



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLÁN**

**ELABORACIÓN DE UNA HERRAMIENTA PARA LA INTERPRETACIÓN DEL
TAMIZ NEONATAL AMPLIADO Y PRUEBAS CONFIRMATORIAS PARA EL
DIAGNÓSTICO DE ERRORES INNATOS DEL METABOLISMO INTERMEDIO
IDENTIFICADOS POR ESPECTROMETRÍA DE MASAS EN TÁNDEM**

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO
P R E S E N T A
JONATHAN JAVIER AGUILAR LEMUS

ASESOR INTERNO: Q.F.B. ROSALBA BONILLA SÁNCHEZ

ASESOR EXTERNO: Q.F.B. CYNTHIA FERNÁNDEZ LAINEZ

CUAUTITLÁN IZCALLI, ESTADO DE MÉXICO.

2012



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO:

Presidente: M. en D. Ma. Esther Revuelta Miranda

Vocal: Dra. Sandra Díaz Barriga Arceo

Secretario: QFB. Rosalba Bonilla Sánchez

1er Suplente: M. I Beatriz Baltazar Montes de Oca

2do. Suplente: QFB. Sara Hernández Matilde

Asesor Interno: QFB. Rosalba Bonilla Sánchez

Asesor Externo: QFB. Cynthia Fernández Lainez

Sustentante: Aguilar Lemus Jonathan Javier

DEDICATORIAS.

Este trabajo se lo dedico a:

A mis padres que han estado conmigo en todo momento, apoyándome y siempre pendiente de mí, son los mejores y dotados de una gran bondad, fortaleza, humildad e inteligencia .

Los quiero mucho y este logro es por ustedes.

A mi Tía Ma. Cruz gracias por tu cariño, consejos y todo tu apoyo.

Te quiero y este trabajo también es tuyo.

A los demás miembros de mi familia (no podría mencionar a uno por uno ya que no terminaría) gracias por su amor, consejos y por hacerme saber que siempre habrá alguien en quien confiar y apoyarme cuando lo necesite.

AGRADECIMIENTOS

A la M. en C. Isabel Ibarra González de la Unidad de Genética de la Nutrición del Instituto de Investigaciones Biomédicas UNAM-INP por su guía, conocimiento y apoyo técnico para la realización de este trabajo.

Q.F.B. Cynthia Fernández Lainez por la dirección, enseñanzas y gran apoyo brindado para la culminación de este trabajo.

A los miembros del jurado por su tiempo para revisar este trabajo de tesis y por sus valiosos comentarios.

A la Universidad Nacional Autónoma de México y a FES-Cuautitlán por haberme brindado una formación profesional y su contribución para forjarme un mejor futuro.

A los Profesores de la FES que me brindaron su orientación con profesionalismo y contribuir en afianzar mi formación como estudiante universitario.

Sitio en donde se desarrolló el tema: UNIDAD DE GENÉTICA DE LA NUTRICIÓN / LABORATORIO DE ERRORES INNATOS DEL METABOLISMO Y TAMIZ INSTITUTO NACIONAL DE PEDIATRÍA S.S – INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS UNAM-INSTITUTO NACIONAL DE PEDIATRÍA S.S.

ÍNDICE

LISTADO DE ABREVIATURAS	I
RESUMEN	IV
MARCO TEORICO	
1. Errores Innatos del Metabolismo.	1
1.1. Clasificación de los EIM.	1
2. Errores Innatos del Metabolismo Intermedio.	3
2.1. Características clínicas generales.	3
2.2. Aminoacidopatías.	3
2.3. Acidemias Orgánicas.	6
2.4. Defectos de β -oxidación.	9
3. Métodos de diagnóstico.	12
3.1. Biomarcadores Primarios y Secundarios.	12
4. Tamiz Neonatal.	13
4.1. Antecedentes Históricos del Tamiz Neonatal.	13
4.2. Tamiz Neonatal en México.	14
4.3. Panorama actual del Tamiz Neonatal.	14
5. Métodos analíticos.	18
5.1. Espectrometría de masas en tándem (MS/MS).	18
6. OBJETIVO.	21
6.1. Objetivo particular.	21
7. MATERIAL Y MÉTODOS.	22

8. RESULTADOS.	23
8.1. Tablas de Errores innatos del metabolismo.	23
8.5. Consideraciones generales en la interpretación del Tamiz Neonatal.	39
9. CONCLUSIONES.	42
10. BIBLIOGRAFÍA.	43

ÍNDICE DE FIGURAS.

1.- Ruta metabólica en la Fenilcetonuria (PKU).	5
2.- Ruta Metabólica en la Acidemia Metilmalónica (MMA).	8
3.- Esquema de la formación de acilcarnitina.	9
4.- Ruta Metabólica de la β –oxidación de los ácidos grasos.	11
5.- Esquema de un equipo de Espectrometría de masas en tándem y su funcionamiento.	20

ÍNDICE DE TABLAS.

1.- Aminoacidopatías.	23
2.- Acidemias orgánicas.	26
3.- Defectos de β -oxidación.	30
4.- Otras condiciones que pueden alterar el resultado del TNA.	34

LISTA DE ABREVIATURAS DE LOS METABOLITOS

METABOLITO	Abreviatura
Alanina	Ala
Arginina	Arg
Ácido argininosuccínico	Asa
Citrulina	Cit
Glicina	Gly
Metionina	Met
Homocisteína	Hcy
Ornitina	Orn
Fenilalanina	Phe
Succinilacetona	SUAC
Tirosina	Tyr
Valina	Val
Leucina+Isoleucina+Alloisoleucina+Norleucina+Hidroxi prolina	Xle
Carnitina libre	C0
Acetilcarnitina	C2
Propionilcarnitina	C3
Butirilcarnitina	C4
Hidroxibutirilcarnitina	C4OH
Metilmalonilcarnitina	C4DC
Isovaleril/ 2-metilbutirilcarnitina	C5
Hidroxiisovalerilcarnitina	C5OH
Glutarilcarnitina	C5DC
Hidroxidecanoilcarnitina	C10-OH
Tigililcarnitina	C5:1
Hexanoilcarnitina	C6
Hidroxihexanoilcarnitina	C6-OH
Metilglutarilcarnitina	C6DC
Octanoilcarnitina	C8
Malonilcarnitina	C3DC
Hidroxi octanoilcarnitina	C8-OH
Decanoilcarnitina	C10
Decenoilcarnitina	C10:1
Decadienoilcarnitina	C10:2
Dodecanoilcarnitina	C12
Dodecenoilcarnitina	C12:1
Tetradecanoilcarnitina	C14
Tetradecenoilcarnitina	C14:1
Tetradecadienoilcarnitina	C14:2
Palmitoilcarnitina	C16
Hidroxipalmitoilcarnitina	C16OH
Hidroxipalmitoleilcarnitina	C16:1OH
Estearoilcarnitina	C18
Hidroxiestearoilcarnitina	C18OH
Hidroxi oleilcarnitina	C18:1OH
Oleilcarnitina	C18:1
Linoleilcarnitina	C18:2

LISTA DE ABREVIATURAS DE ERRORES INNATOS DEL METABOLISMO

AMINOACIDOPATÍAS	
NOMBRE	ABREVIATURA
Argininemia (deficiencia de argininas)	ARG
Acidemia Argininosuccínica (deficiencia de Argininosuccinatoliasa)	ASA
Hiperfenilalaninemia benigna (deficiencia de fenilalanina hidroxilasa)	H-PHE
Defectos de biosíntesis del cofactor biopterin (deficiencia de dihidropteridinareductasa)	BIOPT (REG)
Defectos de regeneración del cofactor biopterin (deficiencia de 6-piruvoltetrahidropterina sintasa)	BIOPT (BS)
Deficiencia de carbamoil fosfato deshidrogenasa	CPS
Fenilcetonuria (deficiencia de fenilalanina hidroxilasa)	PKU
Citrulinemia Tipo I (deficiencia de argininosuccinatosintetasa)	CIT I
Citrulinemia Tipo II (Deficiencia de citrina)	CIT II
Homocistinuria (deficiencia de cistationina β -sintasa)	HCY
Hipermetioninemia (deficiencia de metionina adenosiltransferasa I/III, deficiencia de adenosil-homocisteína hidrolasa, deficiencia de N-metiltransferasa)	MET
Enfermedad de la orina con olor a jarabe de maple (deficiencia del complejo de deshidrogenasa de cetoadidos de cadena ramificada)	MSUD
Aciduria orótica. (deficiencia de ornitinatranscarbamilasa)	OTC
Tirosinemia tipo I. (deficiencia de fumarilacetoacetasa)	TYR I
Tirosinemia tipo II (deficiencia de tirosina aminotransferasa)	TYR II
Tirosinemia tipo III (deficiencia de 4-hidroxifenilpiruvato dioxigenasa)	TYR III
Hiperglicinemia No cetocica	NKH
Hiperornitinemia, Hiperamonemia, Hiperhomocitrulinuria	HHH
ACIDEMIAS ORGANICAS	
Deficiencia de β -cetotiolasa (deficiencia de acetoacetyl-CoA tiolasa mitocondrial)	BKT
Encefalopatía etilmalónica	EE
Acidemia glutarica tipo I (deficiencia de glutaril-CoA deshidrogenasa)	GA-1
Aciduria 3-hidroxi-3-metilglutarica (deficiencia de 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA liasa)	HMG
Isobutirilglicinuria (deficiencia de isobutiril-CoA deshidrogenasa)	IBG
Acidemia Isovalérica (deficiencia de isovaleril-CoA deshidrogenasa)	IVA
Acidemia malónica (deficiencia de malonyl-CoA descarboxilasa)	MAL
Deficiencia de 2-metil 3-hidroxi-butiril-CoA deshidrogenasa	2MHBD o 2M3HBA
Deficiencia de 3-metil-crotonil-CoA carboxilasa	3MCC
Deficiencia de 3-metilglutaconil-CoA hidratasa	3MGA
Acidemia Metilmalónica (deficiencia de metilmalonil-CoA mutasa)	MUT
Acidemia Metilmalónica (defectos en la síntesis de	Cbl A, Cbl B

adenosilcobalamina)	
Acidemia Metilmalónica & homocistinuria (deficiencia de metilmalonil-CoA mutasa, Homocisteína: deficiencia de la metilentetrahidrofolato reductasa)	Cbl C, Cbl D
Deficiencia múltiple de carboxilasas (deficiencia de halocarboxilasa sintasa)	MCD
Acidemia Propiónica (deficiencia de propionil-CoA carboxilasa)	PA
Deficiencia de Acil-CoA deshidrogenasa de cadena ramificada o corta	2MBG o
Deficiencia de piruvato carboxilasa	SBCADD
	PCD

DEFECTOS DE β -OXIDACIÓN

Defecto de Captación de Carnitina	CUD
Deficiencia de CarnitinPalmitoilTransferasa Tipo I	CPT I
Deficiencia de Acil-CoA Deshidrogenasa de cadena corta	SCAD
Deficiencia Múltiple de Acil-CoA Deshidrogenasa o Acidemia Glutárica-Tipo II	MADD (GA-II)
Deficiencia de Cetoacil-CoA Deshidrogenasa de cadena media	MCKAT
Deficiencia de Acil-CoA Deshidrogenasa de cadena muy larga	VLCAD
Deficiencia de Acil-CoA Deshidrogenasa de cadena mediana	MCAD
Deficiencia de 2,4-dienoil-CoA reductasa	RED
Deficiencia 3-Hydroxi-Acil-CoA deshidrogenasa de cadena larga	LCHAD
Deficiencia de Proteína Trifuncional	TFP
Deficiencia Carnitina/Acilocarnitina Translocasa	CACT
Deficiencia Neonatal de Carnitina PalmitoilTransferasa -Tipo II	CPT II

RESUMEN

El Tamiz Neonatal Ampliado (TNA) de errores innatos del metabolismo (EIM), utilizando la espectrometría de masas en tándem (MS/MS) fue introducido en 1980 y hoy en día se utiliza ampliamente en todo el mundo. A diferencia de los métodos de detección convencionales, la espectrometría de masas en tándem no mide los analitos de manera individual sino que identifica y cuantifica perfiles metabólicos; una sola gota de sangre analizada mediante MS/MS proporciona información sobre 60 marcadores: aminoácidos (AA), acilcarnitinas (AC) y los cocientes que permiten el diagnóstico de aproximadamente 50 diferentes EIM. Sin embargo, la interpretación de estos perfiles puede resultar bastante complejo.

El objetivo de este trabajo es presentar un cuadro completo de los marcadores primarios y secundarios para el diagnóstico de EIM empleando MS/MS, y las pruebas que se requieren para su confirmación. También se describen otras condiciones no atribuibles a condiciones genéticas que pueden conducir a un perfil anormal de estos marcadores.

Para lograr el objetivo se realizó una búsqueda en diversas bases de datos electrónicos (PubMed y ScienceDirect) sobre reportes de perfiles de AA/AC y en conjunto con una posterior revisión fueron la base para la construcción de las tablas presentes en el apartado de resultados.

1. Errores Innatos del Metabolismo

Los errores innatos del metabolismo (EIM) son un grupo muy heterogéneo de enfermedades congénitas, ocasionadas por defectos en la estructura o función de alguna proteína (que puede ser una enzima, receptor, transportador estructural o bomba membranal) resultando en un bloqueo en la ruta metabólica implicada. Estos trastornos han adquirido una gran importancia debido a que conducen a una elevada morbi-mortalidad y discapacidad.^{1,2}

Presentan una prevalencia baja considerandos individualmente, sin embargo, la incidencia conjunta de los EIM es significativa en la población infantil, la cual varía entre 1:2000 a 1:5000, y por ende constituye un importante problema de salud.³

1.1. Clasificación de los EIM

Existen diversas formas de clasificar a los EIM Saudubray y cols. describen una clasificación desde el punto de vista fisiopatológico y abordaje diagnóstico, se dividen en 3 grupos.⁴

- **Primer grupo:** EIM que dan lugar a una intoxicación.
Incluye a los errores innatos del metabolismo intermediario que conducen a una intoxicación aguda o progresiva por acumulación de compuestos tóxicos. Dentro de este grupo se encuentran las aminoacidopatías (i.e. fenilcetonuria, enfermedad de la orina de jarabe de maple, homocistinuria, tirosinemia) y las acidemias orgánicas (i.e. academia metilmalónica, propiónica, isovalérica). Se caracterizan por signos clínicos de intoxicación que puede ser desde agudos (vómitos, insuficiencia hepática, coma) a crónicos (Retraso del crecimiento, retraso del desarrollo).
- **Segundo grupo:** EIM que afectan el metabolismo energético.

Este grupo está constituido por errores innatos del metabolismo intermedio que ocasionan una deficiencia en la producción o utilización de energía siendo los órganos más afectados el hígado, miocardio, músculos y cerebro. Se pueden dividir en defectos de energía mitocondrial (i.e defectos de la β -oxidación de los ácidos grasos y la cadena respiratoria mitocondrial) y citoplasmático (i.e glucólisis, gluconeogénesis, glucogenolisis).

- **Tercer grupo:** EIM relacionados con moléculas complejas.

Incluye a las enfermedades que afectan la síntesis o catabolismo de moléculas complejas. en organelos celulares. Las enfermedades por depósito lisosomal, peroxisomales, los defectos de la glicosilación (CDG), y de la síntesis de colesterol pertenecen a este grupo. Los síntomas que presentan son de carácter permanente, progresivos y no relacionadas con la alimentación.

2. Errores Innatos del Metabolismo Intermedio.

Los errores innatos del metabolismo intermedio (EIMI) son un conjunto de enfermedades pertenecientes a los grupos 1 y 2 de la clasificación, ocasionadas por defectos en las enzimas del metabolismo de los aminoácidos, carbohidratos y ácidos grasos. Estos trastornos son a menudo dinámicos, fluctúan con los cambios en el estado metabólico del paciente y con frecuencia permiten una intervención terapéutica exitosa.⁵

2.1. Características clínica

Las características clínicas son relativamente inespecíficas, en gran medida, dependerán de la naturaleza del defecto bioquímico.⁶

Los primeros síntomas que aparecen en el neonato con una enfermedad metabólica son rechazo al alimento, irritabilidad, crisis convulsivas. En recién nacidos moderadamente afectados los síntomas pueden desaparecer y reaparecer en días o semanas. Los gravemente afectados tienen progresión inevitable hacia letargia y coma que pueden conducir a la muerte.⁷

2.2. Aminoacidopatías

Los aminoácidos (AA) son compuestos orgánicos que poseen un grupo amino primario o secundario y un grupo carboxilo, de los cuales 20 son los componentes primarios esenciales de las proteínas; existen otros que no forman proteínas y que actúan como intermediarios en importantes ciclos biológicos (i.e. citrulina, ornitina y ácido argininosuccínico en el ciclo de la urea), o como neurotransmisores y precursores de hormonas (i.e. tirosina, fenilalanina, triptófano). Forman parte del metabolismo intermediario a través de vías de biosíntesis y proteólisis. El plasma y otros fluidos extracelulares contienen aminoácidos por lo tanto variaciones

fisiológicas de los mismos reflejan alteraciones del metabolismo intermediario que pueden ser conocidas como aminoacidopatías.^{8,9}

Las aminoacidopatías se tratan de alteraciones que afectan al catabolismo y a veces al transporte de los aminoácidos, debido a un defecto enzimático y como consecuencia hay acumulación de los metabolitos previos a la interrupción de la vía y un descenso de la síntesis de los productos posteriores al bloqueo.^{5,8}

Las manifestaciones clínicas que se presentan se puede dividir en sintomatología aguda esto es, vómitos, falla hepática, convulsiones, coma y sintomatología progresiva, que implica retraso psicomotor progresivo. Llevando a una afectación hepática, muscular y neurológica (más importante) de presentación en el neonato, lactante o escolar tras un periodo libre de síntomas.⁴

La mayoría de las aminoacidopatías se puede tratar a través de la restricción dietética de los aminoácidos implicados en la ruta metabólica alterada y la prevención mediante el tratamiento oportuno de los estados catabólicos.¹⁰

El desorden metabólico de aminoácidos más frecuente es la fenilcetonuria (PKU) clásica, la cual es una enfermedad progresiva y severa, que resulta en retraso mental y discapacidad intelectual grave e irreversible, de transmisión autosómica recesiva que es causada por actividad nula o deficiente de la enzima fenilalanina hidroxilasa. Esta enzima cataliza la conversión de fenilalanina en tirosina. Cuando se bloquea esta reacción, las concentraciones de fenilalanina aumentan en los fluidos biológicos, activando vías alternas que dan origen a compuestos tóxicos como fenilpiruvato y fenilacetato (Fig. 1).¹¹

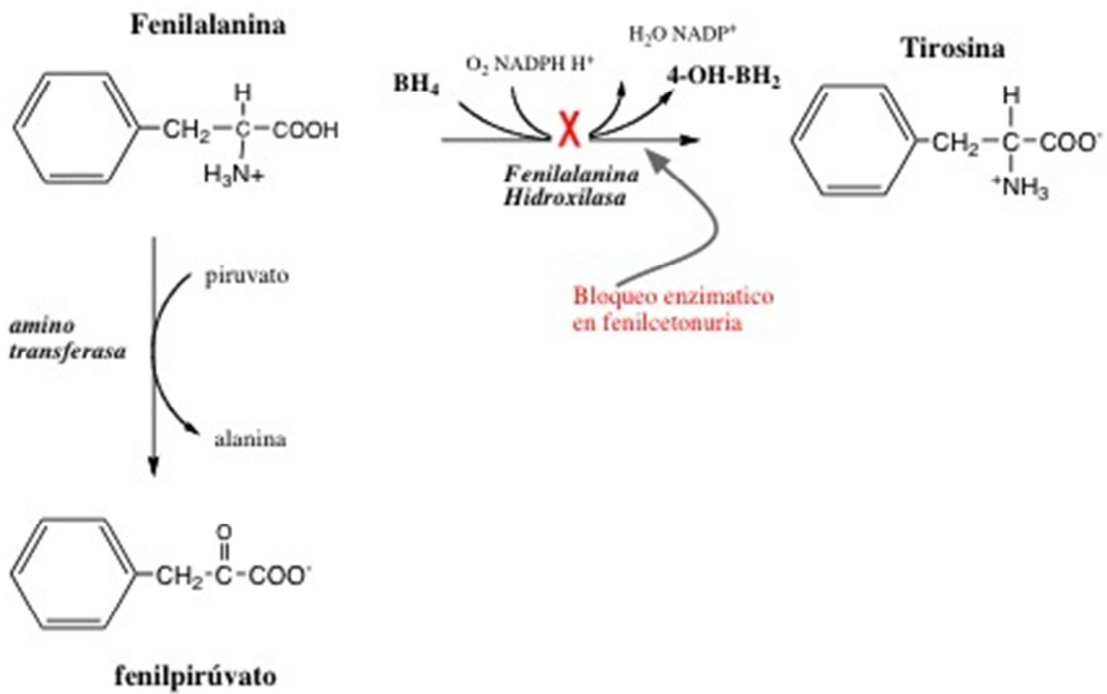


Figura 1. Ruta metabólica en la fenilcetonuria (PKU), se observa la inactividad de la enzima fenilalanina hidroxilasa en la enfermedad fenilcetonuria activando otra ruta metabólica para la fenilalanina.^{149,150,}

2.3. Acidemias Orgánicas

Los ácidos orgánicos son compuestos solubles en agua, que poseen uno o más grupos ácidos carboxílicos y otros grupos funcionales no amino. Se encuentran en los tejidos y fluidos biológicos (particularmente en la orina) no esterificados o conjugados con carnitina o glicina.^{8,10}

Son producidos durante el catabolismo intermediario de los principales componentes orgánicos celulares (carbohidratos, lípidos y aminoácidos) en condiciones normales. Estos compuestos son neutralizados por sistemas amortiguadores celulares y de fluidos biológicos.¹²

Las acidemias orgánicas son un grupo heterogéneo de errores innatos del metabolismo, que se caracterizan bioquímicamente por la acumulación de ácidos orgánicos en orina y en menor medida en otros fluidos biológicos.¹⁰

Las características clínicas que presentan son causadas no sólo por la acumulación de intermediarios tóxicos, sino también por una alteración del metabolismo energético mitocondrial que pueden presentar episodios de acidosis metabólica, letargia y/o encefalopatía, vomito, hipoglicemia, cetoacidosis, hiperamonemia, neutropenia, trombocitopenia.^{13,14}

El tratamiento es similar al de las aminoacidopatías y consiste en la restricción dietética del o los aminoácidos involucrados en la vía metabólica afectada. La suplementación con carnitina y en ocasiones otras sustancias tales como la glicina (ej. para formar isovalerilglicina en acidemia isovalérica) son complementos muy útiles para el tratamiento.^{13.}

Un ejemplo de acidemias orgánicas es la acidemia metilmalónica la cual constituye un grupo de errores congénitos del metabolismo del propionato que cursa con episodios severos de acidosis y cetosis que si no se tratan

pueden progresar a coma o llegar a ser fatales. Se caracteriza por el acúmulo de ácido metilmalónico en fluidos fisiológicos, y está causado por la incapacidad de convertir L-metilmalonil-CoA en succinil-CoA en la vía del propionato. Esta reacción está catalizada por el enzima mitocondrial metilmalonil-CoA mutasa (MCM) que requiere 5'-desoxiadenosilcobalamina (AdoCbl) como cofactor (Fig. 2). La AMM se puede presentar ya sea por un defecto en la proteína mutasa, o bien en algún paso del procesamiento intracelular de cobalamina (Cbl) que conduce a la síntesis del cofactor AdoCbl.

El cuadro clínico consiste en letargia, retraso psicomotor, neutropenia, trombocitopenia, coma y la ingesta de proteínas, valina e isoleucina pueden acentuar las anormalidades bioquímicas.

En los pacientes con acidemia metilmalónica el acúmulo intramitocondrial de metilmalonil-CoA se metaboliza también a través de vías metabólicas secundarias, apareciendo grandes cantidades de los ácidos metilmalónico (MMA), 3-hidroxiopropiónico y metilcítrico en orina, y propionilcarnitina en sangre.¹⁶

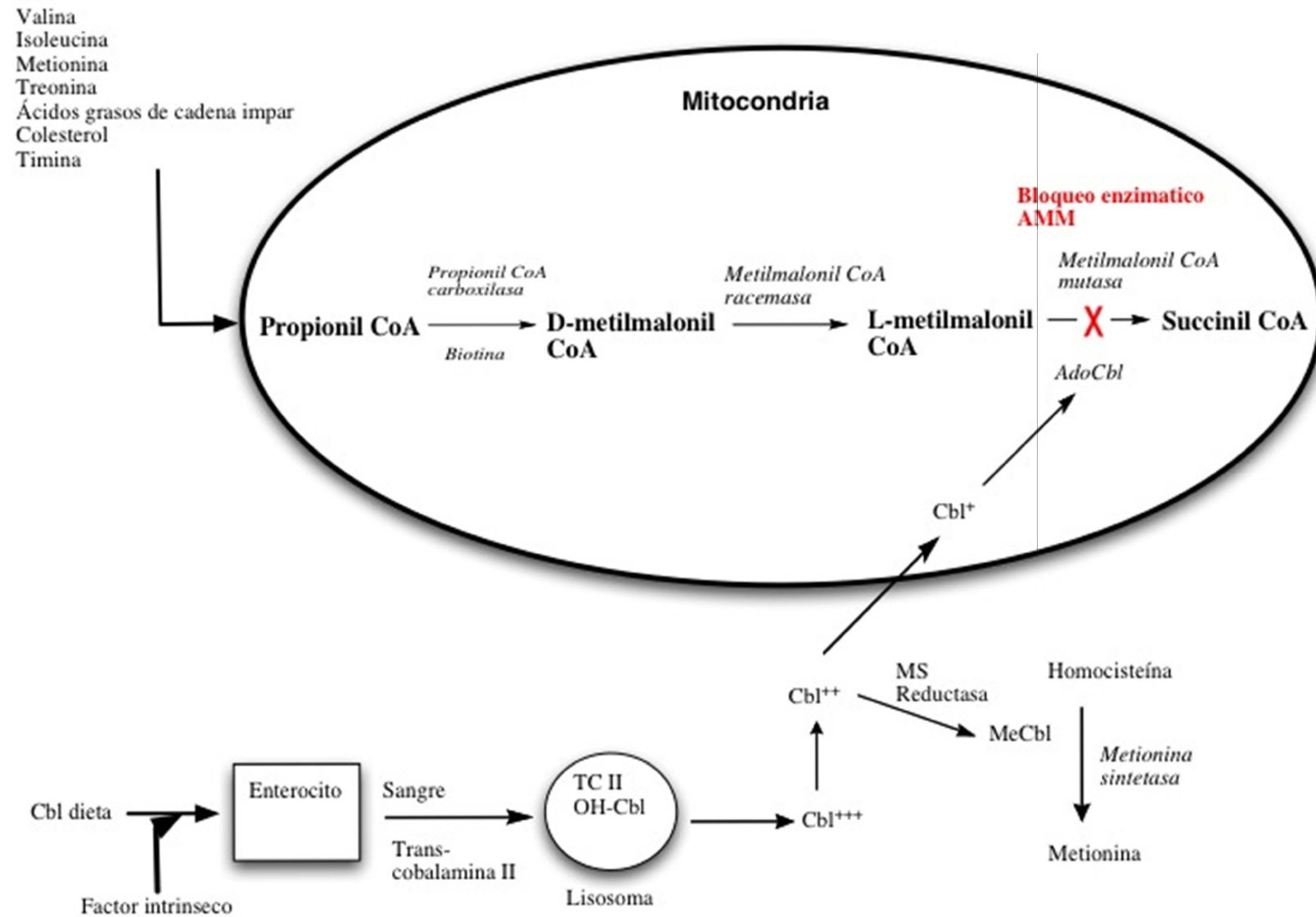


Figura 2. Ruta Metabólica en la Acidemia Metilmalónica (MMA).¹⁵¹

2.4. Defectos de β -oxidación

La oxidación de ácidos grasos en la mitocondria juega un papel importante en la producción de energía a partir de los lípidos. Para llevar a cabo este proceso se necesita de la carnitina (ácido β -hidroxi-trimetilaminobutírico) molécula intracelular que facilita el transporte de ácidos grasos desde el citoplasma al interior de la matriz mitocondrial para que sean degradados por β -oxidación a acetyl-CoA a fin de obtener energía.¹¹ Los ácidos grasos con una longitud menor de 10 carbonos entran directamente, mientras que los de cadena más larga, necesitan ser activados en la membrana externa mitocondrial. En la activación se obtienen moléculas llamadas acil-CoA, el CoA impide su paso a través de la membrana interna mitocondrial, necesitando de un mecanismo especial de transporte a través de dicha membrana. El grupo acilo se transfiere desde el grupo tiol del CoA al grupo hidroxilo que tiene la carnitina (Fig. 3) para formar las acilcarnitinas (AC).
17,18

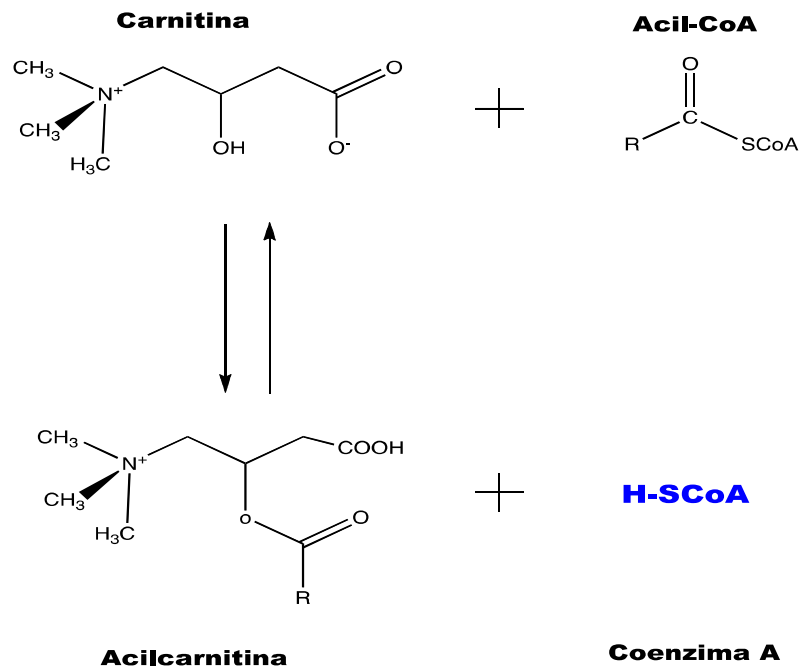


Figura 3. Esquema de la formación de acilcarnitina.¹⁵²

Los defectos de oxidación de los ácidos grasos corresponden a un grupo errores innatos del metabolismo que afectan la producción intramitocondrial de energía a partir de los lípidos ¹⁹.

Las características clínicas se presentan con una gran variabilidad, existe una insuficiencia en la producción de cuerpos cetónicos, y una inhibición de la gluconeogénesis, causando hipoglucemia e insuficiencia hepática aguda, por otra parte la acumulación de acilcarnitinas ocasionan acidosis láctica, miocardiopatía y miopatía. ^{20, 21}.

La combinación de estas manifestaciones dependerá de varios factores como: a) el nivel en el cual se halle bloqueada la vía metabólica; b) la toxicidad de los metabolitos acumulados; c) la actividad enzimática residual.

El defecto más frecuente de la B-oxidación de los ácidos grasos es la deficiencia de Acil-CoA deshidrogenasa de cadena mediana (MCAD) defecto autosómico recesivo causado por una mutación en el gen ACADM que codifica a la proteína conocida como Acil-Coa deshidrogenasa de cadena media, misma que cataliza la reacción inicial de la B oxidación mitocondrial en ácidos grasos de C4-C12 (Fig. 4). La deficiencia de esta enzima se caracteriza por una descompensación metabólica severa durante periodos de ayuno prolongado o enfermedad. Sin una intervención rápida estos episodios pueden resultar en hipoglucemia hipocetósica (por defecto en la síntesis de acetil CoA), náusea, encefalopatía, coma y muerte. ²².

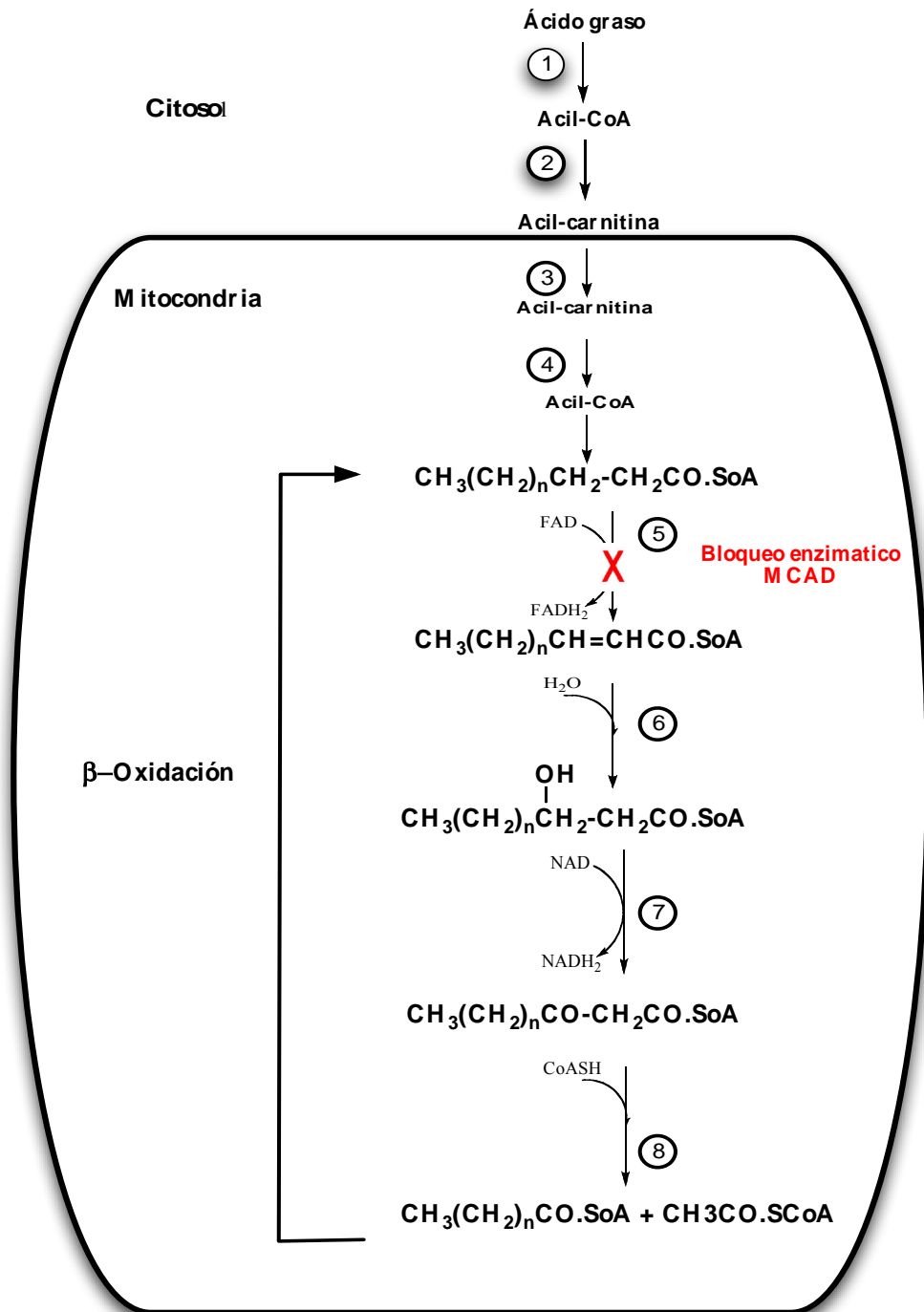


Figura 4. Ruta Metabólica de la β -oxidación de los acidos grasos.

1. Acil-CoA sintetasa, 2. Carnitina aciltransferasa I, 3. Carnitina/acil-carnitina translocasa, 4. Carnitina aciltransferasa II, 5. Acil-CoA deshidrogenasa, 6. Enoil-CoA hidratasa, 7. 3-Hidroxiacil-CoA deshidrogenasa, 8. Acetil-CoA acetiltransferasa.¹¹

3. Métodos de diagnóstico

La afectación del metabolismo intermedio producirá una variación (incremento o disminución) de la concentración fisiológica de los aminoácidos o acilcarnitinas. Este hecho permite realizar el diagnóstico de estos trastornos utilizando metabolitos alterados como biomarcadores de la enfermedad.

3.1. Biomarcadores Primarios y Secundarios

Los marcadores primarios son aquellos que tienen un mayor potencial diagnóstico, mientras que los marcadores secundarios son aquellos que indican riesgo de que exista un EIMI pero no tienen un alto potencial diagnóstico como los primarios. Dentro de los marcadores secundarios (al igual que en los primarios) hay cocientes.²³ Estos biomarcadores se han convertido como una estrategia para facilitar la interpretación de perfiles de AA / AC y para incrementar la sensibilidad de la prueba,²⁴ por ejemplo, en tirosinemia hepatorenal, la succinilacetona es el biomarcador primario, de hecho se considera un metabolito patognomónico de la enfermedad, mientras que Tyr es el secundario porque su concentración puede estar elevada o normal^{25, 26, 27, 28}. La utilidad de los cocientes ha demostrado ser importante para una correcta interpretación de los perfiles AA / AC, Chace y cols. documentan que cuando se aplique plenamente, el uso de cocientes puede reducir los falsos positivos a una tasa inferior al 0,01% mejorando el rendimiento del Tamiz Neonatal Ampliado.²⁹

El diagnóstico se puede llevar a cabo de manera presintomática (Tamiz Neonatal), o en aquellos pacientes con manifestaciones clínicas que hacen sospechar de un EIMI.

4. Tamiz Neonatal

El Tamiz Neonatal es un estudio bioquímico que consiste en obtener unas gotas de sangre del talón del recién nacido de entre cuatro y siete días de vida, colectadas en un papel filtro (llamado tarjeta de Guthrie) para analizarlas midiendo metabolitos que sirven como indicadores de enfermedades. Tiene el propósito de identificar a aquellos recién nacidos, aparentemente sanos, antes de que se manifieste una enfermedad que ocasiona principalmente al niño daño neurológico grave e irreversible, con objeto de iniciar tratamiento en forma oportuna y se prevengan dichas complicaciones graves.³⁰

Es importante mencionar que el Tamiz Neonatal no es una prueba diagnóstica, los resultados anormales deben ser confirmados.

4.1. Antecedentes Históricos del Tamiz Neonatal

La historia de la búsqueda de recién nacidos con errores del metabolismo comenzó con la fenilcetonuria, anormalidad descrita en 1934, fue la primera enfermedad que se buscó identificar en forma temprana durante la infancia, inicialmente a través de tamizaje de la orina, utilizando cloruro férrico.³¹ En 1961, el Dr. Robert Guthrie desarrolló la prueba de tamizaje recolectando gotas de sangre en papel filtro para la detección de fenilcetonuria. La prueba se basa en un ensayo de inhibición bacteriana, utilizando un análogo de la fenilalanina. El mismo principio fue empleado en años posteriores para otras alteraciones del metabolismo de aminoácidos como: metionina, leucina y tirosina.³² A raíz de estos hallazgos, tomó interés la implementación de las pruebas de tamizaje neonatal.³³

4.2. Tamiz Neonatal en México

Se inició en la década de los 70 gracias a investigaciones realizadas conjuntamente por el Instituto de investigaciones Biomédicas de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) y por el Instituto Nacional de Pediatría.³⁴

Posteriormente en 1988 se emitió la primera norma técnica 321,³⁵ que hizo obligatoria la realización del Tamiz para todas las instituciones que atienden recién nacidos, y en 1995 dicha norma técnica se transformó en Norma Oficial Mexicana³⁶ desafortunadamente en dicha norma solo se contempló como obligatoria la detección del hipotiroidismo congénito (HC). En el año 2001 se emitió una nueva norma sobre la prevención de los defectos del nacimiento en la que señala un listado de enfermedades (fenilcetonuria, hiperplasia suprarrenal congénita, galactosemia, fibrosis quística, enfermedad de orina de jarabe de maple, homocistinuria e hipotiroidismo congénito), pero no establece la obligatoriedad de su realización.³⁷

4.3. Panorama actual del Tamiz Neonatal.

El avance de la ciencia y la tecnología ha hecho posible realizar el Tamiz Neonatal para un número cada vez mayor de enfermedades, siendo en la actualidad factible, al menos en teoría la detección de 100 enfermedades. Sin embargo, existe una enorme disparidad entre países y regiones sobre el número de enfermedades que se detectan en el neonato de manera rutinaria y obligatoria (Cuadro 1 y 2).^{38,39.}

Cuadro 1. Tamiz Neonatal. Enfermedades detectadas en diferentes países					
Enfermedad	USA 2006	Dinamarca 2005	Alemania 2004	Holanda 2005	Inglaterra 2007
Hipotiroidismo congénito	X	X	X	X	X
Hiperplasia suprarrenal	X	X	X	X	

congénita					
Aminoacidopatías	X	X	X	X	X
Acidemias orgánicas	X	X	X	X	X
Defectos de oxidación de ácidos grasos	X	X	X	X	X
Galactosemia	X		X	X	
Anemia de células falciformes y otras hemoglobinopatías	X			X	X
Deficiencia de biotinidasa	X		X	X	X
Toxoplasmosis congénita		X		X	

USA: Estados Unidos de Norteamérica.

La mayoría de los países desarrollados cuentan con una serie de lineamientos o recomendaciones generales que regulan esta práctica y orientan a los médicos sobre su actuar. Un ejemplo es la Academia Americana de Pediatría que ha establecido un documento en el que recomienda la detección de 28 enfermedades metabólicas más el Tamiz auditivo en todo recién nacido en los Estados Unidos de Norteamérica.^{40, 41,42}

Cuadro 2. Enfermedades detectadas con el Tamiz Neonatal	
Grupo	Enfermedad
Endocrinológicas	Hiperplasia adrenal congénita Hipotiroidismo congénito Diabetes mellitus, insulino dependiente
Hematológicas, Hemoglobinopatías	Enfermedad de la hemoglobina SS Enfermedad de la Hemoglobina S/C Hemoglobina S/ β -talasemia Otras variantes de hemoglobinopatías (incluye Hb E) Deficiencia de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa
Enfermedades Infecciosas	Infección por VIH Toxoplasmosis congénita Infección congénita por citomegalovirus

<p>Condiciones Genéticas</p>	<p>Deficiencia de α1- antitripsina Deficiencia de adenosina desaminasa Atresia biliar Fibrosis quística Distrofias musculares de Duchenne y de Becker Hipercolesterolemia familiar Síndrome X frágil Hiperbilirrubinemia Neuroblastoma Inmunodeficiencia combinada severa</p>
<p align="center">Errores innatos del metabolismo</p>	
<p>Aminoacidopatías</p>	<p>Fenilcetonuria Hiperfenilalaninemia benigna Defectos de biosíntesis del cofactor biopterin. Defectos de regeneración del cofactor biopterin. Homocistinuria Hipermetioninemia Enfermedad de la orina con olor a jarabe de maple. Tirosinemia tipo I Tirosinemia tipo II Tirosinemia tipo III Deficiencia de carbamil fosfato deshidrogenasa Deficiencia de ornitina transcarbamilasa Citrulinemia Citrulinemia tipo II Acidemia argininosuccínica.</p>
<p>Desordenes de carbohidratos</p>	<p>Galactosemia clásica Deficiencia de galactoquinasa Deficiencia de galactosa epimerasa Defectos congénitos de la glicosilación Ib</p>
<p>Defectos de β -Oxidación</p>	<p>Defecto de captación de carnitina Deficiencia de carnitin palmitoil transferasa tipo I Deficiencia carnitina/acilcarnitina translocasa Deficiencia de carnitina palmitoil transferasa tipo II Deficiencia de Acil-CoA deshidrogenasa de cadena muy larga Deficiencia 3-hidroxi-acil-Coa deshidrogenasa de cadena larga Deficiencia de proteína trifuncional Deficiencia de 2,4-dienoil-CoA reductasa Acidemia glutárica tipo II Deficiencia de acil-CoA deshidrogenasa de cadena mediana Deficiencia de 3-cetoacil-CoA tiolasa de cadena media Defecto de captación de carnitina</p>
<p>Enfermedades de almacenamiento lisosomal</p>	<p>Enfermedad de Fabry Enfermedad de Krabbe Enfermedad de Pompe Enfermedad de Hurler/Scheie Enfermedades de almacenamiento lisosomal</p>

Acidemias orgánicas	Acidemia propiónica Deficiencia múltiple de carboxilasas Acidemia metilmalónica Acidemia metilmalónica (Cbl A, B) Acidemia metilmalónica (Cbl C,D) Deficiencia de isobutiril-CoA deshidrogenasa Deficiencia de 2-metilbutiril-CoA deshidrogenasa Deficiencia de 2-metil 3-hidroxi-butiril- CoA deshidrogenasa Deficiencia de β -cetotilasa Acidemia Isovalérica Deficiencia de 3-metil-crotonil-CoA carboxilasa Deficiencia de 3-metilglutaconil-CoA hidratasa Deficiencia de 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA liasa Acidemia glutárica tipo I Deficiencia de malonil CoA descarboxilasa
Otros EIM	Deficiencia de biotinidasa Adrenoleucodistrofia ligada al cromosoma X Síndrome de Smith Lemli Opitz Deficiencia de guanidinoacetato metiltransferasa Deficiencia de arginino-glicino amidinotransferasa Defectos en el transporte de Creatina

En este trabajo sólo se abordara los EIMI, los cuales se pueden detectar mediante espectrometría de masas en tándem (aminoacidopatías, acidemias orgánicas y defectos de β –Oxidación).

5. Métodos analíticos

Conforme la ciencia avanza, se han utilizado distintos métodos analíticos para realizar el Tamiz Neonatal. A continuación se mencionan algunos de ellos, haciendo énfasis en la espectrometría de masas en tándem.

Método de inhibición bacteriana: Primer método utilizado para el Tamiz Neonatal basada en un ensayo de inhibición bacteriana, utilizando un análogo de la fenilalanina. Guthrie y cols. lo aplicaron para la detección masiva de fenilcetonuria. Algunos años después, Guthrie aplicó el mismo método para la detección de otros trastornos como la enfermedad de orina de jarabe de maple (utilizando como indicador el aminoácido leucina), homocistinuria y galactosemia. El método es semicuantitativo y ha sido superado por técnicas cuantitativas de mayor sensibilidad.³²

Elisa (análisis de inmunoadsorción ligado a enzimas): Técnica que se basa en la detección de un antígeno inmovilizado sobre una fase sólida mediante un anticuerpo que directa o indirectamente produce una reacción cuyo producto, puede ser medido por espectrofotometría. Dentro de las enfermedades que se pueden detectar con Elisa están hipotiroidismo congénito, hiperplasia adrenal congénita, fibrosis quística y deficiencia de biotinidasa.^{43.}

5.1. Espectrometría de masas en tándem (MS/MS)

La espectrometría de masas es un técnica analítica que permite la separación, identificación y cuantificación de moléculas todo esto basado en la relación masa/carga (m/z).^{28,44}

El uso de Espectrometría de masas en tándem (MS/MS) para la detección de EIMI es uno de los avances más importantes en el Tamiz Neonatal desde la introducción del ensayo de inhibición bacteriana en los años 60. Permitió la

expansión del TN en el cual con unas gotas de sangre se puede detectar el perfil de 11 aminoácidos (AA) y 33 acilcarnitinas (AC) los cuales permiten la identificación de aminoacidopatías, trastornos de la degradación de ácidos orgánicos y de la oxidación de ácidos grasos.^{44, 45}

Un equipo de MS/MS está constituido de seis componentes básicos: 1) sistema de introducción de muestra; 2) fuente de ionización; 3) primer analizador de masas (MS1); 4) cámara o celda de colisión; 5) segundo analizador de masas (MS2); 6) detector. La técnica usualmente se abrevia como: tándem MS, MS/MS, MS2, QqQ (en el caso de los equipos triple cuadrupolo).

Este equipo funciona de la siguiente manera: Una vez que la muestra ha sido introducida, sufre una ionización suave por electrospray para adquirir carga; posteriormente pasa al MS1 en donde los componentes de la muestra se separan y ordenan de acuerdo a su m/z. Los iones pasan por la celda de colisión en donde se generan fragmentos como producto de su colisión con un gas inerte; los fragmentos generados pasan por el MS2, los cuales se pueden correlacionar con las moléculas intactas producidas en el MS1. Los resultados generados se registran en forma de espectro de masas que es como la huella digital de los compuestos.

Con esta técnica se pueden detectar y cuantificar selectivamente múltiples analitos dentro de una familia de compuestos. También se puede obtener información estructural acerca de un compuesto a través de la formación de fragmentos específicos y es útil para descubrir compuestos en mezclas complejas de acuerdo a su patrón de fragmentación.

Gracias al desarrollo de este tipo de tecnologías, la química clínica está pasando por un periodo de transición de los análisis individuales, aquellos en los que se utilizaba una muestra de sangre (del orden de mililitros) para la determinación de un solo metabolito, hacia la obtención de “perfiles” en los que se obtiene una gran

cantidad de información a partir de una muestra de aproximadamente 100 microlitros de sangre, en un tiempo muy corto. Los analizadores de masas funcionan a muy baja presión para minimizar la interferencia de los iones cargados en su recorrido a través de todo el sistema.^{18, 44, 46, 47}

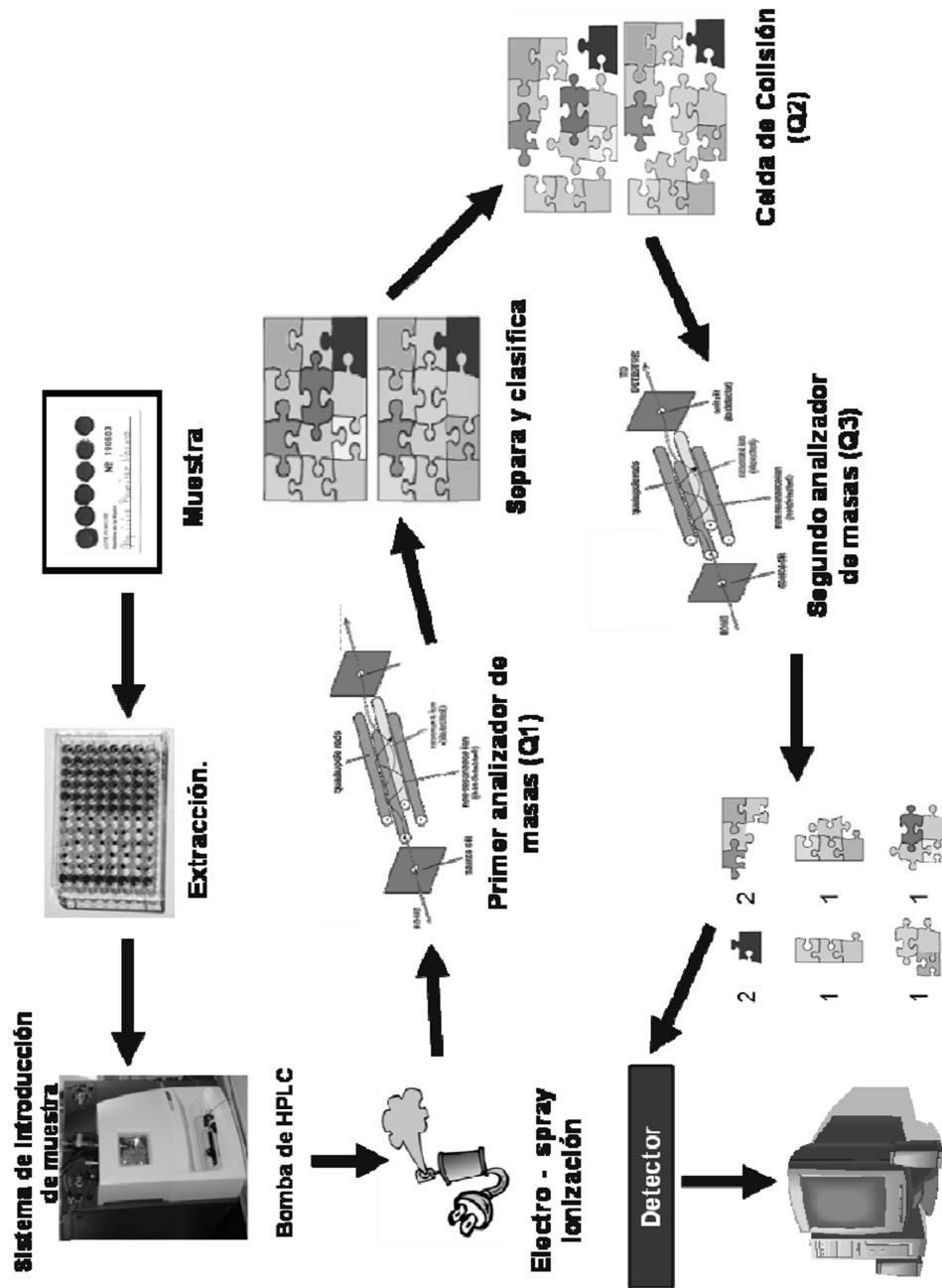


Figura 5. Esquema de un equipo de Espectrometría de masas en tándem y su funcionamiento.¹⁵³

6. OBJETIVO GENERAL

Elaborar una herramienta de marcadores primarios y secundarios para la adecuada interpretación de los perfiles de AA y AC identificados por MS/MS a través de una revisión de la literatura, así como proporcionar información sobre las pruebas que tienen que ser realizadas para confirmar el diagnóstico.

6.1. OBJETIVO PARTICULAR

Elaborar una serie de recomendaciones generales para los profesionales de la salud involucrados en la realización de Tamiz Neonatal de aminoacidopatías, acidemias orgánicas y defectos de β -oxidación.

7. MATERIAL Y MÉTODOS

7.1. Revisión de la bibliografía

Se realizó una revisión exhaustiva de la literatura, sobre reportes de perfiles de AA/AC donde se constataba el valor diagnóstico de los marcadores. La estrategia de búsqueda y los criterios de selección consistieron en el uso de las bases de datos PubMed y Science Direct mediante el empleo de términos como: amino acids and acylcarnitine interpretation”, “organic acid analysis”, “gas chromatography” “expanded newborn screening”, “inherited metabolic disorders” en combinación con “false positive”, “false negative” and “maternal” ; por cada una de las enfermedades se utilizó el nombre en inglés presente en la lista de abreviaturas; se seleccionaron los artículos publicados en los últimos cinco años, sin excluir publicaciones importantes menos recientes, sólo se incluyeron los informes en idioma Inglés, publicados hasta Enero del 2012.

7.2. Selección de los estudios

Se creó un banco de datos electrónico, en el programa de gestión de información bibliográfica Bookends donde se ingresaron los artículos seleccionados.

Se construyeron las tablas presentes en el apartado de resultados

8.- RESULTADOS

De los datos obtenidos se elaboraron las tablas (1-3) clasificándolos de acuerdo con el grupo de Errores Innatos de Metabolismo como aminoacidopatías, acidemias orgánicas y defectos de β -oxidación, cada tabla consta del nombre de la enfermedad, el número OMIM, los biomarcadores primario y secundario y las pruebas que deben realizarse para la confirmación diagnóstica. Una cuarta tabla incluye otras condiciones no atribuibles a EIMI como estados patológicos, fisiológicos y nutricionales, lo cual puede llevar a un perfil anormal AA/AC.

TABLA 8.1. AMINOACIDOPATÍAS			
Enfermedad	Perfil de Acilcarnitinas		Confirmación
	Biomarcador Primario	Biomarcador Secundario	
PKU H-PHE 261600	\uparrow Phe ^(28, 29, 45, 46, 48-55)	\downarrow Tyr ^(28,29,45, 53) \uparrow Phe/Tyr ^(28, 45, 48-53)	Perfil de Aminoácidos: \uparrow Fenilalanina. ^(48,49) Perfil de Ácidos orgánicos: \uparrow Ácido Fenil láctico, \uparrow Ácido Fenilpirúvico, 4-Hidroxifenilactato, 4-Hidroxifenilpiruvico \uparrow 2-Hidroxifenilacetato, \uparrow Ácido Mandélico ^(53,54,56) .
MSUD 248600	\uparrow Xleu ^(29, 45, 46, 48-55) \uparrow Val ^(29, 45, 46, 48, 49, 50, 51, 53, 54, 55)	\uparrow Xleu/Phe ^(48, 50, 52, 57) \uparrow Xleu/Ala ^(48, 45, 50) \uparrow Val/Phe ^(48, 50)	Perfil de Aminoácidos: \uparrow leucina, \uparrow isoleucina, \uparrow valina ^(49, 58, 59) . Perfil de Ácidos orgánicos: \uparrow Ácido 2-cetoisocaproico, \uparrow Ácido 2-ceto isovalérico, \uparrow Ácido 2-ceto-3-metilvalérico, \uparrow Ácido 2-Hidroxii socaproico, \uparrow Ácido 2-Hidroxiiisovalérico, \uparrow Acido 2-Hidroxi-3-metilvalérico. ^(49,53,54,55)
ASA 207900	\uparrow Cit ^(29, 45, 46, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 55, 60) \uparrow Asa ^(48, 53)	\uparrow Asa/Arg ⁽⁴⁸⁾ \uparrow Cit/Arg ^(48, 50, 52) \uparrow Orn ^(29, 45)	Perfil de Aminoácidos: \uparrow Ácido argininosuccinico. ^(49,60) Estudios moleculares ⁽⁵⁵⁾ .

CONTINÚA TABLA 8.1. AMINOACIDOPATÍAS

CIT I 215700	↑Cit (29, 45, 46, 48, 49, 50, 51, 53, 55)	↑Cit/Arg ^(48,50)	Perfil de Aminoácidos: ↑Citrulina ⁽⁴⁹⁾
CIT II 605814	↑Cit (46, 48, 50, 53, 54, 55) ↑Arg ^(48, 54) ↑Met ^(48, 54) ↑Thr ⁽⁴⁸⁾	↑Cit/Arg ⁽⁵⁰⁾	Análisis enzimático: ↓actividad enzimática en hígado de argininosuccinato sintetasa (ASS). ^(59, 61)
HCY 236200	↑Met ^(29, 45, 46, 48, 49, 50, 51, 53, 55)	↑Met/Phe ^(45, 48, 50)	Perfil de Aminoácidos: ↑Homocisteína, ↑Metionina ^(49,51) Perfil de Ácidos orgánicos: ↑Ácido Metilmalónico en defectos de síntesis de cobalamina C,D,F ⁽⁴⁸⁾
MET 250850	↑Met ^(29, 48, 50, 51, 52, 53)	↑Met/Phe ^(48, 50, 52)	Perfil de Aminoácidos: ↑Metionina. ⁽⁶²⁾
TYR I 276700	↑Suac ^(28, 45, 48, 50, 53, 54)	↑Tyr ^(45, 49, 50, 51, 53, 54, 55) ↑ Tyr/Cit ⁽⁵⁰⁾	Perfil de Aminoácidos: Tyr, Met ⁽⁴⁹⁾ Perfil de Ácidos orgánicos: ↑Succinilacetona, ↑Ácido 4-Hidroxi-fenilacetico, ↑Ácido 4-Hidroxifenillactico, ↑Ácido 4-Hidroxifenilpiruvico. ^{49, 53, 54, 56)}
TYR II 276600	↑Tyr ^(29, 46, 48, 49, 50, 51, 53)	↑Tyr/Cit ⁽⁵⁰⁾	Perfil de Aminoácidos: Tyr ⁽⁴⁹⁾ Perfil de Ácidos orgánicos: ↑N-acetil-tirosina, ↑Ácido 4-Hidroxi-fenilacetico, ↑Ácido 4-Hidroxifenillactico, ↑Ácido 4-Hidroxifenilpiruvico. ^(53,56)
ARG 207800	↑Arg ^(45, 46, 48, 49, 50, 52, 53, 54, 65)	↑Cit/Arg ⁽⁴⁸⁾ ↑Arg/Orn ⁽⁵²⁾	Perfil de Aminoácidos: ↑Arg ^(49,65)

CONTINÚA TABLA 8.1. AMINOACIDOPATÍAS

BIOPT (Reg) 261630	↑Phe ^(48, 49, 50, 51)	↑Phe/Tyr ^(48, 49, 50, 51)	Perfil de Aminoácidos: ↑Fenilalanina. ⁽⁴⁹⁾ Biopterinas Urinarias ^(48, 49, 33) Análisis Enzimático y Molecular ⁽⁶⁶⁾
BIOPT (BS) 261640	↑Phe ^(48, 49, 50, 51)	↑Phe/Tyr ^(48, 49, 50, 51)	Perfil de Aminoácidos: ↑Fenilalanina. ⁽⁴⁹⁾ Biopterinas Urinarias ^(48,49,66) Análisis Enzimático y Molecular ⁽⁶⁶⁾
OTC 311250	↓Cit ^(53, 54,67)		Cuantificación de ácido orótico urinario ^(53, 67) Análisis enzimático ^{(68).}
CPS 237300	↓Cit ^(53, 54,67)		Estudios Moleculares y Análisis enzimático ⁽⁶⁹⁾
NKH 605899	↑Gly ^(50, 53, 54)	↑Gly/Ala ⁽⁵⁰⁾	↑ Gly en CSF / Gly en plasma ⁽⁷⁰⁾
HHH 238970	↑Orn ⁽⁵³⁾		Perfil de Aminoácidos: Ornitina, glutamina ⁽⁷¹⁾ Perfil de Ácidos orgánicos: Homocitrulina, ácido orótico ⁽⁷¹⁾

Las abreviaciones de las enfermedades y los biomarcadores están basadas en las abreviaturas utilizadas por el Colegio Americano de Medicina Genética. Los 6 números debajo del nombre de la enfermedad representan el número OMIM®.
CSF: líquido cerebro espinal.

TABLA 8.2. ACIDEMIAS ORGÁNICAS

Enfermedad	Perfil de Acilcarnitinas		Confirmación
	Biomarcador Primario	Biomarcador Secundario	
PA 606054	↑C3 (18, 28, 29, 45, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 72)	↑C3/C2 (28, 29, 45, 48, 50, 51, 72) ↑C3/C53 (29, 28, 48, 50, 53) ↑C3/C0 ⁽⁵³⁾ ↑Gly ^(53, 54) ↑C3/C4 ⁽⁵³⁾	Perfil de Ácidos orgánicos: ↑Ácido 3-Hidroxiisovalérico, ↑Ácido metilcátrico, ↑Tigililglicina, ↑Propionilglicina. ^(49, 52, 54, 56, 72, 73)
MUT 609058 Cbl A 251100 Cbl B 251110 Cbl C 277400 Cbl D 277410	↑C3 (18, 28, 29, 45, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 72)	↑C3/C2 ^(28, 29, 45, 48, 50, 51, 72) ↑C3/C53 ^(28, 29, 48, 50, 53, 72) ↑C3/Met ⁽⁵⁰⁾ ↑C4DC ^(52, 53, 55) ↑C3/C0 ⁽⁵³⁾ ↑Gly ⁽⁵³⁾ ↑C3/C4 ⁽⁵³⁾	Perfil de Ácidos orgánicos: ↑Ácido metilmalónico, ↑Ácido metilcátrico, ↑Ácido 3-Hidroxiisovalérico. ^(49, 54, 56, 72, 73)
MCD 253270	↑C5-OH ^(18, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 72)	↑C3 ^(18, 48, 49, 51, 52, 53) ↑C3/C2 ⁽⁷²⁾ ↑C5-OH/C8 ⁽⁵⁰⁾ ↑C3 ⁽⁷²⁾	Perfil de Ácidos orgánicos: ↑Ácido 3-Hidroxiisovalérico, ↑Ácido láctico, ↑Ácido metilcátrico, ↑Ácido 3-Hidroxiisovalérico, ↑3-metilcrotonilglicina, ↑Tigililglicina. ^(49, 53, 56, 74, 75)
IBG 611283	↑C4 ^(18, 48, 50, 51, 53, 76, 77, 78, 79)	↑C4/C2 ^(48, 50, 76) ↑C4/C3 ^(48, 50, 78) ↑C4/C8 ^(48, 50)	Perfil de Ácidos orgánicos: ↑Isobutirilglicina con no elevación de ácido etilmalónico. ^(77, 78, 79) Acilcarnitinas Urinarias: ↑C4 ⁽⁷⁸⁾

CONTINÚA TABLA 8.2. ACIDEMIAS ORGÁNICAS

EE 602473	↑C4 (18, 50, 54, 80, 81)	↑C5 (18,50, 81)	Acilcarnitinas en plasma: ↓C2, ↑C4, ↑C5 ⁽⁸¹⁾ Perfil de Ácidos orgánicos: ↑Ácido etilmalónico, ↑Ácido metilsuccínico, ↑Ácido láctico, ↑Ácido 2-etil-3-Hidroxipropiónico, ↑2-metilbutirilglicina, ↑Isovalerilglicina, ↑n-butirilglicina, ↑Isobutilglicina. (54,80, 81, 82)
GA-1 231670	↑C5DC (48, 29, 45, 49, 50, 51,52,53, 54, 72, 83, 85, 27, 87)	↑C5DC/C5OH (48,50) ↑C5DC/C8 (48,50,53) ↑C5DC/C53 (48,29,50,46) ↑C5DC/C4 (53) ↑C5DC/C12 (45,53) ↑C5DC/C0 (46) ↑C5DC/(C8+C10) (46) ↑C5DC/C10OH (18)	Acilcarnitinas en plasma: ↓C5DC ^(49, 84) Perfil de Ácidos orgánicos: ↑Ácido Glutárico, ↑Ácido 3-Hidroxiglutarico, ↑Ácido glutaconico. (49, 54, 56, 72, 83, 84, 85, 27, 86,87) Estudios Moleculares y Análisis enzimático ⁽⁸³⁾
IVA 243500	↑C5 (48,18,29,45, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 88, 90)	↑C5/C0 (48,50) ↑C5/C2 (48,50, 56) ↑C5/C3 (48, 50, 53, 56) ↑C5/C4 (53) ↑C5/C8 (53)	Perfil de Ácidos orgánicos: ↑Ácido 3-Hidroxi-isovalérico, 3↑Isovalerilglicina. (49, 53, 54, 56, 72, 88, 89,90)
2MBG 610006	↑C5 (48, 18, 29, 49, 50, 51, 90, 91, 92)	↑C5/C0 (48,50) ↑C5/C2 (48,50, 90) ↑C5/C3 (48,50, 90)	Perfil de Ácidos orgánicos: ↑2 metilbutirilglicina. (19, 90, 91, 93) ↑ Ácido 2-etilhidracrilico. (49, 91, 92)

CONTINÚA TABLA 8.2. ACIDEMIAS ORGÁNICAS

BKT 203750	<p>↑C5:1 (18, 45, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 72, 92, 95)</p>	<p>↑C5-OH (18, 29, 45, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 72, 92, 95)</p> <p>↑C5-OH /C0 (48, 50)</p> <p>↑C4OH (48, 59)</p>	<p>Perfil de Ácidos orgánicos: ↑2-Metil 3-Hidroxi-3-butanóico, ↑Ácido 2-metil acetoacético, ↑Tigilglicina, ↑2-ceto-3-metilvalérico, ↑Ácido metilglutaconico, ↑Ácido 3-Hidroxi-3-butanóico. (49, 56, 72, 92, 94, 95)</p>
2M3HBA 300438	<p>↑C5-OH (18, 50, 53, 92, 96)</p> <p>↑C5:1 (48, 76, 92, 97)</p> <p>↑C5-OH /C8 (48, 50)</p>	<p>-----</p>	<p>Perfil de Ácidos orgánicos: ↑Ácido 2-metil 3-Hidroxi-3-butanóico, ↑Tigilglicina. (56, 76, 92, 96, 97)</p>
HMG 246450	<p>↑C5-OH (18, 72, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 100)</p>	<p>↑C6DC (18, 48, 50, 51, 100)</p> <p>↑C5-OH /C0 (48)</p> <p>↑C5-OH /C8 (48, 50)</p>	<p>Perfil de Ácidos orgánicos: ↑Ácido 3-Hidroxi 3-Metilglutárico, ↑Ácido 3-metilglutaconico, ↑Ácido 3-metilglutárico, ↑Ácido 3-Hidroxi-isovalérico, ↑Ácido 3-metilcrotonilglicina. (49, 52, 56, 98, 99, 100)</p>
3MGA 250950	<p>↑C5-OH (18, 48, 49, 50, 53)</p>	<p>↑C5-OH /C8 (48, 50)</p>	<p>Perfil de Ácidos orgánicos: ↑Ácido 3-metilglutaconico, ↑Ácido 3-metilglutárico. (49, 56, 101)</p>
3MCC 210200	<p>↑C5-OH (18, 29, 45, 48 - 54, 72)</p> <p>↑C5:1 (53)</p>	<p>↑C5-OH /C8 (48, 50)</p> <p>↑C5-OH /C0 (48, 50)</p> <p>↑C5:1 (51, 72)</p>	<p>Perfil de Acilcarnitinas urinarias: C5:1 (76)</p> <p>Perfil de Ácidos orgánicos: ↑Ácido 3-Hidroxi – isovalérico, ↑Ácido 3-metilcrotonilglicina (48, 49, 54, 56, 76)</p>

CONTINÚA TABLA 8.2. ACIDEMIAS ORGÁNICAS

MAL 248360	↑C3DC ^(18, 48, 50, 53) ↑C3DC/C10 ^(48, 50)		Perfil de Ácidos orgánicos: ↑Ácido malónico ^(102, 103, 104)
PCD 266150	Cit ⁽⁵⁰⁾	Cit/Arg ⁽⁵⁰⁾	Análisis enzimático ⁽¹⁰⁵⁾

Las abreviaciones de las enfermedades y los biomarcadores están basadas en las abreviaturas utilizadas por el Colegio Americano de Medicina Genética. Los 6 números debajo del nombre de la enfermedad representan el número OMIM®.

TABLA 8.3. DEFECTOS DE β-OXIDACIÓN

Enfermedad	Perfil de Acilcarnitinas		Confirmación
	Biomarcador Primario	Biomarcador Secundario	
CUD 212140	<p>↓C0^(46, 48, 49, 50, 51, 53, 106, 107)</p> <p>↓C2⁽¹⁰⁶⁾</p> <p>↓C3⁽¹⁸⁾</p> <p>↓C53⁽¹⁸⁾</p> <p>↓C18⁽¹⁸⁾</p>	<p>↓C0+C2+C3+C16 +C18:1/Cit^(48, 50)</p>	<p>Análisis enzimático: ↓Actividad del transportador de catión orgánico/carnitina (OCTN2).^(107, 109, 110)</p> <p>Captación de carnitina en fibroblastos.⁽¹⁰⁸⁾</p> <p>Estudios Moleculares⁽¹⁰⁷⁾</p>
SCAD 201470	<p>↑C4,^(18, 29, 46, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 72, 77, 106)</p>	<p>↑C4/C2^(48,50)</p> <p>↑C4/C3^(48,50)</p> <p>↑C4/C8^(48,50)</p>	<p>Perfil de Ácidos orgánicos: ↑Ácido etilmalónico, ↑Butirilglicina, ↑Ácido metilsuccínico, ↑Ácido adípico, ↑Ácido subérico, ↑Ácido sebácico.^(49, 56, 77, 80)</p> <p>Análisis enzimático en fibroblastos⁽⁸⁰⁾</p> <p>Análisis Molecular^(77, 80)</p>
MCKAT 602199	<p>↑C6⁽¹⁸⁾</p> <p>↑C8^(18, 48, 50, 53, 106)</p> <p>↑C8OH⁽¹⁰⁶⁾</p> <p>↑C3DC^(18, 48)</p> <p>↑C10OH^(53, 106)</p>	<p>↑C8/C2⁽⁵⁰⁾</p> <p>↑C8/C10⁽⁵⁰⁾</p> <p>↑C5DC/C10OH⁽¹⁸⁾</p>	<p>Análisis enzimático⁽¹¹¹⁾</p>

CONTINÚA TABLA 8.3. DEFECTOS DE β -OXIDACIÓN

<p>MCAD 201450</p>	<p>↑C8^(18, 29, 45, 46, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 72, 106)</p>	<p>↑C6^(18, 28, 29, 45, 46, 48, 50, 51, 52, 53, 54, 72, 106) ↑C10^(18, 28, 29, 45, 46, 48, 49, 50, 53, 72, 106) ↑C10:1^(18, 28, 29, 45, 46, 48, 50, 51, 52, 53, 54, 72, 106) ↑C8/C2^(28, 48, 50) ↑C8/C6⁽⁵³⁾ ↑C8/C10^(28, 48, 50, 51, 53)</p>	<p>Perfil de Ácidos orgánicos: ↑Hexanoilglicina ↑Suberilglicina. ↑Acido 5-Hidroxihexanoico, ↑Acido 7-Hidroxi octanoico, ↑Ácido adípico, ↑Ácido Subérico, ↑Ácido sebácico, ↑Ácido octanedioico, ↑Ácido decanedioico, ↑Fenilpropionilglicina.^(49, 54, 56)</p>
<p>GA-II 231680</p>	<p>↑C8^(18, 29, 48, 51, 52, 53, 54, 72) ↑C10^(18, 29, 52, 54, 72)</p>	<p>↑C4^(18, 29, 48, 51, 53, 54, 72, 106) ↑C5^(18, 29, 48, 51, 53, 106) ↑C5DC^(48, 51, 53, 106) ↑C6^(18, 51, 53, 54, 72, 106) ↑C12^(18, 29, 51, 53, 54, 106) ↑C14:1^(18, 54, 72) ↑C14^(18, 29, 48, 51, 53, 54) ↑C16^(29, 54, 106) ↑C18:1^(18, 54) ↑C18^(18, 55)</p>	<p>Perfil de Ácidos orgánicos: ↑Ácido Glutárico, ↑Ácido etilmalónico, ↑Ácido adípico, ↑Ácido subérico, ↑Ácido 2-Hidroxi glutárico, ↑Isovalerilglicina, ↑Isobutirilglicina, ↑2-metilbutirilglicina.^(49, 54, 56)</p>
<p>DE-RED 222745</p>	<p>↑C10:2^(18, 48, 50, 53, 106) ↑C10:2/C10⁽⁵⁰⁾</p>	<p>-----</p>	<p>Análisis Enzimático y Molecular⁽¹¹²⁾</p>

CONTINÚA TABLA 8.3. DEFECTOS DE β -OXIDACIÓN

VLCAD 201475	<p>↑C14:1 (18, 29, 45, 46, 48-51, 53, 72, 106)</p>	<p>↓C0⁽⁴⁹⁾ ↑C14^(18, 29, 45, 46, 48, 49, 50, 53, 72, 106) ↑C14:2^(48, 49, 50, 106) ↑C53^(18, 45) ↑C18:1^(18, 45, 51, 53, 106) ↑C18^(18, 45, 106) ↑C14:1/C12:1⁽⁵¹⁾ ↑C14:1/C2⁽⁴⁸⁾ ↑C14:1/C4⁽⁵³⁾ ↑C14:1/C5⁽⁵³⁾ ↑C14:1/C8⁽⁵³⁾ ↑C14:1/C16^(48, 50) ↑C16^(18, 29, 51, 53, 106) ↑C14⁽⁵¹⁾ ↑C12⁽¹⁸⁾ ↑C18:2⁽¹⁸⁾</p>	<p>Perfil de Ácidos orgánicos: ↑Acido Subérico, ↑Acido Sebácico especies insaturadas⁽⁵⁶⁾</p> <p>Análisis Enzimático y Molecular^(21, 113)</p>
CPT-IA 600528	<p>↓C16 (18, 29, 48, 49, 50, 53, 54, 91, 106, 114)</p>	<p>↑C0^(18, 29, 48, 49, 50, 53, 54, 91, 114) ↓C18:1^(18, 29, 106) ↓C18^(18, 29, 48, 49, 50, 53, 54, 91, 106, 114) ↑C0/C16+C18^(46, 48, 50, 53, 54, 91, 114)</p>	<p>Análisis enzimático: ↓De la actividad Carnitina palmitoil transferasa I (CPT I).^(91, 114, 115)</p>
CPT-IB 601987			
CACT 212138	<p>↑C16^(18, 29, 46, 48-54, 72, 106)</p>	<p>↑C14^(18, 48) ↑C14:1⁽¹⁸⁾ ↑C18:1^(18, 50, 51, 106, 116) ↑C18:2^(18, 50) ↑C18^(18, 48, 49, 50, 116) ↓C0/C16+C18⁽⁵⁰⁾ ↓C0^(49, 116)</p>	<p>Análisis enzimático^(117, 118)</p>

CONTINÚA TABLA 8.3. DEFECTOS DE β-OXIDACIÓN

CPT II 255110	<p>↑C16 (18, 29, 46, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 72, 106)</p>	<p>↓C0^(29, 49) ↑C14^(48, 18) ↑C16:1⁽⁵⁴⁾ ↑C18^(18, 29, 46, 48, 49, 50, 54, 106) ↑C18:1^(18, 29, 50, 51, 53, 54, 106) ↑C18:2^(18, 50) ↑C16+C18:1/C2^(48, 53) ↓C0/C16+C18⁽⁵⁰⁾</p>	<p>Análisis enzimático y Molecular. ^(115,118)</p>
LCHAD 609016	<p>↑C16-OH^(18, 29, 45, 48, 50, 51, 52, 53, 106) ↑C18OH^(18, 24, 48, 45, 50, 119) ↑C18:1OH^(18, 24, 45, 48, 50, 51, 106, 119, 120, 121) ↑C16OH/C16^(24, 48, 50, 119,) ↑C18OH/C18^(24, 119)</p>	<p>↑C16:1OH^(18, 24, 48, 50, 119,) ↑C14:1^(18, 24, 45, 119, 120) ↑C14^(18, 24, 45, 120) ↑C14OH^(18, 45, 120) ↑C14:2^(24, 120) ↑C16^(18, 45, 120) ↑C18:1^(18, 120) ↑C18:2^(18, 120)</p>	<p>Perfil de Ácidos orgánicos: ↑Ácido Subérico, ↑Ácido Sebácico, ↑Ácido 2-Hidroxiadípico, ↑Ácido 3-Hidroxiadípico, ↑Ácido 3-Hidroxioctenedioico, ↑Ácido 3-Hidroxisubérico, ↑Ácido 3-Hidroxi-decanedioico, ↑Ácido 3-Hidroxi-dodecenedioico, ↑Ácido 3-Hidroxi-tetradecenedioico, ↑Ácido 3-Hidroxi-tetradecenedioico. ^(49, 56)</p> <p>Acilcarnitinas en plasma: ↑C12, ↑C14, ↑C16, ↑C14:1, ↑C14:2, ↑C18:1, ↑C18:2, ↑C16OH, ↑C18:1OH, ↑C14:1OH, ↑C14:OH ⁽¹²⁰⁾</p> <p>Análisis enzimático y Estudios Moleculares ^(45, 120, 121)</p>
TFP 609015	<p>↑C16-OH^(18, 29, 45, 48, 50-53, 106) ↑C18OH^(18, 24, 45, 48, 50, 119) ↑C18:1OH^(18, 24, 45, 48, 50, 51, 106, 119, 120, 121) ↑C16OH/C16^(24, 48, 50, 119) ↑C18OH/C18^(24, 119)</p>	<p>↑C16:1OH^(18, 24, 48, 50, 119,) ↑C14:1^(18, 24, 45, 119, 120) ↑C14^(18, 24, 45, 120) ↑C14OH^(18, 45, 120) ↑C14:2^(24, 120) ↑C16^(18, 45, 120) ↑C18:1^(18, 120) ↑C18:2^(18, 120)</p>	<p>Perfil de Ácidos orgánicos: ↑Ácido Subérico, ↑Ácido Sebácico, ↑Ácido 2-Hidroxiadípico, ↑Ácido 3-Hidroxiadípico, ↑Ácido 3-Hidroxioctenedioico, ↑Ácido 3-Hidroxisubérico, ↑Ácido 3-Hidroxi-decanedioico, ↑Ácido 3-Hidroxi-dodecenedioico, ↑Ácido 3-Hidroxi-tetradecenedioico, ↑Ácido 3-Hidroxi-tetradecenedioico. ^(49, 56)</p> <p>Plasma AC: ↑C12, ↑C14, ↑C16, ↑C14:1, ↑C14:2, ↑C18:1, ↑C18:2, ↑C16OH, ↑C18:1OH, ↑C14:1OH, ↑C14:OH ⁽¹²⁰⁾.</p> <p>Análisis enzimático y Estudios Moleculares ^{(45, 120, 121).}</p>

TABLA 8.4. OTRAS CONDICIONES QUE PUEDEN ALTERAR EL RESULTADO DE TNA POR MS/MS	
Condición	Marcador
Nutricionales	
Deficiencia de Vitamina B₁₂	↑C3 (122, 123, 124, 125)
Deficiencia de Biotina	↑C5OH (126)
Deficiencia nutricional carnitina Materna	↓C0 (127)
Triglicéridos de Cadena Media	↑C8 (28, 29, 45, 51, 128) ↑C10 (29, 129) ↑C6DC (129) ↑C8DC (129)
Nutrición Parenteral	↑Met (119, 130, 131, 132) ↑Arg (130) ↓Glu (130) ↑Xle (130, 132) ↑Val (130, 132) ↑Phe (132)
Ayuno Prolongado	↑ Aminoácidos de cadena ramificada (133) ↑Gly (133) ↓Ala (5,133)
Fórmulas infantiles de hidrolizado de proteína	↑Phe (127) ↑Tyr (5) ↑Met (5,127, 131)
Soluciones de Nutrición parenteral total que contenga dextrosa y aminoácidos	↑C3 (122, 123, 124, 125)

CONTINÚA TABLA 8.4. OTRAS CONDICIONES QUE PUEDEN ALTERAR EL RESULTADO DE TNA POR MS/MS

Farmacéuticos	
Ácido Valproico (anticonvulsivo)	↑C8 ^(28, 29, 45, 129) ↑C10 ⁽¹²⁹⁾ ↑Gly ^(134, 133) ↑C5OH ^(135, 136)
Ácido Pivalico (antibióticos)	↑C5 ^(18, 29, 45, 77, 137, 138)
Ácido Heptanoico (saborizante artificial)	↑C3 ^(18, 139) ↑C5 ^(18, 139) ↑C7 ^(18, 139)
Aspirina	↑Fenilacetilcarnitina ⁽¹⁸⁾
Cefotaxina	↑C16:1OH ⁽¹⁸⁾
Ácido Benzoico	↑Carnitina libre ⁽¹²⁹⁾ ↑Benzoilcarnitina ⁽¹⁸⁾
Fenilbutirato	↑Fenilacetilcarnitina ⁽¹⁸⁾
Condiciones Genéticas	
Deficiencia 3MCC Materna	↑C5OH ^(140, 141) ↑C5OH/C0 ⁽¹¹⁹⁾ ↑C5OH/C8 ⁽¹¹⁹⁾
PKU Materna	↑Phe ^(127, 142)

CONTINÚA TABLA 8.4. OTRAS CONDICIONES QUE PUEDEN ALTERAR EL RESULTADO DE TNA POR MS/MS

GA I Materna	↓C0 ⁽¹¹⁹⁾ ↓Carnitina libre ⁽¹⁴³⁾ ↓C18:1 ⁽²⁴⁾ ↓C18 ⁽²⁴⁾ ↓C5DC/C0 ⁽¹¹⁹⁾ ↓C5DC/C16 ⁽¹¹⁹⁾
Deficiencia Primaria de carnitina	↓C0 ^(107, 144)
Otras Condiciones	
Cetosis	↑C2 ⁽¹⁸⁾ ↑C4OH ⁽¹⁸⁾

8.5. Consideraciones Generales En La Interpretación De Tamiz Neonatal Ampliado.

La interpretación de resultados de Tamiz Neonatal Ampliado (TNA) por espectrometría de masas en tándem (MS/MS) es una parte esencial, que debería ser realizada por profesionales de la salud tales como:

Químicos con conocimiento general de los EIMI, metodologías analíticas para su diagnóstico, conocimiento de la estadística para calcular valores de referencia de la población sana. Dominio de las vías metabólicas que se afectan en cada enfermedad y los biomarcadores que permiten sugerir la sospecha diagnóstica. El éxito de todo programa de Tamiz Neonatal depende en su mayoría de las habilidades del analista.

En el caso del personal médico, deben saber que un resultado alterado de TN es una urgencia médica, así como conocer a qué lugares el paciente tiene que ser referido para la confirmación del diagnóstico y la instauración oportuna del tratamiento y con esto prevenir el retraso mental y aminorar las secuelas de la enfermedad. Tener claro conocimiento de las acciones a realizar en el paciente si se encuentra en estado de descompensación metabólica y cómo actuar en caso de emergencia. Una vez confirmado el diagnóstico de un EIMI, el médico tiene que buscar información con el fin de tomar las acciones correspondientes, comenzar el tratamiento específico y plantear el seguimiento periódico de los pacientes para vigilar su evolución deberá prolongarse a lo largo de toda la vida.

El genetista debe conocer el modo de herencia de cada trastorno con el objetivo de brindar un adecuado asesoramiento genético a la familia del paciente sobre el riesgo de recurrencia de la enfermedad en cada embarazo.¹³⁴

8.6. Proceso Analítico

La fase analítica de TNA comienza con el procesamiento químico muestras, seguido por la inyección de la muestra en el equipo de espectrometría de masas en tándem, para generar un perfil de aminoácidos y acilcarnitinas. Al encontrarse un resultado anormal, la sangre en papel filtro original que aporó dicho resultado debe ser re-procesada con el fin de descartar cualquier problema a nivel analítico. Si el resultado sigue siendo positivo, se requiere de una segunda muestra o la realización del siguiente paso, la prueba de confirmación que debe hacerse de manera obligatoria y urgente. Todas las fases analíticas deben ser realizadas lo más rápido posible, Rinaldo y cols. sugieren que el TNA y las pruebas confirmatorias deben ser entregadas dentro de las 24 horas y 48 horas respectivamente, con el fin de obtener un resultado valioso y útil, antes de que el bebé presente signos clínicos de la enfermedad.¹⁴⁵

Los laboratorios de TNA deben cumplir con ciertos criterios de control de calidad (QC) y participar en programas externos que se encargan de evaluar la calidad y desempeño del laboratorio en forma periódica. Existen nuevas herramientas como el Proyecto Internacional de Colaboración Genética (región4) el cual busca mejorar la calidad global del análisis de MS/MS para el Tamiz Neonatal Ampliado, mejorar el nivel de rendimiento analítico, mantener al mínimo el número de casos falsos positivos.^{146, 119, 147}

8.7. Contexto Clínico

Como en todas las pruebas de laboratorio, los resultados del TNA deben interpretarse tomando en cuenta el contexto clínico. Algunos aspectos que deben ser considerados son: la edad gestacional, peso al nacer, los días la vida y las enfermedades concurrentes. A menudo, en bebés prematuros y / o de muy bajo peso y en muestras de sangre recogidas en recién nacidos de menos de 3 días de

vida se ven elevaciones no específicas del perfil metabólico debido a la maduración incompleta de la función hepática y renal. (148 Miller, 2009) Las alteraciones de mayor frecuencia en el perfil de AA observadas en estos bebés son el incremento de Tyr y la metionina (Met).^{133, 28,134}

8.8. Aspectos Nutricionales

El estatus nutricional juega un papel importante en la interpretación de perfiles metabólicos para el TNA:

Tipo de alimentación. Una alta ingesta de proteína de la leche en los recién nacidos acarrearía un aumento de AA, especialmente Met y Tyr. La administración de las fórmulas infantiles enriquecidas con proteínas de leche de vaca pueden causar un aumento de algunos AA como Phe y/o Tyr que si no es tomado en cuenta al momento de la interpretación, podría ocasionar resultados falso positivos.^{131,134}

La Glutaryl carnitina (C5DC) y octanoil carnitina (C8) puede estar elevada en el período neonatal inmediato y también en los bebés que son alimentados con fórmulas que contienen triglicéridos de cadena media.¹⁴⁸

Ayuno, desnutrición. El ayuno durante más de 4-6 horas favorece la gluconeogénesis a partir de los aminoácidos del músculo. Como consecuencia, la mayoría de los AA muestran una disminución constante durante el periodo de ayunos, con la excepción de los AA de cadena ramificada que pueden verse aumentados.^{5, 131}

Estatus de carnitina. La carnitina es utilizada en el transporte de ácidos grasos hacia la mitocondria para la producción de energía. Niveles bajos de carnitina se pueden presentar por dos situaciones a considerar: la primera, es con los bebés cuyas madres son deficientes en carnitina, y la segunda, cuando la deficiencia de

carnitina esta relacionada a algún error innato del metabolismo. En ambas situaciones, puede que el nivel de carnitina, no sea suficiente para garantizar la conjugación de los residuos de acilo, y debe ser considerado, porque si existe una acidemia orgánica o un defecto de la oxidación de ácidos grasos, los biomarcadores no estarán presente y la posibilidad de encontrar un resultado falso negativo se incrementará. Santra y cols. señalan la necesidad de repetir la prueba después de una carga de carnitina 100 mg/kg a fin de evitar la obtención de un perfil AC aparentemente normal.¹⁷

8.9. Otras situaciones que pueden elevar los biomarcadores

No todos los resultados anormales de TNA indican la presencia de algún defecto del metabolismo. En los bebés enfermos hospitalizados, la glucosa intravenosa, los antibióticos y terapia de nutrición parenteral pueden elevar distribuciones de AA de

cadena ramificada, (Met y Arg), así como reducciones en el glutamato (Glu).^{130, 132}

8.10. Pruebas confirmatorias

La confirmación diagnóstica y el seguimiento para las aminoacidopatías se realiza mediante la cuantificación de aminoácidos libres en fluidos biológicos.

Las acidemias orgánicas son confirmadas por un subconjunto de tres pruebas: el análisis de ácidos orgánicos urinarios mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC/EM) (8,14), cuantificación de aminoácidos en fluidos biológicos por técnicas como la cromatografía de líquidos de alta resolución (CLAR) (10) y acilcarnitinas en plasma por MS/MS como se muestran en las tablas 1 a 3. Cuando un EIMI no tiene un perfil metabólico característico, la determinación de la actividad enzimática o el establecimiento de un defecto genético mediante estudios moleculares, se vuelve esencial para confirmar el diagnóstico, ejemplo de ello es la deficiencia de carnitina palmitoil transferasa I

(CPT-I), la cual muestra un patrón anormal de alteraciones en el perfil de AC sin embargo, no tienen un patrón específico de alteraciones en el perfil de AO. 114

La confirmación de los defectos de β -oxidación es a menudo difícil, se establece en base a determinaciones simultaneas de ácidos orgánicos en orina y análisis de acilcarnitinas en plasma colectadas durante el episodio de descompensación aguda. El paso siguiente consiste en los estudios enzimáticos o moleculares^{10, 21}

9. CONCLUSIONES

La interpretación post analítica de los resultados del Tamiz Neonatal es compleja y debe llevarse a cabo de manera profesional y sistemática, sin la adecuada interpretación el objetivo del Tamiz Neonatal no se logrará a pesar de contar con un poderoso equipo analítico.

Cada laboratorio encargado de realizar el TN y especialmente aquellos laboratorios que inician o cuentan con poca experiencia en MS/MS, deben tener claros los conceptos de biomarcadores primarios y secundarios y de como interpretar dichos resultados.

El diagnóstico definitivo de los errores innatos del metabolismo intermedio debe establecerse sólo después de haber realizado un análisis integral de los resultados de Tamiz con los datos clínicos del paciente, las pruebas de confirmación y la examinación médica.

10.- BIBLIOGRAFIA

1. Ellaway, C. J., Wilcken, B., & Christodoulou, J. (2002). *Clinical approach to inborn errors of metabolism presenting in the newborn period*. J Paediatr Child Health, 38(5), 511-517.
2. Jouvét P, Touati G, Lesage F, Dupic L, Tucci M, Saudubray JM, et al. (2007). *Impact of inborn errors of metabolism on admission and mortality in a pediatric intensive care unit*. Eur J Pediatr., 166:461-5.
3. Baric, I., Fumic, K., & Hoffmann, G. F. (2001). *Inborn errors of metabolism at the turn of the millennium*. Croat Med J, 42(4), 379-383.
4. Saudubray, J. M., Desguerre, I., Frédéric, S., & Charpenter, C. (2006). *A clinical approach to inherited metabolic diseases*. In J. Fernandes, J. M. Saudubray, G. Van den Berghe & J. H. Walter (Eds.), *Inborn metabolic diseases: diagnosis and treatment*. Springer, pp. 5-10.
5. Duran, M. (2008). *Amino Acids*. In N. Blau, M. Duran & K. Michael-Gibson (Eds.), *Laboratory Guide to the Methods in Biochemical Genetics*, Springer, pp. 53-89.
6. Colombo M. (2003). *Errores innatos en el metabolismo del niño*. Editorial universitaria 2. Ed, pp. 47-53.
7. Vela-Amieva, M., Ibarra-González, I., & Belmont-Martínez, L. (2011). *Aspectos prácticos de la toma, análisis e interpretación del tamiz neonatal*. In T. Murguía, D. Villanueva & F. Lara (Eds.), *Neonatología esencia, arte y praxis*. Mc graw Hill, pp. 308-314.
8. Vilaseca-Buscá, M. A. (1999). *Aminoácidos y derivados*. In X. Fuentes-Arderiu, M. J. Castiñeiras-Lacambra & J. M. Queralto-Compañó (Eds.), *Bioquímica clínica y patología molecular*. Reverte, Volumen 2, pp. 703-721.
9. Lajo, T., & Álvarez, J. (1997). *Errores congénitos del metabolismo de los aminoácidos*. In B. Moreno-Esteban, M. A. Gargallo-Fernández & M. Lopez de la Torre Casares (Eds.), *Diagnóstico y tratamiento en enfermedades metabólicas*. Ediciones Díaz de Santos, pp. 333-342.

-
10. Zschocke, J. (2009). *Disorders of intermediary metabolism*. In G. F. Hoffmann, J. Zschocke & L. W. Nyhan (Eds.), *Inherited Metabolic Diseases: A Clinical Approach*. Springer, pp. 3-6.
 11. Nelson, D.L., Cox, M.M. (2000). *Lehninger principios de Bioquímica*. 3a ed., Barcelona, España, pp. 115-118, 598-618, 623-656.
 12. Scriver, R.C., Kaufman, S.(2001). *Hyperphenylalaninemia: Phenylalanine Hydroxylase Deficiency*. En: Scriver, C.R.; Beaudet, A.L.; Valle, D., (Eds.), *The metabolic and molecular bases of inherited disease*, McGraw Hill Inc., pp. 1667-1724.
 13. Vela, M., Cicerón, I., Pérez, M., Ortiz, J., Ibarra, I., Olivares, Z., et al. (2002). *Interpretación del tamiz metabólico. Generalidades (III de IV partes)*. *Acta Pediatr Mex*, 23(2), 81-84.
 14. Stocker, J. T., & Dehner, L. P. (2002). *Pediatric pathology*. Lippincott Williams & Wilkins, pp. 161-166.
 15. Fleisher, R. G., & Ludwig, S. (Eds.). (2010). *Textbook of Pediatric Emergency Medicine*. Lippincott Williams & Wilkins, pp. 986-989.
 16. Sanjurjo P, Aldámiz K, Prieto JA, Andrade F, Ibáñez M. (2006) *Acidemias metilmalónica (AMM) y propiónica*. En Sanjurjo P, Baldellou P. *Diagnóstico y tratamiento de las enfermedades metabólicas hereditarias*. Ed Ergon, Madrid, pp. 377-392.
 17. Santra, S., & Hendriksz, C. (2010). *How to use acylcarnitine profiles to help diagnose inborn errors of metabolism*. *Arch Dis Child Educ Pract Ed*, 95(5), 151-156.
 18. Smith, E. H., & Matern, D. (2010). *Acylcarnitine analysis by tandem mass spectrometry*. *Curr Protoc Hum Genet*, Chapter 17, Unit 17 18 11-20.
 19. Raimann B, E., & Cornejo E, V. (2007). *Defectos de la oxidación de ácidos grasos como causa de hipoglucemia no cetosica en el niño*. *Revista chilena de nutrición*, 34, 28-34.

-
20. Zschocke, J., & Hoffmann, G. F. (Eds.). (2004). *Vademecum metabolicum: manual of metabolic paediatrics*. Schattauer Verlag, pp. 986-989
21. Wanders, R. J., Ruiter, J. P., L, I. J., Waterham, H. R., & Houten, S. M. (2010). *The enzymology of mitochondrial fatty acid beta-oxidation and its application to follow-up analysis of positive neonatal screening results*. *J Inher Metab Dis*, 33(5), 479-494.
22. Leydiker KB, Neidich JA, Lorey F, Barr EM, Puckett RL, Lobo RM, Abdenur JE. *Maternal medium-chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency identified by newborn screening*. *Mol Genet Metab*. 2011 May; 103(1):92-5.
23. Millington, D.S., Stevens, R.D. (2011). *Metabolic profiling, methods in molecular biology*. Springer Science. pp.978-985
24. McHugh, D. M., Cameron, C. A., Abdenur, J. E., Abdulrahman, M., Adair, O., Al Nuaimi, S. A., et al. (2011). *Clinical validation of cutoff target ranges in newborn screening of metabolic disorders by tandem mass spectrometry: a worldwide collaborative project*. *Genet Med*, 13(3), 230-254.
25. Mitchell, G.A., Grompe, M., Lambert, M., Tanguay, R.M. (2001). *Hypertyrosinemia*. In Scriver, C.R.; Beaudet, A.L.; Valle, D., (Eds.), *The metabolic and molecular basis of inherited metabolic disease*. McGraw Hill Inc., pp. 1777-179.
26. Allard, P., Grenier, A., Korson, M. S., & Zytkevich, T. H. (2004). *Newborn screening for hepatorenal tyrosinemia by tandem mass spectrometry: analysis of succinylacetone extracted from dried blood spots*. *Clin Biochem*, 37(11), 1010-1015.
27. Al-Dirbashi, O. Y., Fisher, L., McRoberts, C., Siriwardena, K., Geraghty, M., & Chakraborty, P. (2010). *Identification of a neonate with hepatorenal tyrosinemia by combined routine newborn screening for succinylacetone, acylcarnitines and amino acids*. *Clin Biochem*, 43(7-8).
28. Chace, D. H., & Kalas, T. A. (2005). *A biochemical perspective on the use of tandem mass spectrometry for newborn screening and clinical testing*. *Clin Biochem*, 38(4), 296-309.

-
29. Chace, D. H., Kalas, T. A., & Naylor, E. W. (2002). *The application of tandem mass spectrometry to neonatal screening for inherited disorders of intermediary metabolism*. *Annu Rev Genomics Hum Genet*, 3, 17-45.
30. Velázquez A. y cols. (2000). *Tamiz neonatal ampliado*. *Rev Mex Pediatr*; 67(5); 206-213.
31. Følling I. (1994) *The discovery of phenylketonuria*. *Acta Paediatr Suppl*. ;407:4-10.
32. Guthrie, R., & Susi, A. (1963). *A Simple Phenylalanine Method for Detecting Phenylketonuria in Large Populations of Newborn Infants*. *Pediatrics*, 32, 338-343.
33. Therrell BL, Adams J. (2007). *Newborn screening in North America*. *J Inherit Metab Dis.*, 30(4):447- 465.
34. Velázquez, A., Loera-Luna, A., E., A. B., Gamboa, S., Vargas, H., & Robles, C. (1994). *Tamiz neonatal para hipotiroidismo congénito y fenilcetonuria*. *Sal Pub Mex* 36(3), 249-256.
35. Norma Técnica 321 para la Prevención del Retraso Mental producido por Hipotiroidismo Congénito. México: Diario Oficial de la Federación, Órgano del Gobierno Constitucional de los Estados Unidos Mexicanos, Tomo CDXX; 1988. p. 89-90.
36. Norma Oficial Mexicana NOM-007-SSA2-1993. *Atención de la mujer durante el embarazo, parto y puerperio y recién nacido. Criterios y procedimientos para la prestación del servicio*. México: Diario Oficial de la Federación, Órgano del Gobierno Constitucional de los Estados Unidos Mexicanos, Tomo CDXCVI; 1995. pp. 19-38.
37. Norma Oficial Mexicana NOM-034-SSA2-2002. *Para la prevención y control de los defectos al nacimiento*. México: Diario Oficial de la Federación, Órgano del Gobierno Constitucional de los Estados Unidos Mexicanos, Tomo DLXXVII, 24; 2003.
38. Vela-Amieva, M. Belmont-Martínez, L. Ibarra-González, I. & Fernández-Lainez, C. (2009.) *Variabilidad interinstitucional del tamiz neonatal en México*. *Bol Med Hosp Infant Mex*, 66 (5), 431-439.

-
39. Pollitt RJ. (2006). *International perspectives on newborn screening*. J Inherit Metab Dis., 29: 390-6.
40. *Recommendations for Preventive Pediatric Health Care Committee on Practice and Ambulatory Medicine and Bright Futures Steering Committee Pediatrics* 2007; 120:6 1376.
41. *Newborn Screening Authoring Committee. Newborn Screening Expands: Recommendations for Pediatricians and Medical Homes Implications for the System. Pediatrics*. 2008; 121: 192-217.
42. *American College of Medical Genetics and Genomics*. Obtenido Noviembre-11-2011, de http://www.acmg.net/AM/Template.cfm?Section=NBS_ACT_Sheets_and_Algorithms_Table&Template=/CM/HTMLDisplay.cfm&ContentID=5072.
43. Vela-Amieva, M., Ibarra-González, I., & Belmont-Martínez, L. (2011). *Aspectos prácticos de la toma, análisis e interpretación del tamiz neonatal*. In T. Murguía, D. Villanueva & F. Lara (Eds.), *Neonatología esencia, arte y praxis* (pp. 308-314): Mc graw Hill.
44. Matern, D., Magera, M. (2001). *Mass spectrometry methods for metabolic and health assessment*. J. Nutr., 131, 1615S-20S.
45. Chace, D.H.; Kalas, T.A.; Naylor, E.W. (2003). *Use of tandem mass spectrometry for multianalyte screening of dried blood specimens from newborns*. Clin. Chem., 49, (11), 1797-1817.
46. Carpenter, K.H., Wiley, V. (2002). *Application of tandem mass spectrometry to biochemical genetics and newborn screening*. Clin Chim Acta, 322, (1-2), 1-10.
47. Fernández-Lainez, C., Vela-Amieva, M., & Ibarra-González, I. (2009). *Espectrometría de masas en tándem: una nueva herramienta para el estudio de la metabolómica en pediatría*. Acta Pediatr Méx, 30(5), 258-263.
48. Rinaldo, P., & Matern, D. (2010). *Newborn Screening for Inherited Metabolic Diseases*. In G. Hoffman, J. Zschocke & L. W. Nyhan (Eds.), *Inherited Metabolic Diseases* (pp. 251-261).

-
49. Garg, U., & Dasouki, M. (2006). *Expanded newborn screening of inherited metabolic disorders by tandem mass spectrometry: clinical and laboratory aspects*. Clin Biochem, 39(4), 315-332.
50. Lehotay, D. C., Hall, P., Lepage, J., Eichhorst, J. C., Etter, M. L., & Greenberg, C. R. (2011). *LC-MS/MS progress in newborn screening*. Clin Biochem, 44(1), 21-31.
51. Frazier, D. M., Millington, D. S., McCandless, S. E., Koeberl, D. D., Weavil, S. D., Chaing, S. H., et al. (2006). *The tandem mass spectrometry newborn screening experience in North Carolina: 1997-2005*. J Inher Metab Dis, 29(1), 76-85.
52. Zytovicz, T. H., Fitzgerald, E. F., Marsden, D., Larson, C. A., Shih, V. E., Johnson, D. M., et al. (2001). *Tandem mass spectrometric analysis for amino, organic, and fatty acid disorders in newborn dried blood spots: a two-year summary from the New England Newborn Screening Program*. Clin Chem, 47(11), 1945-1955.
53. la Marca, G., Malvagia, S., Casetta, B., Pasquini, E., Donati, M. A., & Zammarchi, E. (2008). *Progress in expanded newborn screening for metabolic conditions by LC-MS/MS in Tuscany: update on methods to reduce false tests*. J Inher Metab Dis, 31 Suppl 2, S395-404.
54. Sun, W.; Wang, Y.; Yang, Y.; Wang, J.; Cao, Y.; Luo, F.; Lu, W.; Peng, Y.; Yao, H.; Qiu, P. *The screening of inborn errors of metabolism in sick Chinese infants by tandem mass spectrometry and gas chromatography/mass spectrometry*. Clin. Chim. Acta., 2011, 412, (13-14), 1270-1274.
55. Lashley, F. R. (2002). *Newborn screening: New opportunities and new challenges*. Newborn and Infant Nursing Reviews, 2(4), 228-242.
56. la Marca, G., & Rizzo, C. (2011). *Analysis of organic acids and acylglycines for the diagnosis of related inborn errors of metabolism by GC- and HPLC-MS*. Methods Mol Biol, 708, 73-98.
57. Fingerhut, R., Simon, E., Maier, E. M., Hennermann, J. B., & Wendel, U. (2008). *Maple syrup urine disease: newborn screening fails to discriminate between classic and variant forms*. Clin Chem, 54(10), 1739-1741.

-
58. Bodner-Leidecker, A., Wendel, U., Saudubray, J. M., & Schadewaldt, P. (2000). *Branched-chain L-amino acid metabolism in classical maple syrup urine disease after orthotopic liver transplantation*. *J Inher Metab Dis*, 23(8), 805-818.
59. Jeong, J. S., Sim, H. J., Lee, Y. M., Yoon, H. R., Kwon, H. J., & Hong, S. P. (2011). *Chromatographic diagnosis of maple syrup urine disease by measuring the L-alloisoleucine/L-phenylalanine ratio in dried blood spots*. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 879(22), 2171-2174.
60. Erez, A., Nagamani, S. C., & Lee, B. (2011). *Argininosuccinate lyase deficiency-argininosuccinic aciduria and beyond*. *Am J Med Genet C Semin Med Genet*, 157(1), 45-53.
61. Saheki, T., Kobayashi, K., Iijima, M., Nishi, I., Yasuda, T., Yamaguchi, N., et al. (2002). *Pathogenesis and pathophysiology of citrin (a mitochondrial aspartate glutamate carrier) deficiency*. *Metab Brain Dis*, 17(4), 335-346.
62. Mudd, S. H. (2011). *Hypermethioninemias of genetic and non-genetic origin: A review*. *Am J Med Genet C Semin Med Genet*, 157(1), 3-32.
63. Ruetschi, U., Cerone, R., Perez-Cerda, C., Schiaffino, M. C., Standing, S., Ugarte, M., et al. (2000). *Mutations in the 4-hydroxyphenylpyruvate dioxygenase gene (HPD) in patients with tyrosinemia type III*. *Hum Genet*, 106(6), 654-662.
64. Ellaway, C. J., Holme, E., Standing, S., Preece, M. A., Green, A., Ploechl, E., et al. (2001). *Outcome of tyrosinaemia type III*. *J Inher Metab Dis*, 24(8), 824-832.
65. Crombez, E. A., & Cederbaum, S. D. (2005). *Hyperargininemia due to liver arginase deficiency*. *Mol Genet Metab*, 84(3), 243-251.
66. Longo, N. (2008). *Disorders of biopterin metabolism*. *J Inher Metab Dis*, 32(3), 333-342.
67. Ibarra-Gonzalez, I., Fernandez-Lainez, C., & Vela-Amieva, M. (2010). *Clinical and biochemical characteristics of patients with urea cycle disorders in a developing country*. *Clin Biochem*, 43(4-5), 461-466.

-
68. Brusilow, W. S., Horwich, L. A. (2001). *Urea Cycle Enzymes*. En: *The metabolic and molecular bases of inherited disease*; Scriver, C.R.; Beaudet, A.L.; Valle, D., Eds.; McGraw Hill Inc., pp 1909-1963.
69. Kurokawa, K., Yorifuji, T., Kawai, M., Momoi, T., Nagasaka, H., Takayanagi, M., et al. (2007). *Molecular and clinical analyses of Japanese patients with carbamoylphosphate synthetase 1 (CPS1) deficiency*. *J Hum Genet*, 52(4), 349-354.
70. Hamosh, A., Johnston, V. M. (2001). *Nonketotic Hyperglycinemia In: The metabolic and molecular bases of inherited disease*; Scriver, C.R.; Beaudet, A.L.; Valle, D., Eds.; McGraw Hill Inc., pp 2065-2078.
71. Camacho, J. A., Mardach, R., Rioseco-Camacho, N., Ruiz-Pesini, E., Derbeneva, O., Andrade, D., et al. (2006). *Clinical and functional characterization of a human ORNT1 mutation (T32R) in the hyperornithinemia-hyperammonemia-homocitrullinuria (HHH) syndrome*. *Pediatr Res*, 60(4), 423-429.
72. Kobayashi, H., Hasegawa, Y., Endo, M., Purevsuren, J., & Yamaguchi, S. (2007). *ESI-MS/MS study of acylcarnitine profiles in urine from patients with organic acidemias and fatty acid oxidation disorders*. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 855(1), 80-87.
73. Ogier de Baulny, H., & Saudubray, J. M. (2002). *Branched-chain organic acidurias*. *Semin Neonatol*, 7(1), 65-74.
74. Van Hove, J. L., Josefsberg, S., Freehauf, C., Thomas, J. A., Thuy le, P., Barshop, B. A., et al. (2008). *Management of a patient with holocarboxylase synthetase deficiency*. *Mol Genet Metab*, 95(4), 201-205.
75. Yokoi, K., Ito, T., Maeda, Y., Nakajima, Y., Kurono, Y., Sugiyama, N., et al. (2009). *A case of holocarboxylase synthetase deficiency with insufficient response to prenatal biotin therapy*. *Brain Dev*, 31(10), 775-778.
76. Sass, J. O., Forstner, R., & Sperl, W. (2004). *2-Methyl-3-hydroxybutyryl-CoA dehydrogenase deficiency: impaired catabolism of isoleucine presenting as neurodegenerative disease*. *Brain Dev*, 26(1), 12-14.

-
77. Koeberl, D. D., Young, S. P., Gregersen, N. S., Vockley, J., Smith, W. E., Benjamin, D. K., Jr., et al. (2003). *Rare disorders of metabolism with elevated butyryl- and isobutyryl-carnitine detected by tandem mass spectrometry newborn screening*. *Pediatr Res*, 54(2), 219-223.
78. Oglesbee, D., He, M., Majumder, N., Vockley, J., Ahmad, A., Angle, B., et al. (2007). *Development of a newborn screening follow-up algorithm for the diagnosis of isobutyryl-CoA dehydrogenase deficiency*. *Genet Med*, 9(2), 108-116.
79. Pedersen, C. B., Bischoff, C., Christensen, E., Simonsen, H., Lund, A. M., Young, S. P., et al. (2006). *Variations in IBD (ACAD8) in children with elevated C4-carnitine detected by tandem mass spectrometry newborn screening*. *Pediatr Res*, 60(3), 315-320.
80. Heberle, L. C., Al Tawari, A. A., Ramadan, D. G., & Ibrahim, J. K. (2006). *Ethylmalonic encephalopathy-report of two cases*. *Brain Dev*, 28(5), 329-331.
81. Di Rocco, M., Caruso, U., Briem, E., Rossi, A., Allegri, A. E., Buzzi, D., et al. (2006). *A case of ethylmalonic encephalopathy with atypical clinical and biochemical presentation*. *Mol Genet Metab*, 89(4), 395-397.
82. Nowaczyk, M. J., Lehotay, D. C., Platt, B. A., Fisher, L., Tan, R., Phillips, H., et al. (1998). *Ethylmalonic and methylsuccinic aciduria in ethylmalonic encephalopathy arise from abnormal isoleucine metabolism*. *Metabolism*, 47(7), 836-839.
83. Lindner, M., Ho, S., Fang-Hoffmann, J., Hoffmann, G. F., & Kolker, S. (2006). *Neonatal screening for glutaric aciduria type I: strategies to proceed*. *J Inher Metab Dis*, 29(2-3), 378-382.
84. Hedlund, G. L., Longo, N., & Pasquali, M. (2006). *Glutaric acidemia type 1*. *Am J Med Genet C Semin Med Genet*, 142C(2), 86-94.
85. Hsieh, C. T., Hwu, W. L., Huang, Y. T., Huang, A. C., Wang, S. F., Hu, M. H., et al. (2008). *Early detection of glutaric aciduria type I by newborn screening in Taiwan*. *J Formos Med Assoc*, 107(2), 139-144.

-
86. Strauss, K. A., Puffenberger, E. G., Robinson, D. L., & Morton, D. H. (2003). *Type I glutaric aciduria, part 1: natural history of 77 patients*. Am J Med Genet C Semin Med Genet, 121C(1), 38-52.
87. Kolker, S., Garbade, S. F., Greenberg, C. R., Leonard, J. V., Saudubray, J. M., Ribes, A., et al. (2006). *Natural history, outcome, and treatment efficacy in children and adults with glutaryl-CoA dehydrogenase deficiency*. Pediatr Res, 59(6), 840-847.
88. Vockley, J., & Ensenauer, R. (2006). *Isovaleric acidemia: new aspects of genetic and phenotypic heterogeneity*. Am J Med Genet C Semin Med Genet, 142C(2), 95-103.
89. Loots, D. T., Erasmus, E., & Mienie, L. J. (2005). *Identification of 19 new metabolites induced by abnormal amino acid conjugation in isovaleric acidemia*. Clin Chem, 51(8), 1510-1512.
90. van Calcar, S. C., Gleason, L. A., Lindh, H., Hoffman, G., Rhead, W., Vockley, G., et al. (2007). *2-methylbutyryl-CoA dehydrogenase deficiency in Hmong infants identified by expanded newborn screen*. WMJ, 106(1), 12-15.
91. Korman, S. H., Andresen, B. S., Zeharia, A., Gutman, A., Boneh, A., & Pitt, J. J. (2005). *2-ethylhydracrylic aciduria in short/branched-chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency: application to diagnosis and implications for the R-pathway of isoleucine oxidation*. Clin Chem, 51(3), 610-617.
92. Korman, S. H. (2006). *Inborn errors of isoleucine degradation: a review*. Mol Genet Metab, 89(4), 289-299.
93. Andresen, B. S., Christensen, E., Corydon, T. J., Bross, P., Pilgaard, B., Wanders, R. J., et al. (2000). *Isolated 2-methylbutyryl-glycinuria caused by short/branched-chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency: identification of a new enzyme defect, resolution of its molecular basis, and evidence for distinct acyl-CoA dehydrogenases in isoleucine and valine metabolism*. Am J Hum Genet, 67(5), 1095-1103.
94. Catanzano, F., Ombrone, D., Di Stefano, C., Rossi, A., Nosari, N., Scolamiero, E., et al. (2010). *The first case of mitochondrial acetoacetyl-CoA thiolase deficiency identified by expanded newborn metabolic screening in Italy: the importance of an integrated diagnostic approach*. J Inher Metab Dis.

-
95. Sewell, A. C., Herwig, J., Wiegratz, I., Lehnert, W., Niederhoff, H., Song, X. Q., et al. (1998). *Mitochondrial acetoacetyl-CoA thiolase (beta-ketothiolase) deficiency and pregnancy*. J Inherit Metab Dis, 21(4), 441-442.
96. Cazorla, M. R., Verdu, A., Perez-Cerda, C., & Ribes, A. (2007). *Neuroimage findings in 2-methyl-3-hydroxybutyryl-CoA dehydrogenase deficiency*. Pediatr Neurol, 36(4), 264-267.
97. Zschocke, J., Ruitter, J. P., Brand, J., Lindner, M., Hoffmann, G. F., Wanders, R. J., et al. (2000). *Progressive infantile neurodegeneration caused by 2-methyl-3-hydroxybutyryl-CoA dehydrogenase deficiency: a novel inborn error of branched-chain fatty acid and isoleucine metabolism*. Pediatr Res, 48(6), 852-855.
98. Reimao, S., Morgado, C., Almeida, I. T., Silva, M., Real, H. C., & Campos, J. (2009). *3-Hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A lyase deficiency: Initial presentation in a young adult*. J Inherit Metab Dis
99. Leung, A. A., Chan, A. K., Ezekowitz, J. A., & Leung, A. K. (2009). *A Case of Dilated Cardiomyopathy Associated with 3-Hydroxy-3-Methylglutaryl-Coenzyme A (HMG CoA) Lyase Deficiency*. Case Report Med, 2009, ID 183125.
100. Vargas, C. R., Sitta, A., Schmitt, G., Ferreira, G. C., Cardoso, M. L., Coelho, D., et al. (2007). *Incidence of 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A lyase (HL) deficiency in Brazil, South America*. J Inherit Metab Dis.
101. Ensenauer, R., Muller, C. B., Schwab, K. O., Gibson, K. M., Brandis, M., & Lehnert, W. (2000). *3-Methylglutaconyl-CoA hydratase deficiency: a new patient with speech retardation as the leading sign*. J Inherit Metab Dis, 23(4), 341-344.
102. Kumps, A., Duez, P., & Mardens, Y. (2002). *Metabolic, nutritional, iatrogenic, and artifactual sources of urinary organic acids: a comprehensive table*. Clin Chem, 48(5), 708-717. 7.
103. Sweetman, L., Williams, C. J. (2001). *Branched Chain Organic Acidurias*. En: The metabolic and molecular bases of inherited disease; Scriver, C.R.; Beaudet, A.L.; Valle, D., Eds.; McGraw Hill, pp 2125-2193.

-
104. Santer, R., Fingerhut, R., Lassker, U., Wightman, P. J., Fitzpatrick, D. R., Olgemoller, B., et al. (2003). Tandem mass spectrometric determination of malonylcarnitine: diagnosis and neonatal screening of malonyl-CoA decarboxylase deficiency. *Clin Chem*, 49(4), 660-662.
105. Marin-Valencia, I., Roe, C. R., & Pascual, J. M. (2010). *Pyruvate carboxylase deficiency: mechanisms, mimics and anaplerosis*. *Mol Genet Metab*, 101(1), 9-17.
106. Banta-Wright, S. A., Shelton, K. C., & Bennett, M. J. (2008). *Disorders of Fatty Acid Oxidation in the Era of Tandem Mass Spectrometry in Newborn Screening*. *Newborn and Infant Nursing Reviews*, 8(1), 18-29.
107. Schimmenti, L. A., Crombez, E. A., Schwahn, B. C., Heese, B. A., Wood, T. C., Schroer, R. J., et al. (2007). *Expanded newborn screening identifies maternal primary carnitine deficiency*. *Mol Genet Metab*, 90(4), 441-445.
108. Kinali, M., Olpin, S. E., Clayton, P. T., Daubeney, P. E., Mercuri, E., Manzur, A. Y., et al. (2004). *Diagnostic difficulties in a case of primary systemic carnitine deficiency with idiopathic dilated cardiomyopathy*. *Eur J Paediatr Neurol*, 8(4), 217-219.
109. Lee, N. C., Tang, N. L., Chien, Y. H., Chen, C. A., Lin, S. J., Chiu, P. C., et al. (2010). *Diagnoses of newborns and mothers with carnitine uptake defects through newborn screening*. *Mol Genet Metab*, 100(1), 46-50.
110. Rose, E. C., di San Filippo, C. A., Ndukwe Erlingsson, U. C., Ardon, O., Pasquali, M., & Longo, N. (2012). *Genotype-phenotype correlation in primary carnitine deficiency*. *Hum Mutat*, 33(1), 118-123.
111. Moczulski, D., Majak, I., & Mamczur, D. (2009). *An overview of beta-oxidation disorders*. *Postepy Hig Med Dosw (Online)*, 63, 266-277.
112. Roe, C. R., Millington, D. S., Norwood, D. L., Kodo, N., Sprecher, H., Mohammed, B. S., et al. (1990). *2,4-Dienoyl-coenzyme A reductase deficiency: a possible new disorder of fatty acid oxidation*. *J Clin Invest*, 85(5), 1703-1707.

-
113. Shigematsu, Y., Hirano, S., Hata, I., Tanaka, Y., Sudo, M., Tajima, T., et al. (2003). *Selective screening for fatty acid oxidation disorders by tandem mass spectrometry: difficulties in practical discrimination*. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci, 792(1), 63-72.
114. Tsuburaya, R., Sakamoto, O., Arai, N., Kobayashi, H., Hasegawa, Y., Yamaguchi, S., et al. (2010). *Molecular analysis of a presymptomatic case of carnitine palmitoyl transferase I (CPT I) deficiency detected by tandem mass spectrometry newborn screening in Japan*. Brain Dev, 32(5), 409-411.
115. Bonnefont, J. P., Djouadi, F., Prip-Buus, C., Gobin, S., Munnich, A., & Bastin, J. (2004). *Carnitine palmitoyltransferases 1 and 2: biochemical, molecular and medical aspects*. Mol Aspects Med, 25(5-6), 495-520.
116. Rubio-Gozalbo, M. E., Vos, P., Forget, P. P., Van Der Meer, S. B., Wanders, R. J., Waterham, H. R., et al. (2003). *Carnitine-acylcarnitine translocase deficiency: case report and review of the literature*. Acta Paediatr, 92(4), 501-504.
117. Rubio-Gozalbo, M. E., Bakker, J. A., Waterham, H. R., & Wanders, R. J. (2004). *Carnitine-acylcarnitine translocase deficiency, clinical, biochemical and genetic aspects*. Mol Aspects Med, 25(5-6), 521-532.
118. Rector, R. S., & Ibdah, J. A. (2010). *Fatty acid oxidation disorders: maternal health and neonatal outcomes*. Semin Fetal Neonatal Med, 15(3), 122-128.
119. *Region 4 Genetics Collaborative. MS/MS data project*. Obtenido Noviembre-11-2011, de http://www.region4genetics.org/msms_data_project/data_project_home.aspx.
120. Van Hove, J. L., Kahler, S. G., Feezor, M. D., Ramakrishna, J. P., Hart, P., Treem, W. R., et al. (2000). *Acylcarnitines in plasma and blood spots of patients with long-chain 3-hydroxyacyl-coenzyme A dehydrogenase deficiency*. J Inher Metab Dis, 23(6), 571-582.
121. Sykut-Cegielska, J., Gradowska, W., Piekutowska-Abramczuk, D., Andresen, B. S., Olsen, R. K., Oltarzewski, M., et al. (2011). *Urgent metabolic service improves survival in long-chain 3-hydroxyacyl-CoA dehydrogenase (LCHAD) deficiency detected by symptomatic identification and pilot newborn screening*. J Inher Metab Dis, 34(1), 185-195.

-
122. Chapman, K. A., Bennett, M. J., & Sondheimer, N. (2008). *Increased C3-carnitine in a healthy premature infant*. Clin Chem, 54(11), 1914-1917; discussion 1917-1918.
123. Campbell, C. D., Ganesh, J., & Ficicioglu, C. (2005). *Two newborns with nutritional vitamin B12 deficiency: challenges in newborn screening for vitamin B12 deficiency*. Haematologica, 90(12 Suppl), ECR45.
124. Marble, M., Copeland, S., Khanfar, N., & Rosenblatt, D. S. (2008). *Neonatal vitamin B12 deficiency secondary to maternal subclinical pernicious anemia: identification by expanded newborn screening*. J Pediatr, 152(5), 731-733.
125. Hinton, C. F., Ojodu, J. A., Fernhoff, P. M., Rasmussen, S. A., Scanlon, K. S., & Hannon, W. H. (2010). *Maternal and neonatal vitamin B12 deficiency detected through expanded newborn screening--United States, 2003-2007*. J Pediatr, 157(1), 162-163.
126. Stratton, S. L., Horvath, T. D., Bogusiewicz, A., Matthews, N. I., Henrich, C. L., Spencer, H. J., et al. (2011). *Urinary excretion of 3-hydroxyisovaleryl carnitine is an early and sensitive indicator of marginal biotin deficiency in humans*. J Nutr, 141(3), 353-358.
127. Frazier, D.M. (2010). In: *Nutrition management of patients with inherited metabolic disorders*; Acosta B. P., Eds.; Sudbury, Mass. : Jones and Bartlett Publishers, pp. 21-65.
128. Hsu, H. W., Zytovicz, T. H., Comeau, A. M., Strauss, A. W., Marsden, D., Shih, V. E., et al. (2008). *Spectrum of medium-chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency detected by newborn screening*. Pediatrics, 121(5), e1108-1114.
129. Millington, D.S. (2003). In *Physician's guide to the laboratory diagnosis of metabolic diseases*. Blau, N.; Duran, M.; Blaskovics, E.M.; Michael-Gibson, K., Eds., Springer, pp. 57-76.
130. Oladipo, O. O., Weindel, A. L., Saunders, A. N., & Dietzen, D. J. (2011). *Impact of premature birth and critical illness on neonatal range of plasma amino acid concentrations determined by LC-MS/MS*. Mol Genet Metab, 104(4), 476-479.

-
131. Harvey Mudd, S., Braverman, N., Pomper, M., Tezcan, K., Kronick, J., Jayakar, P., et al. (2003). *Infantile hypermethioninemia and hyperhomocysteinemia due to high methionine intake: a diagnostic trap*. *Mol Genet Metab*, 79(1), 6-16.
132. Chace, D. H., De Jesus, V. R., Lim, T. H., Hannon, W. H., & Spitzer, A. R. (2010). *Tandem mass spectrometric identification of dextrose markers in dried-blood spots from infants receiving total parenteral nutrition*. *Clin Chim Acta*, 411(21-22), 1806-1816.
133. Shih, E.V. (2003) In *Physician's guide to the laboratory diagnosis of metabolic diseases*. Blau, N.; Duran, M.; Blaskovics, E.M.; Michael-Gibson, K., Eds.; Springer, pp. 11-26.
134. Dietzen, D. J., Rinaldo, P., Whitley, R. J., Rhead, W. J., Hannon, W. H., Garg, U. C., et al. (2009). *National academy of clinical biochemistry laboratory medicine practice guidelines: follow-up testing for metabolic disease identified by expanded newborn screening using tandem mass spectrometry; executive summary*. *Clin Chem*, 55(9), 1615-1626.
135. Nakajima, Y., Ito, T., Maeda, Y., Ichiki, S., Kobayashi, S., Ando, N., et al. (2011). *Evaluation of valproate effects on acylcarnitine in epileptic children by LC-MS/MS*. *Brain Dev*, 33(10), 816-823.
136. Werner, T., Treiss, I., Kohlmüller, D., Mehlem, P., Teich, M., Longin, E., et al. (2007). *Effects of valproate on acylcarnitines in children with epilepsy using ESI-MS/MS*. *Epilepsia*, 48(1), 72-76.
137. Abdenur, J. E., Chamoles, N. A., Guinle, A. E., Schenone, A. B., & Fuertes, A. N. (1998). *Diagnosis of isovaleric acidemia by tandem mass spectrometry: false positive result due to pivaloylcarnitine in a newborn screening programme*. *J Inherit Metab Dis*, 21(6), 624-630.
138. Matern, D., Tortorelli, S., Oglesbee, D., Gavrilov, D., & Rinaldo, P. (2007). *Reduction of the false-positive rate in newborn screening by implementation of MS/MS-based second-tier tests: the Mayo Clinic experience (2004-2007)*. *J Inherit Metab Dis*, 30(4), 585-592.
139. Matern, D.(2008) In: *Laboratory guide to the methods in biochemical genetics*. Blau, N.; Duran, M.; Gibson, K.M., Eds.; Springer: Germany, pp. 171-206.

-
140. Eichhorst, J., Alcorn, J., Lepage, J., Etter, M., Antonishyn, N. A., Fitterer, B., et al. (2010). *Elevated neonatal 3-OH isovalerylcarnitine due to breast milk sources in maternal 3-MCC deficiency*. *Mol Genet Metab*, 101(1), 84-86.
141. Arnold, G. L., Koeberl, D. D., Matern, D., Barshop, B., Braverman, N., Burton, B., et al. (2008). *A Delphi-based consensus clinical practice protocol for the diagnosis and management of 3-methylcrotonyl CoA carboxylase deficiency*. *Mol Genet Metab*, 93(4), 363-370.
142. Scriver, R.C., Kaufman, S. (2001). *Hyperphenylalaninemia: Phenylalanine Hydroxylase Deficiency* En: *The metabolic and molecular bases of inherited disease*; Scriver, C.R.; Beaudet, A.L.; Valle, D., Eds.; McGraw Hill Inc., pp. 1667-1724.
143. Crombez, E. A., Cederbaum, S. D., Spector, E., Chan, E., Salazar, D., Neidich, J., et al. (2008). *Maternal glutaric acidemia, type I identified by newborn screening*. *Mol Genet Metab*, 94(1), 132-134.
144. El-Hattab, A. W., Li, F. Y., Shen, J., Powell, B. R., Bawle, E. V., Adams, D. J., et al. (2010). *Maternal systemic primary carnitine deficiency uncovered by newborn screening: clinical, biochemical, and molecular aspects*. *Genet Med*, 12(1), 19-24.
145. Rinaldo, P., Zafari, S., Tortorelli, S., Matern, D. *Making the case for objective performance metrics in newborn screening by tandem mass spectrometry*. *Ment. Retard. Dev. Disabil. Res. Rev.*, 2006, 12(4), 255-261.
146. De Jesús, V.R. Mei, J.V. Bell, C.J. Hannon, W.H. (2010) *Improving and assuring newborn screening laboratory quality worldwide: 30-year experience at the Centers for Disease Control and Prevention*. *Semin Perinatol*, 34(2), 125-133.
147. Howell, R.R., *Quality improvement of newborn screening in real time*. *Genet Med*, 2011, 13, (3), 205.
148. Napolitano, N., Wiley, V., Pitt, J.J. (2004). *Pseudo-glutarylcarnitinaemia in medium-chain-acyl-CoA dehydrogenase deficiency detected by tandem mass spectrometry newborn screening*. *J Inherit Metab Dis*, 27(4), 465-471.

-
149. Melo, V. R., Cuamatzi, O. (2004). *Bioquímica de los procesos metabólicos*. Editorial: Reverté Ediciones, pp. 263.
150. Rosario, R., A. (2004). *Metabolismo de las toxinas ambientales*. Editorial: Fondo De Cultura Economica, pp.18.
151. *IEM digest Molecular Genetics and Metabolism*, vol 85, Issue 1, May 2005 pp. 2-6
152. Werner, M. E., Ulrich B., Serra, C., J. (2008) *Bioquímica : fundamentos para medicina y ciencias de la vida*. Editorial Reverté, pp.552
153. Chase D, Sparkman, D. *What is mass spectrometry? American Society for Mass Spectrometry*. Obtenido www.asms.org/ Consultada Enero 2012.