

# **CURSO “ON LINE” DE CRIBADO NEONATAL**

**1ª edición**



**SOCIEDAD ESPAÑOLA DE BIOQUÍMICA CLÍNICA  
Y PATOLOGÍA MOLECULAR**

## **MODULO II**

### **TEMA: ACIDEMIAS ORGÁNICAS**

**Hugo Rocha**

**Unidade de Rastreio Neonatal, Metabolismo e Genética**

**Departamento de Genética**

**Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge**

**Rua Alexandre Herculano, 321**

**4000-055 Porto, Portugal.**

**Teléfono +351 223401150**

**e-mail: [hugo.rocha@insa.min-saude.pt](mailto:hugo.rocha@insa.min-saude.pt)**

## 1. INTRODUCCIÓN <sup>(1, 2, 3)</sup>

La designación de acidurias orgánicas se aplica a un grupo de enfermedades metabólicas que se caracterizan por una excreción aumentada de ácidos orgánicos no-aminados en la orina. La gran mayoría resulta de disfunciones en las rutas del catabolismo de los aminoácidos, normalmente por una enzima que tiene una actividad deficiente.

La fisiopatología de este grupo de enfermedades metabólicas, que tienen muchas similitudes, resulta fundamentalmente de la acumulación de precursores tóxicos y de la deficiencia de productos de las rutas metabólicas afectas. Los precursores tóxicos son después direccionados a vías secundarias que los transforman en pequeñas moléculas también tóxicas para órganos como el cerebro, hígado, riñón, páncreas, etc.

La presentación clínica clásica, y como estamos hablando de enfermedades de intoxicación, incluye un periodo libre después del nacimiento en los primeros días de vida. Después debutan con síntomas de encefalopatía tóxica, vómitos, dificultades de alimentación, sintomatología neurológica con crisis convulsivas, letargia progresiva y coma.

Un estudio bioquímico puede revelar señales de una aciduria orgánica, como acidosis, cetosis, hiperamonemia, hipoglucemia, neutropenia y alteraciones de la función hepática. El análisis de un perfil de excreción de ácidos orgánicos en orina por cromatografía de gases con espectrometría de masas (GC/MS), es el mejor abordaje al diagnóstico. Estos son muy claros y específicos cuando el paciente está en un periodo de descompensación, pero para algunas de las enfermedades (formas más suaves) pueden estar normales en periodos de equilibrio metabólico. Las acilcarnitinas en plasma o sangre en papel, también pueden aportar información importante para el diagnóstico. La confirmación definitiva de la enfermedad se hace por determinación de la actividad de la enzima en linfocitos/fibroblastos o por estudios genéticos.

El abordaje terapéutico general de las acidurias orgánicas tiene dos principales enfoques: la eliminación del metabolito tóxico y la disminución de su producción. Para favorecer la eliminación es fundamental mantener un estado de hidratación adecuado, y se puede recurrir a detoxificadores fisiológicos (ej. carnitina). La disminución de la producción del metabolito tóxico se obtiene por: a) limitación de aporte del sustrato, normalmente aminoácidos, lo que se consigue por restricción proteica; b) la suplementación con coenzimas (ej. vitamina B12 y biotina) es útil en determinadas acidurias orgánicas donde éstas están deficitarias; c) prevención del catabolismo, a través de un adecuado aporte calórico. La intervención terapéutica en este grupo de enfermedades metabólicas conduce a resultados distintos dependiendo del defecto enzimático y de su severidad.

La gran mayoría de las acidurias orgánicas tienen origen en trastornos del catabolismo de los aminoácidos ramificados (valina, leucina e isoleucina) o de la lisina. Aquí se incluyen la aciduria glutárica tipo I, acidemia isovalérica, aciduria 3-hidroxi 3-metil glutárica, deficiencia de  $\beta$ -cetotiolasa, acidemia metilmalónica CblA y CblB, acidemia metilmalónica CblC y CblD, acidemia metilmalónica (mut0, mut-), acidemia propiónica, aciduria metilglutacónica, deficiencia de isobutiril CoA deshidrogenasa,

metilcrotonilglicinuria y metibutirilglicinuria, todas ellas susceptibles de ser incluidas en los programas de cribado neonatal. Además de éstas, la aciduria malónica y deficiencia múltiple de las carboxilasas son otras de las acidurias orgánicas consideradas para inclusión en los programas de cribado.

El cribado neonatal para estas enfermedades puede ser considerado si se expresan bioquímicamente en conjugados con la carnitina formando acilcarnitinas de distinta longitud. La intervención precoz en algunas enfermedades de este grupo conduce a una disminución de la morbimortalidad.

## 2. FISIOPATOLOGÍA

La fisiopatología de este grupo de enfermedades metabólicas resulta de la acumulación de precursores tóxicos y de la deficiencia de productos de las rutas metabólicas afectas. La acumulación de los precursores tóxicos son a veces direccionados a vías secundarias que los transforman en pequeñas moléculas tóxicas para órganos como el cerebro, hígado, riñón, páncreas, etc., que es lo que produce el desarrollo de sintomatología clínica.

### 2.1. Esquema de las rutas metabólicas implicadas.

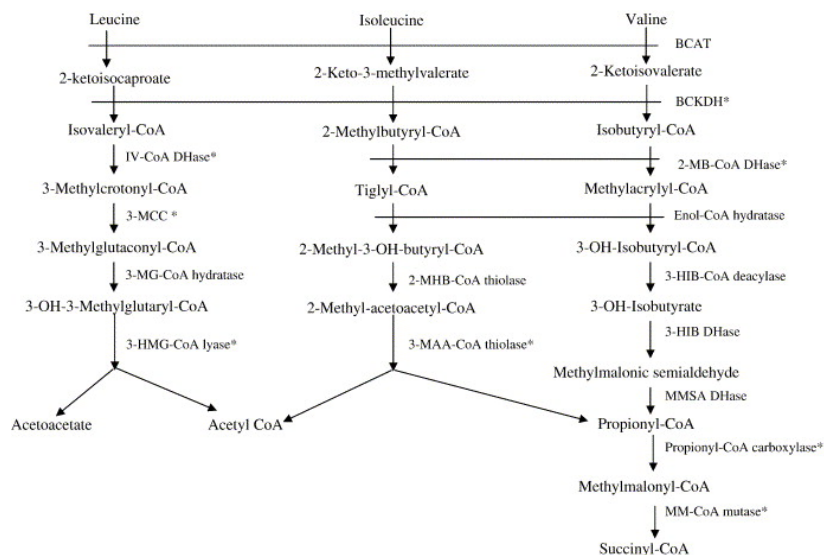


Figura 1: Catabolismo de la leucina, valina e isoleucina (4).

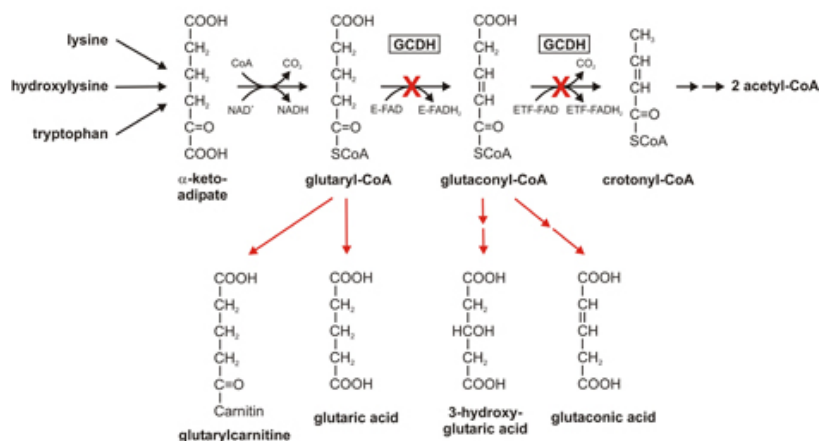


Figura 2: Catabolismo de la lisina, triptófano e hidroxilisina ([http://www.uke.de/kliniken/kinderklinik/images\\_content/klinik-kinder- jugendmedizin/klinik\\_kinderklinik\\_molekularbiologie\\_Introducton\\_Fig1.jpg](http://www.uke.de/kliniken/kinderklinik/images_content/klinik-kinder- jugendmedizin/klinik_kinderklinik_molekularbiologie_Introducton_Fig1.jpg))

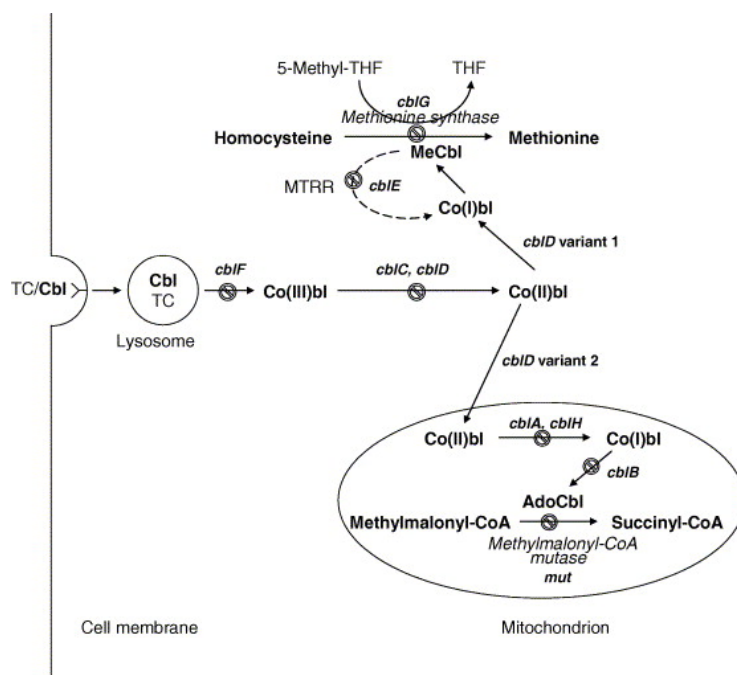


Figura 3: Metabolismo de la cobalamina (5).

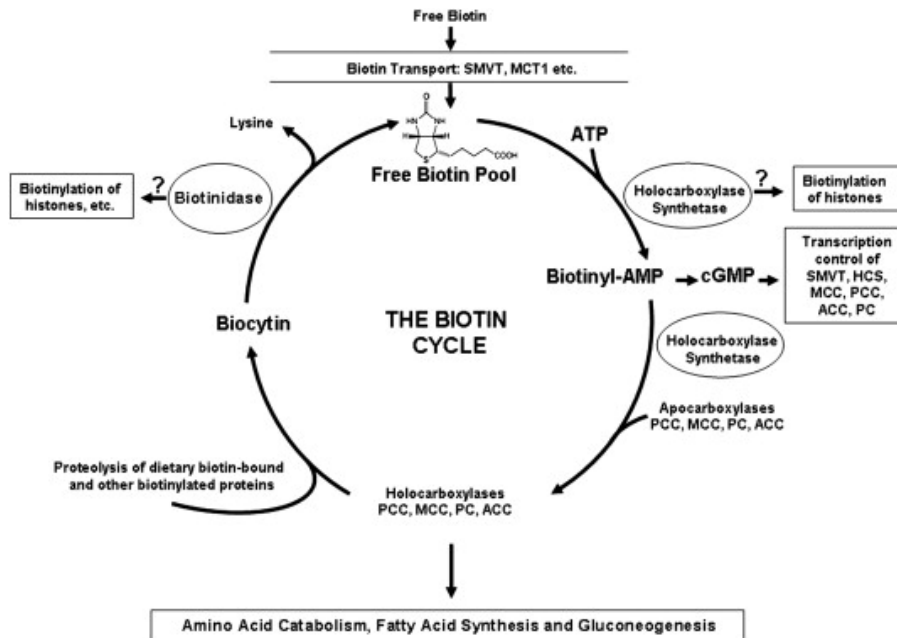


Figura 4: Ciclo de la biotina (6).

## 2.2. Patrón de herencia.

Las acidurias orgánicas a cribar siguen un patrón de herencia autosómica recesiva.

## 3. CONSEJO GENÉTICO Y DIAGNÓSTICO PRENATAL

Debe ofrecerse consejo genético a los padres de un recién nacido afecto, informándoles que su descendencia tiene un 25% de posibilidades de presentar mutaciones en homocigosis, 50% de ser portadores y un 25% de no presentar mutaciones.

El diagnóstico prenatal es posible si se analiza la actividad enzimática de amniocitos o tras secuenciación del gen de células fetales obtenidas por amniocentesis o en vellosidades coriónicas.

## 4. PATOLOGÍAS CRIBADAS EN SCREENING NEONATAL

### 4.1. Aciduria glutárica tipo I (OMIM: 231670)

#### 4.1.1. Alteración metabólica (1, 2, 3, 7)

La aciduria glutárica tipo I es provocada por un fallo en la vía metabólica del catabolismo de los aminoácidos lisina, hidroxilisina y triptófano. La enzima deficitaria es la glutaril CoA deshidrogenasa, responsable de catalizar la deshidrogenación del glutamil CoA y del glutaconil CoA a crotonil CoA.

En una situación de actividad deficiente de la enzima glutaril CoA deshidrogenasa se acumulan sus precursores, en especial el ácido glutárico que se elimina por orina. El

ácido glutárico también se conjuga con la carnitina originando la glutarilcarnitina. Pero la excreción de ácido glutárico en orina no es específica de la aciduria glutárica tipo I, existiendo otras causas primarias y secundarias para su excreción (ej. Deficiencia de ETF/ETFDH, deficiencias en riboflavina, producción bacteriana, etc). La presencia del glutárico con el 3-OH-glutárico, sí es fuertemente indicador de aciduria glutárica tipo I.

Bioquímicamente se definen dos subgrupos de pacientes, bajos o altos excretores de ácido glutárico en orina.

#### **4.1.2. Clínica** (1, 2, 3, 7)

Los niños afectados pueden permanecer casi asintomáticos en las primeras etapas de su vida, presentando síntomas inespecíficos como dificultades de alimentación, retraso moderado del desarrollo motor y en ocasiones macrocefalia. Pero manifiestan una afectación grave del desarrollo neurológico después de crisis encefalopáticas (normalmente desencadenadas por fiebre, vacunaciones o intervenciones quirúrgicas). La crisis encefalopática afecta al 75% de los pacientes y surge en torno al año de vida. El hecho de no presentarse con hipoglucemia o acidosis metabólica dificulta la sospecha de una aciduria orgánica. Tras la crisis encefalopática, la mayoría de los pacientes presenta gran disfunción neurológica con hipotonía.

Se puede distinguir dos presentaciones clínicas distintas, una asociada a los altos excretores y otra a los bajos. Los altos excretores de ácido glutárico presentan macrocefalia con abombamiento frontal que suele estar presente desde al nacimiento o desarrollarse en el primer semestre de vida, con un perímetro cefálico superior al P<sub>97</sub>. La macrocefalia ocurre conjuntamente con una neuroimagen con señales de atrofia cerebral. Los bajos excretores no son macrocefálicos y presentan una TAC normal.

#### **4.1.3. Diagnóstico (bioquímico, enzimático y genético)** (3, 4, 8)

El cribado se hace por detección de un aumento de la glutarilcarnitina (C5-DC) en muestra de sangre impregnada en papel, por espectrometría de masas en tándem (MS/MS).

La confirmación se realiza por cuantificación de ácidos orgánicos en orina mediante GC/MS: aumento de los ácidos glutárico, glutacónico y 3-hidroxi glutárico.

La actividad enzimática de la glutaril CoA deshidrogenasa se realiza en fibroblastos de piel. El diagnóstico genético se hace estudiando el gen GCDH, que codifica la enzima glutaril CoA deshidrogenasa, localizado el cromosoma 19 (19p13.2). Presenta un patrón de herencia autosómica recesiva.

#### **4.1.4. Tratamiento** (1, 2, 11)

Restricción proteica y fórmula libre de aminoácidos precursores. Suplementos de carnitina y riboflavina.

### **4.2. Acidemia Isovalérica (OMIM: 243500)**

#### **4.2.1. Alteración metabólica** (1, 2, 3)

La aciduria isovalérica es causada por una deficiencia de la enzima mitocondrial isovaleril-CoA deshidrogenasa, que cataliza la conversión de isovaleril-CoA en 3-metilcrotonil-CoA, en la ruta del metabolismo de la leucina.

En situaciones que presentan déficit de actividad se acumulan derivados de la isovaleril-CoA, concretamente el ácido isovalérico libre, ácido 3-hidroxi isovalérico e isovalerilglicina. Conjugación con carnitina origina la isovalerilcarnitina.

#### **4.2.2. Clínica** (1, 2, 3)

Se pueden distinguir dos formas de presentación clínica. Una grave de presentación en el primer mes de vida y otra crónica, intermitente en el primer año de vida. En el período neonatal los signos clínicos suelen ser: rechazo de la alimentación, vómitos, deshidratación, letargia y/o coma, cetoacidosis metabólica y veces hiperamonemia e hipocalcemia. Las presentaciones menos graves se caracterizan por retraso de desarrollo y/o retraso mental. Se han descrito algunas situaciones en que los pacientes se encuentran asintomáticos hasta la edad adulta y debutan después de una situación de aumento del catabolismo proteico (ej. infección, entrenamiento físico, etc.).

#### **4.2.3. Diagnóstico (bioquímico, enzimático y genético)** (3, 4, 8)

El cribado se hace por detección de un aumento de la isovalerilcarnitina (C5) en muestra de sangre impregnada en papel, por espectrometría de masas en tándem (MS/MS). La C5 representa en realidad una mezcla de isómeros incluyendo no solo la isovalerilcarnitina sino también la 2-metilbutirilcarnitina y la pivaloilcarnitina (derivado del ácido piválico, componente de algunos antibióticos, que provoca falsos positivos). En cribado no es posible distinguir estas entidades y solo el estudio del perfil de ácidos orgánicos en orina permite diferenciar estas enfermedades. La aciduria glutárica tipo 2 (trastorno de la beta oxidación mitocondrial de los ácidos grasos) también puede originar un aumento de la isovalerilcarnitina, pero no aisladamente.

La confirmación se hace por cuantificación de ácidos orgánicos en orina mediante GC/MS: aumento de la isovalerilglicina y del ácido 3-hidroxi isovalérico.

La determinación de la actividad enzimática de la isovaleril-CoA deshidrogenasa se realiza en fibroblastos de piel. El diagnóstico genético se hace estudiando el gen IVD (15q14-q15), que codifica la isovaleril-CoA deshidrogenasa, y tiene una herencia autosómica recesiva.

#### **4.2.4. Tratamiento** (1, 2, 9)

Restricción proteica y fórmula libre de aminoácidos precursores (leucina). Suplementos de carnitina y/o glicina.

### **4.3. Aciduria 3-hidroxi 3-metil glutárica (OMIM: 246450)**

#### **4.3.1. Alteración metabólica** (1, 2, 3)

La aciduria 3-hidroxi 3-metil glutárica es causada por una deficiencia de la enzima mitocondrial 3-hidroxi 3-metilglutaril-CoA liasa, en la ruta del metabolismo de la leucina. Además de catalizar el último paso del metabolismo de la leucina, esta enzima cataliza también el último paso de la cetogénesis, convirtiendo el 3-hidroxi 3-metilglutaril-CoA en acetil-CoA y acetoacetato, pudiendo considerarse tanto un trastorno del metabolismo de los aminoácidos como de los ácidos grasos.



En situaciones de deficiencia de actividad de la enzima se acumulan derivados de la 3-hidroxi 3-metil glutaril-CoA, concretamente el ácido 3-hidroxi 3-metil glutárico, 3-hidroxi isovalérico y 3-metilglutacónico. La conjugación con carnitina origina la 3-hidroxi isovalerilcarnitina (C5OH) y la metilglutarilcarnitina (C6DC).

#### 4.3.2. Clínica <sup>(1, 2, 3)</sup>

Hasta el 50% de los pacientes presentan síntomas en la primera semana de vida y los restantes hasta los dos años. Clínicamente se presentan con episodios de descompensación metabólica con vómitos, letargia e hipotonía, en algunos casos coma. Bioquímicamente tienen acidosis metabólica con hipoglucemia hipocetósica severa, a veces con hiperamonemia.

#### 4.3.3. Diagnóstico (bioquímico, enzimático y genético) <sup>(3, 4, 8)</sup>

El cribado se hace por detección de un aumento de la 3-hidroxi isovalerilcarnitina (C5OH) y de la metilglutarilcarnitina (C6DC) en muestra de sangre impregnada en papel, por espectrometría de masas en tándem (MS/MS). La C5OH representa en realidad una mezcla de isómeros: 3-hidroxi isovalerilcarnitina y 2-metil 3-hidroxi butirilcarnitina. La asociación de la C5OH con C6DC es específica de la aciduria 3-hidroxi 3-metil glutárica.

La confirmación se hace cuantificando los ácidos orgánicos en orina mediante GC/MS: aumento de los ácidos 3-hidroxi 3-metil glutárico, 3-metil glutámico, 3-hidroxi isovalérico y 3-metilglutacónico.

La determinación de la actividad enzimática de la 3-hidroxi 3-metilglutaril-CoA liasa se hace en fibroblastos de piel. El diagnóstico genético se realiza estudiando el gen HMGCL (1p36.1), que codifica la 3-hidroxi 3-metilglutaril-CoA liasa, y tiene una herencia autosómica recesiva.

#### 4.3.4. Tratamiento <sup>(1, 2, 9)</sup>

Dieta restrictiva en leucina y grasas, suplementada con carnitina. Evitar ayuno y dietas cetogénicas e hiperproteicas. Manejo de situaciones agudas de cetoacidosis con glucosa IV y bicarbonato.

### 4.4. Deficiencia de $\beta$ -cetotiolasa (OMIM: 203750)

#### 4.4.1. Alteración metabólica <sup>(1, 2, 3)</sup>

La deficiencia de  $\beta$ -cetotiolasa es causada por un déficit enzimático de la acetoacetil-CoA tiolasa (MAT), en la ruta del catabolismo de la isoleucina. Esta enzima cataliza la transferencia reversible de un grupo acetilo de dos moléculas de acetil-CoA, para formar acetoacetil-CoA y CoA libre, reacción también fundamental en la cetogénesis/cetolisis. En situaciones de actividad deficiente de esta enzima se verifica un aumento de cuerpos cetónicos (cetoacidosis).

#### 4.4.2. Clínica <sup>(1, 2, 3)</sup>

Los pacientes presentan períodos intermitentes de cetoacidosis, con un desarrollo y estado general bueno entre episodios. Hay presentaciones de mayor



gravedad con retraso severo y fallecimiento en el primer episodio, normalmente asociado a un estrés catabólico.

#### 4.4.3. Diagnóstico (bioquímico, enzimático y genético) <sup>(3, 4, 8)</sup>

El cribado se hace por detección de un aumento de la 2-metil 3-hidroxi butirilcarnitina (C5OH) y de la tiglicilcarnitina (C5:1) en muestra de sangre impregnada en papel, por espectrometría de masas en tándem (MS/MS). La 3-hidroxi butirilcarnitina (C4OH) también puede encontrarse elevada.

La confirmación diagnóstica se realiza por cuantificación de ácidos orgánicos en orina mediante GC/MS: aumento de los ácidos 2-metil 3-hidroxi butírico, 2-metilacetoacético, 3-hidroxi butírico y tiglicilglicina.

La determinación de la actividad enzimática de la acetoacetil-coA tiolasa se hace en fibroblastos de piel o leucocitos. El diagnóstico genético se realiza estudiando el gen ACAT1 (11q22.3-q23.1), que codifica la acetoacetil-CoA tiolasa, y tiene una herencia autosómica recesiva.

#### 4.4.4. Tratamiento <sup>(1, 2, 9)</sup>

Evitar ayuno y dietas cetogénicas e hiperproteicas. En situaciones agudas evitar deshidratación, glucosa IV y bicarbonato.

### 4.5. Acidemia metilmalónica (mut 0 y mut-) (OMIM: 251000)

#### 4.5.1. Alteración metabólica <sup>(1, 2, 3)</sup>

La acidemia metilmalónica (AMM) es causada por una deficiente actividad de la enzima metilmalonil-CoA mutasa, en la ruta catabólica de la isoleucina y valina. La metilmalonil-CoA mutasa cataliza la conversión de metilmalonil-CoA en succinil-CoA, está localizada en la mitocondria y tiene como coenzima la adenosilcobalamina (forma activa de la vitamina B<sub>12</sub>)

Ante la presencia de déficit enzimático se acumulan no sólo el ácido metilmalónico, sino también la propionilglicina y 3-OH-propiónico, así como la propionilcarnitina.

#### 4.5.2. Clínica <sup>(1, 2, 3)</sup>

La acidemia metilmalónica, por defecto en la enzima metilmalonil-CoA mutasa se subdivide en dos formas clínicas: la mut 0, con una ausencia total de función enzimática y mut-, en que la enzima presenta un defecto de estabilidad y afinidad para la adenosilcobalamina. Las mut 0 se presentan en el 80% de los casos con síntomas en la primera semana de vida, con acidosis metabólica grave, hipoglucemia, neutropenia, hiperamonemia, rechazo alimentario, vómitos, hipotonía y daño neurológico progresivo. Las formas mut- son más suaves y los síntomas surgen después del primer mes de vida.

#### 4.5.3. Diagnóstico (bioquímico, enzimático y genético) <sup>(3, 4, 8)</sup>

El cribado se hace por detección de un aumento de la propionilcarnitina (C3) y de los cocientes propionil/acetilcarnitina (C3/C2) y propionil/palmitoilcarnitina

(C3/C16) en muestra de sangre impregnada en papel, por espectrometría de masas en tándem (MS/MS). La concentración de metilmalonilcarnitina (C4DC), que es en realidad la suma de metilmalonilcarnitina y succinilcarnitina, no siempre está aumentada a la edad en la que se realiza el cribado neonatal y por ello no es marcador de las acidemias metilmalónicas. El aumento de la C3 y de los cocientes C3/C2 y C3/C16 son también los marcadores de la acidemia propiónica y de defectos del metabolismo de la cobalamina. Es recomendable implementar pruebas de segundo nivel para la determinación del ácido metilmalónico y 3-OH-propiónico en sangre en papel. Falsos positivos pueden ocurrir debido a déficit materno de vitamina B<sub>12</sub>

La confirmación se hace por cuantificación de ácidos orgánicos en orina mediante GC/MS: aumento de los ácidos metilmalónico, metilcítrico, 3-OH-propiónico y propionilglicina.

La actividad enzimática de la metilmalonil-CoA mutasa se determina en fibroblastos de piel. El diagnóstico genético se realiza estudiando el gen MUT (6p12.3), que codifica la metilmalonil-CoA mutasa, y que tiene una herencia autosómica recesiva.

#### 4.5.4. Tratamiento <sup>(1, 2, 9)</sup>

Restricción proteica, fórmulas libres de precursores, L-carnitina y antibióticos.

### 4.6. Acidemia metilmalónica: Cbl A y Cbl B (OMIM: 251100;251110)

#### 4.6.1. Alteración metabólica <sup>(1, 2, 3)</sup>

Defectos en el metabolismo intracelular de las cobalaminas pueden afectar la actividad de las enzimas que tienen una de las cobalaminas como cofactor. Una de ellas es la metilmalonil-CoA mutasa cuyo cofactor es la adenosilcobalamina. Las deficiencias en la translocasa de la cobalamina para la mitocondria (CblA) o en la adenosilreductasa (CblB) comprometen la síntesis de adenosilcobalamina y consecuentemente la actividad de la metilmalonil-CoA mutasa.

#### 4.6.2. Clínica <sup>(1, 2, 3)</sup>

Similar a los déficits de metilmalonil-CoA mutasa. Un 30-40% de los casos presentan cetoacidosis en la primera semana de vida, en torno al 10% son formas de presentación tardía (más de 1 año de vida). Los pacientes no tratados presentan retraso de desarrollo, hipotonía y elevada mortalidad durante los episodios agudos.

#### 4.6.3. Diagnóstico (bioquímico, enzimático y genético) <sup>(1, 3, 4, 8)</sup>

El cribado se hace por detección de un aumento de la propionilcarnitina (C3) y de los cocientes propionil/acetilcarnitina (C3/C2) y propionil/palmitoilcarnitina (C3/C16) en muestra de sangre impregnada en papel, por espectrometría de masas en tándem (MS/MS). La metilmalonilcarnitina (C4DC), que en realidad es la suma de metilmalonilcarnitina y succinilcarnitina, no está aumentada en las acidemias metilmalónicas. El aumento de la C3 y de los cocientes C3/C2 y C3/C16 son también los marcadores de la acidemia propiónica, metilmalónica (mut 0 y mut-) y de los defectos del metabolismo de la cobalamina. Es recomendable implementar pruebas de segundo nivel para determinar el ácido metilmalónico y 3-OH-propiónico en sangre en papel. Falsos positivos pueden ocurrir debido a déficit de vitamina B<sub>12</sub> materna por dieta vegetariana.

La confirmación se hace por cuantificación de ácidos orgánicos en orina mediante GC/MS: aumento de los ácidos metilmalónico, metilcítrico, 3-OH-propiónico y propionilglicina.

Estudios de incorporación de  $^{14}\text{C}$ -propionato y su respuesta a la OH-cobalamina y análisis de complementación se hacen en fibroblastos de piel. El diagnóstico genético se hace estudiando los genes MMAA (4q31.21) y MMAB (12q24.11), y tiene una herencia autosómica recesiva.

#### 4.6.4. Tratamiento <sup>(1, 2, 9)</sup>

Restricción proteica y suplementación con OH-cobalamina, fórmulas libres de precursores y L-carnitina.

### 4.7. Acidemia metilmalónica con homocistinuria: Cbl C y Cbl D (OMIM: 277440;277410)

#### 4.7.1. Alteración metabólica <sup>(1, 2, 3)</sup>

Defectos en el metabolismo intracelular de las cobalaminas pueden afectar la actividad de las enzimas que tienen una de las cobalaminas como cofactor. Entre éstas se encuentra la metilmalonil-CoA mutasa que tiene la adenosilcobalamina como cofactor. En las AMM CblC/CblD los pasos iniciales del metabolismo de las cobalaminas están comprometidos, resultando en un déficit de adenosilcobalamina y metilcobalamina, y consecuentemente una disminución de la actividad de las enzimas que los utilizan como cofactores: la metilmalonil-CoA mutasa y la metileno-tetrahidrofolato: homocisteína metiltransferasa (también conocida por sintetasa de la metionina). La deficiente actividad de la metilmalonil-CoA mutasa origina la acumulación de ácido metilmalónico, propionilglicina, 3-OH-propiónico y propionilcarnitina. La deficiente actividad de la sintetasa de la metionina origina una disminución de la metionina y acumulación de homocisteína.

#### 4.7.2. Clínica <sup>(1, 2, 3)</sup>

Los pacientes con AMM CblC/D presentan síntomas en los primeros años de vida (algunos incluso en la primera semana). Los síntomas más relevantes son retraso del crecimiento, letargia, afectación neurológica severa y anemia megaloblástica.

#### 4.7.3. Diagnóstico (bioquímico, enzimático y genético) <sup>(3, 4, 8)</sup>

El cribado se hace por detección de un aumento de la propionilcarnitina (C3) y de los cocientes propionil/acetilcarnitina (C3/C2) y propionilcarnitina/metionina (C3/met) en muestra de sangre impregnada en papel, por espectrometría de masas en tándem (MS/MS). El aumento de la C3 y el cociente C3/C2 son también los marcadores de la acidemia propiónica, metilmalónica (mut 0 y mut-) y de los defectos del metabolismo de la cobalamina. Es recomendable implementar pruebas de segundo nivel para determinación del ácido metilmalónico, 3-OH-propiónico y homocisteína en sangre en papel. Falsos positivos pueden ocurrir debido a déficit de vitamina B<sub>12</sub> materna por dieta vegetariana.

La confirmación se hace por cuantificación de ácidos orgánicos en orina mediante GC/MS: aumento de los ácidos metilmalónico, metilcítrico, propiónico, 3-OH-propiónico y propionilglicina, y aumento de homocisteína en el análisis de aminoácidos en sangre.

Estudios de incorporación de  $^{14}\text{C}$ -propionato y su respuesta a la OH-cobalamina y análisis de complementación se hacen en fibroblastos de piel. El diagnóstico genético se hace estudiando los genes MMACHC (1p34.1) y MMADHC (2q32.1), y tiene una herencia autosómica recesiva.

#### 4.7.4. Tratamiento (1, 2, 5, 11)

Restricción proteica y suplementación con cobalamina, fórmulas libres de precursores, L-carnitina.

### 4.8. Acidemia propiónica (OMIM:232000;232050)

#### 4.8.1. Alteración metabólica (1, 2, 3, 10)

La acidemia propiónica (AP) es causada por una deficiente actividad de la enzima propionil-CoA carboxilasa, en la ruta catabólica de la isoleucina y valina. La propionil-CoA carboxilasa cataliza la conversión de propionil-CoA en D-metilmalonil-CoA, está localizada en la mitocondria y tiene como coenzima la biotina.

En situaciones de deficiente actividad de la enzima se acumulan el ácido propiónico, 3-OH-propiónico y propionilcarnitina.

#### 4.8.2. Clínica (1, 2, 3, 10)

La presentación clínica incluye vómitos, deshidratación, letargia y encefalopatía. Los síntomas se pueden presentar en el periodo neonatal (25%) con acidosis metabólica severa e hiperamoniemia graves que pueden conducir a daño neurológico severo, coma y muerte. Hay formas con fenotipo más suave que suelen presentarse más tardíamente.

#### 4.8.3. Diagnóstico (bioquímico, enzimático y genético) (3, 4, 8)

El cribado se hace por detección de un aumento de la propionilcarnitina (C3) y de los cocientes propionil/acetilcarnitina (C3/C2) y propionil/palmitoilcarnitina (C3/C16) en muestra de sangre impregnada en papel, por espectrometría de masas en tándem (MS/MS). El aumento de la C3 y de los cocientes C3/C2 y C3/C16 son también los marcadores de la acidemia metilmalónica (mut 0 y mut-) y de los defectos del metabolismo de la cobalamina. Es recomendable implementar pruebas de segundo nivel para determinación del ácido metilmalónico y 3-OH-propiónico en sangre en papel. Falsos positivos pueden ocurrir debido a déficit de vitamina B<sub>12</sub> materna por dieta vegetariana.

La confirmación se hace por cuantificación de ácidos orgánicos en orina mediante GC/MS: aumento de los ácidos metilcítrico, 3-OH-propiónico y propionilglicina.

La determinación de la actividad enzimática de la propionil-CoA carboxilasa se realiza en fibroblastos de piel. El diagnóstico genético se hace estudiando los genes PCCA (13q32) y PCCB (3q21-q22), y tiene una herencia autosómica recesiva.

#### 4.8.4. Tratamiento <sup>(1, 2, 9, 11)</sup>

Restricción proteica, fórmula libre de aminoácidos precursores y suplemento de L-carnitina y antibióticos.

### 4.9. Aciduria 3-metilglutacónica (OMIM: 250950)

#### 4.9.1. Alteración metabólica <sup>(1, 2, 3, 12)</sup>

La aciduria 3-metilglutacónica es en realidad un grupo heterogéneo de cinco trastornos del metabolismo que tienen en común la excreción aumentada del ácido 3-metilglutacónico y 3-metilglutárico en orina. La aciduria 3-metilglutacónica tipo I es causada por una deficiencia en la actividad de la enzima 3-metilglutaconil-CoA hidratasa, y es un defecto primario en la ruta catabólica de la leucina. Las otras formas (tipo II a tipo V) son consideradas secundarias y la causa del aumento de los ácidos 3-metilglutacónico y 3-metilglutárico no está clarificada para todos. Solo la aciduria 3-metilglutacónica tipo I es considerada una enfermedad candidata a ser cribada.

#### 4.9.2. Clínica <sup>(1, 2, 3, 12)</sup>

La sintomatología clínica se caracteriza por retraso psicomotor, acidosis metabólica, distonía muscular y afectación neurológica. Los síntomas pueden surgir a edad temprana y varían desde retraso del lenguaje y acidosis hiperclorémica hasta formas más graves con convulsiones, alteraciones cerebelosas y atrofia de ganglios basales.

#### 4.9.3. Diagnóstico (bioquímico, enzimático y genético) <sup>(3, 4, 8)</sup>

El cribado se hace por detección de un aumento de la 3-hidroxisovalerilcarnitina (C5OH) en muestra de sangre impregnada en papel, por espectrometría de masas en tándem (MS/MS). El aumento de la C5OH también ocurre en la metilcrotonilglicinuria, deficiencia de  $\beta$ -cetotiolasa, 2-metil 3-hidroxiisovalerilglicinuria, aciduria 3-OH-3-metilglutárica y deficiencia de holocarboxilasa sintetasa.

La confirmación se hace por cuantificación de ácidos orgánicos en orina mediante GC/MS: aumento de los ácidos 3-metil glutacónico, 3-metilglutárico y 3-hidroxiisovalérico.

La determinación de la actividad enzimática de la 3-metilglutaconil-CoA hidratasa se hace en fibroblastos de piel o leucocitos. El diagnóstico genético se establece estudiando el gen AUH (9q22.2), que codifica la 3-metilglutaconil-CoA hidratasa y tiene una herencia autosómica recesiva.

#### 4.9.4. Tratamiento <sup>(1, 2)</sup>

Suplementación con carnitina y restricción moderada de leucina.

### 4.10. Deficiencia de isobutiril-CoA deshidrogenasa (OMIM:604773)

#### 4.10.1. Alteración metabólica <sup>(1, 2, 3)</sup>

La deficiencia de isobutiril-CoA deshidrogenasa es un trastorno metabólico en la ruta del metabolismo de la valina. La enzima isobutiril-CoA deshidrogenasa cataliza la

reacción de conversión de isobutiril-CoA en metilacrilil-CoA en la matriz de la mitocondria.

En situaciones de deficiente actividad de la enzima se acumulan isobutirilglicina en orina e isobutirilcarnitina (C4) en el análisis de acilcarnitinas.

#### **4.10.2. Clínica**<sup>(1, 2, 3)</sup>

Miocardopatía dilatada, anemia y retraso de crecimiento. Hay formas asintomáticas.

#### **4.10.3. Diagnóstico (bioquímico, enzimático y genético)**<sup>(3, 4, 8)</sup>

El cribado se hace por detección de un aumento de la isobutirilcarnitina (C4) en muestra de sangre impregnada en papel, por espectrometría de masas en tándem (MS/MS). El aumento de la C4 (suma de butirilcarnitina e isobutirilcarnitina) también ocurre en la deficiencia de la Acil-coA deshidrogenasa de cadena corta (SCAD), un trastorno de la oxidación de los ácidos grasos.

En la cuantificación de ácidos orgánicos en orina mediante GC/MS puede encontrarse aumentada la isobutirilglicina.

La confirmación se hace recurriendo a determinación de la actividad enzimática de la isobutiril-CoA deshidrogenasa en fibroblastos de piel. El diagnóstico genético se realiza estudiando el gen ACAD8 (11q25), que codifica la isobutiril-CoA deshidrogenasa y tiene una herencia autosómica recesiva.

#### **4.10.4. Tratamiento**<sup>(1, 2)</sup>

Administración de carnitina y restricción de ingesta de proteínas (concretamente valina) y de grasas.

### **4.11. Metilcrotonilglicinuria (OMIM:210200;210210)**

#### **4.11.1. Alteración metabólica**<sup>(1, 2, 3, 13)</sup>

La metilcrotonilglicinuria es causada por una deficiencia de la enzima 3-metilcrotonil-CoA carboxilasa, en la ruta del metabolismo de la leucina. Esta enzima cataliza la conversión de 3-metilcrotonil-CoA en 3-metilglutaconil-CoA.

En situaciones de deficiente actividad de la enzima se acumulan los ácidos 3-hidroxi isovalérico y 3-metilcrotonilglicina. La conjugación con carnitina origina C5OH y la C5:1.

#### **4.11.2. Clínica**<sup>(1, 2, 3, 13)</sup>

La variabilidad clínica es muy grande, desde pacientes con cuadros clínicos complejos a pacientes adultos asintomáticos. Los síntomas pueden incluir hipoglucemia, hiperamonemia, acidosis metabólica, cetonuria, náuseas, vómitos, fallo hepático, convulsiones y coma.

#### **4.11.3. Diagnóstico (bioquímico, enzimático y genético)**<sup>(3, 4, 8)</sup>

El cribado se hace por detección de un aumento de la 3-hidroxi isovalerilcarnitina (C5OH) en muestra de sangre impregnada en papel, por espectrometría de masas en tándem (MS/MS). El aumento de la C5OH también ocurre en la aciduria 3-metilglutacónica, deficiencia de  $\beta$ -cetotilasa, 2-metil 3-hidroxi butirilglicinuria, aciduria 3-OH-3-metilglutárica y deficiencia de holocarboxilasa sintetasa. En ocasiones se asocia al aumento de la 3-metilcrotonilglicina (C5:1; isómero de la tiglilcarnitina).

La confirmación se hace por cuantificación de ácidos orgánicos en orina mediante GC/MS: aumento de los ácidos 3-hidroxi isovalérico y 3-metilcrotonilclicina

La determinación de la actividad enzimática de 3-metilcrotonil-CoA carboxilasa se hace en fibroblastos de piel o leucocitos. El diagnóstico genético se realiza estudiando los genes MCC1 (3q25-q27) y MCC2 (5q12-q13), que codifican las subunidades de la 3-metilcrotonil-CoA carboxilasa y tienen una herencia autosómica recesiva.

#### **4.11.4. Tratamiento**<sub>(1, 2, 13)</sub>

Restricción proteica moderada (leucina) y administración de carnitina.

### **4.12. Metilbutirilglicinuria (OMIM:600301)**

#### **4.12.1. Alteración metabólica**<sub>(1, 2, 3)</sub>

La metilbutirilglicinuria es causada por una deficiencia de la enzima 2-metilbutiril-CoA deshidrogenasa, en la ruta del metabolismo de la isoleucina y valina. Esta enzima cataliza la conversión de 2-metilbutiril-CoA en tiglil-CoA y de isobutiril-CoA en metilacrilil-CoA.

En situaciones de deficiente actividad de la enzima se acumula la 2-metilbutirilglicina en orina. La conjugación con carnitina origina la 2-metilbutirilcarnitina (C5).

#### **4.12.2. Clínica**<sub>(1, 2, 3)</sub>

Los pacientes pueden presentar pérdida de apetito, retraso de crecimiento, letargia, acidosis metabólica, vómitos, hipoglucemia, convulsiones y coma.

#### **4.12.3. Diagnóstico (bioquímico, enzimático y genético)**<sub>(3, 4, 8)</sub>

El cribado realiza por la detección de un aumento de la isovalerilcarnitina (C5) en muestra de sangre impregnada en papel, por espectrometría de masas en tándem (MS/MS). La C5-carnitina representa en realidad una mezcla de isómeros incluyendo la isovalerilcarnitina, la 2-metilbutirilcarnitina y la pivaloilcarnitina (derivado del ácido piválico componente de algunos antibióticos, que origina falsos positivos). En el cribado no es posible distinguir estas entidades y sólo el estudio del perfil de ácidos orgánicos en orina permite diferenciar estas enfermedades. La aciduria glutárica tipo 2 (trastorno de la beta oxidación mitocondrial de los ácidos grasos) también puede originar un aumento de la C5, pero no aisladamente.

La confirmación se hace por cuantificación de ácidos orgánicos en orina mediante GC/MS: aumento de la 2-metilbutirilglicina.



La determinación de la actividad enzimática de la 2-metilbutiril-CoA deshidrogenasa se realiza en fibroblastos de piel o leucocitos. El diagnóstico genético se realiza estudiando el gen ACADSB (10q26.13), que codifica la 2-metilbutiril-CoA deshidrogenasa, y tiene una herencia autosómica recesiva.

#### **4.12.4. Tratamiento** <sup>(1, 2)</sup>

Evitar períodos prolongados de ayuno. Dieta restringida en proteínas (isoleucina).

### **4.13. Aciduria malónica**

#### **4.13.1. Alteración metabólica** <sup>(1, 2, 3)</sup>

La aciduria malónica es provocada por una disminución de la actividad de la enzima mitocondrial malonil-CoA descarboxilasa, que cataliza la conversión de malonil-CoA en acetil-CoA, en el metabolismo de los lípidos.

En situaciones de deficiente actividad de la enzima se acumulan el ácido malónico y metilmalónico en orina. La conjugación con carnitina origina la malonilcarnitina (C3DC).

#### **4.13.2. Clínica** <sup>(1, 2, 3)</sup>

La presentación clínica incluye retraso del desarrollo neurológico, convulsiones, vómitos, acidosis metabólica y cardiopatía hipertrófica.

#### **4.13.3. Diagnóstico (bioquímico, enzimático y genético)** <sup>(3, 4, 8)</sup>

El cribado se hace por detección de un aumento de la malonilcarnitina (C3DC) en muestra de sangre impregnada en papel, por espectrometría de masas en tándem (MS/MS).

La confirmación se hace por cuantificación de ácidos orgánicos en orina mediante GC/MS: aumento del ácido malónico y metilmalónico, en ocasiones con presencia de succínico, etilmalónico, adípico y subérico.

La determinación de la actividad enzimática de la malonil-CoA descarboxilasa se realiza en fibroblastos de piel. El diagnóstico genético se hace estudiando el gen MLYCD (16q23.3), que codifica la malonil-CoA descarboxilasa y tiene una herencia autosómica recesiva.

#### **4.13.4. Tratamiento** <sup>(1, 2, 11)</sup>

Dieta pobre en grasas y abundante en carbohidratos.

### **4.14. Deficiencia en holocarboxilasa sintetasa (OMIM:253270)**

#### **4.14.1. Alteración metabólica** <sup>(1, 2, 3)</sup>

La deficiencia en holocarboxilasa sintetasa es una enfermedad metabólica que afecta el metabolismo de la biotina (vitamina H), comprometiendo la disponibilidad de este importante cofactor. La enzima holocarboxilasa sintetasa cataliza la formación de holocarboxilasas enzimáticamente activas, y que son cofactores de cuatro importantes carboxilasas: piruvato carboxilasa, propionil-CoA carboxilasa, 3-metilcrotonil-CoA carboxilasa y acetil-CoA carboxilasa. La deficiencia en la actividad de estas

carboxilasas (también conocida por deficiencia múltiple de las carboxilasas) resulta en una acumulación de ácido láctico, 3-hidroxi isovalérico, 3-hidroxi propiónico, metilcítrico, 3-metilcrotonilglicina y propionilglicina. La conjugación con carnitina origina la propionilcarnitina (C3) y la 3-hidroxi isovalerilcarnitina (C5OH).

#### 4.14.2. Clínica<sup>(1, 2, 3)</sup>

En la mayoría de los pacientes las manifestaciones clínicas se presentan en los primeros días de vida, con síntomas clásicos de intoxicación aguda: acidosis metabólica, cetosis masiva, hiperamonemia, hipoglucemia, hipotonía, vómitos, letargia y coma. Presentaciones más tardías son raras, pero también están descritas (casos infantiles).

#### 4.14.3. Diagnóstico (bioquímico, enzimático y genético)<sup>(3, 4, 8)</sup>

El cribado se hace por detección de un aumento de la 3-hidroxi isovalerilcarnitina (C5OH) en muestra de sangre impregnada en papel, por espectrometría de masas en tándem (MS/MS). El aumento de la C5OH también ocurre en la aciduria 3-metilglutacónica, deficiencia de  $\beta$ -cetotilasa, 2-metil 3-hidroxi butirilglicinuria, aciduria 3-OH-3-metilglutárica y metilcrotonilglicinuria. Puede no encontrarse elevada la propionilcarnitina (C3).

La confirmación se hace por cuantificación de ácidos orgánicos en orina mediante GC/MS: aumento de los ácidos láctico, 3-hidroxi isovalérico, 3-hidroxi propiónico, metilcítrico, 3-metilcrotonilglicina y propionilglicina.

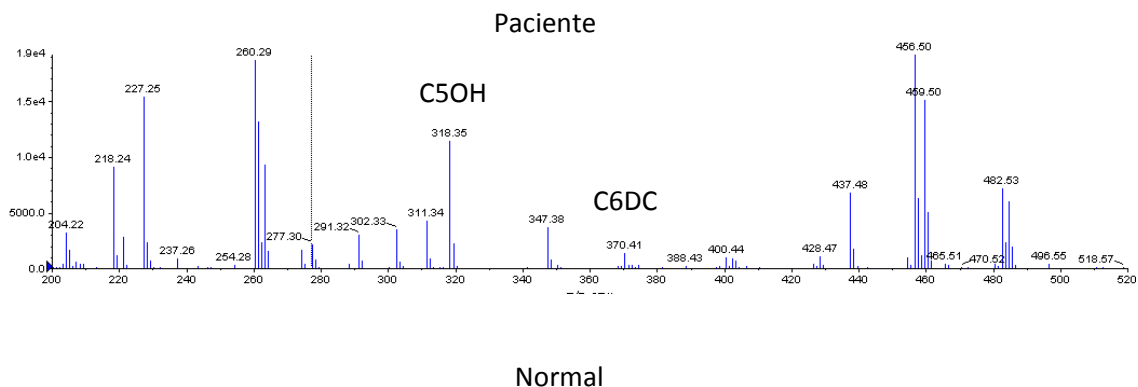
La determinación de la actividad enzimática de la holocarboxilasa sintetasa se realiza en fibroblastos de piel. El diagnóstico genético se hace estudiando el gen HLCS (2q22.13) y tiene una herencia autosómica recesiva.

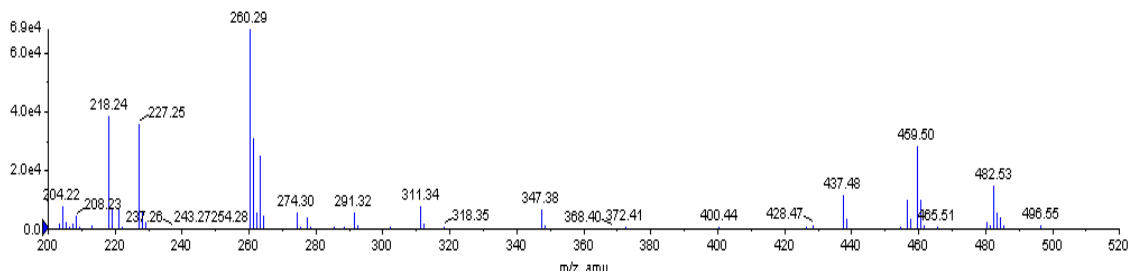
#### 4.14.4. Tratamiento<sup>(1, 2, 11)</sup>

El tratamiento consiste en la administración de biotina.

## 5. CASO PRÁCTICO

Paciente nacido el 12/11/2011, 37 semanas de gestación. La muestra de cribado se recogió al tercer día de vida y se recibió en el laboratorio al séptimo día de vida, obteniendo el siguiente perfil de acilcarnitinas en sangre impregnada en papel:





Tras cuantificación se obtuvieron los siguientes resultados:

C5OH: 3.5  $\mu$ M (Normal<0.52)

C6DC: 0.98  $\mu$ M (Normal<0.12)

Se deduce de un aumento de acilcarnitinas compatible con una aciduria 3-hidroxi 3-metil glutárica.

## 6. BIBLIOGRAFIA.

- 1) Jean-Marie Saudubray, Georges van den Berghe, John H. Walter (eds) Inborn Metabolic Diseases: Diagnosis and Treatment. Springer; 5th ed. 2012 edition (January 20, 2012)
- 2) A. Baldellou y P. Sanjurjo (eds). Diagnostico y Tratamiento de las Enfermedades Metabolicas Hereditarias - 3ª Ed Ergon; 3ª. PAGES: 1328 edition (2010)
- 3) N. Blau, M. Duran, M.E. Blaskovics, K.M. Gibson (eds) Physician's Guide to the Laboratory Diagnosis of Metabolic Diseases. Springer; 2nd edition (November 23, 2004).
- 4) Garg U, Dasouki M. Expanded newborn screening of inherited metabolic disorders by tandem mass spectrometry: clinical and laboratory aspects. Clin Biochem. 2006 Apr;39(4):315-32

- 5) Morel CF, Lerner-Ellis JP, Rosenblatt DS. Combined methylmalonic aciduria and homocystinuria (cb1C): phenotype-genotype correlations and ethnic-specific observations. *Mol Genet Metab.* 2006 Aug;88(4):315-21.
- 6) Pindolia K, Chen J, Cardwell C, Cui X, Chopp M, Wolf B. Neurological deficits in mice with profound biotinidase deficiency are associated with demyelination and axonal degeneration. *Neurobiol Dis.* 2012 Sep;47(3):428-35.
- 7) Kölker S, Burgard P, Sauer SW, Okun JG. Current concepts in organic acidurias: understanding intra- and extracerebral disease manifestation. *J Inherit Metab Dis.* 2013;36(4):635-44.
- 8) Chace DH, Kalas TA, Naylor EW. Use of tandem mass spectrometry for multianalyte screening of dried blood specimens from newborns. *Clin Chem.* 2003 Nov;49(11):1797-817.
- 9) Knerr I, Weinhold N, Vockley J, Gibson KM. Advances and challenges in the treatment of branched-chain amino/keto acid metabolic defects. *J Inherit Metab Dis.* 2012 Jan;35(1):29-40.
- 10) Vaidyanathan K, Narayanan MP, Vasudevan DM. Organic acidurias: an updated review. *Indian J Clin Biochem.* 2011 Oct;26(4):319-25
- 11) Lilliu F. Treatment of organic acidurias and urea cycle disorders. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2010;Suppl 3:73-5.
- 12) Wortmann SB, Kluijtmans LA, Rodenburg RJ, Sass JO, Nouws J, van Kaauwen EP, Kleefstra T, Tranebjaerg L, de Vries MC, Isohanni P, Walter K, Alkuraya FS, Smuts I, Reinecke CJ, van der Westhuizen FH, Thorburn D, Smeitink JA, Morava E, Wevers RA. 3-Methylglutaconic aciduria-lessons from 50 genes and 977 patients. *J Inherit Metab Dis.* 2013 Jan 25.
- 13) Grünert SC, Stucki M, Morscher RJ, Suormala T, Bürer C, Burda P, Christensen E, Ficicioglu C, Herwig J, Kölker S, Möslinger D, Pasquini E, Santer R, Schwab KO, Wilcken B, Fowler B, Yue WW, Baumgartner MR. 3-methylcrotonyl-CoA carboxylase deficiency: clinical, biochemical, enzymatic and molecular studies in 88 individuals. *Orphanet J Rare Dis.* 2012 May 29;7:31.