

**UTILIZACIÓN DE LA REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA PARA AMPLIFICAR DOS SECUENCIAS DEL GEN GLICINA DECARBOXILASA QUE CODIFICA PARA LA PROTEÍNA P DEL SISTEMA DE CLIVAJE DE LA GLICINA, RELACIONADO CON HIPERGLICINEMIA NO CETÓSICA**

GALLEGO, E. A.<sup>1,2</sup>, PINILLA, G.<sup>2</sup>, BERMÚDEZ, M.<sup>2,3</sup>, NAVARRETTE, J.<sup>2</sup>, SÁNCHEZ, R.<sup>2</sup>, ALMONACID, C. C.<sup>2</sup>, ARTEAGA, C.<sup>4</sup>, CIFUENTES, Y.<sup>4</sup>, CRUZ, A.<sup>1,2</sup>, CHAPARRO, B. M.<sup>1,2</sup>, SARMIENTO, C.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Estudiantes del Grupo Semillero "EFRATA".

<sup>2</sup> Programa de Bacteriología y Laboratorio Clínico. Facultad de Ciencias de la Salud. Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca.

ucmc4@gaitana.intered.net.com <sup>3</sup> Estudiante Candidata PhD.

Universidad Javeriana. Profesora, Instituto Materno Infantil de Bogotá.

<sup>4</sup> Profesoras, Instituto Materno Infantil de Bogotá.

Facultad de Medicina. Universidad Nacional de Colombia.

Los Errores Congénitos del Metabolismo son trastornos bioquímicos de origen genético, que causan un defecto específico en la estructura o función de las moléculas proteicas involucradas en una vía metabólica. Dentro de los errores innatos del metabolismo se encuentra la hiperglicinemia no cetósica (HNC), la cual es un desorden autosómico recesivo, que se caracteriza por un defecto en el sistema de clivaje de la glicina, (SCG) ocasionando la acumulación de este aminoácido en los diferentes fluidos corporales, causando alteraciones neurológicas y desórdenes somáticos que llegan a ser letales. El SCG es un sistema multienzimático de carácter mitocondrial y está compuesto por cuatro proteínas individuales reconocidas como proteína P (piridoxal fosfato), H (ácido lipóico), T (tetrahidrofolato) y L (deshidrogenasa lipoamida) (1). La proteína P es codificada por el gen glicina decarboxilasa (GLDC) (2); se han reportado varias mutaciones en este gen, siendo la mutación S564I, la más común (3). La actividad de esta proteína se encuentra disminuida o ausente en 80% de los pacientes con HNC (4).

Los estudios de esta entidad en Colombia, se iniciaron con Barrera y col (5), pero no se disponía de un diagnóstico enzimático ni molecular para la HNC; por lo tanto, la Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca, en asociación con la unidad de biología procreativa del Instituto Materno Infantil y la Universidad Nacional de Colombia, inició el estudio bioquímico y molecular de esta enfermedad.

### **OBJETIVO GENERAL**

Determinar las condiciones óptimas de la reacción en cadena de la polimerasa para amplificar dos secuencias del gen glicina decarboxilasa que codifica para la proteína P del sistema de clivaje de la glicina utilizando dos parejas de primers.

### **METODOLOGÍA**

El gADN se extraerá de muestras de sangre total anticoagulada ó impregnada en filtro de pacientes con diagnóstico clínico y bioquímico para HNC provenientes del IMI. La región que contiene el gen afectado en la HNC, se amplificará utilizando dos parejas de primers diseñados a partir de secuencias reportadas en la literatura, una de estas permitirá amplificar el sitio específico de la mutación S564I (3); la diferenciación de normales portadores y afectados se

realizará por medio de enzimas de restricción. Posteriormente se aplicará el análisis de polimorfismos conformacionales de cadena sencilla (SSCP) para determinar un patrón de migración y proceder a la secuenciación.

### **RESULTADOS PARCIALES**

Hasta el momento se han establecido las condiciones óptimas para amplificar una de las secuencias del gen GLDC utilizando una de las parejas de primers a emplear.

Se espera mediante el uso de enzimas de restricción y de los SSCP establecer un patrón de diferenciación, con el fin de identificar la presencia o ausencia de la mutación S564I en pacientes de la unidad de biología procreativa del IMI durante el período de 1996 a 2000. Así mismo, se espera confirmar mediante secuenciación, la mutación antes mencionada o reportar una nueva mutación en Colombia.