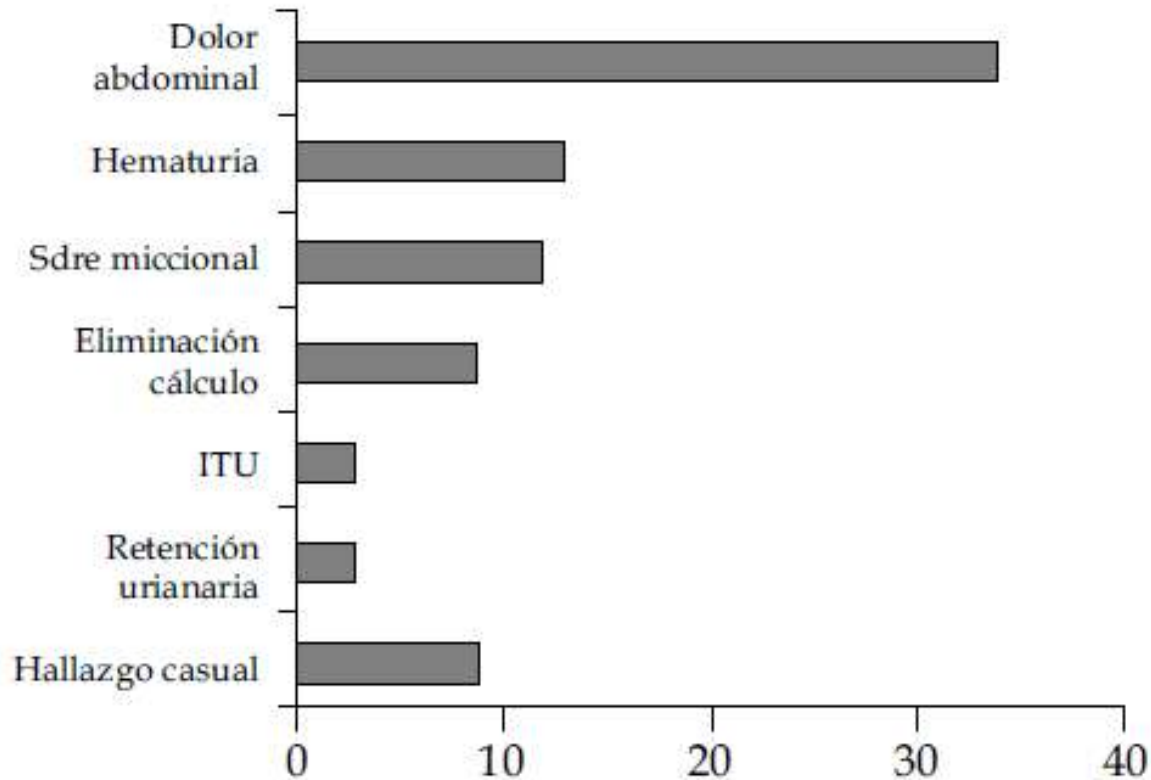


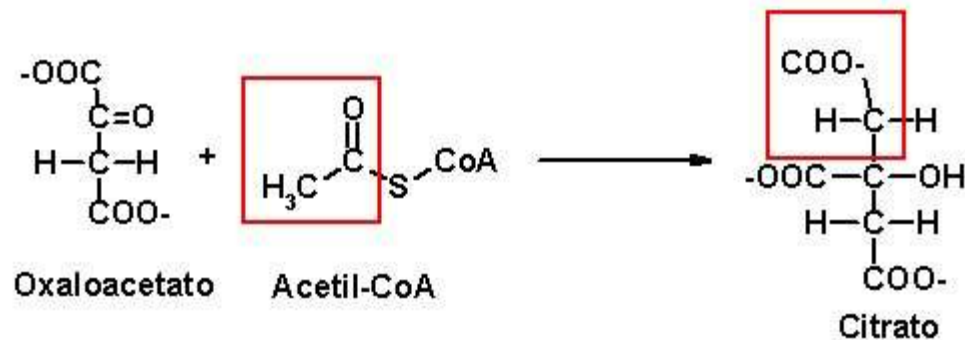
Figura 2. Forma de presentación.

Santos y cols. Urolitiasis en la infancia... Vox Pediatrica 2004;12(1)::13-19

Citrato



- El citrato es un ácido tricarboxílico sintetizado en la mitocondria a partir de oxalacetato y acetil CoA



Citrato

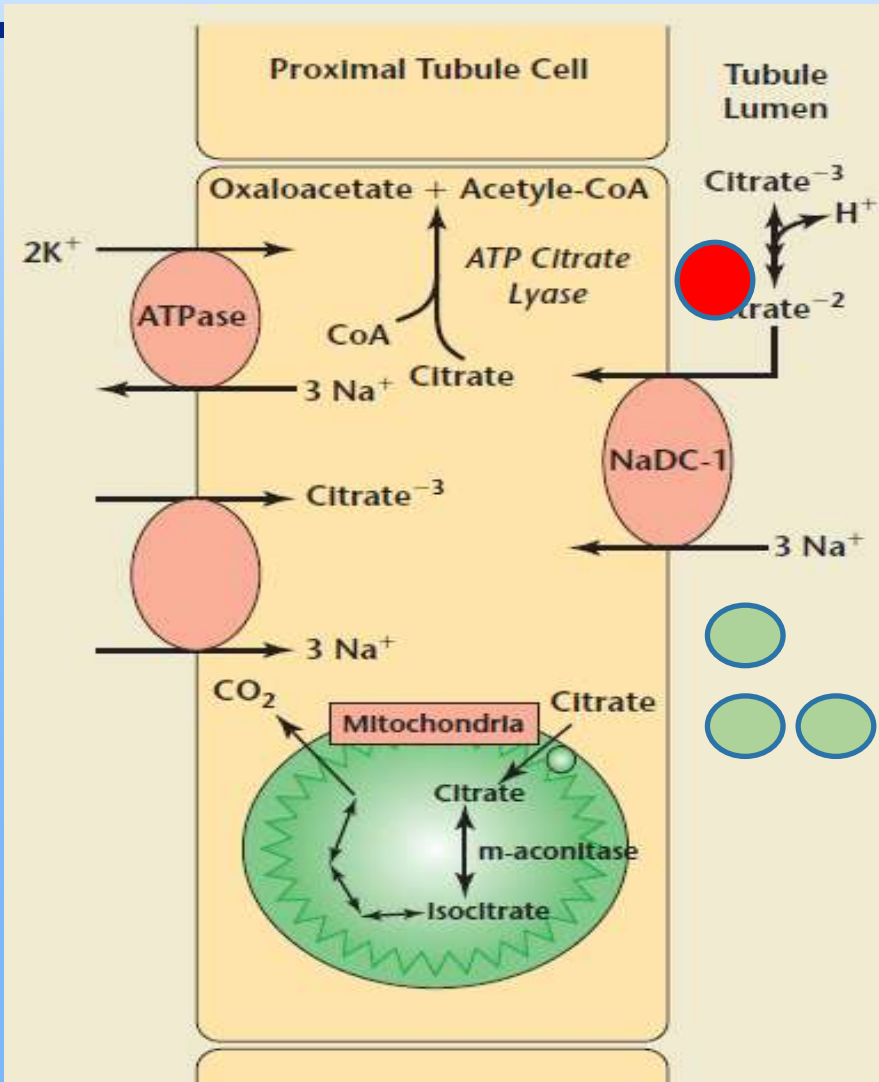


- El citrato es depositado en hueso
- En suero la concentración es de 0.05 mM a 0.3 mM
- La mayor parte se encuentra en forma divalente
- Aproximadamente 65 a 90% es filtrado por el glomérulo renal
- La citraturia se refiere a la cantidad de citratos en la orina obtenida mediante el índice citrato: creatinina



Citrato

Metabolismo del citrato en la nefrona



✓ Si el pH es ácido incrementa la concentración de citrato divalente disponible para su transporte

✓ Si el pH aumenta (alcalosis) inhibe la formación de litos

✓ La hipocalcemia produce una acidosis metabólica en la corteza renal.



ACIDO URICO

- El ácido úrico es el producto final del metabolismo de las purinas
- Es un ácido débil distribuido en el líquido extracelular como urato de sodio

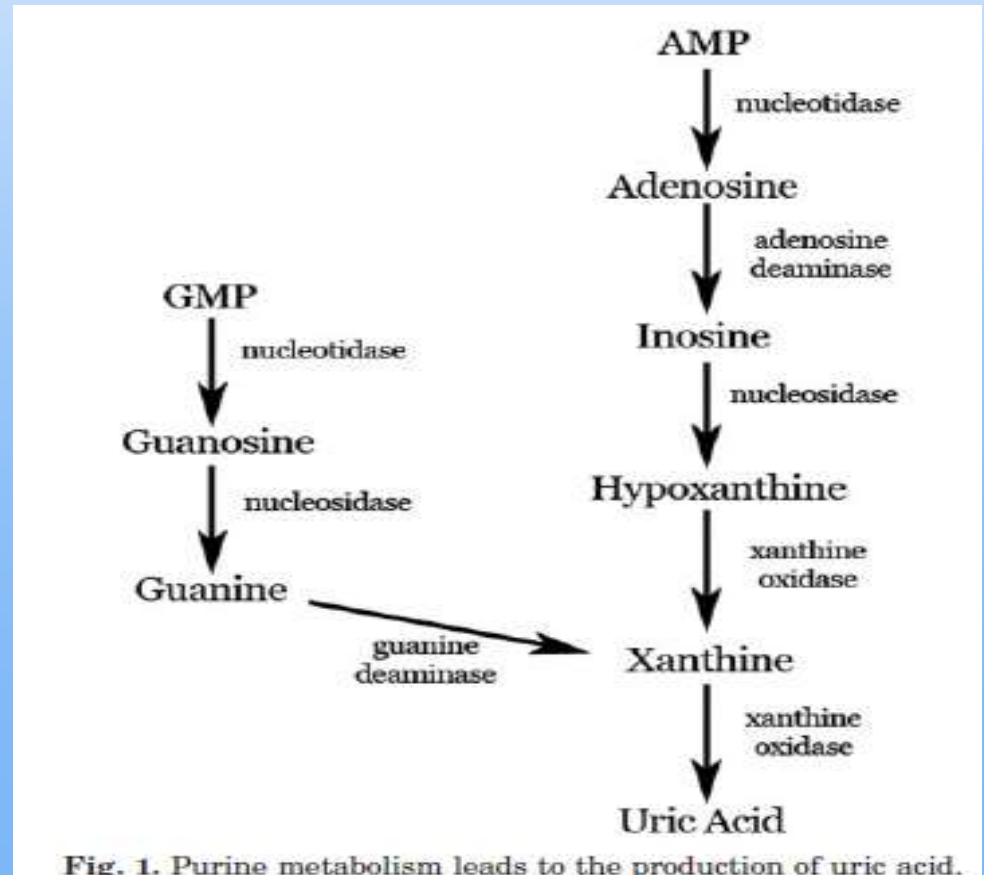
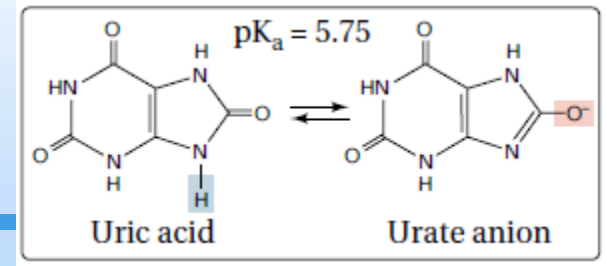


Fig. 1. Purine metabolism leads to the production of uric acid.

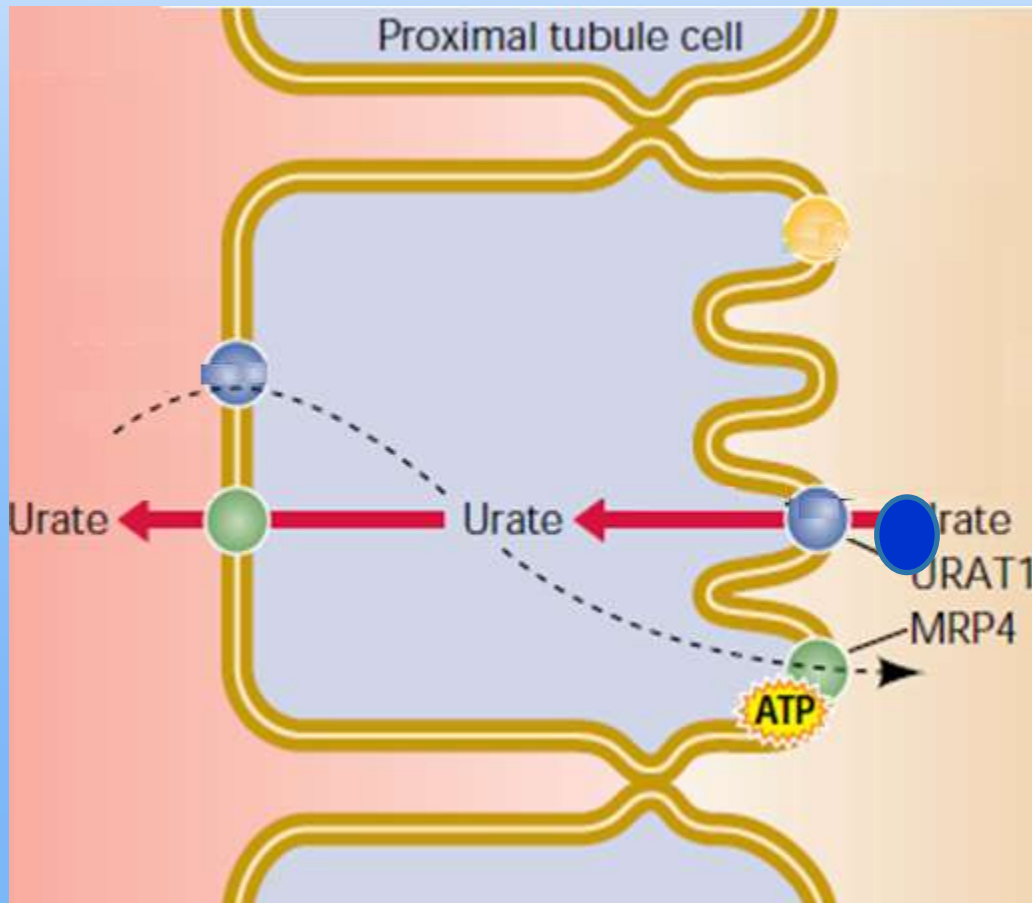
Acido úrico



- La cantidad de urato de sodio depende de la ingesta diaria de purinas, de la biosíntesis y la tasa de excreción de uratos.
- Del ácido úrico filtrado por el glomérulo, se reabsorbe aproximadamente 90% en el túbulo proximal.
- La solubilidad del ácido úrico depende del pH urinario (pKa de 5.5)
- Se refiere a la cantidad de citratos en la orina obtenida mediante el índice citrato: creatinina

Acido Úrico

Metabolismo del ácido úrico en la nefrona

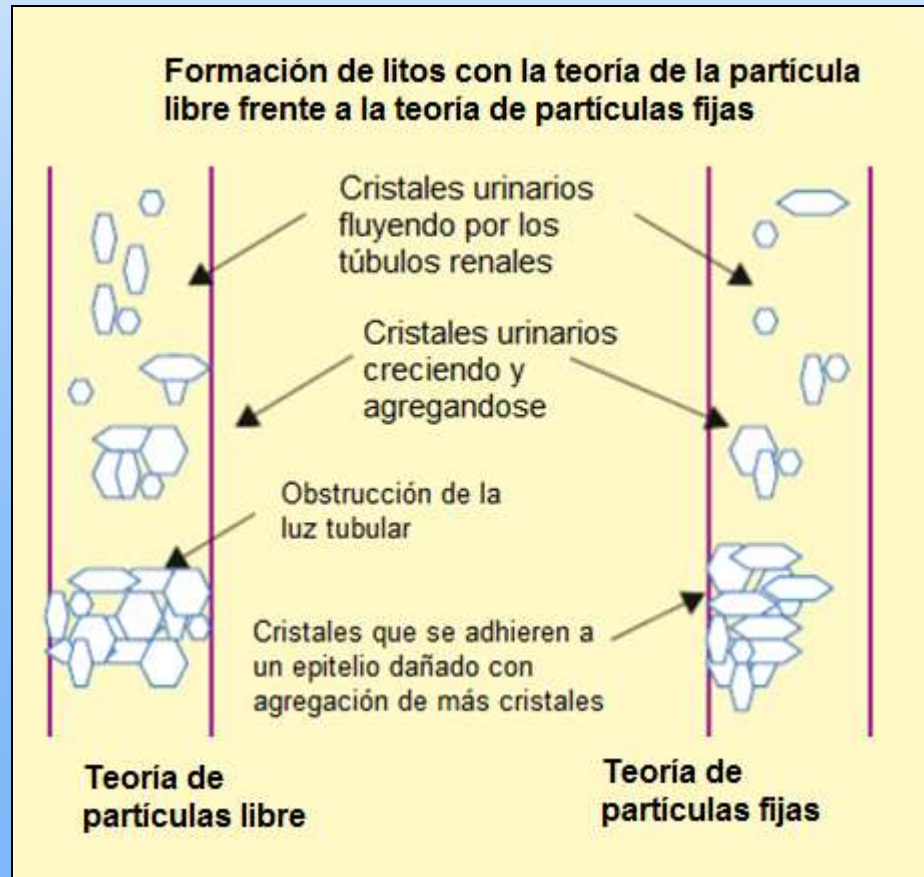


Fisiopatología de la litiasis

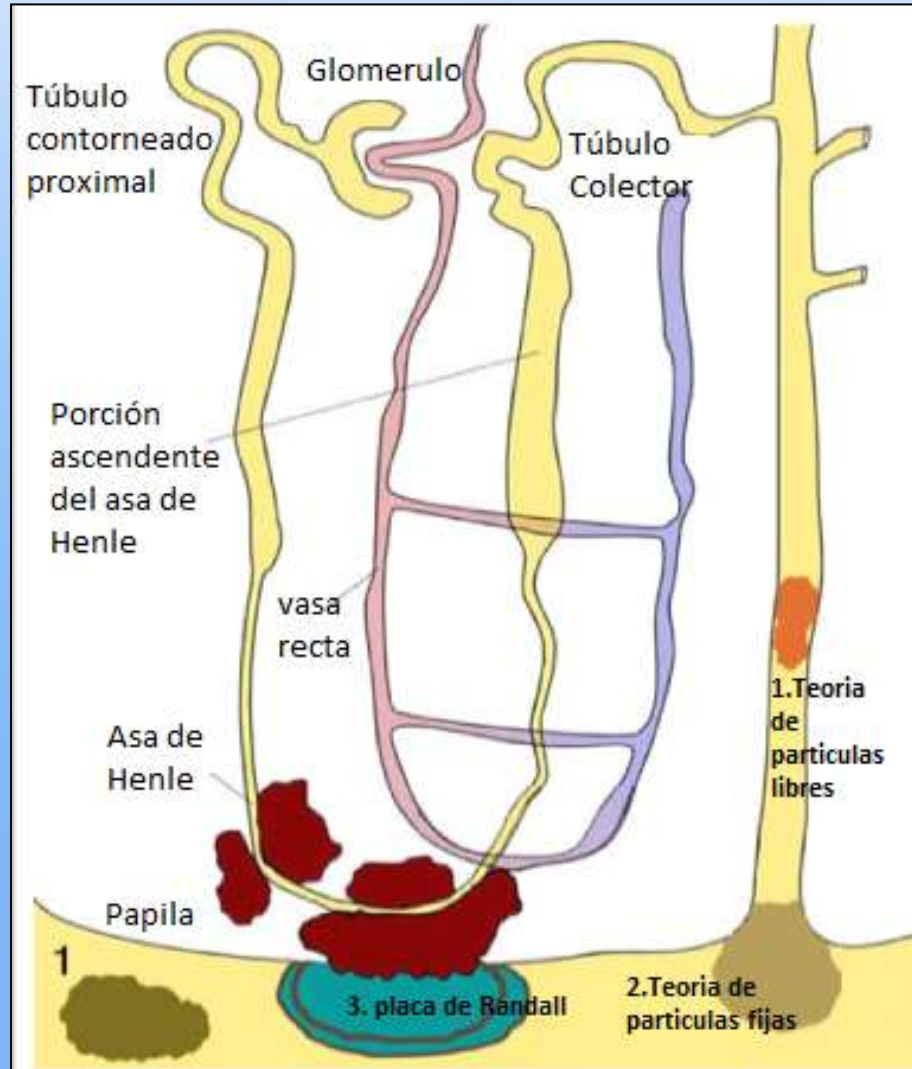


- El citrato inhibe la formación de piedras de calcio por 3 mecanismos
- 1. Se une al calcio iónico y disminuye su saturación
- 2. Impide la aglomeración de oxalato de calcio
- 3. Impide el crecimiento de cristales de fosfato de calcio

Teorías de la formación de cristales

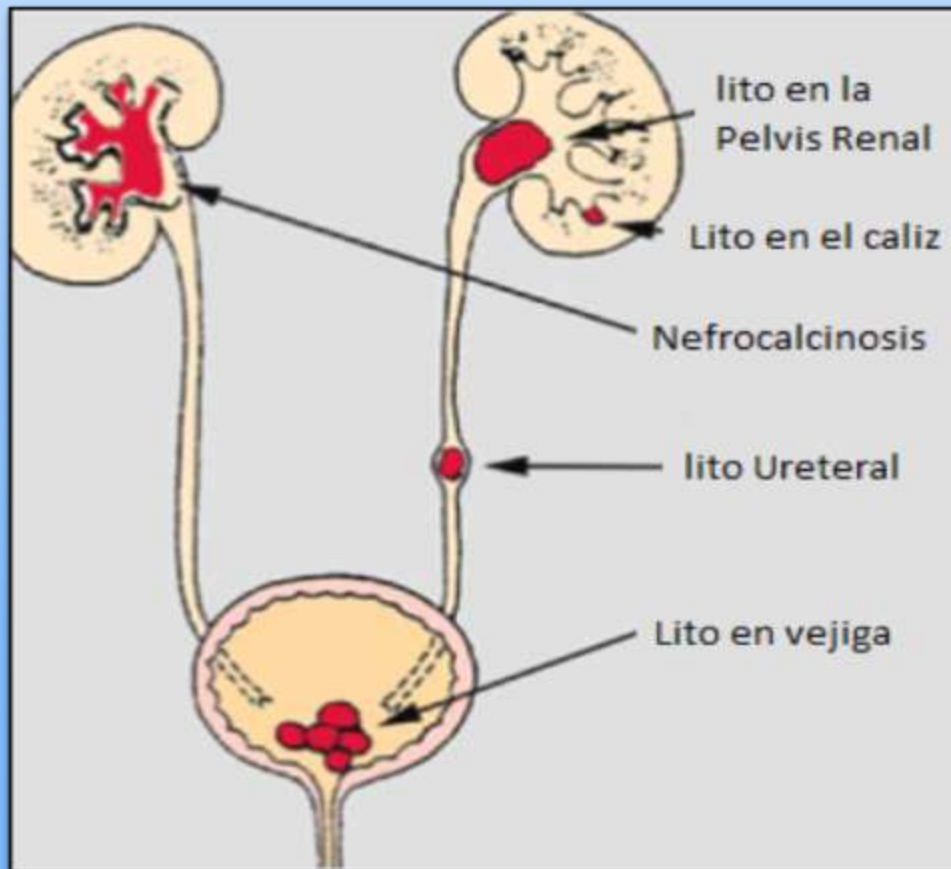


Teorías de la formación de los litos





Localización anatómica de litos la vía urinaria



Polimorfismos ZNF 365



El polimorfismo **Ala62Thr** en el gen **ZNF365** se relaciona con la hiperuricosuria en adultos.

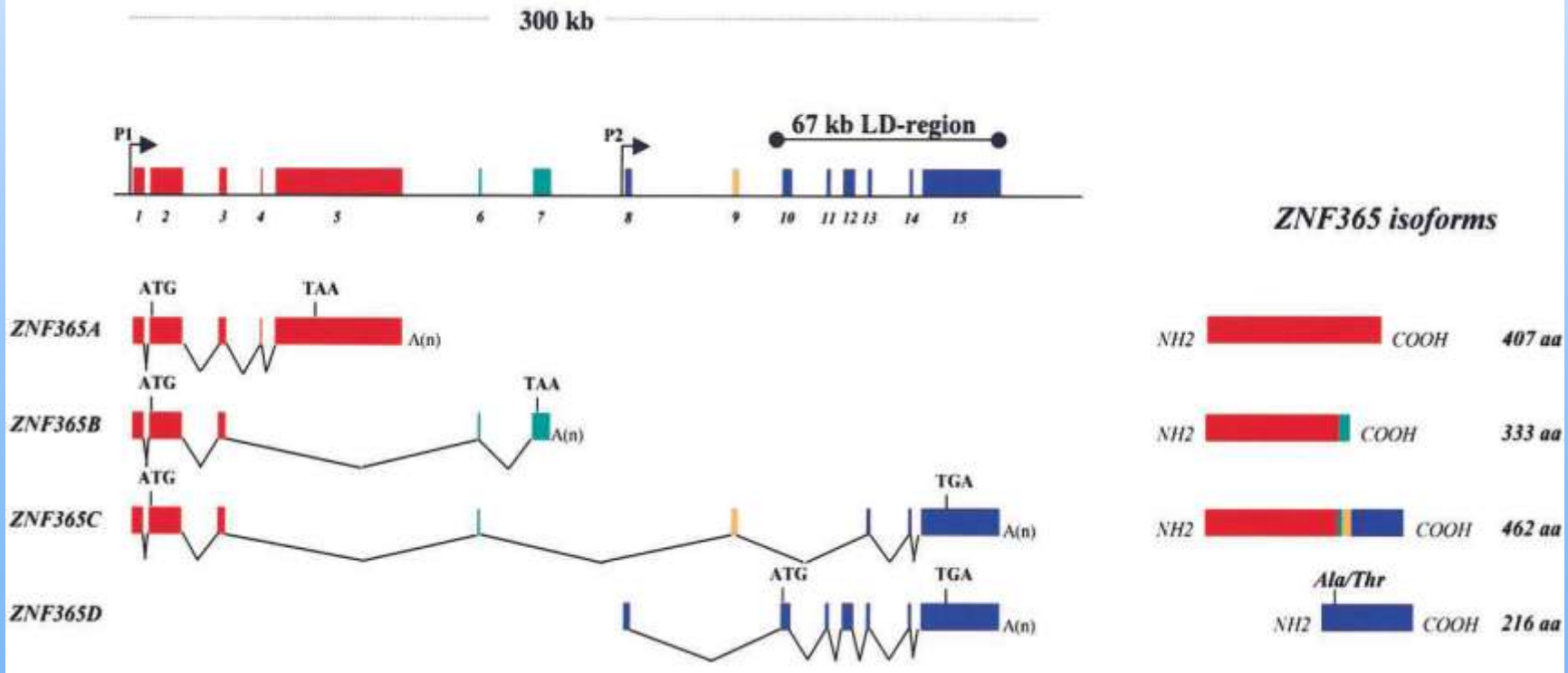
El genotipo **GG del polimorfismo Ala62Thr** en el gen **ZNF365** se relaciona con la hipocitraturia en adultos con litiasis.

Este polimorfismo es asociado con litiasis por acido úrico (p:0.0096)

Gianfrancesco y col., Am. J. Hum .Genet. 2003;72:1479-1491

Medina-Escobedo y col., Eur. J. of Human Genetic. 2008;16:358-362.

GEN ZNF365



Gianfrancesco y col., Am. J. Hum. Genet. 2003;72:1479-1491



Talanina

Es una proteína de 216 aminoácidos
Tiene al menos un dominio transmembrana y varios sitios N-terminal y N y O-glicosilación
Esto sugiere que es una **proteína de membrana**
La variante de esta proteína tiene una estructura secundaria que puede ser la responsable de la litiasis por ácido úrico



Gianfrancesco y col., Am. J. Hum. Genet.
2003;72:1479-1491



Justificación

- ✓ En Yucatán la prevalencia de la enfermedad de litiasis urinaria es más elevada que en el resto del país.
- ✓ Se ha demostrado que los recién nacidos de Yucatán cursan con excreción urinaria de ácido úrico en proporción más elevada que lo reportado a nivel nacional.
- ✓ En Yucatán se ha demostrado la presencia de un polimorfismo Ala62Thr en el gen ZNF365 con hipocitraturia en adultos con litiasis.

Pregunta de Investigación

¿Cuál es la asociación entre el polimorfismo Ala62Thr en el gen ZNF365 con la uricosuria y la citraturia en recién nacidos sanos yucatecos?



Objetivos

General

Determinar la asociación entre el polimorfismo Ala62Thr en el gen ZNF365 con la uricosuria y la citraturia en recién nacidos sanos yucatecos.

Objetivos específicos

- Determinar la frecuencia genotípica del polimorfismo *Ala62Thr* en el gen *ZNF365* en recién nacidos sanos yucatecos.
- Medir la excreción urinaria de *ácido úrico y citratos* en orina de recién nacidos sanos yucatecos.
- Determinar la asociación entre la frecuencia genotípica del polimorfismo *Ala62Thr* en el gen *ZNF365* con la *uricosuria* y la *citraturia*, en recién nacidos sanos yucatecos.

Hipótesis



El polimorfismo Ala62Thr en el gen ZNF365 está relacionado con la uricosuria y la citraturia en recién nacidos sanos yucatecos.

Material y métodos



Universo: Recién nacidos sanos del estado de Yucatán.

Población de estudio:

Recién nacidos sanos atendidos en el Hospital General “Dr. Agustín O´Horán”, S.S.Y. en Mérida, Yucatán.

Propósito del estudio: asociación

Diseño del estudio: Transversal de asociación.



Material y Métodos



Pacientes recién nacidos

Inclusión

Recién nacidos sanos
De término, APGAR 7 al minuto y a los
5 minutos y Peso adecuado

Eliminación

Pacientes con insuficiencia renal
Que no deseen participar más

No inclusión

Malformaciones
mayores, asfixia
perinatal.
Madres con Diabetes,
preeclampsia o con
medicamentos



Variables

- ✓ Índice ácido úrico creatinina urinario por filtración glomerular

$$AUU \times CrS / CrU$$

- ✓ Índice citrato creatinina

$$CU / CrU$$

AUU: ácido úrico urinario

CrS : creatinina sérica

CrU: creatinina urinaria

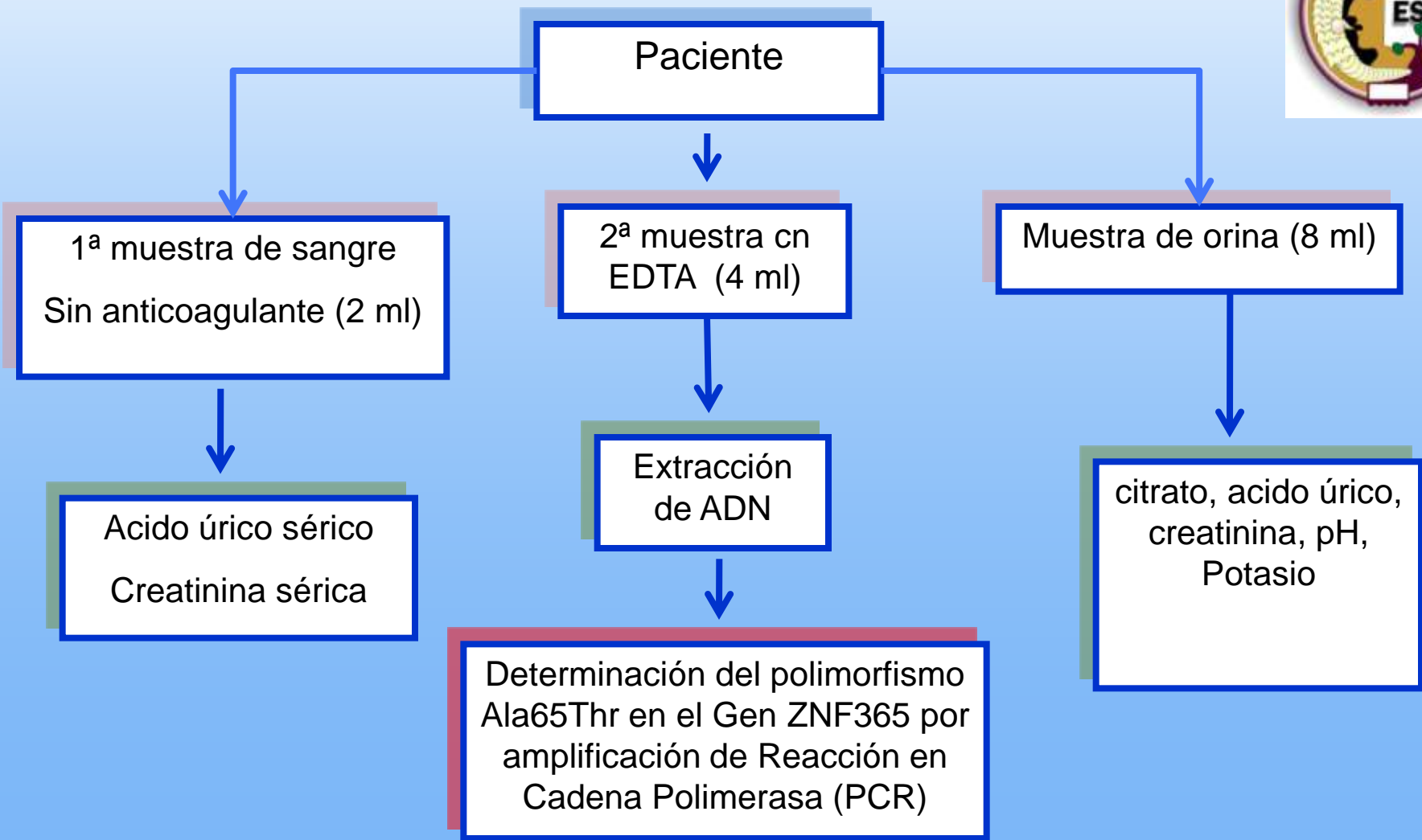
CU: Citrato urinario

Comité de ética

El protocolo fue aceptado por el comité de ética e investigación del Hospital General Agustín O'Horan con el número CIE-006-1-11 y valorado en el Hospital de Enfermedades Respiratorias (INER), ambos de la Secretaría Salud.

Pacientes

- ✓ Pacientes:
- ✓ Se solicitó firma de consentimiento informado por alguno de los padres
- ✓ A todos los Recién Nacidos se registró variables generales de estudio:
 - ✓ Edad gestacional, sexo, peso, talla, APGAR, fecha de nacimiento y tiempo de vida extrauterina al momento del muestreo.



Paciente

1ª muestra de sangre
Sin anticoagulante (2 ml)

Acido úrico sérico
Creatinina sérica

2ª muestra cn
EDTA (4 ml)

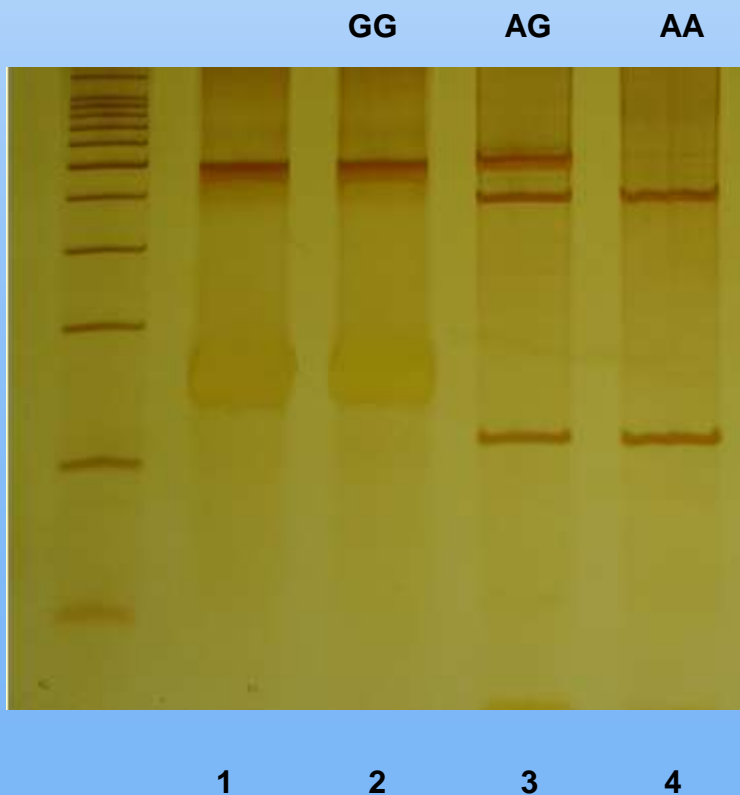
Extracción
de ADN

Determinación del polimorfismo
Ala65Thr en el Gen ZNF365 por
amplificación de Reacción en
Cadena Polimerasa (PCR)

Muestra de orina (8 ml)

citrato, acido úrico,
creatinina, pH,
Potasio

Restricción del producto amplificado



Se muestra el genotipo de ZNF365.

carril 1 = producto de PCR amplificado de 541pb.

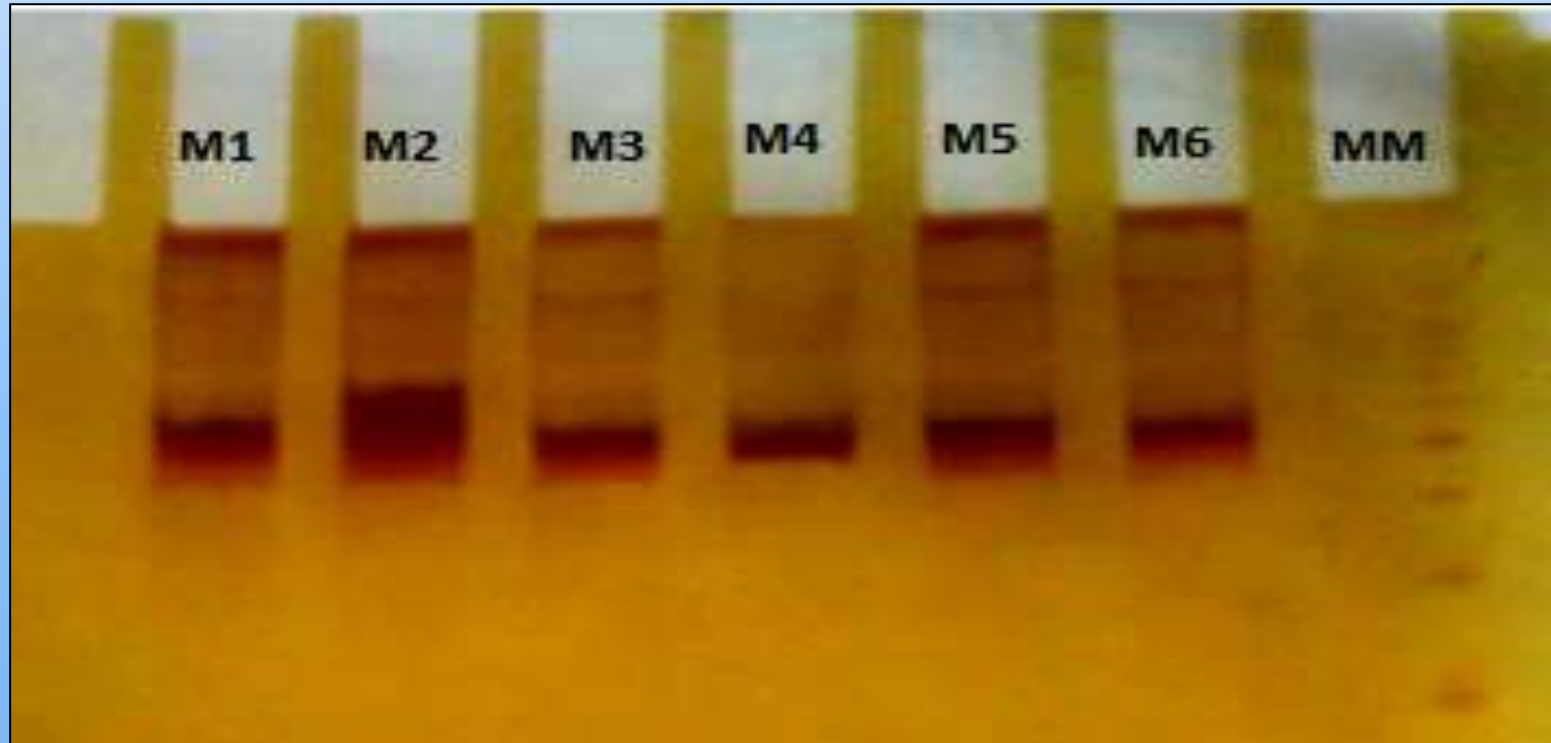
Carril 2 = genotipo homocigoto mutado GG (541 bp)

Carril 3 = heterocigoto AG (541, 415 y 155 pb)

Carril 4 = genotipo homocigoto silvestre AA, indica la digestión ambos alelos (415 y 155 pb)

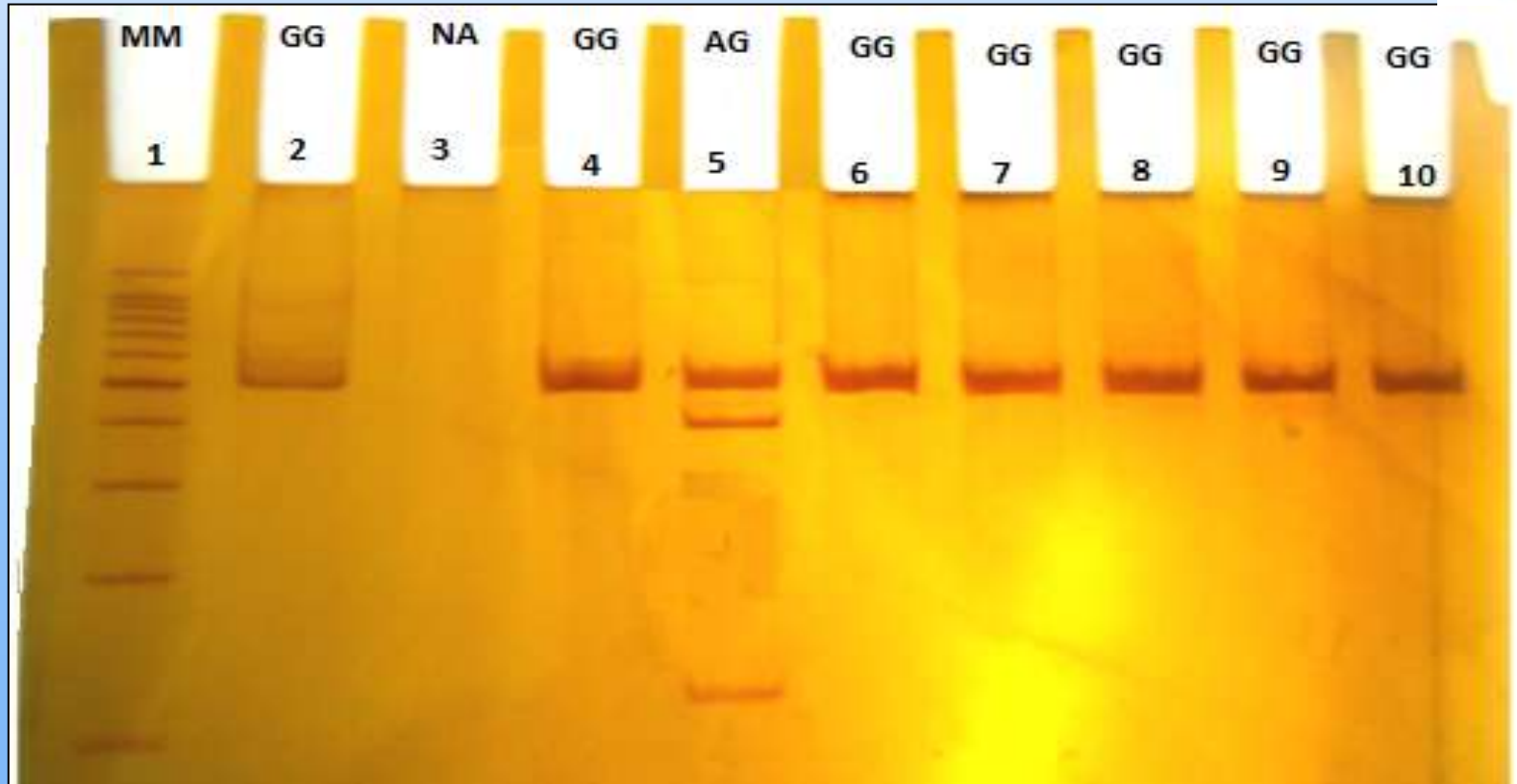


Amplificación del Gen ZNF345 en gel de poliacrilamida



- Se muestran las bandas de amplificación de algunas muestras del estudio (M1-M6) y el marcador molecular (MM).

Productos amplificados en gel de poliacrilamida



Marcador molecular (MM, carril 1), Producto no amplificado de una muestra eliminada del estudio (carril 3) genotipo homocigoto (GG, carril 2,4,6,7,8,9,10) genotipo heterocigoto (AG, carril 5).

Características demográficas de los recién nacidos incluidos en el estudio (n=121)

Variable	Media (DE)	Valor mínimo	Valor máximo	Valor de p*
EG (SDG)	38.5 (1.19)	37	41	0.68 ¹
Tiempo de vida (h)	27.3 (14.6)	3	96	0.81 ¹
Peso (g)	3110 (320.6)	2500	3900	0.19 ²
Talla (cm)	49.88 (1.87)	45	55	0.14 ¹
APGAR 1 minuto	8.02 (0.46)	7	9	0.25 ¹
APGAR 5 minutos	8.98 (0.15)	8	9	0.06 ¹

DE: Desviación estándar, EG:Edad gestacional, SDG:Semanas de gestación

*Valores de p resultantes del análisis estadístico al comparar las variables de las características demográficas, entre niños y niñas: 1: Ude Mann-Whitney, 2: Prueba de t.

Parámetros bioquímicos séricos y urinarios, de los recién nacidos incluidos en el estudio.

Variable	Media (DE)	Mínimo	Máximo
Creatinina sérica (mg/dL)	0.84 (0.19)	0.40	1.40
Ácido úrico sérico (mg/dL)	4.67 (1.10)	2.10	8.60
Ácido úrico urinario (mg/dL)	73.6 (48.81)	7.70	464.30
Creatinina urinaria (mg/dL)	46.47 (35.14)	3.40	185.80
Citrato Urinario (mg/dL)	16.15 (13.01)	1.01	66.03
ICCr (mg/mg)	0.42 (0.31)	0.05	1.30
IAUCrFG (mg/mgFG)	1.68 (0.87)	0.10	4.28
pH Urinario	6.1 (0.69)	5.0	8.0

DE=Desviación estándar, ICCr=Índice citrato creatinina,
IAUCrFG= Índice ácido úrico-creatinina corregido por la filtración glomerular.

Valores de citraturia y uricosuria en recién nacidos sanos de Yucatán México.

Variable	Femenino Media \pm DE	Masculino Media \pm DE	Ambos Media \pm DE	p
AUU mg/dL	68.22 (26.64)	75.15 (53.66)	73.6 (48.81)	0.52 ²
CU mg/dL	16.68 (14.54)	16.1 (12.62)	16.15 (13.01)	0.84 ²
ICCr (mg/mg)	0.54 (0.38)	0.40 (0.28)	0.42 (0.31)	0.96 ¹
IAUCrFG(mg/mgFG)	2.04 (0.92)	1.58 (0.83)	1.68 (0.87)	0.01 ¹
pH urinario	6.50 (0.81)	6.09(0.64)	6.1(0.69)	0.04 ²

DE= Desviación estándar; AUU= ácido úrico urinario; CU=citrato urinario;
 ICCr= Índice citrato-creatinina; IAUCrFG= Índice ácido úrico-creatinina corregido por la
 filtración glomerular. 1. Prueba de t para muestras independientes, 2: U de Mann-Whitney

Comparación del genotipo del Gen ZNF365 con las alteraciones metabólicas.



Variable	Genotipo			p* (x2) (RM, IC95%)
	AG n=27 (%)	GG n=94 (%)	Ambos n=121 (%)	
HiperUU	17 (62.9)	87 (92.5)	104 (85.9)	0.0002 (7.3, 2.4-21.8)
HipoCU	12 (44.4)	69 (73.4)	81 (66.9)	0.003 (3.4, 1.42-8.37)
HiperUU + HipoCU	11 (40.7)	56 (59.5)	67 (55.3)	0.04 (2.14, 2.1-5.1)

HiperUU= Hiperuricosuria, HipoCU= Hipocitraturia. Prueba de Chi², para comparación de proporciones. Valor de p significativo <0.05.

Índice citrato/creatinina



- ✓ Índice citrato creatinina: **0.46 ± 0.3**
- ✓ Goretti en Brasil en niños sanos: >0.18 0.18 mg/mg
- ✓ Torres en España en niños con litiasis: > 0.34 0.21 mg/mg
- ✓ Cameron Estados Unidos (valor normal): **>0.51 mg/mg**
- ✓ Vázquez en España en niños sanos: >0.54 0.38 mg/mg
- ✓ Gordillo Nefrología Pediátrica >0.21 mg/mg
- ✓ White y cols en 38 RN sanos (UK:2004) >0.27 mg/mg

Índice ácido úrico/creatinina FG



- ✓ Índice Acido úrico/creatinina FG: **1.68 ± 0.87**
- ✓ Goretti en Brasil en niños sanos: <0.26 0.13
- ✓ Torres en España en niños con litiasis: < 0.27 0.09
- ✓ Cameron Estados Unidos (valor normal) **<0.53**
- ✓ Lopez M España : <0.70

Hiperuricosuria

Autor	Lugar	Pacientes	Hiperuricosuria
Medina	Yucatán 2001	237 recién nacidos sanos	20% en Yucatán 0.03% en Edo México. (Formación de cristales de ácido úrico)
Zubair	Okinawa Japón 2003	1816 pacientes con litiasis	15.8%
Coward	Inglaterra 2003	121 niños de 36 meses de edad con litiasis	2%
Medina	Yucatán 2008	63 niños de 20 meses de edad con litiasis	57.1%
Medina	Yucatán 2008	131 neonatos sanos	57 %
Bak	Turquía 2009	72 niños de 72 meses con litiasis	4%
Naseri	Irán 2010	272 niños de 48 meses con litiasis	16.1%
Akhavan	Irán 2010	100 niños de 3.3 años	26.3%
Neonatos sanos		121 neonatos sanos de 27 horas de vida	85.9%

Hipocitraturia

Autor	Lugar	Pacientes	Hipocitraturia
Medina, Flores	Yucatán 2008	109 niños de 81 meses	35.8%
Bak	Turkia 2009	72 niños de 72 meses	8.5 %
Medina, Pacheco	Yucatán 2010	134 niños de 87 meses	34.5%
Akhavan	Irán 2010	100 niños de 3.3 años	68%
Naseri	Irán 2010	272 niños de 48 meses	2.1 %
Recién nacidos sanos		121 RN sanos de 27 horas de vida	66.9%

Presencia del polimorfismo Ala62Thr en el gen ZNF 365 en otras poblaciones

✓ Italia continental	27.5%
✓ Italia Sardinia	32%
✓ Italia sicilia	23%
✓ Africa-Benin	1.1%
✓ Africa Burkina Faso	1.2%
✓ Merida Yucatan Mexico	77.6%



Conclusiones

•La frecuencia de alteraciones metabólicas en RN de Yucatán es:

- Hiperuricosuria 104 (85.9%)
- Hipocitraturia 81 (66.9%)
- Ambas 67 (55.3%).

•No se observaron diferencias en la frecuencia de hipocitraturia e hiperuricosuria al comparar las frecuencias por género.

•La frecuencia del genotipo GG (77.6%) del polimorfismo Ala62Thr del Gen ZNF365, en los RN de Yucatán, es mayor a lo referido en la literatura.



Conclusiones

- Existe asociación entre el genotipo homocigoto GG del gen ZNF365 Ala62Thr y la frecuencia de citraturia y uricosuria:
 - hipocitraturia ($p < 0.01$)
 - hiperuricosuria. ($p < 0.01$)



Conclusiones

- La media de uricosuria calculada mediante el IAUCrFG, en neonatos sanos, es de:

- **1.68 ± 0.87 mm/dLFG**

- La media de citraturia calculada mediante el ICCr, en neonatos sanos, es de:

- **0.42 ± 0.31 mg/mg**

Gracias

