

Importancia del metabolismo de la biotina

Rocío Rodríguez Meléndez*

* Unidad de Genética de la Nutrición, Departamento de Medicina, Instituto de Investigaciones Biomédicas. UNAM. México, D.F.

Importance of biotin metabolism

ABSTRACT

Biotin is a water soluble enzyme cofactor that belongs to the vitamin B complex. In humans, biotin is involved in important metabolic pathways such as gluconeogenesis, fatty acid synthesis, and amino acid catabolism by acting as a prosthetic group for pyruvate carboxylase, propionyl-CoA carboxylase, β -methylcrotonyl-CoA carboxylase, and acetyl-CoA carboxylase. Carboxylases are synthesized as apocarboxylases without biotin and the active form is produced by their covalent binding of biotin to the ϵ -amino group of a lysine residue of the apocarboxylases. This reaction is catalyzed by the holocarboxylase synthetase. The last step in the degradation of carboxylases, the cleavage of the biotinyl moiety from the ϵ -amino group lysine residues, is catalyzed by biotinidase and results in the release of free biotin, which can be recycled. Biotin regulates the catabolic enzyme propionyl-CoA carboxylase at the post-transcriptional level whereas the holocarboxylase synthetase is regulated at the transcriptional level. Aside from its role in the regulation of gene expression of carboxylases, biotin has been implicated in the induction of the receptor for the asialoglycoprotein, glycolytic enzymes and of egg yolk biotin binding proteins. Biotin deficiency in humans is extremely rare and is generally associated with prolonged parenteral nutrition, the consumption of large quantities of avidin, usually in the form of raw eggs, severe malnutrition and, inherited metabolic disorders. In humans, there are autosomal recessive disorders of biotin metabolism that result from the disruption of the activity of biotinidase or holocarboxylase synthetase.

Key words. Biotin. Carboxylases. Biotinidase. Holocarboxilase. Synthetase.

INTRODUCCIÓN

La biotina pertenece al grupo de las vitaminas hidrosolubles del complejo B. En mamíferos actúa como cofactor de cuatro carboxilasas: piruvato carboxilasa (PC), propionil-CoA carboxilasa (PCC), β -metilcrotonil-CoA carboxilasa (MCC), y acetyl-CoA carboxilasa

RESUMEN

La biotina pertenece al grupo de las vitaminas hidrosolubles del complejo B. En humanos la biotina está directamente involucrada en importantes procesos metabólicos como la gluconeogénesis, la síntesis de ácidos grasos y el catabolismo de algunos aminoácidos, debido a su papel como grupo prostético de las enzimas piruvato carboxilasa, propionil-CoA carboxilasa, β -metilcrotonil-CoA carboxilasa y de la acetyl-CoA carboxilasa. La biotina se une al sitio activo de estas enzimas y funciona como acarreador de CO₂. Las carboxilasas se sintetizan como apocarboxilasas, carentes de biotina y la forma activa se produce por la unión covalente de la biotina al grupo ϵ -amino de un residuo de lisina de la apocarboxilasa, reacción catalizada por la holocarboxilasa sintetasa. El paso final de la degradación de las carboxilasas es el rompimiento de la fracción biotinil del grupo ϵ -amino de la lisina que es catalizada por la biotinidasa y resulta en la liberación de la biotina libre, la cual puede ser nuevamente reciclada. La biotina regula, a nivel postranscripcional, la expresión de la propionil-CoA carboxilasa y, a nivel transcripcional, a la de la holocarboxilasa sintetasa. Además de su papel como cofactor y regulador de la biosíntesis de las carboxilasas, la biotina está involucrada en otras áreas del metabolismo, donde regula la síntesis de proteínas específicas entre las que se encuentran el receptor de la asialoglicoproteína, varias enzimas reguladoras del metabolismo de glucosa y proteínas que unen biotina en la yema de huevo, entre otras. La deficiencia de biotina se ha reportado en pacientes sometidos a una alimentación parenteral total, en personas que ingieren grandes cantidades de clara de huevo crudo, en niños con desnutrición energético proteínica severa y en personas con errores innatos del metabolismo. Entre estas últimas se encuentran las enfermedades autosómicas recesivas del metabolismo de biotina que resultan de la alteración de la actividad de la holocarboxilasa sintetasa o de la biotinidasa.

Palabras clave: Biotina. Carboxilasa. Biotinidasa. Holocarboxilasa. Sintetasa.

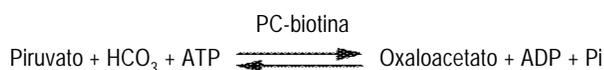
(ACC). Las tres primeras son enzimas mitocondriales y la última es una enzima citosólica. Las reacciones de carboxilación tienen una participación muy importante en el metabolismo intermediario, ya que actúan en reacciones clave de la síntesis y elongación de los ácidos grasos, anaplerosis del ciclo de Krebs, gluconeogénesis y catabolismo de proteínas y lípidos.^{1,2}

A pesar de este papel tan importante, la biotina ha recibido considerablemente menos atención de los nutriólogos en comparación con otras vitaminas, por lo cual en la presente revisión se considerarán su metabolismo, su función como cofactor de carboxilasas, como regulador de la expresión génica de carboxilasas y de diversas enzimas, así como su importancia médica y nutricional.

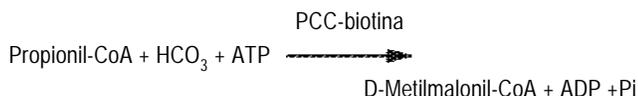
CARBOXILASAS DEPENDIENTES DE BIOTINA

El papel de la biotina en las reacciones catalizadas por las carboxilasas es fundamental, ya que actúa como un vector para transferir un grupo carboxilo activado, de una molécula donadora a una aceptora, durante la reacción de carboxilación.

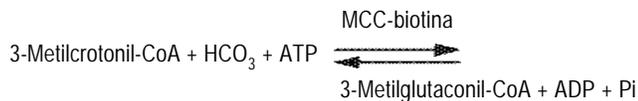
La PC es una enzima clave de la gluconeogénesis en hígado y riñón, donde cataliza el primer paso de esta vía metabólica. Está presente también en tejidos lipogénicos en los que actúa en la síntesis de ácidos grasos, en el transporte de grupos acetilo vía citrato y de equivalentes reducidos vía malato, de la mitocondria al citosol. En todos los tejidos, pero particularmente en el cerebro, tiene un papel anaplerótico en el ciclo de los ácidos tricarboxílicos, al catalizar la formación de oxaloacetato.^{3,4}



La PCC cataliza la conversión de propionil-CoA a metilmalonil-CoA, en la vía catabólica de los ácidos grasos de cadena impar, de los aminoácidos isoleucina, treonina, metionina y valina y del colesterol. En esta forma estos compuestos ingresan al ciclo de los ácidos tricarboxílicos vía succinil-CoA.⁵

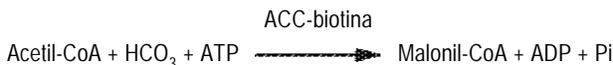


La MCC participa en el catabolismo del aminoácido leucina, convirtiendo 3-metilcrotonil CoA a 3-metilglutaconil CoA.⁶



La ACC cataliza la carboxilación de acetil-CoA, que lleva a la formación de malonil-CoA, precursor en la síntesis y elongación de los ácidos grasos y tie-

ne un papel regulador en la lipogénesis y en la β-oxidación, además interviene en la génesis de la membrana celular.⁷

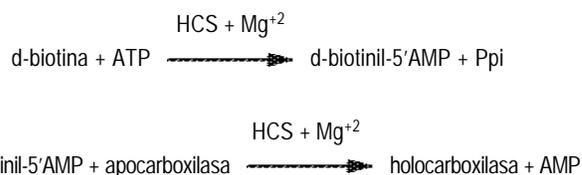


CICLO DE LA BIOTINA

En el curso de la evolución, los eucariotes perdieron la capacidad de sintetizar biotina y ahora dependen enteramente de la dieta como única fuente de esta vitamina. Sin embargo, la biotina está presente en muy bajas concentraciones en la naturaleza y esto pone en riesgo la homeostasis metabólica de la célula. Para cumplir con este requerimiento, los mamíferos han desarrollado un ciclo eficiente de la biotina para asegurar un suplemento y utilización adecuados de ésta (Figura 1).

Las carboxilasas son sintetizadas como apocarboxilasas, que carecen de actividad enzimática. Cada enzima es activa sólo cuando se encuentra unida covalentemente a la biotina y entonces es llamada holocarboxilasa. La biotina se une a un grupo ε-amino de un residuo de lisina de la carboxilasa en su sitio activo. Este proceso llamado biotinilación requiere de una enzima que catalice la reacción de unión de la biotina a la apocarboxilasa. Esta es la holocarboxilasa sintetasa (HCS).^{8,9}

El mecanismo de reacción de la biotinilación es el siguiente:



La biotinilación de las apocarboxilasas requiere la activación de biotina por ATP, lo cual resulta en la formación de un intermediario biotinil-adenilato. El grupo biotinilo es transferido a la apoenzima para formar la carboxilasa activa. Estas dos reacciones parciales son catalizadas por la misma enzima, HCS.¹⁰⁻¹²

La clonación del gen que codifica para la proteína HCS de humano^{8,13} tiene una función similar a la proteína BirA. Actúa como ligasa de biotina y represor del operón de biotina en *E. coli*.^{14,15}

Durante la degradación proteínica en el intestino delgado, las carboxilasas son degradadas a pép-

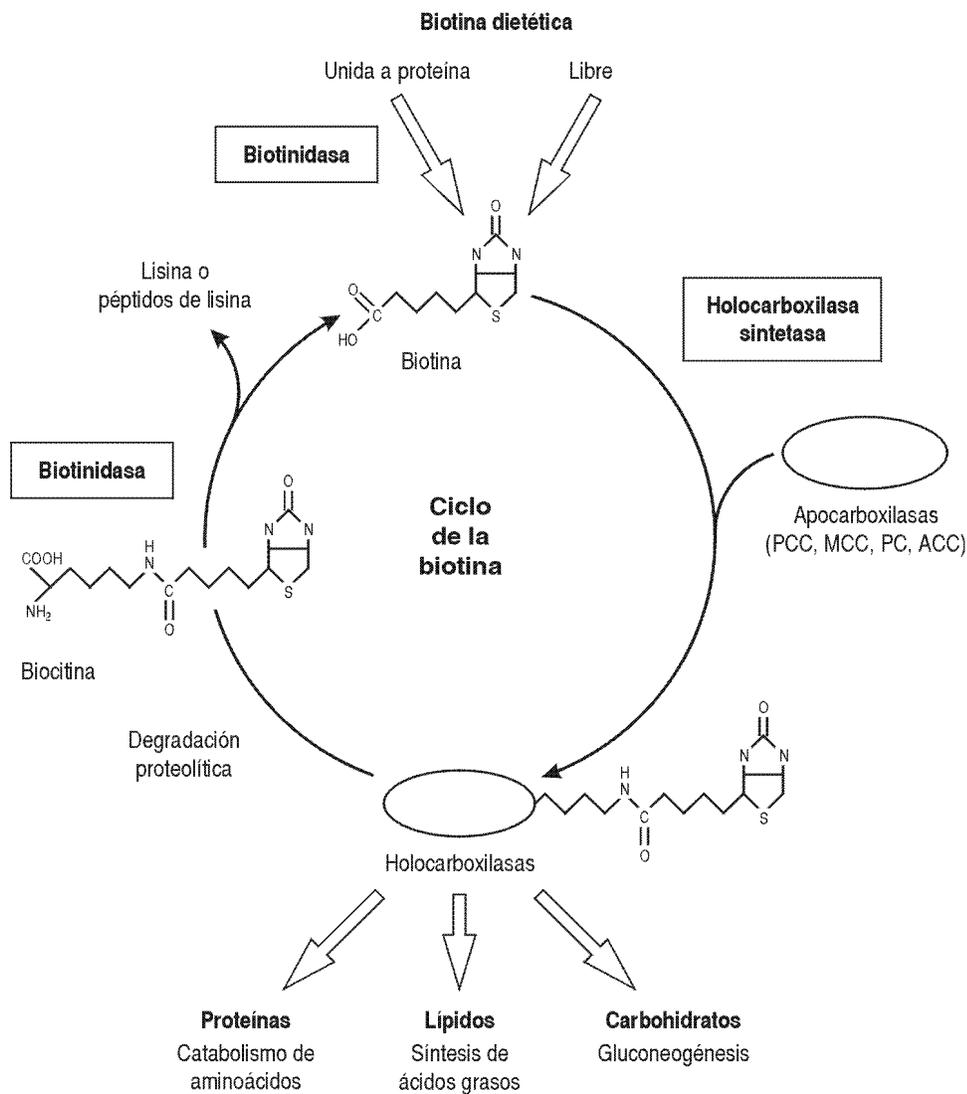


Figura 1.

Ciclo de la biotina. Las dos principales enzimas involucradas en este ciclo son la holocarboxilasa sintetasa, la cual une covalentemente la biotina a varias apocarboxilasas para formar holocarboxilasas; y la biotinidasa, enzima que libera a la biotina de la biocitina y de péptidos biotinilados cortos, los cuales son formados por la degradación proteolítica de las holocarboxilasas y de las proteínas provenientes de la dieta.

tidos que pueden, más tarde, ser absorbidos a través del epitelio intestinal.^{16,17} En este proceso, las proteínas con biotina son catabolizadas hasta péptidos pequeños y aminoácidos, entre los que se encuentra la biotinil-lisina, también conocida como biocitina.¹ La biotina es liberada de la biocitina por la acción de la biotinidasa, la cual corta específicamente la unión del péptido entre la biotina y el grupo ε-amino del residuo de lisina quedando disponible para su reutilización. Cabe mencionar que en estudios recientes, se ha sugerido que la biotinidasa puede tener otras funciones además de participar en el reciclamiento de la biotina. Así, se ha demostrado que la biotinidasa participa en el transporte de la biotina y actúa como enzima que biotinila histonas (con actividad de biotinil-transferasa).¹⁸⁻²⁰

Regulación de la expresión génica de las enzimas que participan en el ciclo de la biotina

Hasta ahora no existen estudios reportados acerca de si la biotina juega un papel regulador sobre la expresión génica de las enzimas que participan en su ciclo (carboxilasas, HCS, biotinidasa). En nuestro laboratorio hemos investigado el efecto de la biotina sobre la biosíntesis de carboxilasas: PC, PCC y la HCS. En hígados de ratas deficientes en biotina se encontró que la cantidad de proteína de la PC no se afectó, mientras que la PCC disminuyó substancialmente. No se observaron cambios asociados a la deficiencia de biotina en los niveles de ARN mensajeros de la PCC y la PC, por lo que la disminución de la masa proteínica de la PCC parece

estar mediada postranscripcionalmente.²¹ Por otro lado, tampoco hay estudios publicados sobre si la biotina regula la expresión génica de la biotinidasa y la holocarboxilasa sintetasa.

Papel de la biotina en la regulación de la expresión génica de algunas enzimas no relacionadas con su ciclo metabólico

Además de su papel como cofactor y probable regulador de la biosíntesis de las carboxilasas, la biotina está involucrada en otras áreas del metabolismo. Se ha descrito que tiene un papel muy importante en la regulación del operón de biotina en *E. coli*.^{22,23} En mamíferos, la biotina juega un papel en la proliferación y diferenciación celular,²⁴⁻²⁷ así como en la regulación de la síntesis de ciertas proteínas, entre las que se encuentran el receptor de la asialoglicoproteína²⁸ y varias enzimas reguladoras del metabolismo de glucosa.²⁹⁻³¹

En el caso de estas últimas enzimas se demostró por primera vez que una vitamina hidrosoluble produce efectos a nivel transcripcional, tanto inductor como supresor, comparable a la acción de ciertas hormonas.

Los mecanismos involucrados en la regulación de la expresión génica por biotina se desconocen, sin embargo es posible que existan receptores para biotina que actúen sobre elementos de respuesta que se unan a los promotores de los genes de estas enzimas. Aunque receptores para biotina aún no han sido identificados, se ha detectado la presencia de proteínas que unen biotina en el núcleo celular^{32,33} lo cual sugiere que pueden estar directamente involucradas en la regulación de estos genes.

ALTERACIONES DEL METABOLISMO DE BIOTINA

Deficiencia adquirida de biotina

La deficiencia de biotina se caracteriza por una reducción en la actividad de las cuatro carboxilasas dependientes de biotina. Clínicamente, los pacientes afectados presentan alopecia, dermatitis, erupción periorificial eritematosa, resequedad e infecciones. Se han documentado diversas alteraciones neurológicas, tales como depresión, somnolencia, dolor muscular y ataxia.^{34,35} La deficiencia en humanos es extremadamente rara. Se ha reportado en pacientes sometidos a alimentación parenteral³⁶ o personas que ingieren grandes cantidades de clara de huevo crudo,

la cual contiene la glicoproteína avidina, que se une con gran afinidad a la biotina, impidiendo su absorción.^{37,38} Sin embargo, trabajos previos en nuestro laboratorio, han reportado que una tercera parte de niños con desnutrición energético-proteínica grave (DEP) presentan deficiencia de biotina.³⁹⁻⁴¹ Utilizando la cromatografía gas-líquida acoplada a la espectrometría de masas se detectó en orina, que estos pacientes tenían patrones metabólicos anormales, similares a los que se observan en enfermos con errores innatos del metabolismo de biotina (ver más adelante); es decir, excretaban algunos ácidos orgánicos como 2-metilcitrónico y 3-hidroxipropiónico.⁴² Esto se corroboró al cuantificar los niveles subnormales de biotina en plasma de desnutridos, comparados con los de niños sanos, así como por una menor actividad de las tres carboxilasas mitocondriales en linfocitos de desnutridos. Posteriormente se practicó un estudio doble ciego, en el que un grupo de desnutridos recibió, al azar, un suplemento de biotina, y el otro recibió placebo. Se observó que mientras mayor era la deficiencia al inicio del estudio (menor actividad de las carboxilasas), mayor fue el incremento de estas actividades, pero únicamente en los que recibieron el suplemento de biotina, y no a quienes se administró el placebo. Además, en los pacientes que presentaron manifestaciones clínicas de la deficiencia al inicio del estudio, éstas desaparecieron únicamente en los que recibieron biotina.⁴⁰

Errores innatos del metabolismo de la biotina

En humanos existen enfermedades autosómicas recesivas del metabolismo de biotina que resultan de la alteración de la actividad de la HCS o de la biotinidasa. Los pacientes con estas enfermedades responden satisfactoriamente a dosis farmacológicas de biotina. Basándose en la edad de inicio de los síntomas, la deficiencia de HCS o biotinidasa son generalmente conocidas como forma neonatal o juvenil de deficiencia múltiple de carboxilasas, respectivamente.

Deficiencia de holocarboxilasa sintetasa

La deficiencia múltiple de carboxilasas causada por mutaciones en el gen de la HCS es el trastorno metabólico más severo. En este caso, la capacidad de las células para biotinilar las apocarboxilasas está directamente afectada, mientras que la liberación de la biotina intestinal y el reciclamiento endógeno de la vitamina son normales. El inicio de la enfermedad

ocurre generalmente dentro de las primeras horas después de nacer hasta los 15 meses de edad. Este trastorno produce un desajuste metabólico porque afecta la gluconeogénesis, síntesis y degradación de ácidos grasos, y el catabolismo de diferentes aminoácidos de cadena ramificada. La enfermedad es potencialmente fatal; sin embargo, todas las manifestaciones clínicas y bioquímicas pueden ser revertidas con dosis farmacológicas de biotina.^{43,44}

Deficiencia de biotinidasa

Un defecto en la actividad de la biotinidasa bloquea la liberación de biotina de los alimentos o de su reciclamiento después de la proteólisis de las carboxilasas. Este trastorno resulta en una deficiencia secundaria de biotina, que afecta la actividad de todas las carboxilasas. En estos pacientes el mecanismo de absorción intestinal de biotina y la biotinilación de las apocarboxilasas no se encuentra alterado, lo cual explica el porqué los niños responden rápidamente a la suplementación de biotina. El inicio de la enfermedad varía desde las dos primeras semanas de nacido hasta los dos años de edad. La actividad de biotinidasa en suero de individuos afectados es de 0 a 9% del promedio de la actividad normal.⁴⁵⁻⁴⁷

COMENTARIO FINAL

Esta revisión permite apreciar la enorme importancia y grandes perspectivas que tiene el estudio de la vitamina biotina. Existen grandes implicaciones prácticas en el área de la nutrición y la salud, así como también un gran potencial de aplicaciones a la resolución de problemas metabólicos específicos.

Por otra parte, los estudios descritos muestran que las vitaminas, además de su función ya conocida como cofactores de enzimas, tienen también efectos directos sobre la regulación de la expresión génica de proteínas específicas, por lo que se abre una nueva área para futuras investigaciones.

AGRADECIMIENTO

Al Dr. Antonio Velázquez Arellano, al Dr. Ignacio Camacho Arroyo y al Dr. Alfonso León del Río por sus críticas y comentarios a la presente revisión.

REFERENCIAS

- Wolf B. Disorders of biotin metabolism. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle A, eds. *The metabolic and molecular bases of inherited disease*. New York: McGraw-Hill, Inc. 1995; 3151-77.
- Moss J, et al. The biotin-dependent enzymes. *Adv Enzymol Relat Areas Mol Biol* 1971; 35: 321-442.
- Wallace JC, Jitrapakdee S, Chapman-Smith A. Piruvate carboxylase. *Int J Biochem Cell Biol* 1998; 30: 1-5.
- Jitrapakdee S, Wallace JC. Structure, function and regulation of pyruvate carboxylase. *Biochem J* 1999; 340: 1-16.
- Rosenberg LE. Disorders of propionate and methylmalonate metabolism. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle A, eds. *The metabolic and molecular bases of inherited disease*. New York: McGraw-Hill, Inc. 1995; 1423-51.
- Mock NI, Mock DM. Biotin deficiency in rats: disturbances of leucine metabolism are detectable early. *J Nutr* 1992; 122: 1493-9.
- Kim KH. Regulation of mammalian acetyl-coenzyme A carboxylase. *Annu Rev Nutr* 1997; 17: 77-99.
- Leon-Del-Río A, Leclerc D, Akerman B, Wakamatsu N, Gravel RA. Isolation of a cDNA encoding human holocarboxylase synthetase by functional complementation of a biotin auxotroph of *Escherichia coli*. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92: 4626-30.
- Leon-Del-Río A, Gravel RA. Sequence requirements for the biotinylation of carboxyl-terminal fragments of human propionyl-CoA carboxylase alpha subunit expressed in *Escherichia coli*. *J Biol Chem* 1994; 269: 22964-8.
- Tissot G, Pepin R, Job D, Douce R, Alban C. Purification and properties of the chloroplastic form of biotin holocarboxylase synthetase from *Arabidopsis thaliana* overexpressed in *Escherichia coli*. *Eur J Biochem* 1998; 258: 586-96.
- Tissot G, Job D, Douce R, Alban C. Protein biotinylation in higher plants: characterization of biotin holocarboxylase synthetase activity from pea (*Pisum sativum*) leaves. *Biochem J* 1996; 314: 391-5.
- Achuta P, Mistry S. Synthesis of biotin-dependent carboxylases from their apoproteins and biotin. *J Sci Ind Res* 1972; 31: 554-63.
- Suzuki Y, Aoki Y, Ishida Y, Chiba Y, Iwamatsu A, Kishino T, Nikawa N, Matsubara Y, Narisawa K. Isolation and characterization of mutations in the human holocarboxylase synthetase cDNA. *Nat Genet* 1994; 8: 122-8.
- Dupuis L, Campeau E, Leclerc D, Gravel RA. Mechanism of biotin responsiveness in biotin-responsive multiple carboxylase deficiency. *Mol Genet Metab* 1999; 66: 80-90.
- Chapman-Smith A, Cronan JE. The enzymatic biotinylation of proteins: a post-translational modification of exceptional specificity. *TIBS* 1999; 24: 359-63.
- Weiner D, Wolf B. Biotin uptake, utilization, and efflux in normal and biotin-deficient rat hepatocytes. *Biochem Med Metab Biol* 1991; 46: 344-63.
- León-del-Río A, Velázquez A, Vizcaíno G, Robles-Díaz G, González-Noriega A. Association of pancreatic biotinidase activity and intestinal uptake of biotin and biocytin in hamster and rat. *Ann Nutr Metab* 1990; 34: 266-72.
- Hymes J, Fleischhauer K, Wolf B. Biotinylation of histones by human serum biotinidase: assessment of biotinyl-transferase activity in sera from normal individuals and children with biotinidase deficiency. *Biochem Mol Med* 1995; 56: 76-83.
- Hymes J, Wolf B. Biotinidase and its roles in biotin metabolism. *Clin Chim Acta* 1996; 255: 1-11.
- Hymes J, Fleischhauer K, Wolf B. Biotinylation of biotinidase following incubation with biocytin. *Clin Chim Acta* 1995; 233: 39-45.
- Rodríguez-Meléndez R, Pérez-Andrade ME, Díaz A et al. Differential effects of biotin deficiency and replenishment on rat liver pyruvate and propionyl CoA carboxylases and on their mRNAs. *Molec Genet Metab* 1999; 66: 16-23.
- Cronan JE. Expression of the biotin biosynthetic operon of *Escherichia coli* is regulated by the rate of protein biotinylation. *J Biol Chem* 1988; 263: 10332-6.
- Cronan JE. The *E. coli* bio operon: transcriptional repression by an essential protein modification enzyme. *Cell* 1989; 58: 427-9.
- Dakshinamurti K, Chalifour LE, Bhullar RP. Requirement for biotin and the function of biotin in cells in culture. *Ann N Y Acad Sci* 1985; 447: 38-55.

25. Moskowitz M, Cheng DK. Stimulation of growth factor production in cultured cells by biotin. *Ann N Y Acad Sci* 1985; 447: 212-21.
26. Chalifour LE, Dakshinamurti K. The requirement of human fibroblasts in culture. *Biochem Biophys Res Commun* 1982; 104: 1047-53.
27. Cheng DK, Moskowitz M. Growth stimulation of Rous sarcoma virus-transformed BHK cells by biotin and serum lipids. *J Cell Physiol* 1982; 113: 487-93.
28. Collins JC, Paietta E, Green R, Morell AG, Stockert RJ. Biotin-dependent expression of the asialoglycoprotein receptor in HepG2. *J Biol Chem* 1988; 263: 11280-3.
29. Dakshinamurti K, Li W. Transcriptional regulation of liver phosphoenolpyruvate carboxykinase by biotin in diabetic rats. *Mol Cell Biochem* 1994; 132: 127-32.
30. Borboni P, Magnaterra R, Rabini RA, Fusco A, Marlier JL. Effect of biotin on glucokinase activity, mRNA expression and insulin release in cultured beta-cells. *Acta Diabetol* 1996; 33: 154-8.
31. Chauhan J, Dakshinamurti K. Transcriptional regulation of the glucokinase gene by biotin in starved rats. *J Biol Chem* 1991; 266: 1035-8.
32. Dakshinamurti K. Vitamin Receptors. In: *Vitamins as ligands in cell communication*. Cambridge: Cambridge Univ Press, 1994. 201-48.
33. Spence JT, Koudelka AP. Effects of biotin upon the intracellular level of cGMP and the activity of glucokinase in cultured rat hepatocytes. *J Biol Chem* 1984; 259: 6393-96.
34. Sweetman L, Surh L, Baker H, Peterson RM, Nyhan WL. Clinical and metabolic abnormalities in a boy with dietary deficiency of biotin. *Pediatrics* 1981; 68: 553-6.
35. Baumgartner ER, Suormala T. Multiple carboxylase deficiency: inherited and acquired disorders of biotin metabolism. *Int J Vitam Nutr Res* 1997; 67: 377-84.
36. Velázquez A, Zamudio S, Báez A, Munguia-Corral R, Rangel-Peniche B, Carrasco A. Indicators of biotin status: a study of patients on prolonged total parenteral nutrition. *Eur J Clin Nutr* 1990; 43: 11-6.
37. White HB, Orth WH, Schreiber RW, Whitehead CC. Availability of avidin-bound biotin to the chicken embryo. *Arch Biochem Biophys* 1992; 298: 80-3.
38. Watanabe T, Endo A. Teratogenic effects of avidin-induced biotin deficiency in mice. *Teratology* 1984 ;30: 91-4.
39. Velázquez A, Martín-del-Campo C, Báez A, et al. Biotin deficiency in severe protein-energy malnutrition. *Eur J Clin Nutr* 1988; 43: 169-73.
40. Velázquez A, Terán M, Baez A, Gutiérrez J, Rodríguez R. Biotin supplementation affects lymphocyte carboxylases and plasma biotin in severe protein-energy malnutrition. *Am J Clin Nutr* 1995; 61: 385-91.
41. Velázquez A. Biotin deficiency in protein-energy malnutrition: implications for nutritional homeostasis and individuality (Editorial by invitation). *Nutrition* 1997; 13(11-12): 991-2.
42. Terán-García M, Ibarra I, Velázquez A. Urinary organic acids in infant malnutrition. *Pediatric Res* 1998; 44: 124-8.
43. Aoki Y, Li X, Sakamoto O, Hiratsuka M, Akaishi H, Xu L et al. Identification and characterization of mutations in patients with holocarboxylase synthetase deficiency. *Hum Genet* 1999; 104: 143-8.
44. Thuy LP, Belmont J, Nyhan WL. Prenatal diagnosis and treatment of holocarboxylase synthetase deficiency. *Prenat Diagn* 1999; 19: 108-12.
45. Swango KL, Demirkol M, Huner G, Pronicka E, Sykut-Cegielska J, Schulze A et al. Partial biotinidase deficiency is usually due to the D444H mutation in the biotinidase gene. *Hum Genet* 1998; 102: 571-5.
46. Wolf B, Pomponio RJ, Norrgard KJ, Lott IT, Baumgartner ER, Suormala T et al. Delayed-onset profound biotinidase deficiency. *J Pediatr* 1998; 132: 362-5.
47. Rahman S, Standing S, Dalton RN, Pike MG. Late presentation of biotinidase deficiency with acute visual loss and gait disturbance. *Dev Med Child Neurol* 1997; 39: 830-1.

Reimpresos:

Rocío Rodríguez Meléndez
 Instituto Nacional de Pediatría
 A.P. 101-48,
 04530 México, D.F.
 Tel: 606 35 58
 Fax: 606 34 89
 e-mail: rociord@servidor.unam.mx

Recibido el 27 de abril de 1999.
 Aceptado el 9 de noviembre de 1999.