

DIAGNÓSTICO PRECOZ DE LOS ERRORES CONGÉNITOS DEL METABOLISMO



PREMIO REINA SOFÍA 2008
DE PREVENCIÓN DE LA DISCAPACIDAD

D O C U M E N T O S • 72/2009



GOBIERNO
DE ESPAÑA

MINISTERIO
DE SANIDAD
Y POLÍTICA SOCIAL



**PREMIO REINA SOFÍA 2008,
de PREVENCIÓN DE LA DISCAPACIDAD**

**DIAGNÓSTICO PRECOZ
DE LOS ERRORES CONGÉNITOS
DEL METABOLISMO:
*un camino hacia la salud y la prevención***

**Unidad de Diagnóstico y Tratamiento de los Errores Congénitos del Metabolismo
(UDTECM)**

Departamentos de Pediatría

Hospital Clínico Universitario (CHUS). Servicio Galego de Saúde. Consellería de
Sanidade

Facultad de Medicina y Odontología de la Universidad de Santiago de Compostela
(USC)

Santiago de Compostela. Galicia. (España)



Memoria de la labor de investigación galardonada con la dotación para la candidatura española de los Premios Reina Sofía 2008, de Prevención de la Discapacidad.

Edita: Real Patronato sobre Discapacidad
Cuidado de la edición y distribución: Centro Español de Documentación sobre Discapacidad
Serrano, 140. 28006 Madrid. Tel.: 917 452 449 - 46. Fax: 914 115 502
cedd@cedd.es - www.cedd.net

Diseño y producción: Editorial POLIBEA, S.L.
Imprime: Industrias Gráficas Caro S.L.

NIPO: 662-09-007-6
Depósito Legal: M-30631-09



Papel ecológico reciclado
Libre de cloro

Autores:

**José María Fraga Bermúdez,
José Ramón Alonso Fernández,
José A. Cocho de Juan,
M^a Dolores Bóveda Fontán,
Daisy E. Castiñeiras Ramos,
Cristóbal Colón Mejeras,
Agustín J. Iglesias Rodríguez,
Maira Rebollido Fernández,
M^a Luz Couce Pico.**

Colaboradores:

José Ramón Fernández Lorenzo, José Rodríguez Cervilla, Juan Varela Iglesias,
M^a Isabel Martínez Soto, M^a José Fernández Seara y Alejandro Pérez Muñuzury.

Centro:

**Unidad de Diagnóstico y Tratamiento de los Errores Congénitos del Metabolismo (UDTECM).
Servicio de Neonatología.
Departamentos de Pediatría del Hospital Clínico Universitario (CHUS) del Servicio Galego de
Saúde - Consellería de Sanidade – Xunta de Galicia, y de la Facultad de Medicina y Odontología de
la Universidad de Santiago de Compostela (USC).**

Adscripción de los autores:

José María Fraga Bermúdez, médico, catedrático de Pediatría^{1,2,3}, Jefe de Servicio^{1,2,3} y Director¹.
José Ramón Alonso Fernández, químico, Prof. Asociado^{1,3}, Jefe de Sección³.
José A. Cocho de Juan, químico, doctor, Facultativo especialista^{1,3}.
M^a Dolores Bóveda Fontán, química, Facultativo especialista^{1,3}.
Daisy E. Castiñeiras Ramos, farmacéutica, Facultativo^{1,3}.
Cristóbal Colón Mejeras, médico, doctor, Facultativo^{1,3}.
Agustín J. Iglesias Rodríguez, médico, Facultativo^{1,3}.
Maira Rebollido Fernández, química, doctora, investigadora^{1,3}, y
M^a Luz Couce Pico, médico, doctora, Prof. Asociada^{1,2,3}, Facultativo especialista^{1,2,3}.

y colaboradores:

José Ramón Fernández Lorenzo, médico, doctor, Prof. Titular de Pediatría^{2,3}, Jefe de Sección^{2,3}; José
Rodríguez Cervilla, médico, doctor, Prof. Asociado^{2,3}, Jefe de Sección^{2,3}; Juan Varela Iglesias, médico,
Prof. Asociado^{2,3}, Facultativo especialista^{2,3}; M^a Isabel Martínez Soto, médico, doctora, Prof. Asociada^{2,3},
Facultativo especialista^{2,3}; M^a José Fernández Seara, médico, Facultativo especialista^{2,3}; y Alejandro Pérez
Muñuzury, médico, Facultativo especialista^{2,3}.

Centro:

**Unidad de Diagnóstico y Tratamiento de los Errores Congénitos del Metabolismo (UDTECM)¹.
Servicio de Neonatología².
Departamentos de Pediatría del Hospital Clínico Universitario (CHUS) del Servicio Galego de
Saúde - Consellería de Sanidade - Xunta de Galicia, y de la Facultad de Medicina y Odontología de
la Universidad de Santiago de Compostela (USC)³.**

AGRADECIMIENTOS

A los niños y a sus familias, sujetos activos del programa.

A los pacientes de ECM y a sus familias por su ejemplar empeño y lucha por la superación de las dificultades y por mantener siempre una positiva esperanza; siempre son nuestro estímulo. A las asociaciones de pacientes.

A las asociaciones, fundaciones, Ministerios de Sanidad (FIS) y de Educación (DIGICYT, etc.), Consellería de Sanidade de la Xunta de Galicia, que posibilitaron el desarrollo de los programas de investigación y de aplicación que hicieron posible esta memoria.

A las autoridades y sanitarios de la Consellería de Sanidade de la Xunta de Galicia, especialmente a la Dirección Xeral de Saúde Pública, por su responsabilidad y ayuda.

A los facultativos y demás personal del antiguo Hospital General de Galicia y hoy Hospital Clínico Universitario y del Servicio Galego de Saúde y a sus equipos gerenciales por su comprensión y ayuda.

A la Universidad de Santiago de Compostela, por acogernos y por su solidaridad en las investigaciones y actividades docentes.

A los que están, son y/o fueron pero no figuran (a todos aquellos que no se encuentran referidos, pero que saben que formaron parte o fueron: colaboradores, becarios, doctorandos, alumnos, a.....).

ÍNDICE

Prólogo	7
Presentación de la memoria y preámbulo	9
Introducción	13
Resultados globales del programa de diagnóstico precoz neonatal (Cribado)	17
Cribado Neonatal abierto (CNa) y Cribado Neonatal Ampliado (CNA).	23
Defectos de la beta oxidación de los ácidos grasos (FAO)	27
Déficit en el metabolismo de los ácidos orgánicos	31
Fibrosis Quística (FQ) (FC)	33
Programas en desarrollo	35
<i>Hemoglobinopatías</i>	35
<i>Cribado neonatal de los errores congénitos del metabolismo</i> <i>(ECM) lisosomales.</i>	35
<i>Ampliación del programa al análisis de los metabolitos urinarios</i> <i>mediante ESI MS/MS.</i>	38
Situación del programa de CNA	42
Proyección de nuestros resultados a la generalización del CNA.	44
Sensibilización a la sociedad en el diagnóstico precoz y en la prevención. Difusión del conocimiento	46
Unidad de Referencia en Diagnóstico de Errores Congénitos del Metabolismo (UDTECM).	49
Calidad de la actividad desarrollada en la Unidad.	49
Cumplimiento del modelo del programa	52
Unidad de Tratamiento y Seguimiento de los ECM (Casa Médica de los pacientes con ECM)	55
Futuro: el inmediato y el del devenir	61
Bibliografía.	63

PRÓLOGO

El jurado de los Premios Reina Sofía 2008, de Prevención de la Discapacidad distinguió la actividad desarrollada por el Dr. José María Fraga Bermúdez y su equipo, del Hospital Clínico Universitario de Santiago de Compostela, que están realizado desde el año 1978 cuando se creó la Unidad de Diagnóstico y Tratamiento de los Errores Congénitos del Metabolismo. Desde entonces, su trabajo ha ido avanzando, hasta convertirse en un referente nacional e internacional.

Los avances científicos que han tenido lugar en los últimos años han permitido identificar síndromes y enfermedades de etiología y naturaleza desconocida que, hasta hace tan sólo unos años, quedaban subsumidos por su baja incidencia en la definición genérica de “enfermedades raras”, entre las que se encuentran las enfermedades metabólicas. Según los datos de la Dirección General de Sanidad y Protección de los Consumidores de la Comisión Europea, se considera que entre 5.000 y 8.000 enfermedades raras distintas afectan, en algún momento de la vida, a entre el 6 y el 8 por ciento de la población total de la Unión Europea.

La Comisión Europea adoptó el 11 de noviembre de 2008 la ‘*Comunicación COMM 679 al Parlamento Europeo, al Consejo, al Comité Económico y Social Europeo y al Comité de las Regiones sobre las enfermedades raras: un reto para Europa*’, así como una proposición de Recomendación del Consejo relativa a una acción europea en el ámbito de las enfermedades raras, en las que se define una estrategia comunitaria global destinada a ayudar a los Estados Miembros en materia de diagnóstico, de tratamiento y de atención para los 36 millones de ciudadanos de la UE que sufren este tipo de enfermedades.

En España, se estima que hay, aproximadamente, 3 millones de afectados por estas patologías, cuya atención ha sido una prioridad en la política de salud pública, orientada a favorecer el tratamiento de estos pacientes y a avanzar en la búsqueda de terapias que den soluciones a su enfermedad.

En el documento emitido tras la celebración de la 58ª Asamblea Mundial de la Salud, que tuvo lugar el 25 de mayo de 2005, la OMS insta a los Estados Miembros a que refuercen los programas, políticas y estrategias nacionales encaminadas a coordinar los esfuerzos de todos los sectores de la sociedad por participar en las actividades de prevención de la discapacidad, así como a adoptar todas las medidas necesarias para reducir los factores de riesgo que contribuyen a producir discapacidades durante el embarazo y la infancia. Asimismo, insta a los Estados Miembros a que investiguen y pongan en práctica las medidas más eficaces para prevenir las discapacidades, con la participación de todos los sectores de la sociedad. En materia de prevención es justo reconocer que, junto con los avances logrados a través de políticas eficaces desarrolladas por los poderes públicos, con la colaboración del sector privado, aún queda tarea por desarrollar.

Por todo ello, trabajos como el que se ha premiado en esta ocasión es la muestra del esfuerzo de todo un equipo, no sólo para profundizar en las tareas de investigación en un campo tan amplio como el de los errores congénitos del metabolismo, sino para dar a conocer los resultados de estas investigaciones, para acercarlas al público, para “popularizarlas”, de forma que, si bien sigan siendo enfermedades de incidencia limitada, sean cada vez menos raras y, por tanto, cuenten con mayor apoyo tanto individual como colectivo. Desde el Real Patronato sobre Discapacidad apoyaremos cuantas iniciativas se desarrollen en este sentido.

Ignacio Robles García

Director Técnico

Real Patronato sobre Discapacidad

PRESENTACIÓN DE LA MEMORIA Y PREÁMBULO

Esta memoria-resumen recoge sucintamente las investigaciones y trabajos llevados a cabo en la Unidad de Diagnóstico y Tratamiento de los Errores Congénitos del Metabolismo (UDTECM), del Departamento de Pediatría del Hospital Clínico Universitario de Santiago de Compostela desde su constitución en el año 1978. Refleja el trabajo realizado durante tres décadas dedicadas a la aplicación del conocimiento científico y tecnológico al diagnóstico precoz de los trastornos congénitos del metabolismo (ECM), con el objetivo de evitar patologías que supongan un riesgo para el pleno desarrollo de cada individuo desde el momento del nacimiento. El acercamiento a los ECM sólo se puede hacer de una forma multidisciplinar e integrada. Analistas, sanitarios, psicólogos, nutricionistas, asistentes sociales, bioquímicos, genetistas, farmacéuticos, etc. y un gran número de especialidades médicas (neonatólogos, pediatras, neurólogos, endocrinólogos, genetistas, rehabilitadores, nefrólogos, etc.) necesitamos intercambiar conocimientos y experiencias para llevar a cabo programas integrados con un mismo objetivo. Para la atención adecuada de estos enfermos complejos o afectados de estas enfermedades “raras”, que están tan necesitadas del conocimiento y de la experiencia común y del fácil acceso a intervenciones médicas urgentes y de tipo sanitario, hemos adoptado el modelo de “cuidado médico de la salud centrado en el niño y familia” que es desarrollado por la Academia Americana de Pediatría (AAP) con el nombre de “Casa u Hogar Médico” y que ha sido adoptada también por el American College of Physicians- Internal Medicine (ACP) (2006) y la American Academy of Family Physicians (AAFP) (2008) como la mejor forma de llevar a cabo la atención médica de los pacientes, especialmente la de aquellos con trastornos crónicos, constituyendo en nuestra unidad de tratamiento la estructura funcional de “Casa Médica de los ECM”.

Al desarrollo de este ambicioso, y por qué no ejemplar, programa preventivo de deficiencias han contribuido numerosas instituciones y personas. Citarlos a todos es casi imposible. Entre los antecedentes y generadores de la ilusión y del germen un maestro imprescindible fue el Prof. José Peña Guitián. El Real Patronato de Educación y Atención a Deficientes desarrolló un Plan Nacional de Prevención de la Subnormalidad (RD 15/08/1978) bajo el cual se desarrolló inicialmente nuestro Centro, a través de sucesivos convenios entre el Ministerio de Sanidad, el entonces Hospital General de Galicia y la Universidad de Santiago de Compostela a través de su Departamento de Pediatría. La USC, los equipos de gestión del Hospital Clínico Universitario y los directivos y compo-

mentes de la Dirección Xeral de Salud Pública de la Consellería de Sanidade de la Xunta de Galicia, desde la asunción de las transferencias, fueron con su apoyo institucional elementos copartícipes en el desarrollo y aplicación.

El equipo de la Unidad de Diagnóstico y Tratamiento de los Errores Congénitos del Metabolismo (CHUS-SERGAS – USC) está constituido por los autores y los colaboradores de este trabajo y por los técnicos especialistas de laboratorio: M^a Carmen Castiñeiras Rodríguez, TEL; Beatriz Osorio Fernández, TEL; Pilar Villar Carril, TEL y el personal administrativo: María Vázquez Varela, administrativa; Pilar Prieto Coello, auxiliar administrativa y Milagros Cajade Rodríguez, auxiliar administrativa.

Justo es decir que el esfuerzo y dedicación, para hacer de esta Unidad un centro de referencia ha excedido por parte de sus constituyentes a una dedicación, un esfuerzo y un interés que nada tiene que ver con la obligación y el estricto cumplimiento de la norma.

Cabe mencionar también aquí a los Centros Hospitalarios y de Atención Sanitaria que colaboran en los distintos programas, a las asociaciones de padres, a las Unidades que conforman la Casa Médica de Atención a los Niños con ECM y que facilitan su tratamiento y la prevención. El objetivo de conseguir el pleno desarrollo de estos niños afectados de estas enfermedades raras, el entusiasmo y energía desplegados por las familias han sido el estímulo para conseguir el diagnóstico precoz, la prevención cuando posible, y el acompañar a un gran número de profesionales sanitarios cuya máxima es trabajar para que un día los ECM no sean motivo de discapacidad, ni representen un desafío familiar, social, terapéutico o sanitario como al que tenemos todos que enfrentarnos en el día a día ante “el caso raro”, la orfandad terapéutica y la soledad de lo muy complejo.

Desde mediados de los años 80 toda la población nacida en Galicia a partir de esa fecha se ha beneficiado de esta atención sanitaria preventiva, lo que significa que todos los gallegos menores de 20 años han visto mejorado el nivel de protección de su salud ejerciéndose al menos en mil de ellos las medidas sanitarias adecuadas para evitar, disminuir o mejorar su discapacidad.

La labor integradora y multidisciplinar de nuestra Unidad ha sido reconocida por el Real Patronato de Prevención y de Atención a Personas con Minusvalía en el Acuerdo firmado por la Reina (figura) y que dirigido al Laboratorio de Detección Precoz de Enfermedades Metabólicas del SERGAS. Hospital General de Galicia. Departamento de Pediatría el 6 de junio de 1995 dice: “...*CONOCIENDO... iniciativas pioneras que sirvieron de fundamento a la creación de una red que cubre todo el territorio nacional, así mismo, la labor de atención clínica y provisión dietética que se ha venido prestando a*

los afectos de alteraciones metabólicas, el trabajo de apoyo sanitario y cooperación que vienen llevando a cabo los padres de aquéllos, y APRECIANDO los sobresalientes méritos científicos y sanitarios alcanzados en España por la actividad detectora y de atención clínica, así como la muy destacada expresión de ayuda mutua protagonizada por las asociaciones de familiares...acuerda por unanimidad un VOTO DE RECONOCIMIENTO”, a nuestra Unidad.

La significancia de nuestra labor es reconocida por destacados investigadores y profesionales del ámbito de estudio de los errores congénitos del metabolismo, tanto en el campo científico como en los medios de difusión social. En el *Diario Médico*, en el 2003 (10/11), la Prof. Magdalena Ugarte, galardonada en 1982 con el Premio Reina Sofía de Investigación sobre Prevención de las Subnormalidad, declaró que “cuando hay sospecha de una enfermedad congénita del metabolismo los datos se envían a uno de los tres centros que hay en España -Barcelona, Madrid y Santiago de Compostela- para su confirmación”. “De todos ellos, el del Hospital Universitario de Santiago de Compostela es el único que realiza un cribado neonatal ampliado, algo que se debería imponer en toda



Real Patronato de Prevención y de Atención a Personas con Minusvalía

PRESIDENCIA DE HONOR

La presente copia es fiel reproducción de su original, que está depositado en la Secretaría General del Real Patronato de Prevención y de Atención a Personas con Minusvalía, con sede en Madrid, c/ Serano 140, y se expide de oficio para el Laboratorio de Detección Precoz de Enfermedades Metabólicas del SERGAS, Hospital General de Galicia, Departamento de Pediatría, y para que conste a todos los efectos, firmo en Madrid, a 6 de junio de 1994.

Fco. Javier Die Lamana, Secretario General del R.P.P.A.P.M.

La Junta de Gobierno del Real Patronato de Prevención y de Atención a Personas con Minusvalía, en su 31ª reunión, del día 20 de diciembre de 1994 CONOCIENDO que en el presente año se cumplen 25 del inicio en España de la detección de alteraciones metabólicas en recién nacidos, mediante iniciativas pioneras que sirvieron de fundamento a la creación de una red que cubre todo el territorio nacional

CONOCIENDO, así mismo, la labor de atención clínica y provisión dietética que se ha venido prestando a los afectos de alteraciones metabólicas

CONOCIENDO, finalmente, el trabajo de apoyo sanitario y cooperación que vienen llevando a cabo los padres de aquéllos

APRECIANDO los sobresalientes méritos científicos y sanitarios alcanzados en España por la actividad detectora y de atención clínica, así como la muy destacada expresión de ayuda mutua protagonizada por las asociaciones de familiares

CONGRATULÁNDOSE de la contribución hecha por el Real Patronato a dichas actividades mediante el “Plan nacional de prevención de la subnormalidad”, adoptado en 1977

ACUERDA, por unanimidad, un VOTO DE RECONOCIMIENTO



España”. En el mismo sentido se refiere el Dr. Guillem Pintos, Presidente de la Asociación Española para el Estudio de los Errores Congénitos del Metabolismo (AECOM), indicando que habría que crear en España 3 ó 4 centros como el nuestro.

Más recientemente, en el Suplemento Salud nº 750 de *El Mundo* (29-Marzo 2008), el Prof. Pablo Sanjurjo, Premio Reina Sofía de Investigación del 2002, indica que “España sólo cuenta con un centro de referencia para enfermedades metabólicas raras. Está en Santiago de Compostela y es capaz de sospechar el diagnóstico de muchas enfermedades metabólicas raras antes de su aparición”.

“No se diagnostica lo que no se piensa y no se piensa en lo que no se conoce”

“El conocimiento conduce a la humildad”

Dr. Asbjorn Folling

INTRODUCCIÓN

Los errores congénitos del metabolismo (ECM) pueden ser definidos como enfermedades genéticas basadas en una alteración de una proteína o de un enzima que como consecuencia producen una alteración en la función o en la estructura de un ser humano provocando un desorden que afectará al desarrollo y a la salud de esa persona. Contemplado cada uno de estos trastornos de forma general su incidencia en la población es baja pero contemplados en su conjunto constituyen un número muy importante. Dada la continua descripción de nuevas enfermedades (se han descrito hasta el momento actual más de 4.000 ECM) se estima actualmente que 1/300-600 neonatos presenta una alteración congénita con repercusiones potenciales sobre su vida o su desarrollo a corto o largo plazo. Las alteraciones en la salud que provocan estas alteraciones abarcan un muy amplio espectro, que va desde la incompatibilidad vital, al riesgo grave de enfermedad o de secuelas en el desarrollo, al desencadenamiento de alteraciones menores o a hechos sin relevancia clínica.

En el momento actual del conocimiento y de la aplicación del desarrollo tecnológico muchos de estos ECM pueden ser diagnosticados precozmente –generalmente en el período neonatal o perinatal-, lo que permite, en muchos casos, la oportuna instauración de tratamientos que evitan la evolución hacia el deterioro mental y/o de la salud del niño; prácticamente en todos los casos se consigue un beneficio evolutivo o preventivo y social que incide positivamente en el nivel de bienestar individual y familiar.

El estudio sistemático de estos procesos se puede decir que lo inició hace 100 años el Prof. Archivald E. Garrod al acuñar en 1908 el término “errores congénitos del metabolismo” e indicar que eran enfermedades identificables desde el nacimiento, (la alcaptonuria, la cistinuria, el albinismo, la pentosuria, las porfirinurias, etc., fueron ya objeto de sus estudios). En el año 1934, Ivar Asbjorn Folling describe la fenilcetonuria (PKU) asociada al retraso mental (*Imbecillitas Phenylpyruvica*). Las primeras observaciones dietético-clínicas de L. Penrose (1937) y la publicación por H. Bickel en el *Lancet* (1953) de

los resultados de la terapia dietética en la PKU abrieron la puerta a la esperanza en el tratamiento preventivo del retraso mental, ya que pronto se comprobó que cuanto más precoz se iniciara el tratamiento dietético, mejores eran los resultados y que se podía llegar a la casi prevención total de la afectación neurológica y de retraso mental si la enfermedad se diagnosticaba en el período neonatal, disminuyendo ya en la lactancia el aminoácido esencial, la fenilalanina, que tenía su metabolismo alterado y cuya acumulación en el cerebro era el desencadenante del daño cerebral irreversible.

El desarrollo del “test del pañal húmedo” por W. Centerwall (1957) primero y después R. Guthrie (1961), que aplicó un test simple y económico para la búsqueda masiva en los neonatos de este ECM, permitió que dieran paso a la aportación de las exploraciones preventivas de estos errores mediante la difusión de los llamados en su nombre “test de Guthrie” a las pruebas de cribado.

En el Departamento de Pediatría de nuestra Universidad ya en el año 1951 se usaba el test del cloruro férrico para identificar las fenilcetonurias y poco después empezó a aplicarse el tratamiento dietético (Peña J. Fenilcetonuria. *Rev Esp Pediatr.* 1958; 14: 1-26 y Suárez M, Peña J. Tres casos de fenilcetonuria. *Rev Esp Pediatr.* 1958; 14: 27-37). Estos conocimientos y el interés de la prevención del retraso mental se mantuvieron en el tiempo. Cuando se instauró en el año 1968 en Granada el primer programa de detección precoz de aminoacidopatías y galactosemia (F. Mayor Zaragoza), todos los pacientes pediátricos del Hospital Clínico con deficiencias eran cribados en aquel centro para descartar esta causa como origen de su trastorno. Con la implantación en el año 1977 del “Plan Nacional de Prevención de la Subnormalidad” desarrollamos la “Unidad de Diagnóstico y Tratamiento de Alteraciones Genético-Metabólicas y Nutricionales” que inició en el año 1978 el Programa de Detección Precoz Neonatal de Enfermedades Congénitas y Metabólicas (J. Peña, J. M. Fraga, J. R. Alonso), (Ministerio de Sanidad, Universidad de Santiago de Compostela). La Unidad adoptó el modelo de “cribado neonatal abierto” (CNa) basado en “una muestra biológica, varias determinaciones analíticas, múltiples diagnósticos” y en la recogida de muestras biológicas de sangre y orina impregnadas en papel en los primeros días de vida.

La metodología inicial del cribado en nuestro programa se basó en la cromatografía en papel y en capa fina, en los ensayos colorimétricos y en el radioinmunoensayo.

Desde su inicio la Unidad fue multidisciplinar y siempre tuvo un planteamiento dinámico en función de aplicar los nuevos conocimientos y las nuevas tecnologías a la dinámica preventiva del diagnóstico precoz. Esta dinámica hizo que siempre tuviésemos en marcha

un programa de cribado abierto que permitía la sospecha y el diagnóstico de un gran número de patologías. Con este objetivo ya inicialmente desarrollamos un ensayo para la identificación de reductores en orina basado en la reducción del vanadio pentavalente a tetravalente en medio sulfúrico concentrado con el consiguiente viraje del amarillo al azul. Esta técnica nos permitió detectar trastornos en el metabolismo de los hidratos de carbono, entre ellos la galactosemia, lo que ha hecho que seamos el único laboratorio de cribado que identifica esta enfermedad en España, ya que cuando da positivo se identifica el azúcar por medio de una técnica cromatográfica en capa fina. Estos procedimientos y otros que referiremos más adelante permiten identificar la vía metabólica de la galactosa que puede estar afectada y tipificar posteriormente la variedad clínica-metabólica de la galactosemia.

Dado que la deficiencia en la producción de hormonas tiroideas en el periodo de desarrollo perinatal es una causa prevenible de alteraciones negativas del desarrollo, desde el inicio de la actividad comenzamos el cribado neonatal de hipotiroidismo congénito (HC) mediante radioinmunoensayo (T_4) importando directamente los reactivos de los EE.UU., y generalizándolo a toda la población neonatal a partir de los años 80 mediante la cuantificación de TSH. En 1985 propusimos la adaptación cuantitativa de TSH al espécimen de sangre en papel del método de fluoroinmunoensayo (DELFIA), contribuyendo a mejorarlo con la modificación del sistema de calibrado y empleando la interpolación mediante Logarithmic Spline Smoothed en lugar de la regresión lineal e implantándolo como método optimizado tras el estudio piloto comparativo con el método RIA. Hemos constatado que las siguientes variables afectan a los valores de TSH (edad gestacional, peso al nacimiento, edad del neonato a la toma de la muestra, el tipo de alimentación que recibe, el sexo, la gemelaridad y factores yatrogénicos, uso de desinfectantes, medicaciones en madre-hijo, transfusiones, etc.).

En el año 1987 ampliamos la cobertura diagnóstica con la detección precoz del déficit de Biotinidasa, siendo el único centro español que lo lleva a cabo y uno de los pocos que la realiza en el mundo. También en el año 1987 se mejora en la Unidad la técnica de la cromatografía en papel (patente nº 7/11/89BOPI-01/01/90) para la identificación de aminoacidopatías y se aplicó el procesado digital de imágenes a la interpretación de las cromatografías en papel en colaboración con el Departamento de Electrónica de la Facultad de Física de la USC (FIS PM 90-0023 y XUGA-20607B93).

Desde el inicio utilizamos la muestra de orina impregnada en papel recogida en los primeros días de vida, ya que nos es de gran utilidad para el diagnóstico de las organoacidurias, de la cistinuria, de las galactosemias, etc. y permite valorar su posible utilización para programas de cribado de neuroblastomas (identificando los ácidos homova-

nílico y vanililmandélico) y/o de las enfermedades lisosomales, infecciones (de hecho participamos en programas nacionales e internacionales para el estudio de la prevalencia e identificación de la transmisión vertical del virus VIH-NICHHD USA y AEP-NOI-HD-2-2917, etc.).

En el año 2000, tras una discutida y amplia valoración de las posibilidades diagnósticas, de la eficiencia y efectividad y de los beneficios sociosanitarios, implementamos una nueva metodología, la espectrometría de masas/masas en tandem (MS/MS) con la que dábamos un paso más en nuestro programa abierto y al mismo tiempo introducíamos una gran ventaja metodológica al conseguir con un único proceso analítico la identificación discriminativa múltiple de hasta 45 errores congénitos del metabolismo, es decir, “una muestra-múltiples diagnósticos” (también denominadas plataformas o análisis multiplex) y pasamos a denominar al programa “Cribado Neonatal Ampliado” (CNA). Fuimos la primera Unidad de España, y hasta ahora la única, en la aplicación masiva de esta técnica al cribado neonatal y una de las primeras del mundo.

Logrando mejorar así la identificación neonatal de aminoacidopatías, e incorporar el triaje de defectos de la betaoxidación de los ácidos grasos y del metabolismo de la carnitina al cribado neonatal. En el año 2002 introdujimos la cuantificación de hexosas para la identificación de las formas de galactosemia, siendo uno de los primeros centros del mundo en desarrollar este avance, en colaboración con el Statem Serum Intitute (SSI) de Dinamarca y posibilitando la detección de los defectos de epimerasa lo que ha permitido identificar dos pacientes con este ECM, desde entonces.

La Unidad tiene los siguientes grupos de trabajo: coordinación y desarrollo; aminoacidopatías y defectos de la beta-oxidación de los ácidos grasos y orgánico acidurias (MS/MS); hipotiroidismo congénito; fibrosis quística y hemoglobinopatías; enfermedades lisosomales, glicosfingolipidosis y otras patologías y la Unidad Clínica de Tratamiento y Seguimiento, que está inmersa en un programa de integración para acoplarse funcionalmente en lo que se denomina Casa Médica de los ECM, para lograr prestar y garantizar una mejor atención integral y lo más completa posible a los niños y a las familias con el diagnóstico de estas enfermedades.

RESULTADOS GLOBALES DEL PROGRAMA DE DIAGNÓSTICO PRECOZ NEONATAL (CRIBADO)

En los 30 años de evolución de nuestro programa, de forma general se beneficiaron de su aplicación 636.052 niños (fundamentalmente durante el período neonatal). La cobertura neonatal abarcó más del 90% de la población a partir del noveno año, alcanzándose en los últimos años porcentajes superiores al 99,8% (*tabla 1*). Desde el año 80 el número de exploraciones anuales siempre fue superior a 20.000. La cobertura de los últimos cinco años contrastando las analíticas realizadas con los datos reales de nacimientos refleja una cobertura real del 99,9%.

Tabla 1. Población Neonatal beneficiada del Cribado Neonatal

Nº de neonatos atendidos (1978 – 2007)	636.052
Nº de neonatos explorados en el año 2007	22.143
Cobertura población neonatal 2007	99,9%

Valorado en su conjunto (*tabla 2*), nuestro programa de cribado ha permitido el diagnóstico precoz de 38 enfermedades (aunque podríamos decir que en este momento son 40 si incluimos las hemoglobinopatías del programa piloto). Estos ECM se distribuyen en 9 grandes grupos de patologías: aminoacidopatías, alteraciones de la betaoxidación de los ácidos grasos y del sistema carnitina, acidemias orgánicas, trastornos del metabolismo de los carbohidratos, trastornos de ciclos metabólicos específicos (ciclo de la urea), déficits de vitaminas y cofactores, defectos del transporte y enfermedades del metabolismo lisosomal.

En la tabla resumen 2 se indica el año de inicio de cada paso diagnóstico del programa, se recogen los diagnósticos con incidencia anual y se indica la frecuencia normalizada en relación con el número total de neonatos beneficiados con el cribado. En ella se pueden observar los desórdenes que son más prevalentes.

En función del número de la población estudiada se aprecia que el HC es la patología que tiene una mayor prevalencia al nacimiento. Desde el año 1978 se han confirmado

Tabla 2. EMC: Diagnóstico Precoz Neonatal. Evolución anual casos detectados y año inicio de cada programa

ECM y otros diagnósticos	Inicio	1978-1980	1981	1982	1983	1984	1985	1986	1987	1988	1989	1990	1991	1992	1993	1994	1995	1996	1997	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	TOTAL inicio	Frecuencia ¹ normalizada
Leucinosis (13 familias)	1978	3	2	1	2	1	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	18	30.700	
Fenilcetonuria	1978	2	3	3	1	1	1	2	4	1	1	1	2	1	2	1	1	1	1	2	2	2	2	2	2	2	3	2	40	13.815	
Hiperfenilalaninemia	1978	2	2	2	2	2	2	4	1	1	1	1	2	1	1	1	4	3	5	1	1	3	2	1	5	6	4	3	55	10.047	
Cistinuria Infantil	1978	7	8	8	6	8	8	6	13	24	31	63	71	38	11	20	15	25	15	15	6	12	16	7	9	5	4	3	4	442	1.250
Dibasicaminoaciduria	1978										1																		1	552.596	
Tirosinemia Transitoria	1978	3	4	23	9	4	10	8	5	4	1	6	10	14	10	11	16	18	26	18	14	18	30	35	15	22	18	16	16	384	1.439
Tirosinemia sin clasificar	1978																												1	552.596	
Tirosinemia tipo I	1978																												3	184.199	
Hiperglicemia no Cetósica	1978	1																											1	552.596	
Galactosemia (Def. gal-1-P-uridil-transferasa)	1978	1	1	1	1	1	1	1	1						1														8	69.075	
Galactosemia (Def. galactosidasa)	1978																												7	78.942	
Galactosemia (Def. epimerasa)	2002																												2	276.298	
Diabetes Mellitus Neonatal	1978	1																											3	184.199	
Acidemia Metilmalónica	1978	1																											9	61.400	
Acidemia Metilmalónica Transitoria	1978																												5	110.519	
Alcaptonuria	1978																												2	276.298	
Cistationinemia	1978																												1	552.596	
Glucosuria	1978																												2	276.298	
Hipotiroidismo Congénito (H.C.)	1980	2	4	4	9	11	7	3	7	14	5	15	6	7	10	4	10	7	6	5	8	6	8	5	10	16	16	10	11	226	2.414
Hipertiroidismo Transitorio	1983																												4	138	3.579
Hipotiroidismo Transitorio (tras reeval-3a)	1980																												8	68.187	
Déficit de Biotinidasa	abr-87																2												6	68.812	
Deficiencia parcial de Biotinidasa	abr-87																												15	27.525	
Déficit 3-OH-Acil-CoA Deshidrogenasa cadena larga (LCHAD)	jul-00																												3	50.869	
Déficit Acil-CoA-deshidrogenasa cadena media (MCAD)	jul-00																												7	21.801	
Aciduria Glutárica Tipo I (GA I)	jul-00																												4	38.151	
Hiperprolinemia	jul-00																												3	50.869	
Déficit de 3-OH-3-Metilglutaril-CoA Liasa (HMG)	jul-00																												1	152.606	
Déficit de Acil-Coa-Deshidrogenasa cadena corta (SCAD)	jul-00																												4	38.151	
Hidroxi-prolinemia	jul-00																												1	152.606	
Déficit de 3-Metilcrotonil-CoA Carboxilasa (MCC)	jul-00																												2	76.303	
Deficiencia primaria de Carnitina	jul-00																												1	152.606	
Hipermetioninemia	jul-00																												6	25.434	
Homocistinuria Clásica	jul-00																												1	152.606	
Aciduria Pirrolutámica (5-Oxoprolinuria) PGA	jul-00																												1	152.606	
Acidose Láctica congénita	jul-00																												1	152.606	
Acidemia Propiónica (PA)	jul-00																												3	50.869	
Fibrosis Quística	ene-03																												17	6.174	
Totales		23	15	39	22	28	34	25	47	59	45	96	105	70	48	44	57	61	61	51	42	47	71	62	49	70	59	48	54	1.432	1.201

¹ un caso/nº neonatos

226 casos de HC en algo más de medio millón de neonatos evaluados, lo que indica una incidencia de un caso por cada 2500 RN vivos (*tabla 3*). Un número elevado de neonatos (138) presentan niveles de TSH elevados pero manifiestan esta alteración de forma transitoria (Hipertirotropinemia Transitoria). La Unidad tiene diseñado un programa evaluativo periódico de la calidad de los resultados para optimizar los criterios de diagnóstico en función de las variables que pueden influenciar el resultado, lo que ha permitido que hasta esta fecha y en el grado de nuestro conocimiento no se ha constatado ningún falso negativo (etiquetar como normal a un hipotiroideo).

**Tabla 3. HIPOTIROIDISMO CONGÉNITO
1978 - 2007
n.º RN analizados: 545.564**

	nº casos	IC 95%	Inc./10 ⁶	1/nº RN
Hipotiroidismo (545.564)	226	(196 – 260)	414	2.414
Hipertirotropinemia Transitoria (493.902)	138	(115 – 161)	279	3.579
Hipotiroidismo Transitorio ¹	8	(3 – 14)	15	68.187

IC 95 = Intervalo de confianza al 95%

Inc./10⁶ = Incidencia por millón de RNv

1/nº RN = Incidencia de un caso por nº de RN

¹ Después de la evaluación clínica a los 3 años de edad

Actualmente, en colaboración con las Unidades Clínicas y la Consellería de Sanidade, se participa en la actualización y elaboración de guías y protocolos terapéuticos. En los últimos años se sigue colaborativamente con otras unidades pediátricas la evolución clínica de estos pacientes a los 3 años de edad para tener constancia de las formas de HC transitorias y poder evaluar con mayor efectividad la acción sanitaria preventiva (hipotiroidismos transitorios).

Le sigue en frecuencia la fenilcetonuria (PKU) con 95 casos, con una incidencia de un caso por cada 11.565 RNv (*tabla 2*). De ellos el 42,1% son formas de PKU clásica (fenilalaninemia ≥ 1200 $\mu\text{mol/L}$ al diagnóstico), distribuyéndose los restantes en las formas de PKU moderada (fenilalaninemia entre 600 y 1200 $\mu\text{mol/L}$) e hiperfenilalaninemias (HFA) moderadas y benignas. Los fenotipos y genotipos de las formas de PKU clásicas y moderadas y de HFA moderadas no muestran correlación con los niveles de hiperfenilalaninemia al diagnóstico (*tabla 4*). Los pacientes siguen el programa de la Unidad de Diagnóstico y Tratamiento que está desarrollando su actividad para englobar su plan de atención a los niños con ECM siguiendo el modelo de atención médica de Casa Médica Metabólica.

**Tabla 4. Fenilcetonurias e HFA moderadas:
Fenotipo y genotipo**

<i>Paciente</i>	<i>Fenilalanina al diagnóstico (μmol/L)</i>	<i>Fenotipo</i>	<i>Mutaciones en el gen PAH</i>
<i>1*</i>	<i>314</i>	<i>HFA moderada</i>	<i>R176L / --</i>
<i>2</i>	<i>442</i>	<i>HFA moderada</i>	<i>R243Q / E390G</i>
<i>3</i>	<i>420</i>	<i>HFA moderada</i>	<i>S303A / G46S</i>
<i>4</i>	<i>501</i>	<i>HFA moderada</i>	<i>-----</i>
<i>5</i>	<i>902</i>	<i>PKU moderada</i>	<i>R68S / delF39</i>
<i>6</i>	<i>836</i>	<i>PKU moderada</i>	<i>P244L / R261Q</i>
<i>7</i>	<i>1065</i>	<i>PKU moderada</i>	<i>R158Q / L48S</i>
<i>8</i>	<i>---</i>	<i>PKU moderada</i>	<i>IVS10 / R261Q</i>
<i>9</i>	<i>939</i>	<i>PKU moderada</i>	<i>V388M / L48S</i>
<i>10</i>	<i>1091</i>	<i>PKU moderada</i>	<i>Q304Q / R176L</i>
<i>11</i>	<i>865</i>	<i>PKU moderada</i>	<i>V388M / Y414C</i>
<i>12</i>	<i>1314</i>	<i>PKU clásica</i>	<i>---</i>
<i>13</i>	<i>2149</i>	<i>PKU clásica</i>	<i>R261Q / IVS10</i>
<i>14</i>	<i>1504</i>	<i>PKU clásica</i>	<i>I65T / R243X</i>
<i>15</i>	<i>1934</i>	<i>PKU clásica</i>	<i>IVS10 / IVS10</i>
<i>16</i>	<i>1382</i>	<i>PKU clásica</i>	<i>---</i>
<i>17</i>	<i>2036</i>	<i>PKU clásica</i>	<i>V388M / E280K</i>
<i>18</i>	<i>1453</i>	<i>PKU clásica</i>	<i>R261Q / R176X</i>
<i>19</i>	<i>2028</i>	<i>PKU clásica</i>	<i>R243X / V388M</i>
<i>20</i>	<i>1279</i>	<i>PKU clásica</i>	<i>E280K / R261Q</i>
<i>21</i>	<i>1328</i>	<i>PKU clásica</i>	<i>R261Q / IVS10</i>
<i>22</i>	<i>1748</i>	<i>PKU clásica</i>	<i>G46S / R243Q</i>
<i>23</i>	<i>1764</i>	<i>PKU clásica</i>	<i>V388M / ---</i>
<i>24</i>	<i>---</i>	<i>PKU clásica</i>	<i>R243X / L48S</i>
<i>25</i>	<i>---</i>	<i>PKU clásica</i>	<i>IVS10 / R243Q</i>
<i>26</i>	<i>1333</i>	<i>PKU clásica</i>	<i>E280K / V388M</i>
<i>27</i>	<i>2262</i>	<i>PKU clásica</i>	<i>IVS10 / IVS10</i>
<i>28</i>	<i>1946</i>	<i>PKU clásica</i>	
<i>29</i>	<i>1781</i>	<i>PKU clásica</i>	<i>IVS10 / I65T</i>
<i>30</i>	<i>---</i>		<i>IVS10 / R261Q</i>
<i>31</i>	<i>1371</i>	<i>PKU clásica</i>	<i>IVS10 / R243X</i>
<i>32</i>	<i>---</i>		<i>I65T / R261Q</i>
<i>33</i>	<i>3430</i>	<i>PKU clásica</i>	<i>R408W / ---</i>
<i>34</i>	<i>1428</i>	<i>PKU clásica</i>	<i>V388 / ---</i>
<i>35</i>	<i>1447</i>	<i>PKU clásica</i>	<i>-----</i>
<i>36</i>	<i>1465</i>	<i>PKU clásica</i>	<i>R261Q / F55fs</i>

* Paciente considerado como HFA benigna al diagnóstico, posteriormente se comportó como HFA moderada

Dada la trascendencia de la correcta clasificación de los niños afectos de fenilcetonuria, paradigma de los ECM, para que accedan a las novedades terapéuticas, en los últimos años todos los pacientes PKU se benefician de la valoración de respuesta a la tetrahidrobiopterina (BH₄), lo que permite identificar a aquellos niños que tienen una forma con respuesta positiva, mejorar la calidad de su alimentación y el comportamiento social y familiar (*tabla 5*). En el 25% de nuestros casos la respuesta fue positiva a la sobrecarga. De los nueve niños que reciben tratamiento con la BH₄, cinco se controlan ahora con una dieta libre controlada (en cuanto al contenido en proteínas) y los cuatro restantes pudieron ampliar su esquema alimenticio restrictivo. Todos los pacientes de PKU de los últimos años controlados en nuestra Unidad presentan un patrón de desarrollo psicomotor y de inteligencia comparable al poblacional de su edad y nivel educativo sociofamiliar.

Tabla 5. Fenilcetonuria: fenotipo y genotipo de los pacientes con respuesta a la Tetrahidroxiptoterina (BH₄)

Pac.	Fenotipo	Genotipo	% reducción 24 h	Edad inicio tto	Dosis BH ₄ mg/kg/día	Duración tratamiento	Tolerancia Fen. (mg/día)		Nivel medio Fen (µmol/L)	
							Antes BH ₄	Después BH ₄	Antes BH ₄	Después BH ₄
1	HFA moderada	p.R176L(c.527G>T)/ ...	76.0	3a 10m	5	3 a	900	Dieta libre controlada	185 (121-285)	138 (109-182)
2	HFA moderada	p.R243Q(c.728G>A)/ p.E390G(c.1169A>G)	64.8	7a 5m	8	10 m	700	Dieta libre controlada	248 (151-406)	267 (182-333)
3	HFA moderada	p.S303A(c.907T>G)/ p.G46S(c.136G>A)	90.2	10a 2m	6	2 a	850	Dieta libre controlada	170 (121-218)	176 (121-242)
4	HFA moderada	p.P211T(c.631C>A)/IVS10nt- 1G>A(c.1066G>A)	64.2	16 d	6	7 m		Dieta libre controlada		220 (21-424)
7	PKU moderada	p.R158Q(c.473G>A)/ p.L48S(c.143C>T)	43.0	8a 7m	8	15 m	650	1000	432 (212-757)	188 (109-273)
9	PKU moderada	p.V388M(c.1162G>A)/ p.L48S(c.143C>T)	33.7	18a 5m	5	< 1 a	800	1650	430 (212-686)	396 (182-697)
10	PKU moderada	p.Q304Q(c.912G>A)/ p.R176L(c.527G>T)	80.7	16a 7m	5	17 m	1000	Dieta libre controlada	264 (181-364)	194 (147-333)
11	PKU moderada	p.V388M(c.1162G>A)/ p.Y414C(c.1241A>G)	62.0	16a 2m	5	17 m	650	1000	464 (182-770)	593 (485-721)
22	PKU moderada	p.G46S(c.136G>A)/ p.R243Q(c.728G>A)	40.3	16a 6m	5	4 m	450	1000	745 (364-1008)	655 (484-757)

CRIBADO NEONATAL ABIERTO (CNa) Y CRIBADO NEONATAL AMPLIADO (CNA)

Las denominaciones Cribado Neonatal Abierto (CNa) y Ampliado (CNA) las utilizamos para identificar fundamentalmente las dos etapas bien diferenciadas metodológica y cronológicamente de nuestro programa. El primero (CNa) se extiende desde el inicio del programa (1978) hasta el año 2000 (caracterizado por el empleo de la cromatografía en papel) y el CNA abarca desde el año 2001 hasta la actualidad. En el período 2000-2001 ambas metodologías coexistieron, durante el tiempo del estudio piloto y el de consolidación metodológica y del amplio esquema conductual y terapéutico que llevó implícito el cambio.

Este CNA se caracteriza por el empleo de la espectrometría MS/MS en el diagnóstico de los ECM. En el primer período (CNa) que abarca los primeros 23 años (1978-2000) se beneficiaron del programa 405.617 niños y en el del CNA (7 años) 144.499 neonatos. Los datos y resultados se reflejan en las tablas 6 y 7. De la evaluación global del número de casos diagnosticados (todos los diagnósticos) en función de las poblaciones estudiadas, no se aprecian diferencias significativas (1.019 diagnósticos en el CNa vs 396 en el CNA), que sí se hacen positivas si se excluyen las cistinurias (que se siguen cribando por cromatografía de la orina en papel y cuyo diagnóstico clasificatorio se ha mejorado haciéndose mejor y más restrictivo en los últimos años) y también son significativos los resultados (como es de esperar) si se suman en el período del CNA los diagnósticos de Fibrosis Quística (*tabla 6*).

Tabla 6. ECM: Incidencia de Enfermedades Metabólicas Congénitas Cribado Neonatal (CNa vs CNA)								
	Cribado abierto (CNa) 1978 - 2000 Nº RN: 405.617				Cribado Ampliado (CNA) 2001 - 2007 Nº RN: 144.499			
	nº casos	IC 95 %	Inc./10 ⁶	1/nº RNv	nº casos	IC 95 %	Inc./10 ⁶	1/nº RNv
Nº diagnósticos (Total)	1.019 ^a	(957 – 1.083)	2.510	398	396 ^{a'}	(357 – 435)	2.740	365
Nº diagnósticos (sin cistinuria)	625 ^b	(576 – 673)	1.540	649	348 ^{b'}	(312 – 384)	2.410	415
Nº diagnósticos Total (FQ)	-	-	-	-	413 ^c	(370 - 452)	2.860	350

Diferencias: aa' p>0,05; bb' p<0,01; bc p<0,01

Los resultados conseguidos con ambos programas, para una más correcta evaluación de su eficiencia, tienen que ser comparados ateniéndonos a la especificación de los resultados en cuyo diagnóstico intervienen ambas metodologías (*tabla 7*). Del contraste se obtiene una diferencia significativa en cuanto a los diagnósticos (332 niños con ECM en el CNa vs 248 en el CNA), lo que corresponde con lo esperado dado que el CNA permite la identificación de los errores de la betaoxidación de los ácidos grasos, de las acidurias y de los defectos de transporte (que suponen 38 niños beneficiados gracias al desarrollo implementado en el período 2001-2007) (*tabla 7, zona sombreada*). Las diferencias significativas persisten excluidas de ambos conjuntos de resultados las Tirosinemias Transitorias (TT), cuya incidencia también es significativamente diferente. Estas evaluaciones diferenciales no se modifican aunque se excluyan las dibasicoaminoaciduria, alcaptonuria, diabetes mellitus neonatal y glucosuria (*tablas 7 y 8*). De la bondad de ambas técnicas con espectros diagnósticos bien diferenciados, resalta el análisis comparativo de los hallazgos referidos a la fenilcetonuria. En ambos programas la incidencia de PKU (en el CNa, 27 casos y prevalencia de 1/17.268 RNv; en el CNA 13 casos y prevalencia de 1/13.046) es semejante (no diferencias significativas) (*tabla 8*), en cambio son significativas las diferencias en cuanto a los diagnósticos de hiperfenilalaninemias. Estas igualdades y diferencias aseveran el contraste de eficiencia de ambos programas en cuanto a la evaluación de los diagnósticos basados en valoraciones cuantitativas mayores de un metabolito alterado (la fenilalanina) en un error metabólico, la fenilcetonuria. Estos resultados muestran que la metodología más eficiente desde el punto de vista de la evaluación cuantitativa y la posibilidad de interrelacionar diferentes parámetros metabólicos (índice fenilalanina/tirosina, etc.) es la espectrometría MS/MS, ya que permite diferenciar mejor las hiperfenilalaninemias y mejorar por lo tanto los valores predictivos positivos. Este mismo razonamiento evaluativo es aplicable a las tipificaciones de Tirosinemias Transitorias (TT), aunque presentan una menor significancia evaluativa desde el punto de vista clínico. Las diferencias también son significativas para el diagnóstico de las galactosemias, al mejorar el proceso identificativo de los metabolitos alterados en las diversas formas (*tabla 8*).

Tabla 7. Diagnóstico Precoz Neonatal. Evolución casos detectados (períodos 1978-2000 vs 2001-2007)

	Cribado Neonatal abierto (CNA) 1978 - 2000 n° análisis: 466.226	Cribado Neonatal Ampliado (CNA) 2001 - 2007 n° análisis: 169.826
	n°	n°
Fenilcetonuria	27 ^d	13 ^u
Hiperfenilalaninemia	31 ^c	24 ^e
Leucinosis (13 familias)	14 (9 familias)	4 (4 familias)
Tirosinemia Transitoria (TT)	232	152
Tirosinemia tipo I	2	1
Tirosinemia sin clasificar	-	1
Dibasicaminoaciduria	1	-
Hiperglicinemia no Cetósica	1	-
Acidemia Metilmalónica	4	5
Acidemia Metilmalónica Transitoria	4	1
Alcaptonuria	1	1
Cistationinemia	1	-
Galactosemias	9 ^f	8 ^f
Diabetes Mellitus Neonatal	3	-
Glucosuria Neonatal	2	-
Déficit 3-OH Acil-CoA Deshidrogenasa cadena larga (LCHAD)	-	3
Déficit Acil-CoA-Deshidrogenasa cadena media (MCAD)	-	7
Aciduria Glutámica Tipo I (GA I)	-	4
Hiperprolinemia	-	3
Déficit de 3-OH-3-Metilglutaril-CoA Liasa (HMG)	-	1
Déficit de Acil-Coa-Deshidrogenasa cadea corta (SCAD)	-	4
Hidroxi-prolinemia	-	1
Déficit de 3-Metilcrotonil-CoA Carboxilasa (MCC)	-	2
Deficiencia primaria de Carnitina	-	1
Hipermetioninemia	-	6
Homocistinuria Clásica	-	1
Aciduria Piroglutámica (5-Oxoprolinuria) PGA	-	1
Acidose Láctica congénita	-	1
Acidemia Propiónica (PA)	-	3
Totales	332^a (100^b + 232TT^c)	248^a (96^b + 152TT^c)
	aa', bb' y cc' p<0,01 dd' p>0,05 ee' p<0,01 ff' p<0,05	

Tabla 8. Cribado Neonatal: Valoración comparativa. Aplicación diferentes metodologías (CN abierto vs CN Ampliado)

	Cribado Neonatal "abierto" (CNa)				Cribado Neonatal Ampliado (CNA)			
	años: 1978 – 2000		años: 2001 – 2007		años: 2001 – 2007		n° análisis: 169.826	
	n° casos	IC 95	Inc./10 ⁶	1/n° RN	n° casos	IC 95	Inc./10 ⁶	1/n° RN
Fenilcetonuria	27 ^a	(16 - 37)	58	17.268	13 ^a	(6 - 20)	77	13.064
Hiperfenilalaninemia	31 ^b	(20 - 42)	67	15.040	24 ^b	(14 - 34)	141	7.076
Leucinosis (OJA)	14	(7 - 21)	30	33.302	4	(0 - 8)	24	42.457
Tirosinemia Transitoria	232 ^c	(202 - 262)	498	2.010	152 ^c	(128 - 177)	895	1.117
Tirosinemia tipo I	2	-	-	233.113	1	-	-	-
Tirosinemia sin clasif.	-	-	-	-	1	-	-	-
Dibasicaminoaciduria	1	-	-	-	-	-	-	-
Hiperlglicinemia no cetósica	1	-	-	-	-	-	-	-
Acidemia Metilmalónica	4	(0 - 8)	9	116.557	5	(1 - 9)	29	33.965
Acid. Metilmalónica Transit.	4	(0 - 8)	9	116.557	1	-	-	-
Alcaptonuria	1	-	-	-	1	-	-	-
Cistationinemia	1	-	-	-	-	-	-	-
Galactosemias	9 ^e	(3 - 15)	19	51.803	8 ^e	(3 - 14)	47	21.228
Total para las mismas posibles patologías	327^d	(291 – 362)	701	1.426	210d^f	(182 – 238)	1.240	809

IC 95 = Intervalo de confianza al 95%. Inc./10⁶ = Incidencia de casos por millón de RNV. 1/n° RN = Incidencia de 1 caso por n° RNV

aa' p>0,05 bb'; cc' y dd' p<0,01; ee' p<0,05

DEFECTOS DE LA BETA OXIDACIÓN DE LOS ÁCIDOS GRASOS (FAO)

Los ECM que afectan al metabolismo de los ácidos grasos permiten ser detectados, sospechados o diagnosticados en su mayoría mediante la detección de las alteraciones que se acompañan en los perfiles de las acilcarnitinas. Con la aplicación del programa de CNA (MS/MS) se detectan un número muy elevado de ellas y dado que los perfiles alterados de éstas son bastante característicos de los defectos de FAO, esta prueba es de gran utilidad para la aproximación diagnóstica a estos ECM.

Hemos diagnosticado 14 neonatos con este tipo de errores, lo cual supone una incidencia de un caso por cada 10.000 nacimientos (*tabla 9*). La deficiencia más común es aquella que afecta al metabolismo de los ácidos grasos de cadena media (MCAD). Es también la que puede cursar con un cuadro neonatal más silente y aquella que conlleva un mayor riesgo cuando debuta, ya que es muy frecuente que frente a un cuadro de estrés metabólico, como puede ser una infección viral, responda con una crisis metabólica que puede inducir un cuadro más o menos grave, con secuelas o conduciendo al fallecimiento. Aproximadamente el 25% de los pacientes sin diagnosticar tienen el riesgo de fallecer en la primera crisis. Estudios prospectivos han demostrado una alta sensibilidad y especificidad de la técnica MS/MS en la aplicación al cribado neonatal de la deficiencia en MCAD. Este ECM es posiblemente uno de los que más se benefician desde el punto de vista clínico y evolutivo del CNA. Hemos diagnosticado 7 casos (con un intervalo de confianza al 95%, la oscilación de los hallazgos para la población evaluada podría estar entre 2 y 12), lo que indicaría una prevalencia de 1 caso por cada 20.643 RNv y una incidencia de 48 casos por cada millón de neonatos (*tabla 9*). Los defectos asociados al metabolismo de los ácidos grasos de cadena larga (LCHAD) y cadena corta (SCAD) han supuesto hasta el momento en nuestra experiencia una incidencia semejante (*tabla 9*).

**Tabla 9. ECM: Defectos de la beta-oxidación de los ácidos grasos
Cribado Ampliado (CNA)
2000 - 2007
n.º RN analizados: 144.499**

	n.º casos	IC 95	Inc. /10 ⁶	1/n.º RN
MCAD	7	(2 - 12)	48	20.643
LCHAD	3	(0 - 6)	21	48.167
SCAD	4	(0 - 8)	27	36.125
Nº TOTAL	14	(7 - 21)	97	10.321

El fenotipo y el genotipo de los pacientes de MCAD diagnosticados en nuestra Unidad se refieren en la *tabla 10* así como su evolución. Uno de los pacientes falleció ante un cuadro infeccioso sin tipificar (mortalidad del 15%) y los restantes han respondido bien a los cuadros febriles y a los estrés metabólicos con las medidas terapéuticas preventivas aconsejadas. Su desarrollo psicomotor y su CI están dentro de los parámetros de distribución normales.

Tabla 10. Defectos de Oxidación de los Ácidos Grasos de Cadena Media: Estudio genético y evolución

PACIENTES	1	2	3	4	5	6	7
Paciente MCAD	K304E/W57S	K304E/K304E	K304E/K304E	K304E/Y42E	K304E/K304E	K304E/K304E	K304E/K304E
Madre	No biológica	+/K304E	+/K304E	K304E/+	K304E/+	K304E/+	K304E/+
Padre	W57S/+	K304E/+	K304E/+	Y42E/+	+/K304E	+/K304E	+/K304E
Seguimiento							
Edad	6 a	6 a	6 a	6 a	5 a	1 a	3 a
Desarrollo (CI)	105	98	145	87	110	-	N
Estado actual	Asintomático	Asintomático	Asintomático	Asintomático	Asintomático	Éxito	Asintomático

A fin de mejorar la eficiencia y eficacia de los resultados obtenidos con la técnica MS/MS, hemos llevado a cabo estudios pioneros en la optimización de los hallazgos, para obtener unos valores predictivos positivos (VPP) más fiables (J. A. Cocho, tesis doctoral 2006). A partir de estos estudios hemos establecido puntos de corte diferenciados según estrategias de sospecha diagnóstica y según diferentes metabolitos y acilcarnitinas. En la aplicación al diagnóstico de los neonatos con MCAD pudimos constatar que el VPP de la octanoilcarnitina (C8) era del 35%, con un valor predictivo negativo (VPN) del 100% y que cuando el valor de la C8 se asociaba a la relación de las carnitinas octanoil/decanoil (C8/C10), el VPP alcanzaba el 100%; lo cual mejora el programa diagnóstico y hace más lejana la siempre posible aparición de un falso negativo (considerar sano a un enfermo) (*tabla 11*) y asegurábamos los criterios de calidad establecidos con el grupo colaborativo Región 4 genetics (www.region4genetics.org).

Tabla 11. MCAD: Optimización de los puntos de corte para su diagnóstico

C8	CORTE = 0,52 (p99,99)		VPP	35,00%
	Enfermos	Sanos	VPN	100,00%
Positivos	7	13	S	100,00%
Negativos	0	92.756	E	99,99%
C6	CORTE = 0,290 (p99)		VPP	0,65%
	Enfermos	Sanos	VPN	100,00%
Positivos	6	916	S	85,71%
Negativos	1	91.853	E	99,01%
C8/C10	CORTE = 3,543 (p99,9)		VPP	5,88%
	Enfermos	Sanos	VPN	100,00%
Positivos	6	96	S	85,71%
Negativos	1	92.673	E	99,90%
	C8>0,520 + C8/C10>3,543		VPP	100,00%
	Enfermos	Sanos	VPN	100,00%
Positivos	7	0	S	100,00%
Negativos	0	92.769	E	100,00%

DÉFICIT EN EL METABOLISMO DE LOS ÁCIDOS ORGÁNICOS

Dentro de las organicoacidemias podemos encuadrar alteraciones del metabolismo de los aminoácidos, de los ácidos grasos y también de los carbohidratos. Muchos de los intermediarios en el metabolismo de los ácidos orgánicos son acil CoA derivados, por lo que pueden resultar substancialmente elevados y provocar elevaciones en las acilcarnitinas, que son detectadas mediante MS/MS (CNA).

En los siete años de aplicación del CNA hemos diagnosticado 11 neonatos con este tipo de patologías que no habrían sido detectados con seguridad con el CNa (*tabla 7*). La acidemia propiónica y las acidemias metilmalónicas se caracterizan por una elevación de la C3, aunque sus diferentes niveles y la aplicación, según el programa de optimización de los puntos de corte analíticos citado anteriormente, de los cocientes C3/C2, han permitido lograr una mejor discriminación.

La Aciduria Glutárica tipo I es una organicoacidemia caracterizada por la elevación de la C5DC, aunque sus niveles pueden variar enormemente durante el período neonatal. Algunos neonatos pueden presentar niveles prácticamente normales y su detección se hace difícil. En nuestro programa de optimización recurrimos a los ratios C5DC/C2 y C5DC/C16. Confirmamos los resultados de sospecha mediante análisis de ácidos orgánicos en orina. Estos estudios han permitido llevar a cabo el diagnóstico en 5 niños, dos de ellos en el período neonatal inmediato, con una incidencia en el CNA de 1 caso por cada 70.000 RN. La evolución de estos dos casos de diagnóstico precoz es mucho mejor que los casos diagnosticados tardíamente (*tabla 12*).

Tabla 12. Aciduria Glutárica I: Fenotipo y genotipo y características clínicas de los pacientes

Pacientes	1	2	3	4	5
Sexo	M	F	M	M	M
Edad actual	6 a	5 a 9 m	1 a	8 a 2 m	18 a
Edad al diagnóstico	(CNA) 11 d	(CNA) 19 d	8 m	14 m	13 a 10 m
Presentación clínica	Asintomático; Macrocefalia		Crisis encefalopática	Crisis encefalopática	Parálisis cerebral distónica grave
Evolución	Asintomático; Asintomático	Distonía de extremidades inferiores, coreoatetosis. Discinesias orolinguales		Notable mejoría. Sólo movimientos distónicos aislados	Tetraparesia espástica severa. Convulsiones
Neuroimagen al desarrollo	1	1	1,2,3	1,2	1,3,4
Genotipo	R88C/ Y398C	S305L/ R227P	R227P/ R227P	Y398C/ Y398C	R372L/ R402W

1 > Espacio subaracnoideo 2 Hiperseñal ganglios basales 3 Desmielinización 4 Atrofia cerebral difusa

FIBROSIS QUÍSTICA (FQ) (FC)

La fibrosis quística o mucoviscidosis es una enfermedad congénita hereditaria con un espectro clínico amplio, variable y grave. Constituye uno de los rasgos recesivos con riesgo para la vida humana más frecuente en la población occidental. El mecanismo patogénico predominante es la disfunción de las glándulas exocrinas. Existe actualmente una opinión casi unánime de que el diagnóstico precoz y la instauración de medidas preventivas conllevan un beneficio individual y social. Diversos países han introducido esta enfermedad dentro de los programas de cribado. En nuestro medio es una demanda de las sociedades científicas, de las asociaciones de pacientes y de los grupos multidisciplinarios que tratan la enfermedad.

Desde el año 2003 iniciamos la detección precoz de la FC.

Actualmente hemos escogido como estrategia diagnóstica aquella que conlleva menos falsos positivos y por tanto una menor carga de estrés en las familias participantes. El plan incluye la determinación de los niveles de tripsinógeno (IRT) en sangre (punto de corte ≥ 70 ng/ml) y el análisis del gen CFTR utilizando la misma muestra de sangre para los casos que superan el punto de corte citado.

Siguiendo este esquema hemos diagnosticado 17 casos, lo que supone una incidencia de un caso por cada algo más de 6.000 RNv (*tabla 13*).

Tabla 13. Fibrosis Quística (FC) (Mucoviscidosis)				
2003 - 2007				
N.º RN estudiados 104.958				
	nº casos	IC 95	nº/10 ⁶ RN	Incidencia/nº RN
FQ	17	(9 – 25)	162	1/6.174

IC 95 (intervalo de confianza del 95% para el nº de casos)

La mayoría de los kits comerciales existentes en la actualidad para el análisis genético de FQ tienen una cobertura reducida de las mutaciones que estudian, debido a que tienen como referencia las recomendaciones del ACMG/ACOG (American College of Medical Genetics) y escogen 30 mutaciones. La población española ha sido descrita como la de mayor heterogenicidad mutacional en el gen CFRT indicando que era necesario estudiar al menos 75 mutaciones para caracterizar el 90% de los alelos mutados. Estudios más recientes (Alonso MJ *et al*, 2007) indican la necesidad de analizar al menos 121 mutaciones para caracterizar

el 96% de los alelos mutados. Con estos antecedentes y en colaboración con la Fundación Pública de Medicina Xenómica del SERGAS (CHUS) se desarrolló un microarray-CFTR específico para utilizar en nuestro programa. Este microarray cubre 185 variantes. Esta aplicación propia ha hecho posible detectar cuatro pacientes que de otra forma serían considerados falsos negativos, ya que serían identificados como portadores [R1162X/E588V; F508 del/L206W (tres casos)] y uno más que no sería ni siquiera considerado heterocigoto (G756A/G1069R) (*tabla 14*). Este microarray no solo contiene mayores y mejores posibilidades diagnósticas (nuestro Centro fue el único laboratorio de los que participan en el “Program-Cystic Fibrosis Proficiency Testing” del CDC (EE.UU.) que siempre detectó todas las mutaciones del problema presentado), sino que también implica un menor gasto sanitario que el que se deriva del uso de los kits comerciales tradicionales (105 € vs 250 €) (duplicado) (ahorro del 58% del coste por diagnóstico).

Tabla 14. FQ: Genotipos de los Neonatos diagnosticados

2003	DeltaF508	2184insA
2003	2184insA	G576A-R668C
2004	DeltaF508	R334W
2004	DeltaF508	R1162X
2005	DeltaF508	D1152H
2005	DeltaF508	2176InsC
2005	711+1G->T	V232D
2006	R1162X	E588V
2006	DeltaF508	L206W
2006	DeltaF508	DeltaF508
2006	DeltaF508	DeltaF508
2007	DeltaF508	R117H
2007	DeltaF508	L206W
2007	DeltaF508	DeltaF508
2007	DeltaF508	DeltaF508
2007	G576A	G1069R
2007	DeltaF508	DeltaF508
2007	DeltaF508	DeltaF508

PROGRAMAS EN DESARROLLO

Hemoglobinopatías

La Unidad ha llevado a cabo diversos estudios de investigación (Proyecto Xunta) desde el año 2005 para evaluar las diferentes metodologías analíticas y su aplicación en el diagnóstico precoz de las hemoglobinopatías en nuestro medio. La OMS indica que cerca del 5% de la población es portadora de genes de hemoglobinopatías y que las patologías secundarias se acumulan en determinadas poblaciones. Es evidente que el flujo actual de poblaciones ha hecho cambiar el espectro genético de la población que recibe atención sanitaria en nuestro país. En el año 2006 el 20% de los nacidos en España tuvieron una madre y/o padre extranjeros (INE). En España los Centros de Madrid y Extremadura identifican las hemoglobinopatías (especialmente la drepanocitosis). La prevalencia de hemoglobinopatías con trascendencia clínica estimada en España es de un caso por cada 5.500 nacimientos (con datos de Madrid, Extremadura y de nuestra Unidad). La incidencia global de alteraciones estructurales en la hemoglobina se estima sobre la base de los estudios citados que es de 0,3% (Madrid, Extremadura y Galicia) (Alemania 0,2%, Dinamarca 0,14%, Grecia e Italia más del 5%). En nuestro estudio piloto identificamos una variedad rara de hemoglobinopatía, la hemoglobina Kawachi (un único caso descrito en el año 1982), siendo corroborada su identificación en la Universidad de Leeds (U.K.) (Dra. L. Farrar) por espectrometría de masas.

Cribado neonatal de los errores congénitos del metabolismo (ECM) lisosomales

Las alteraciones lisosomales por depósito representan un grupo de más de 40 enfermedades distintas, resultantes todas ellas de la deficiencia de una proteína lisosomal determinada o de otras que intervienen en la biogénesis lisosomal. Su prevalencia aislada oscila entre 1/50.000 a 1/4x10⁶ RNv, aunque conjuntamente se considera que está en torno a 1/8.000 RNv.

Para el diagnóstico precoz de las enfermedades de depósito nos hemos puesto como objetivo inicial dos programas piloto, uno para la enfermedad de Pompe y otro para la de Fabry, dado que ambas enfermedades se benefician actualmente de tratamientos de reemplazo enzimático (alglucosidase, alfa-myozyme^R y alglucosidase beta-Fabrazyme^R y Replagal^R).

La enfermedad de Pompe tiene una variedad con clínica neonatal grave, lo que haría que su diagnóstico precoz mejorase la evolución clínica lo que la hace especialmente idónea para su inclusión en los programas de detección precoz.

La elección de la enfermedad de Fabry fue inducida por la idoneidad de la técnica analítica, la existencia de tratamiento y el hecho de que los clínicos nefrólogos y cardiólogos indicaban que existía una prevalencia mayor de la que se describía sobre la base de los casos diagnosticados en la fase tardía evolutiva (en situación de irreversibilidad).

En los primeros 4.000 neonatos analizados encontramos 15 casos con niveles de alfa-galactosidasa A bajos ($< 2 \mu\text{mol/L/h}$) (10 varones y 5 mujeres). A estos casos se los estudió genéticamente mediante secuenciación completa del gen AGAL (ligado al cromosoma X) (*tabla 15*).

En seis casos, tres varones y tres mujeres, el examen genético fue normal. En cuatro casos, todos varones, se encontró la existencia de una mutación asociada a la enfermedad de Fabry. En otros cinco casos (tres varones y dos mujeres) encontramos alteraciones en la secuencia no descritas hasta ahora en la literatura y que están siendo estudiadas.

Comprobada la eficacia de esta metodología la vamos a aplicar de forma general para la validación poblacional, debido a que los datos preliminares apuntan a una alta incidencia acorde con la sospecha deductiva de las experiencias clínicas de los nefrólogos y cardiólogos. De confirmarse esta incidencia, la aplicación del tratamiento sustitutivo en la fase preclínica de la evolución de la enfermedad conllevaría un notable beneficio para los individuos, para sus familias y para la sociedad (aumento del número de años de vida sin enfermedad, aumento de la supervivencia, disminución de la gravedad de las lesiones, consejo genético).

Dado que hasta el momento somos el único centro español que aplica la cuantificación enzimática por fluorescencia a las muestras de sangre impregnada en papel (Whatman 903) para las enfermedades lisosomales (Fabry, Pompe, Gaucher, Niemann-Pick y Krabbe) (adaptación de los métodos desarrollados por Chamoles *et al* en Argentina y los EE.UU., en cuyo laboratorio se han formado facultativos de la Unidad y con los que mantenemos ininterrumpida colaboración), la “Fundación Española de Enfermedades Lisosomales” (FEEL) ha establecido un Convenio con nuestra Unidad a través de la USC para el diagnóstico de las enfermedades lisosomales. Este programa establece un acuerdo con carácter nacional para el diagnóstico de estas enfermedades. Actualmente ya participamos en el Programa de Investigación de la FEEL y la Sección Española de Reumatología Infantil encaminado al “Diagnóstico de enfermedades lisosomales en Reumatología Infantil”.

**Tabla 15. Enfermedades lisosomales: Enf. de Fabry n.º de RN analizados: 4.000
N.º RN valores bajos de á-galactosidasa-A (< 2 ì mol/L/h): 15 (sexo: 10 varones - 5 mujeres)**

Paciente	Sexo	Niveles de α -galactosidasa-A		Mutación en el gen AGALA (x)	Diagnóstico
		AGAL 1	AGAL 2		
1	V	1,0	1,4	A143T	Fabry
2	V	1,2	1,5	A143T	Fabry
3	V	1,4	0,8	A143T	Fabry
4	V	1,7	1,3	R118C	Fabry
5	V	1,1	1,5	C-T pos. -10 y -16 A-G en hemizigosis	Variante ?
6	V	1,7	1,7	C-T pos. -10 y -16 A-G en hemizigosis	Variante ?
7	V	2,0	1,3	C-T pos. -10 y -16 A-G en hemizigosis	Variante ?
8	M	1,9	1,5	intrón 4 -16 A-G y -10 C-T / D313Y (exón 6)	Variante ?
9	M	1,8	1,3	C-T pos. -10 y -16 A-G en homocigosis	Variante ?
10	M	1,4	1,2	N	N
11	M	1,1	1,5	N	N
12	V	1,9	1,9	N	N
13	V	1,8	0,9	N	N
14	V	1,7	1,8	N	N
15	M	2,0	1,9	N	N

La Unidad ha sido elegida por Genzyme DIAGNOSTICS (EE.UU.), junto con un Centro en Alemania y otro en los EE.UU., para la evaluación y validación del “*Multiplex Assay to Measure the Activity of α -Glucosidase (GAA), Galactocerebrosidase (GALC), β -Glucocerebrosidase (ABG) and Acid Sphingomyelinase (ASM) by Tandem Mass Spectrometry (GN-00-6985-00-00)*”, con el que llevar a cabo el cribado y diagnóstico de las enfermedades lisosomales (desarrollo de la aplicación de la identificación multiplex por ESI-MS/MS de los metabolitos identificativos para al menos cinco de estos ECM).

Ampliación del programa al análisis de los metabolitos urinarios mediante ESI MS/MS

Algunos ECM no provocan perfiles alterados ni de las acilcarnitinas ni de los aminoácidos en la sangre, pero sí excretan metabolitos anómalos en la orina. Nace por ello la necesidad de analizar la orina de aquellos pacientes con sospecha diagnóstica o de todos los recién nacidos.

La detección de metabolitos anormales en orina es importante para el diagnóstico y la confirmación de muchas acidurias orgánicas. La ESI-MS/MS permite detectar compuestos específicos en muestras complejas de reducido tamaño y baja concentración, como es la orina impregnada en papel.

En el año 2003 se desarrollaron y empezaron a aplicarse métodos de análisis por ESI-MS/MS sobre las muestras de orina impregnadas en papel que contenía nuestro propio programa de cribado. Los métodos desarrollados permiten el análisis de aminoácidos y acilcarnitinas en ionización positiva, y acilglicinas, ácidos orgánicos, purinas y pirimidinas en ionización negativa, de forma rápida y completa con un tiempo de análisis de 2,6 y 2,5 minutos por ensayo.

Una de las preocupaciones en la actualidad de los programas de cribado, sobre todo en aquellos que obtienen grandes cantidades de información de una única muestra, además de su correcto funcionamiento, es el número elevado de repeticiones que generan estrés en las familias de los recién nacidos y provocan gastos innecesarios. Las estrategias actuales de los laboratorios pasan por la realización de pruebas de segundo nivel sobre las muestras de cribado de sangre, que permitan reducir, en lo posible, estos inconvenientes.

Algunos metabolitos que normalmente no forman parte del panel de los programas de cribado por MS/MS en muestras de sangre como el guanidinoacetato, d-aminolevulinato, glicil-prolina, cistina, homocistina, creatina y creatinina son marcadores de ECM y pueden encontrarse aumentados únicamente en la orina. El estudio conjunto de las acilcarnitinas en la orina y en la sangre resultó de gran importancia para el establecimiento diagnóstico de ciertas patologías.

Para establecer la capacidad diagnóstica de los métodos se analizaron más de 3.000 muestras de orinas de RN normales y más de 300 muestras de pacientes previamente diagnosticados de más de 40 distintos ECM (para cuya obtención contamos con la colaboración de Centros italianos, portugueses, alemanes y españoles).

Los métodos puestos a punto permiten la detección simultánea de un elevado número de moléculas (más de 103) que son marcadores para el diagnóstico de ECM sin la necesidad de separación cromatográfica previa ni una preparación de muestra muy laboriosa.

El empleo de esta metodología como pruebas de segundo nivel nos ha permitido no solamente la reducción de falsos negativos, principalmente en las GA I, tirosinemias, homocistinurias, OTC y MMA debidos a defectos del cofactor, sino también la reducción de falsos positivos.

Además, podemos ampliar el horizonte del cribado neonatal a otras patologías que no se detectarían únicamente con el análisis de las muestras de sangre o que no son típicamente incluidas dentro de los programas clásicos de análisis por ESI-MS/MS. Estas posibilidades se comprobaron a través del análisis de muestras de diversas patologías: aciduria mevalónica, enfermedad de Canavan, desórdenes mitocondriales, acidosis láctica, defectos del metabolismo de los neurotransmisores, deficiencia de sulfito oxidasa, desórdenes del almacenamiento del ácido siálico, iminodipeptiduria, alcaptonuria, aciduria 2-hidroxi-glutárica, aciduria 4-hidroxi-butírica, aciduria fumárica, adípico aciduria y los defectos del metabolismo de las purinas y pirimidinas; deficiencia de la dihidropirimidina dehidrogenasa (DPD), xantinuria (XDH), superactividad de la fosforribosil pirofosfato sintetasa (PRPS), síndrome de Leisch-Nyhan, deficiencia de la nucleotido fosforilasa (NP), deficiencia de la adenosina deaminasa (ADA) y XDH- deficiencia del cofactor de molibdeno.

Estos métodos han permitido complementar y confirmar el diagnóstico de casos de: enfermedad de la orina con olor a jarabe de arce (MSUD), homocistinuria clásica, hipermetioninemia, deficiencia de Acil-CoA deshidrogenasa de cadena media (MCAD), aciduria propiónica (PA), deficiencia de la 3-metilcrotonil-CoA carboxilasa (MCC), alcap-

tonuria, acidemia 3-hidroxi-3-metilglutárica (HMG), tirosinemias, fenilcetonurias (PKU), aciduria glutárica tipo I (GAI), acidemia metilmalónica (MMA), aciduria argininosuccínica (ASA), deficiencia de la dehidrogenasa de cadena corta (SCAD), deficiencia de la holocarboxilasa sintetasa y cistinuria.

En este momento, mediante el análisis de primer nivel y de segundo de las orinas podríamos identificar las 52 alteraciones metabólicas que se indican en la tabla 16, con diferentes grados de fiabilidad (teniendo en cuenta la rareza de muchas de ellas): A) Comprobadas las identificaciones mediante análisis de muestras patológicas, B) Identificación comprobada en muestras neonatales y C) Detección teórica. Un hecho a destacar es la utilidad en la reducción de falsos positivos y falsos negativos.

Tabla 16. Posibilidades diagnósticas de ECM identificados mediante el cribado (MS/MS) de orina de RN

A. Identificaciones comprobadas mediante análisis de muestras patológicas			
Tirosinemia	2,3	Cistinuria.	1
Homocistinuria	2,3	Defic. de guanidino acetato metiltransferasa (GAMT)	1
Defic. de ornitina transcarbamilasa (OTC)	2,3	Defic. múltiple de carboxilasas (MADD)	2,3
Aciduria Mevalónica	1	Acidurias 3-metilglutacónicas	1
Enfermedad de Canavan	1	Citulinemia	2
Desórdenes Mitocondriales	1	Aciduria malónica	2
Acidosis Láctica	1	B. Detección comprobada en período neonatal	
Def. del metabolismo de los neurotransmisores	1	Jarabe de Arce (MSUD)	2
Defic. de sulfito oxidasa	1	Homocistinuria clásica	2,3
Desórdenes almacenamiento del ácido siálico	1	Hipermetioninemia	2
Iminodipeptiduria	1	Defic. Acil-CoA deshidrogenasa cadena media (MCAD)	2
Alcaptonuria	1	Aciduria propiónica (PA)	2,3
Aciduria 2-Hidroxi-3-metilglutárica	1	Defic. 3-Metilcrotonil-CoA carboxilasa (MCC)	2
Aciduria 4-Hidroxi-3-metilglutárica	1	Alcaptonuria	1
Aciduria Fumárica	1	Acidemia 3-Hidroxi-3-metilglutárica (HMG)	2,3
Adipico aciduria	1	Tirosinemias	2,3
Defic. dihidropirimidina dehidrogenasa (DPD)	1	Fenilcetonurias (PKU)	2
Xantimuria (XDH)	1	Aciduria Glutárica tipo I (GAI)	2,3
Superactividad fosforribosil pirofosfato sintetasa (PRPS)	1	Acidemia metilmalónica (MMA)	2,3
Síndrome de Leisch-Nyhan	1	Aciduria Argininosuccínica (ASA)	2,3
Defic. de la nucleosido fosforilasa (NP)	1	Defic. de la dehidrogenasa de cadena corta (SCAD)	2,3
Defic. de la adenosina deaminasa (ADA)	1	Defic. de la Holocarboxilasa sintetasa	2,3
XDH- Defic. del cofactor de molibdeno	1	Cistinuria	1
Jarabe de Arce (MSUD)	2	C. Detección teórica	
Hipermetioninemia		Argininemia	2
Defic. Acil-CoA deshidrogenasa cadena media (MCAD)	2	Aciduria 2-aminoadípica	1
Aciduria propiónica (PA)	2	Aciduria 2- cetoadípica	1
Defic. 3-Metilcrotonil-CoA carboxilasa (MCC)	2	Hiperoxalurias	1
Acidemia 3-Hidroxi-3-metilglutárica (HMG)	2	Desórdenes perioxosomales	1
Fenilcetonurias (PKU)	2	Defic. de adenina fosforribosil transferasa (APRT)	1
Aciduria Glutárica tipo I (GAI)	2,3	Defic. de dihidropirimidasa (DHP)	1
Acidemia metilmalónica (MMA)	2,3	Defic. de mitocondrial neuro-gastrointestinal encefalopatía de timidina quinasa (MNGIE)	1
Aciduria Argininosuccínica (ASA)	2,3	Defic. de uridino monofosfato sintetasa (UMPS)	1
Defic. dehidrogenasa cadena corta (SCAD)	2,3	Defic. de ureidopropionasa	1
Defic. holocarboxilasa sintetasa	2,3	Aciduria orotica hereditaria	1

1. Ampliación del horizonte de patologías a diagnosticar
2. Complementariedad del programa de cribado. Reducción de falsos positivos
3. Complementariedad del programa de cribado. Reducción de falsos negativos

SITUACIÓN DEL PROGRAMA DE CNA

La variabilidad de la instauración de los programas de CN entre los países del mundo es muy variable. En su implementación intervienen un gran número de factores, entre los que no son los menores el grado de conocimiento y de cualificación científico-tecnológica, las políticas administrativas, los recursos, las asociaciones de pacientes, el grado de implantación social de las acciones preventivas y sociales, y un largo etc.

Si comparamos este programa con el que se emplea en otros trece países publicados recientemente en el *J Inherit Metab Dis* (2007) (*tabla 17*), el CNA ofrece a nuestra población las mismas posibilidades que en los EE.UU. y en la región Toscana de Italia, con la salvedad de que aún no hacemos el cribado para el diagnóstico precoz de la hiperplasia suprarrenal congénita y que el programa es muy parejo a los que tienen implementados Portugal, Austria, Alemania, Dinamarca, Holanda y Polonia. En los EE.UU. se investigan en los neonatos hasta 64 trastornos en el periodo neonatal. De los 29 desórdenes englobados en el panel básico (*core conditions*), la mayoría de los 51 estados los hacen, con las siguientes excepciones: 4 no hacen FC, 2 no hacen el defecto de transporte de carnitina, 5 no hacen tirosina-I y el estado de Washington que sólo hace el cribado de 13). De los 25 desórdenes encuadrados en el panel secundario (*secondary target conditions*), la mayoría de los estados las incluyen en sus programas y algunas las hacen todos. Además, 15 estados hacen el cribado de otras enfermedades. El estado de New York, por ejemplo, hace el cribado obligatorio para una de las enfermedades lisosomales (web NNSGRC a fecha del 05/02/08).

Las actuaciones sanitarias en este campo se están moviendo muy aprisa. El impacto de las acciones desarrolladas en el campo sanitario de los EE.UU. suelen tener un alto efecto reclamo y la mayoría se acaban implementado en el mundo sanitario.

Tabla 17. Programas de Cribado Neonatal establecidos en diferentes países

	EEUU	Galicia ¹	Holanda	Alemania	UK	Italia ² (Toscana)	Francia	Bélgica	Portugal	Austria ³	Dinamarca	Polonia ⁴	Suiza
Desórdenes del metabolismo de los aminoácidos													
Fenilcetonuria	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Enfermedad de jarabe de arce	X	X	X	X		X	X	X	X	X	X	X	X
Tirosinemia	X	X	X			X	X	X	X	X	X	X	X
Citrulinemia	X	X		X		X	X	X	X	X	X	X	X
Aciduria Argininosuccínica	X	X		X		X	X	X	X	X	X	X	X
Homocistinuria	X	X	X			X	X	X	X	X	X	X	X
Desórdenes del metabolismo de los ácidos orgánicos													
Acidemia propiónica	X	X				X	X	X	X	X	X	X	X
Acidemia metilmalónica (Mut)	X	X				X	X	X	X	X	X	X	X
Acidemia metilmalónica (Mut, Cbl A,B)	X	X				X	X	X	X	X	X	X	X
Acidemia isovalérica (IVA)	X	X		X		X	X	X	X	X	X	X	X
Def. 3-metilcrotonil-CoA carboxilasa (3-MCC)	X	X	X			X	X	X	X	X	X	X	X
Def. 3-OH-3-metilglutaril-CoA liasa (HMG)	X	X	X			X	X	X	X	X	X	X	X
Def. β-Ketotiolasa (BKT)	X	X	X			X	X	X	X	X	X	X	X
Acidemia glutárica tipo 1 (GAI)	X	X	X	X		X	X	X	X	X	X	X	X
Desórdenes del metabolismo ácidos grasos													
MCAD (def. acil CoA deshidrogenasa cadena media)	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
VLCAD (def. acil CoA deshidrogenasa cadena muy larga)	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
LCHAD (def. de hidroxil CoA deshidrogenasa de cadena larga)	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
TPF (def. de proteína trifuncional)	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
MADD (def. múltiple de acil CoA deshidrogenasa)	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
CUD (def. de la captación celular de la carnitina)	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Hemoglobinopatías			X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Otras alteraciones													
Hipotiroidismo Congénito	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Deficiencia de Biotinidasa	X	X	X	X									
Galactosemia Clásica	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Fibrosis Quística	X	X											
Hiperplasia Adrenal Congénita	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X

Datos modificados a partir de: J. Inherit Metab Dis (2007) 30: 439-444

1- España: Murcia comienza el cribado expandido por MS/MS en 2007-2008. País Vasco incluye MCAD

2- Italia: La Toscana realiza el cribado expandido por MS/MS

3- Austria: realiza el sur del Tirol (Italia)

4- Polonia: realiza el cribado expandido por MS/MS al 30% de la población

PROYECCIÓN DE NUESTROS RESULTADOS A LA GENERALIZACIÓN DEL CNA

Dada la trascendencia sociosanitaria y familiar que tiene la implantación general de los programas preventivos como es el del CNA, puesto que un número cada vez mayor de ECM y de desórdenes relacionados disponen de tratamientos que son eficaces, se debe hacer un esfuerzo administrativo para que toda la población infantil y sus familias se beneficien de esta asistencia sanitaria que significa simplemente una aplicación actual de los avances médicos, tecnológicos y científicos.

La realidad que se desprende de los datos acumulativos de nuestros resultados es que la incidencia de alteraciones que se pueden detectar precozmente en la población neonatal afecta a un neonato cada 500-550 recién nacidos vivos. Este dato se refleja los hallazgos del último año. En los 22.143 neonatos que se beneficiaron del programa, se detectaron 42 casos de patologías subsidiarias de consejo o tratamiento médico o genético (suma de los ECM_s detectados por el CNA, con los hipotiroideos, con las cistinurias, con los casos de fibrosis quísticas de páncreas y las hemoglobinopatías) (no se tuvieron en cuenta las tirosinemias transitorias) lo que muestra la incidencia indicada, que tiene un potencial de variabilidad al 95% de confianza de un caso entre 400-775 neonatos (*tabla 18*).

Si extrapolamos estos datos a la población española y teniendo en cuenta que en el año 2006 han nacido 482.957 RN, resultaría, de aplicarse en los programas de cribado esta metodología, que se detectarían teóricamente alrededor de 350 neonatos en los que se mejoraría su calidad de salud y la de sus familias.

Es claro y determinante, para la aplicación y generalización de esta medida preventiva y sanitaria, que el cribado no es el programa; sino que el Programa de Aplicación del Cribado Neonatal Ampliado es mucho más que el cribado en sí mismo. El programa de CNA incluye la integración de seis componentes imprescindibles: 1) educación sanitaria y de la población sobre el cribado en general como medida preventiva, 2) las pruebas de cribado en sí mismas (diferentes pruebas y diferentes metodologías que pueden ir desde el cribado auditivo para la sordera a la detección precoz de la fibrosis quística de páncreas o la hiperplasia suprarrenal congénita), 3) la evaluación de las pruebas de cribado (eficacia y efectividad), 4) la confirmación de los diagnósticos, 5) el manejo y tratamiento y, por último, 6) las evaluaciones de los subprogramas y del programa en su conjunto.

Solo así se pueden lograr la optimización de los resultados y que el beneficio de la acción sanitaria logre su objetivo, que en palabras del presidente del Colegio Americano de Genética Médica (ACMG) es salvar niños.

**Tabla 18. ECM: Incidencia de Enfermedades Metabólicas Congénitas
Cribado Neonatal Ampliado. Extrapolación teórica n.º casos a España (RN)**

	Galicia (7a) 143.963 RNv Incidencia Total	España/añual Incidencia <u>TEÓRICA</u> 482.957 RNv / 2006 Incidencia Teórica
	nº casos	nº casos
	IC 95 %	Inc. Teórica/10% RNv
Acidemias orgánicas	17 (9 – 25)	57 (118)
Def. β-oxidación Ac. Grasos	15 (7 – 23)	50 (104)
MCAD	7 (2 – 12)	23 (49)
Aminoacidopatías (incluye PKU, excluye TT)	54 (40 – 68)	181 (375)
Galactosemias	8 (2 - 14)	27 (55)
TOTAL	101 (81 - 120)	338 (702)

Galicia 2007* - CNA + Hipotiroidismo + Cistinuria + FQ + Hb: 1/527 RNv (403 – 764)

42 casos (29 – 55) (excluidas las TT) en 22.143 RNv

SENSIBILIZACIÓN A LA SOCIEDAD EN EL DIAGNÓSTICO PRECOZ Y EN LA PREVENCIÓN. DIFUSIÓN DEL CONOCIMIENTO

La Unidad, consciente de la importancia de hacer llegar los puntos básicos de la prevención a los diversos grupos sociales y científicos, ha llevado a cabo una continua colaboración y/o participación en un gran número de actividades de índole científica, investigadora y/o de comunicación a las sociedades científicas, al personal sanitario y a la sociedad en general.

Algunas de estas actividades han sido:

- Participación en la Red de Enfermedades Metabólicas Hereditarias (REDEMETH) del Instituto Carlos III (Redes Colaborativas 2003-06). FIS: G03/054. Coordinador: M. Ugarte. Nuestra Unidad constituyó el Nodo 9, siendo el coordinador científico del Nodo (Dr. J. M. Fraga). Así mismo fuimos uno de los dos coordinadores del programa 5 de la Red: Formación (Dr. J. M. Fraga). Participamos y coordinamos la Reunión Científica REDEMETH, celebrada en Madrid el 22 de octubre de 2004.
- Curso “El neonatólogo ante el diagnóstico y tratamiento de los errores innatos del metabolismo” (J. M. Fraga), celebrado en Barcelona en Junio del 2004 y desarrollado por la Sociedad Española de Neonatología (SEN), el Instituto para la Investigación de Enfermedades Raras-REDEMETH, la Asociación Española para el Estudio de los Errores Congénitos del Metabolismo (AECOM) y la Asociación Española de Pediatría (AEP-Sección de Errores Congénitos del Metabolismo).
- Participación científica en las diecisiete convivencias PKU y OTM de la Asociación Fenilcetonúrica de Galicia (ASFEGA) celebradas con las familias de afectados de errores congénitos del metabolismo y en varias reuniones de carácter nacional. Asimismo, participación en las publicaciones y boletines de ASFEGA, así como en la monografía conmemorativa de su constitución *Asfega y la Fenilcetonuria – Una década de esfuerzo*. LU-49/2001. Editores y autores del libro: *Errores Innatos del Metabolismo* © 2000. Universidad de Santiago de Compostela, 1999. ISBN: 84-8121-794-8 pp1-269.
- Docentes en los Obradoiros de difusión (Daisy E. Castiñeiras): participación como docente en los ”Obradoiros de Seguimiento do Programa Galego para a Detección de Enfermidades Endocrinas e Metabólicas no Período Neonatal”, organizado por la Fundación Escola Galega de Administración Sanitaria (FEGAS) en el Centro de

- Salud de Bembrive, Vigo; Delegación Provincial de la Consellería de Sanidad, Pontevedra; Centro de Salud Valle Inclán, Ourense; Gerencia de Atención Primaria, A Coruña; Hospital da Costa, Burela y Hospital Comarcal de Monforte. Asesores en la Guía Clínica sobre Hipotiroidismo (avalía-t) (Xunta de Galicia (J. R. Alonso Fernández y D. E. Castiñeiras Ramos).
- Traducción del *Vademecum Metabolicum. Enfermedades Metabólicas Pediátricas*. Zschocke, J y Hoffmann GF. D.L.: C-752-2001. ISBN: 3-7945-2039-4 (edición original). 1^{era} edición 2001.
 - Participación en Sociedades Científicas con actividades de difusión de los ECM: Sociedad Española de Neonatología (SEN) - Presidente: J. M^a Fraga (2003-2007). Asociación Española para el Estudio de los Errores Congénitos del Metabolismo (AECOM) - Presidenta: M^a L. Couce (2006- en la actualidad); elaboración de Protocolos: M. L. Couce y M. D. Bóveda. Sociedad Española de Bioquímica Clínica y Patología Molecular - Presidente del Comité Científico: J. A. Cocho (2003- en la actualidad). Comisión de Errores Metabólicos y Bioquímica Perinatal (J. R. Alonso, M. D. Bóveda y D. Castiñeiras). European Cystic Fibrosis Society: CF Screening Group (C. Colón). Asociación Española de Pediatría (AEP). Sección de Errores Congénitos del Metabolismo (M. L. Couce).
 - Cursos de Doctorado en la Universidad de Santiago de Compostela (USC). (Director J. M. Fraga y componentes de la Unidad): “Aspectos específicos del diagnóstico precoz de los errores congénitos del metabolismo”, y “Errores congénitos del metabolismo, despistaje, tratamiento, consumo metabólico”. Participación en cursos de Doctorado de la Universidad de Málaga sobre Metabolopatías (J. M. Fraga). Programa de Doctorado Interuniversitario (Univ. De Granada, Cantabria, Rovira i Virgili, Miguel Hernández, Santiago de Compostela y Zaragoza): “Condicionantes genéticos, nutricionales y ambientales del crecimiento y desarrollo”. (E.C.M. Diagnóstico, Tratamiento, Epigenética y Desarrollo – J. M. Fraga).
 - Salón Internacional de la Salud (SIS) 2005 –Symposium sobre “Diagnóstico y tratamiento de los ECM (J. M. Fraga, J. A. Cocho).
 - Participación de forma activa y como invitados a participar en Congresos, Reuniones Internacionales, Nacionales y Seminarios es continua y haría este listado interminable.
 - Centro de Referencia en la Formación de Especialistas en Bioquímica Clínica y en Pediatría para programas de formación en E.C.M. Nuestra Unidad recibe de forma regular y reglada residentes para formarse en nuestros programas de estancias de 1

a 3 meses. Prácticamente siempre hay un residente en rotación externa (actualmente está comprometida nuestra capacidad hasta dentro de 18 meses). En los últimos años han rotado residentes de los siguientes Hospitales: Hospital Son Dureta (Palma de Mallorca) (2), Hospital San Agustín (Avilés) (3), Hospital Vall D'Hebron (Barcelona) (2), Instituto de Bioquímica Clínica (Barcelona), Hospital Virgen del Rocío (Sevilla), Hospital Miguel Servet (Zaragoza) (3), Hospital Juan Canalejo (A Coruña), Hospital Universitario de Las Palmas, Hospital Central de Asturias, Hospital Clínico de Madrid (Complutense).

UNIDAD DE REFERENCIA EN DIAGNÓSTICO DE ERRORES CONGÉNITOS DEL METABOLISMO

Recibimos muestras para estudio metabólico de 42 hospitales y centros sanitarios de Galicia y de 57 hospitales españoles (entre otros: H. Miguel Servet de Zaragoza, H. Valdecilla de Santander, H. de Cruces de Bilbao, H. Virgen del Rocío de Sevilla, H. Arrixaca de Murcia, H. La Paz de Madrid, etc.) y mantenemos intercambios con 15 centros de diversos países (Reino Unido, Italia, EE.UU., Portugal, Australia, etc.). De Colombia y Venezuela recibimos periódicamente muestras para análisis y casos para estudio.

Estamos integrados en un grupo de centros en red para la confirmación de Diagnósticos Complejos o Singulares constituido por: Centro Nacional de Cribado Neonatal de Portugal (Oporto), Hospital Infantil “Bambino Gesu” de Roma (Italia), Hospital Meyer de Florencia (Italia), Mayo Clinic de Rochester (EE.UU.), Royal Children’s Hospital de Melbourne (Australia), Hospital Universitario de Hamburgo (Alemania), Hospital Clínico Universitario de Santiago (España).

CALIDAD DE LA ACTIVIDAD DESARROLLADA EN LA UNIDAD

En un programa como este, en que el carácter preventivo es sobre el diagnóstico de enfermedades raras muy infrecuentes, asegurar la calidad de los resultados es de capital importancia, ya que el objetivo es sospechar, a ser posible con certeza, un ECM y evitar los falsos positivos y los falsos negativos. Con el objetivo de alcanzar el mejor nivel posible en los procesos analíticos y diagnósticos nos hemos involucrado desde el inicio en programas de Control de Calidad. Estos programas, al mismo tiempo que valoran la eficacia y la excelencia de nuestros resultados, nos permiten llevar a cabo un análisis comparativo “benchmarking” con muchos otros laboratorios del mundo. En este momento la Unidad participa activamente en los controles de calidad de los siguientes organismos: European Research Network in Inherited Disorders of Metabolism (ERNDIM), United Kingdom National External Quality Assessment Scheme (UKNEQAS), Hospital Universitario de Hamburgo (QA Squeme MS/MS) (Alemania), Centers for Disease Control and Prevention (CDC) (EE.UU.), Reference Institute for Bioanalytics Deytsche

Gesellschaft Für Klinische Chemie EV (DG KL) (Bonn-Alemania), Sociedad Española de Química Clínica (SEQC) y Asociación Española para el Cribado Neonatal (AECNE) (España), Regional Genetics and Newborn Screening Collaborative (HRSA-04-085) MS/MS Working Group (Clínica Mayo. Rochester EE.UU.), con los que controlamos la calidad de nuestras valoraciones y de nuestros diagnósticos. En la tabla 19 se refieren los controles que realizamos en cada uno de los organismos citados.

Tabla 19. Organismos y Controles de Calidad de la Unidad (2006 - 08)

European Research Network in Inherited Disorders of Metabolism (ERNDIM) en:	Qualitative urinary organic acid análisis, Quantitative Organic Acid Scheme, Quantitative Amino Acids, Special Assays (urine), Proficiency Testing, Purine and Pyrimidine, Acyl Carnitine
United Kingdom National External Quality Assessment Scheme (UKNEQAS) en:	Neonatal Screening (TSH, Phenylalanine); Phenylalanine, Tyrosine, Leucine, Isoleucine, Valine/Quantitative; Urinary Orotic Acid Surveys
Hospital Universitario de Hamburgo (QA Scheme MS/MS) (Alemania) en:	Neonatal Screening (Coordinado por Dr. Z. Lukacs, Hamburg, Germany)
Centers for Disease Control and Prevention (CDC) (EE.UU.) en:	Quality Control, en sangre impregnada en papel: Acilcarnitinas, Aminoácidos, TSH, hemoglobinas, succinyl acetona y enzimas lisosomales; Proficiency Testing, en sangre impregnada en papel: Tandem Mass Spectrometry, Cystic Fibrosis, (C.F. Mutation Detection Program and Proficiency Testing IRT and DNA confirmation of CF), Biotinidase, TSH, Phe, Gal, Leu, Met; Newborn Screening Quality Assurance Program (NSQAP)
Reference Institute for Bioanalytics Deutsche Gesellschaft Für Klinische Chemie EV (DG KL) (Bonn-Alemania) en:	TSH en muestra de sangre impregnada en papel
Sociedad Española de Química Clínica (SEQC) y Asociación Española para el Cribado Neonatal (AECNE) (España) en:	Programa de evolución Externa de la Calidad de Detección Precoz Neonatal: Hipotiroidismo Congénito, Hiperfenilalaninemia
Regional Genetics and Newborn Screening Collaborative (HRSA-04-085) MS/MS Working Group (Clínica Mayo. Rochester EE.UU.) en:	Control de diagnósticos de enfermedades muy poco frecuentes al objeto de conseguir mejorar la eficacia del diagnóstico en la primera semana de vida (Objetivos: Tasa de detección < 1/3000 RN; Tasa de falsos positivos < 0,3% y PPV > 20%)

De forma general podemos decir que del análisis puntual y secuencial de los resultados de estos controles nuestra Unidad ha alcanzado un nivel técnico de excelente aseguramiento de la calidad, lo que avala y mantiene la confianza en nuestra labor analítica diaria. En el control de biotinidasa en los seis años en que lo realizamos nunca hemos obtenido un falso negativo. En los programas de control de Tandem Masas, en los que participamos desde su inicio, nuestros resultados avalan la capacidad del laboratorio para el diagnóstico de todas las alteraciones metabólicas abarcables por esta técnica. Nuestra

calificación metodológica nos ha permitido ser incluidos en el Regional Genetics and Newborn Screening Collaborative Group de los EE.UU. para participar con nuestros casos, valores de referencia y diagnósticos en el establecimiento de propuestas de los rangos de los puntos de corte más idóneos para las enfermedades muy raras. En los controles de Fibrosis Quística los resultados siempre han sido 100% satisfactorios y debido a la alta especialización del grupo colaborador de la Fundación de Medicina Genómica en alguna ocasión hemos sido el único centro que logró identificar todas las mutaciones de la muestra problema (CDC-EE.UU.).

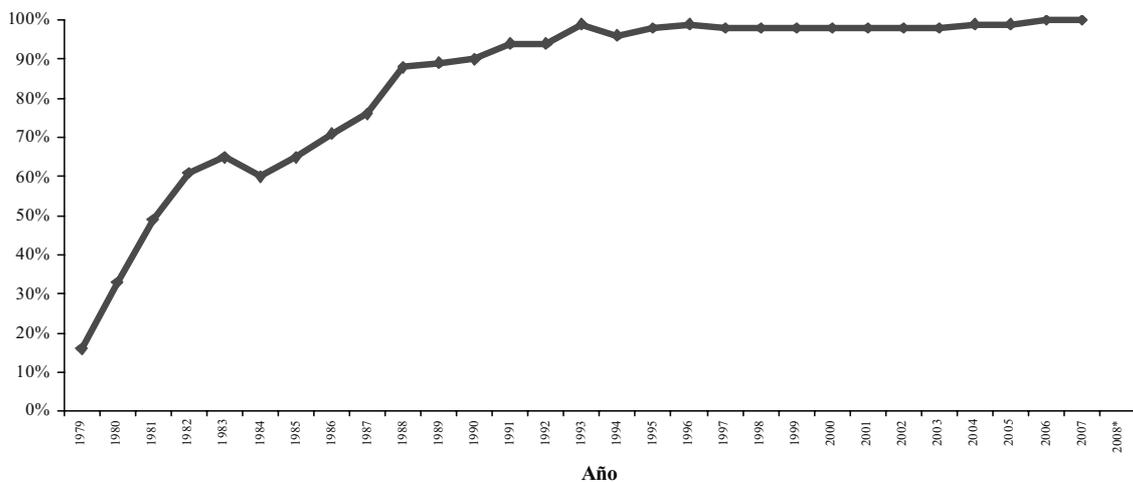
En el estudio de hemoglobinopatías nuestro Centro fue uno de los cuatro, junto con los de la Universidad de Leeds, el Departamento of State Health Services of Texas, y el Perkin Elmer Life on Analytical Sciences en Turku (Finlandia) que desarrollaron el “Performance evaluation Plan: B019-104 AutoDELFI A Hb Immunoassay Kit Study number 06004” para su presentación y aprobación en la FDA para su utilización en el cribado neonatal.

A finales de este año solicitaremos la auditoría a ENAC para la formalización de la adaptación plena del funcionamiento de la metodología empleada basándose en la aplicación de las directrices obligadas por la norma europea (EN ISO 15189:2003) que proporciona los requisitos relativos a la competencia y a la calidad, garantía esencial para la asistencia a los pacientes con errores congénitos del metabolismo. La Unidad ya superó la fase de auditoría interna (normas protocolizadas y registros oficiales).

CUMPLIMIENTO DEL MODELO DEL PROGRAMA

1. Cobertura poblacional del programa: Uno de los objetivos básicos, intrínscico en el concepto del programa, es la aplicación universal a la población neonatal. Desde sus inicios (después del programa piloto de evaluación) empezamos con una alta cobertura (superior al 50% de los nacimientos) y desde la década de los noventa cubrimos en la práctica la totalidad de los nacimientos (el 99,9-100%) (*gráfica 1*).

Gráfica 1. Evolución cobertura del programa (% poblacional neonatal)*



* Porcentajes de participación corregidos a datos reales de nacimientos

2. Cumplimiento en sensibilidad y especificidad diagnósticas: Hasta el momento actual no se ha comunicado ningún falso negativo que hubiese sido detectable en los grupos de trabajo de seguimiento de las patologías (hipotiroidismo, aminoacidopatías, galactosemia y fibrosis quística). El programa ya nació en 1978 conceptualmente como un cribado de diagnóstico abierto (CNa), con el cual además de la fenilcetonuria y el hipotiroidismo congénito, era posible hacer el diagnóstico de otros ECM: la leucinosis, cistinuria, tirosinemia, galactosemia, diabetes neonatal, alcaptonuria y algunas organicoacidurias, entre otras. En el año 2000 fuimos el primer y único centro de España que inicia el cribado neonatal del metabolismo de aminoácidos y carnitinas (cribado neonatal ampliado-CNA) por la técnica de masas en tándem con lo que ampliamos la capacidad diagnóstica neonatal a alteraciones de la beta-oxidación de los ácidos grasos como LCHAD, MCAD, SCAD, etc. En la actualidad seguimos siendo el único centro de España con esta capacidad diagnóstica.

En el año 2006 el American College of Medical Genetics (ACMG) identificó un panel básico (*core panel*) de 29 trastornos para los cuales el cribado debía ser obligatorio y definió otras 25 alteraciones adicionales que son clínicamente significantes y que se identifican como parte del diagnóstico diferencial de los trastornos del panel básico pero que carecen de un tratamiento eficaz o que representan hallazgos accidentales, pero que tienen una potencial significancia clínica. En la tabla 20 se reflejan los ECM que debieran ser cribados en toda la población neonatal y comparativamente los procesos que abarca nuestro programa de CNA. Del panel básico nosotros no cubrimos la hiperplasia suprarrenal congénita.

Tabla 20. Trastornos Congénitos Tratables a los que se debe aplicar el Cribado Neonatal (panel básico ACMG)		Trastornos Congénitos que pueden ser detectados por el cribado NA (panel secundario ACMG)	
ECM de los Ácidos Orgánicos	CNA Santiago	ECM de los Ácidos Orgánicos	CNA Santiago
▪ Acidemia isovalérica	x	▪ Acidemia metilmalónica (Cbl C, D)	x
▪ Acidemia glutárica	x	▪ Acidemia malónica	x
▪ Defic. 3 hidroxil-3-metilglutaril-CoA liasa	x	▪ Defic. isobutiril-CoA dehidrogenasa	x
▪ Defic. múltiple de Carboxilasa	x	▪ Aciduria 2-metil.3hidroxil butírica	x
▪ Acidemia metilmalónica (Cbl-A, B) y defic. Mutasa	x	▪ Defic. 2-metilbutiril-CoA dehidrogenasa	x
▪ Acidemia propiónica	x	▪ Aciduria 3-metilglutacónica	x
▪ Defic. β -ketotiolasa	x		
ECM de los Ácidos Grasos		ECM de los Ácidos Grasos	
▪ Defic. acil-CoA dehidrogenasa de cadena media (MCAD)	x	▪ Defic. en acil-CoA dehidrogenasa de cadena corta	x
▪ Defic. acil-CoA dehidrogenasa de cadena muy larga (VLCAD)	x	▪ Aciduria glutárica tipo II	x
▪ Defic. L-3-hidroxil acil-CoA dehidrogenasa cadena larga	x	▪ Defic. en L-3-hidroxil acil-CoA dehidrogenasa de cadena media/corta	x
▪ Defic. proteína trifuncional	x	▪ Defic. cetoacil-CoA tiolasa de cadena media	x
▪ Def. captación-Carnitina	x	▪ Defic. palmitoiltransferasa carnitina II	x
		▪ Defic. translocasa carnitina: acilcarnitina	x
		▪ Defic. carnitina palmitoiltransferasa I (hígado)	x
		▪ Defic. dienol-CoA reductasa	x
ECM de los aminoácidos		ECM de los aminoácidos	
▪ Fenilcetonuria	x	▪ Hiperfenilalaninemia	x
▪ Enfermedad jarabe de Arce	x	▪ Tirosinemia tipo II	x
▪ Homocistinuria (cistationina- β -sintasa)	x	▪ Def. en la biosíntesis de los cofactores de la bipterina	x
▪ Citrulinemia	x	▪ Argininemia	x
▪ Acidemia argininosucínica	x	▪ Tirosinemia tipo III	x
▪ Tirosinemia tipo I	x	▪ Regeneración de los def. de bipterina	x
		▪ Hipermetioninemia	x
		▪ Citrulinemia tipo II	x
Hemoglobinopatías		Hemoglobinopatías	
▪ Anemia células falciformes (Hb S β -Talasemia)	1	▪ Variantes de hemoglobinopatías (incluyendo la HbE)	1
▪ Enfermedad Hbs/C	1		
Otras		Otras	
▪ Hipotiroidismo congénito	x	▪ Defic. de galactoquinasa	x
▪ Defic. biotinidasa	x	▪ Defic. de epimerasa galactosa	x
▪ Hiperplasia suprarrenal congénita (defic. 21-hidroxilasa)	2		
▪ Galactosemia clásica	x		
▪ Sordera neonatal	3		
▪ Fibrosis quística	x		

Paneles del Colegio Americano de Genética Médica (ACMG). Genet Med 2006; 8 (5 supp): 12S-252S. Academia Americana de Pediatría (AAP) y el Comité Asesor en Trastornos Hereditarios y Enfermedades Genéticas en los Neonatos y Niños del Ministerio de Servicios Humanos y Salud de los EE.UU. (ACHDGDNC)

1 = Programa piloto 2 = Posible 3 = Dir. Xeral Saúde Pública. Consellería Sanidade. Xunta

UNIDAD DE TRATAMIENTO Y SEGUIMIENTO DE LOS ECM (CASA MÉDICA DE LOS PACIENTES CON ECM)

En nuestra Unidad tratamos y cuidamos 257 pacientes, de los cuales 212 presentan trastornos metabólicos tipificados (*tabla 21*) y el resto están en fase de valoración diagnóstica. Al ser una Unidad de Referencia, estos pacientes provienen en su gran mayoría de toda la Comunidad Gallega, aunque algunos pertenecen a otras Autonomías (Madrid, Canarias,...) que acuden para segunda consulta y/o tratamientos específicos. Son pacientes pediátricos en su inmensa mayoría aunque evolutivamente seguimos a algunos adultos, lo que hace que el rango de edad sea muy variable, de días a 35 años. En todos los casos se aporta a las familias información y consejo genético.

El 71,8 % (152) de los pacientes con afectación metabólica han sido diagnosticados mediante el cribado neonatal ampliado. Estos son los que tienen, en general, una mejor calidad de vida y un nivel de salud normal o casi normal y son en los que mejor se mantiene el control de su alteración metabólica.

Para su diagnóstico correcto nos valemos de determinaciones basales: análisis clínicos y pruebas de cribado básicas, pruebas funcionales: prueba de ayuno, estudios pre y postprandiales, de prueba de sobrecarga de glucosa para lactato, prueba de sobrecarga con fenilalanina y/o tetrahidroxipterina, prueba de sobrecarga con alopurinol, pruebas de sobrecarga de cofactores vitamínicos, etc., y de los procesos de diagnóstico de confirmación: con valoración de actividad enzimática en células sanguíneas o biopsias de tejidos (piel, músculo, hígado, intestino) y/o estudio de mutaciones del gen afectado en sangre periférica.

Para su tratamiento y seguimiento óptimos disponemos de medidas dialíticas de depuración: diálisis peritoneal, hemodiafiltración y/o hemodiálisis; si es preciso por cuadro de intoxicación aguda.

Contamos asimismo con un depósito hospitalario de fármacos (“raros”, no comunes o de uso compasivo) que son imprescindibles en un Centro Hospitalario de Referencia para los pacientes con alteraciones metabólicas y que gestionamos con el Servicio de Farmacia Hospitalaria (carbamilglutamato, fenilbutirato, benzoato, dicloroacetato, NTBC, BH₄, arginina, citrulina, carnitina, isoleucina, citrato de betaína, diferentes vitaminas, thiheptanoína, ácidos grasos específicos, alimentaciones parenterales con AAs específicos, etc.).

Las familias disponen de apoyo dietético con programas elaborados por la Unidad, con cursos de formación, un “programa de cálculo dietético para el tratamiento de los ECM” en formato CD y hemos editado un libro de dietas *Menús para el tratamiento dietético de los Errores Congénitos del Metabolismo* en el que colaboran restauradores para el diseño, palatabilidad y presentación de las dietas.

Hemos desarrollado (en el año 2007) una página web de diseño propio y disponible de forma gratuita para cualquier usuario, que permite el cálculo dietético diario de todos nuestros pacientes valorando el aporte energético, de los principios inmediatos, vitaminas y minerales (www.odimet.es). La constituimos fundamentalmente como una herramienta de trabajo en la que por medio de un organizador dietético metabólico (Odimet^R) permite a las familias de niños con ECM y a los pacientes mayores realizar la dieta más óptima, disponiendo para ello de la composición de más de mil productos dietéticos y alimentos.

Hemos editado folletos de información sobre las principales enfermedades metabólicas para los padres y pacientes.

Disponemos de la colaboración interdisciplinar para la realización de valoración neurológica, cociente de desarrollo y/o coeficiente intelectual, exploraciones, programas interespecialidades (con reuniones y valoraciones periódicas).

Entre los pacientes con valoración diagnóstica definitiva (*tabla 21*) describiremos sucintamente algunos grupos de patologías:

a) Hiperfenilalaninemias: se controlan 99 pacientes, agrupados en las siguientes entidades nosológicas: 36 hiperfenilalaninemias benignas con niveles de fenilalanina al diagnóstico $< 360 \mu\text{mol/L}$, no precisan tratamiento dietético, pero sí valoración evolutiva; 6 hiperfenilalaninemias moderadas: niveles de fenilalanina al diagnóstico entre 360 y 600 $\mu\text{mol/L}$, tolerancia de fenilalanina de 700-1000 mg/día; 17 fenilcetonurias moderadas: niveles de fenilalanina al diagnóstico entre 600 y 1200 $\mu\text{mol/L}$, tolerancia de fenilalanina de 400-700 mg/día; 40 fenilcetonurias clásicas: niveles de fenilalanina al diagnóstico $\geq 1200 \mu\text{mol/L}$, tolerancia de fenilalanina $< 400\text{mg/día}$.

Trece de estos pacientes son BH_4 sensibles y reciben tratamiento con ella.

A todos ellos, tras comprobar su nivel de fenilalanina plasmático aumentado con un cociente fenilalanina/tirosina generalmente elevado, se le realizan determinación de pterinas en orina y de DHPR (dihidropteridínreductasa) para descartar un déficit de cofactor.

Se confirma el diagnóstico por estudio geneticomolecular objetivando la actividad de las mutaciones expresadas en células COS.

Tabla 21. Trastornos metabólicos seguidos en la Casa Médica de los ECM N.º
Unidad de Tratamiento y Seguimiento Pacientes

1. Aminoacidopatías			
▪ Hiperfenilalaninemias	Hiperfenilalaninemia benigna		36
	Hiperfenilalaninemia moderada		6
	Fenilcetonuria moderada		17
	Fenilcetonuria clásica		40
▪ Jarabe de Arce	Forma clásica		3
	Forma intermedia		2
▪ Tirosinemias	Tipo I		3
	Tipo III		1
▪ Hipermetioninemias	Por déficit MAT I/III		7
	Homocistinurias	Clásica	4
		Por déficit MTHRF	1
▪ Hiperglicinemia no cetósica			1
▪ Histidinemias			2
▪ Alcaptonurias			2
2. Acidemias orgánicas			
▪ Aciduria glutárica tipo I			6
▪ Acidemia metilmalónica			6
▪ Metilcrotonilglicinuria			5
▪ Aciduria 3 hidroxil 3 metilglutárica			1
▪ Aciduria piroglutámica ?			1
3. Alteraciones de la β-oxidación de los ácidos grasos y del sistema carnitina			
▪ Déficit de 3hidroxiacilcoenzima A de cadena larga (LCHAD)	Tipo I (déficit de proteína trifunciona)		1
	Tipo II		2
▪ Déficit de acil coenzima A deshidrogenasa de cadena media			6
▪ Déficit de 3-hidroxiacilcoenzima A deshidrogenasa de cadena corta			4
▪ Déficit múltiple de acilcoenzima A deshidrogenasa (aciduria glutárica tipo II)			3
▪ Déficit del transportador de carnitina			1
4. Trastornos del metabolismo de los Carbohidratos			
▪ Trastornos del metabolismo de la galactosa	Déficit de galactosa-1-fosfato uridiltransferasa (GALT)		2
	Déficit de UDP-galactosa-4-epimerasa (GALE)		2
	Déficit de galactocinasa (GALK)		3
▪ Glucogenosis	Tipo Ia		1
	Tipo Ib		1
	Tipo II infante juvenil		1
	Tipo V		1
▪ Trastornos del metabolismo de la fructosa	Intolerancia hereditaria a la fructosa		3
	Déficit de fructosa 1-6 difosfatasa		1
5. Trastornos de ciclos metabólicos específicos			
▪ Enfermedades del ciclo de la urea	Déficit parcial de OTC		2
	Argininemia		1
	Aciduria arginino succínica		1
▪ Defectos de la biosíntesis del colesterol	Síndrome de Smith-Lemli-Opitz		4
6. Déficits de vitaminas y cofactores			
▪ Alteraciones del metabolismo de la biotina	Déficit total de biotinidasa		4
	Déficit parcial de biotinidasa		2
7. Enfermedades del Metabolismo Lisosomal			
▪ Mucopolisacaridosis	MPS Tipo II (Hunter)		1
	MPS Tipo IV (Morquio)		1
8. Defectos del Transporte			
▪ Cistinurias clásicas			18
▪ Defecto del transporte de la glucosa por la barrera hematoencefálica (Síndrome de deficiencia Glut-1)			1
▪ Defectos del metabolismo de la creatina (Déficit del guanidoacetato metiltransferasa. GAMT)			1
Total			212

Si se trata de hiperfenilalaninemia moderada o fenilcetonuria se les realiza test de sobrecarga con BH₄ que permite diferenciar las deficiencias de fenilalanina hidroxilasa sensibles o no al tratamiento con BH₄. Trece pacientes reciben esta terapéutica al haber disminuido sus niveles de fenilalanina al menos un 30% tras la sobrecarga de BH₄, lo que les permite en 6 casos mantener una dieta libre controlada y en los otros una mayor liberalización dietética.

Todos los demás reciben tratamiento dietético restringido en el aminoácido esencial fenilalanina con monitorización periódica en función del grupo de edad de sus niveles.

Todos nuestros pacientes con hiperfenilalaninemia diagnosticados y tratados desde el período neonatal tienen un CI en rango normal, algunos estudian carreras superiores y todos pueden llevar una vida autónoma sin problemas. En los de diagnóstico tardío, el tratamiento les ha mejorado parcialmente aunque la mayoría presentan al menos un moderado retraso psicomotor.

Hasta este momento controlamos también dos mujeres embarazadas con hiperfenilalaninemia a las que se trata de mantener con niveles de fenilalanina inferiores a 240 µmol/l. Una dio a luz un hijo sano, otra está embarazada en el momento actual.

b) Leucinosis o Enfermedad de la orina de jarabe de arce: controlamos cinco pacientes con esta enfermedad (3 formas clásicas y 2 formas intermedias). Tres fueron diagnosticados por cribado neonatal, uno tras la presentación de clínica de intoxicación en los primeros días de la vida y un quinto ya de 26 años lo seguimos desde hace un año (anteriormente vivía en otro país).

Los cuatro diagnosticados y tratados en período neonatal mantienen un cociente de desarrollo superior a 85, lo cual por la gravedad de esta enfermedad es inusual. Creemos que a ello contribuye el seguimiento estricto con la realización de aminoácidos ramificados en muestra de sangre impregnada en papel (en España sólo se realiza en nuestro Centro y en Cataluña) y el disponer de infusión de proteínas vía parenteral exentas de aminoácidos de cadena ramificada.

c) Trastornos del metabolismo de la metionina-hipermetioninemia: desde la aplicación del cribado ampliado es posible la detección de entidades que antes prácticamente se desconocían, es el caso de la *Hipermetioninemia por déficit de MAT I/III*, que presentan siete de nuestros niños, lo cual representa una incidencia de 1/28160 RN. Todos ellos tienen la misma mutación dominante, R264H en el gen *MAT1A*. Con una dieta que no

exceda los requerimientos normales de proteína recomendados para su edad, nuestros niños mantienen niveles de metionina < 300 µmol/L y sus cocientes de desarrollo son normales (*tabla 22*).

**Tabla 22. Deficiencia de MAT (I/III):
fenotipo, genotipo y evolución niveles metionina**

Paciente	Edad actual	Sexo	CNA (MS/MS)		Confirmación (plasma)			Mutación MAT 1A	Cambio Nucleótido
			Edad	Met*	Edad	Met*	Hcis _t *		
CMC 1	2a 10m	M	6d	50	35d	573	22,8	R264H	791 g/a
MLM 2	2a 8m	H	3d	100	1m 15d	189	8,9	R264H	791 g/a
PPS 3	2a 7m	M	5d	88	2m 21d	341	9,7	R264H	791 g/a
DLV 4	2a 6m	H	3d	147	2m 13d	331	12,4	R264H	791 g/a
GRF 5	1a 4m	H	5d	100	25 d	164	11,0	R264H	791 g/a

* Unidades de concentración en µmol/L

d) Homocistinuria clásica: controlamos cuatro pacientes, tres de ellos adultos, remitidos a nuestra Unidad a edad tardía. Los tres presentan importante sintomatología derivada de su enfermedad (luxación del cristalino, alteraciones óseas, afectación neurológica moderada, etc.), habiendo presentado dos de ellos cuadros de tromboembolismo. El cuarto paciente, diagnosticado por cribado neonatal ampliado tiene actualmente 2 años, mantiene sus niveles de homocisteína entre 20-40µmol/L con tratamiento restringido en metionina y citrato de betaína y en el momento actual no presenta sintomatología clínica alguna.

e) Aciduria glutárica tipo I: actualmente controlamos seis pacientes, tres de ellos diagnosticados en período neonatal por cribado y otros tres después de presentar crisis encefalopática. Entre los dos grupos existe una notable diferencia evolutiva y clínica aunque todos ellos están recibiendo tratamiento (carnitina, dieta restringida en lisina y otros) (*tabla 12*).

f) Aciduria piroglutámica: un paciente con debut neonatal a las pocas horas de vida con hemólisis severa (anemia e ictericia que requirió exanguinotransfusión total), acidosis metabólica y afectación del sistema nervioso central. El tratamiento con antioxidantes, N-acetilcisteína y bicarbonato lo ha mejorado parcialmente, precisando frecuentes trans-

fusiones por lo que hemos añadido a su tratamiento de base eritropoyetina que nos retarda la frecuencia de transfusiones sanguíneas; haciendo una revisión bibliográfica sólo hallamos un caso publicado con este tratamiento.

g) Déficit de 3hidroxiacilcoenzima A de cadena larga: tres pacientes. Uno de ellos con diagnóstico tardío de debilidad muscular progresiva corresponde a un déficit de proteína trifuncional (tipo I). Los otros dos con déficit aislado de LCHAD (tipo II) fueron diagnosticados en el período neonatal por cribado ampliado. Todos reciben tratamiento dietético con triglicéridos de cadena media (MCT) como principal aporte energético graso, presentando a pesar de ello episodios frecuentes de rabdomiolisis que requieren ingreso hospitalario. Actualmente, participamos en un proyecto FIS para evaluar la eficacia, tolerancia e influencia de una dieta con triheptanoína, como principal aporte energético de las grasas, frente al tratamiento dietético actual con triglicéridos de cadena media en pacientes con estas deficiencias severas de la β -oxidación mitocondrial de los ácidos grasos de cadena larga.

h) Enfermedades del ciclo de la urea: un paciente con argininemia y un paciente con aciduria arginino succínica, ambas formas moderadas, diagnosticadas por cribado metabólico neonatal. dos pacientes con déficit parcial de OTC: diagnóstico tras cuadro de encefalopatía con hiperamonemia a los 2 años en una mujer heterocigota y a los 20 años en un varón. La niña presenta una buena evolución neurológica pero el paciente de más edad tiene secuelas neurológicas graves tras el cuadro inicial. El diagnóstico se confirmó por biopsia intestinal en la niña y en el varón se hizo estudio molecular tras respuesta positiva a la sobrecarga de alopurinol.

i) Defecto del transporte de glucosa por la barrera hematoencefálica (Síndrome de deficiencia del Glut-1): un paciente diagnosticado al mes de vida tras clínica de convulsiones. Es de los casos publicados en la literatura con diagnóstico más precoz. Recibe tratamiento con dieta cetogénica y ácido lipoico.

FUTURO: EL INMEDIATO Y EL DEL DEVENIR

El que nazcan seres sanos y que se mantengan así a lo largo de toda su vida, es el estándar oro para los individuos, para las familias, la sociedad y los sistemas políticos sanitarios y de la salud.

El diagnóstico precoz de enfermedades metabólicas, congénitas y/o genéticas, sobre todo de aquellas cuya instauración de un tratamiento precoz previene o aminora la aparición de cuadros clínicos, de enfermedad o previene cualquier alteración en el desarrollo es, hoy por hoy, el objetivo de los programas de cribado neonatales.

El avance científico y tecnológico, así como su aplicación a los objetivos de futuro indicados anteriormente, hace que ya sea visible la posibilidad de enfatizar en una estrategia de salud personalizada, a la que pronto se incorporarán los nuevos métodos de análisis genético, para el mejor cuidado de la predisposición de cada individuo a una enfermedad determinada o para su mejor cuidado si es el caso.

Es necesario el desarrollo e implantación de Unidades que, tal como intenta iniciar la nuestra, promuevan la conectividad de los diferentes programas de salud (asistencia primaria, hospitalaria, salud pública, alta tecnología, redes e innovación), en las que se promueva y se haga la traslación directa de la tecnología a la práctica clínica y al cuidado de los pacientes con ECM y enfermedades raras. En ellas se tiene que establecer la relación entre los datos clínicos, los analíticos y los genéticos para llegar a conocer la epigenética de los procesos metabólicos en las diferentes individuos y pacientes, para añadir eficiencia al desarrollo terapéutico, a la identificación de mejores prácticas clínicas y para obtener mejores métodos para su identificación.

El beneficio público de la expansión de la aplicación de estos programas es claro y así es reconocido.

Recientemente, el 24 de abril de este mismo año (2008), el gobierno de los EE.UU. aprobó la ley S1858 Newborn Screening Saves Lives Act of 2007 (Public Law 110-2004) que permite la expansión de los programas de cribado neonatal para los trastornos metabólicos, genéticos y congénitos, contemplando la ampliación de servicios sanitarios para el cribado de los neonatos y niños con riesgo de tener desórdenes hereditarios y para el consejo genético, al mismo tiempo que se otorgan fondos para la formación y educación de profesionales de la salud en nuevas tecnologías aplicadas al screening neonatal y para desarrollar y hacer llegar programas educativos sobre el cribado neonatal a los padres, a las familias y a las agrupaciones sociales, así como garantizando la atención sanitaria de

los neonatos y niños con desórdenes hereditarios. (<http://www.govtrack.us/congress/bill>. y www.acmg.org). La presidenta de la Fundación March of Dimes emitió la siguiente declaración:

“Es un tremendo paso hacia el día en que cada familia pueda descansar segura de que sus recién nacidos están sanos. El cribado neonatal elimina el misterio de los trastornos serios, inaparentes que son identificables y que son tratables. El cribado neonatal es una actividad vital para la salud pública que suministra la identificación precoz y el tratamiento para los niños afectados por ciertos desórdenes genéticos, hormonales, metabólicos y funcionales. A través de una toma de sangre, hecha poco después del nacimiento, una alteración puede ser identificada antes de que presente ninguna sintomatología, permitiendo un tiempo-ventana crucial para el tratamiento precoz para prevenir el daño a largo plazo o incluso la muerte. Es un gran día para todas las familias. Es una inversión importante en la salud y el futuro de nuestros niños”.

(Dr. J. L. Howse).

Los programas de cribado neonatal salvan vidas. Se estima que 1 de cada 500 RN presentan trastornos detectables a través del CN y que es necesario garantizar no sólo el diagnóstico adecuado, sino también el mantenimiento sanitario apropiado para estos pacientes que tendrán una enfermedad crónica a lo largo de toda su vida (American College of Medical Genetics).

Los cribados neonatales son programas vitales de salud pública. Por medio de estos programas de diagnóstico precoz es posible el tratamiento de alteraciones, pudiendo prevenirse así las verdaderamente calamitosas consecuencias de su evolución (M. S. Watson, PhD, FACMG, director ejecutivo del ACMG) www.acmg.net/AM/19/05/08).

“Screening saves lives” / El cribado neonatal (CNA) salva vidas

BIBLIOGRAFÍA

Fraga JM, Alonso-Fernández JR, Bóveda MD, Bravo M, Peña J.

The organization and methods of neonatal and metabolic screening in the Regional Center of Galicia (Spain). En: B.L. Therrel (ed); *Advances in Neonatal Screening. Excerpta Médica*: pp. 481-483, 1987.

Fraga JM, Alonso-Fernández JR.

Neonatal Screening Programs in Spain; 1982-1986. En: B.L. Therrel (ed); *Advances in Neonatal Screening. Excerpta Medica*: ISBN: 0-444-80906-6, pp 487-488, 1987.

Pombo M, Alonso-Fernández JR, Bravo M, Fraga JM, Peña J.

Diagnóstico Precoz del Hipotiroidismo Congénito y de la Deficiencia de Hormona del Crecimiento. *An. Esp. Ped.* 27 (Sup.28) 44-47, 1987.

Colón C, Alonso-Fernández JR, Castiñeiras DE, Romero ME, Fraga JM, Peña J.

Posible Causes of Borderline TSH: a summary of our experience. En: F. Delange; D.A. Fisher; D. Glinder; *Research in congenital Hypothyroidism*, pp 316, 1989. Editorial Plenum Press.

Rebollido M, Cocho JA, Castiñeiras DE, Boveda MD y Fraga JM.

Aplicación de la espectrometría de masas en tandem al análisis de aminoácidos, acilcarnitinas, acilglicinas y ácidos orgánicos en muestras de orina en papel. *Química Clínica* 2006; 25: 64-74.

Cocho JA, Castiñeiras DE, Fraga JM.

Cribado Neonatal de los Errores Congénitos del Metabolismo. En: *Diagnóstico y tratamiento de las Enfermedades Metabólicas Hereditarias*, P Sanjurjo y A Baldellou Eds., Ed Hergon Madrid 2006, pp 47-62.

ACMG

Newborn screening: toward a uniform screening panel and system. *Genet Med.* 2006; 8 Suppl 1:1S-252S.

Mérelle ME, Scheffer H, De Jong D, Dankert-Roelse JE.

Extended gene analysis can increase specificity of neonatal screening for cystic fibrosis. *Acta Paediatr.* 2006; 95:1424-8.

Bóveda MD, Couce ML, Castiñeiras DE, Cocho JA, Pérez B, Ugarte M, Fraga JM.

The tetrahydrobiopterin loading test in 36 patients with hyperphenylalaninemia: evaluation of response and subsequent treatment. *J Inherit Metab Dis.* 2007; 30(5):812. Epub 2007 Jun 21.

Couce Pico ML, Castiñeiras Ramos DE, Bóveda Fontán MD, Iglesias Rodríguez AJ, Cocho de Juan JA y Fraga Bermúdez JM.

Avances en el diagnóstico y tratamiento de la enfermedad de jarabe de arce, experiencia en Galicia. *An Pediatr (Barc).* 2007; 67:337-43.

Alonso MJ, Heine-Suñer D, Calvo M, Rosell J, Giménez J, Ramos MD, Tellería JJ, Palacio A, Estivill X, Casals T.

Spectrum of mutations in the CFTR gene in cystic fibrosis patients of Spanish ancestry. *Ann Hum Genet* 2007; 71: 194-201.

Rebollido Fernández M.

Desarrollo y aplicación de métodos de análisis por espectrometría de masas en tándem para el estudio de metabolitos urinarios marcadores de errores congénitos del metabolismo. Universidad de Santiago, tesis doctoral. Santiago 2007.

Cocho de Juan JA.

Desarrollo de un método por espectrometría de masas en tándem para la determinación de acilcarnitinas y para la detección neonatal de alteraciones del metabolismo de ácidos orgánicos y ácidos grasos. Universidad de Santiago, tesis doctoral, 2007.

La Marca G, Malvagia S, Pasquini E, Innocenti M, Donati MA, Zammarchi E.

Rapid 2nd-tier test for measurement of 3-OH-propionic and methylmalonic acids on dried blood spots: reducing the false-positive rate for propionylcarnitine during expanded newborn screening by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Clin Chem.* 2007; 53: 1364-9.

Turgeon C, Magera MJ, Allard P, Tortorelli S, Gavrilov D, Oglesbee D, Raymond K, Rinaldo P, Matern D.

Combined newborn screening for succinylacetone, amino acids, and acylcarnitines in dried blood spots. *Clin Chem.* 2008; 54: 657-64.

American Academy of Pediatrics Newborn Screening Authoring Committee.

Newborn screening expands: recommendations for pediatricians and medical homes implications for the system. *Pediatrics.* 2008; 121:192-217.

Derks TG, Boer TS, van Assen A, Bos T, Ruiter J, Waterham HR, Niezen-Koning KE, Wanders RJ, Rondeel JM, Loeber JG, Ten Kate LP, Smit GP, Reijngoud DJ.

Neonatal screening for medium-chain acyl-CoA dehydrogenase (MCAD) deficiency in The Netherlands: the importance of enzyme analysis to ascertain true MCAD deficiency. *J Inherit Metab Dis.* 2008;31: 88-96.

U.S. System of Oversight of Genetic Testing: A Response to the Charge of the Secretary of Health and Human Services. Report of the Secretary's Advisory Committee on Genetics, Health, and Society. (April 2008).

http://www4.od.nih.gov/oba/sacghs/reports/SACGHS_oversight_report.pdf

Couce ML, Bóveda MD, Castiñeiras DE, Corrales FJ, Mora MI, Fraga JM, Mudd SH

Hypermethioninemia due to methionine adenosyltransferase I/III (MAT I/III) deficiency: Diagnosis in an expanded neonatal screening program.

J Inherit Metab Dis Aceptado para publicación (12-03-2008).



GOBIERNO
DE ESPAÑA

MINISTERIO
DE SANIDAD
Y POLÍTICA SOCIAL

