Govern de les Illes Balears

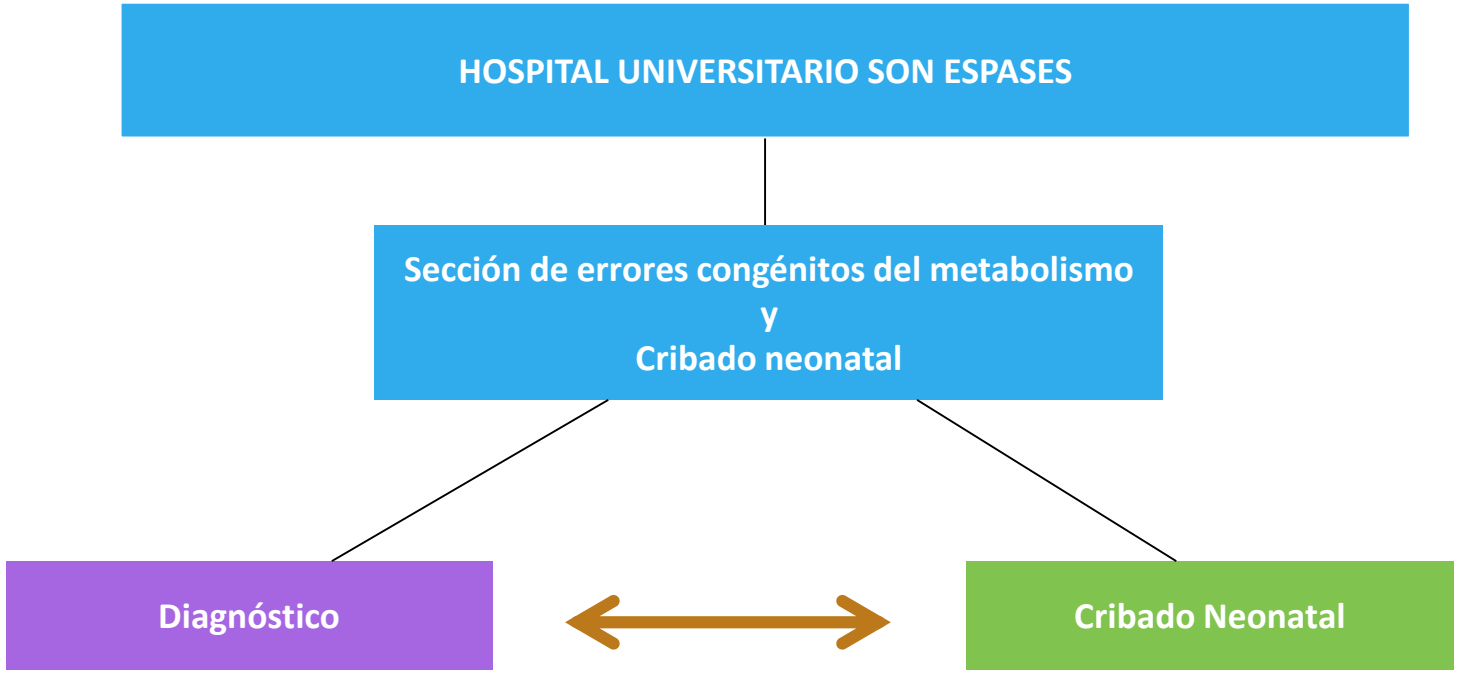
Cursos i jornades d'estratègies de salut

El laboratorio
y
Las enfermedades minoritarias

II Jornada de l'Estratègia de Malalties Minoritàries de les Illes Balears. Actualització en Malalties Minoritàries

Juan Robles
Errores congénitos del metabolismo y
Cribado neonatal
Servicio de Análisis Clínicos.

Sección Errores Congénitos del Metabolismo y Cribado Neonatal



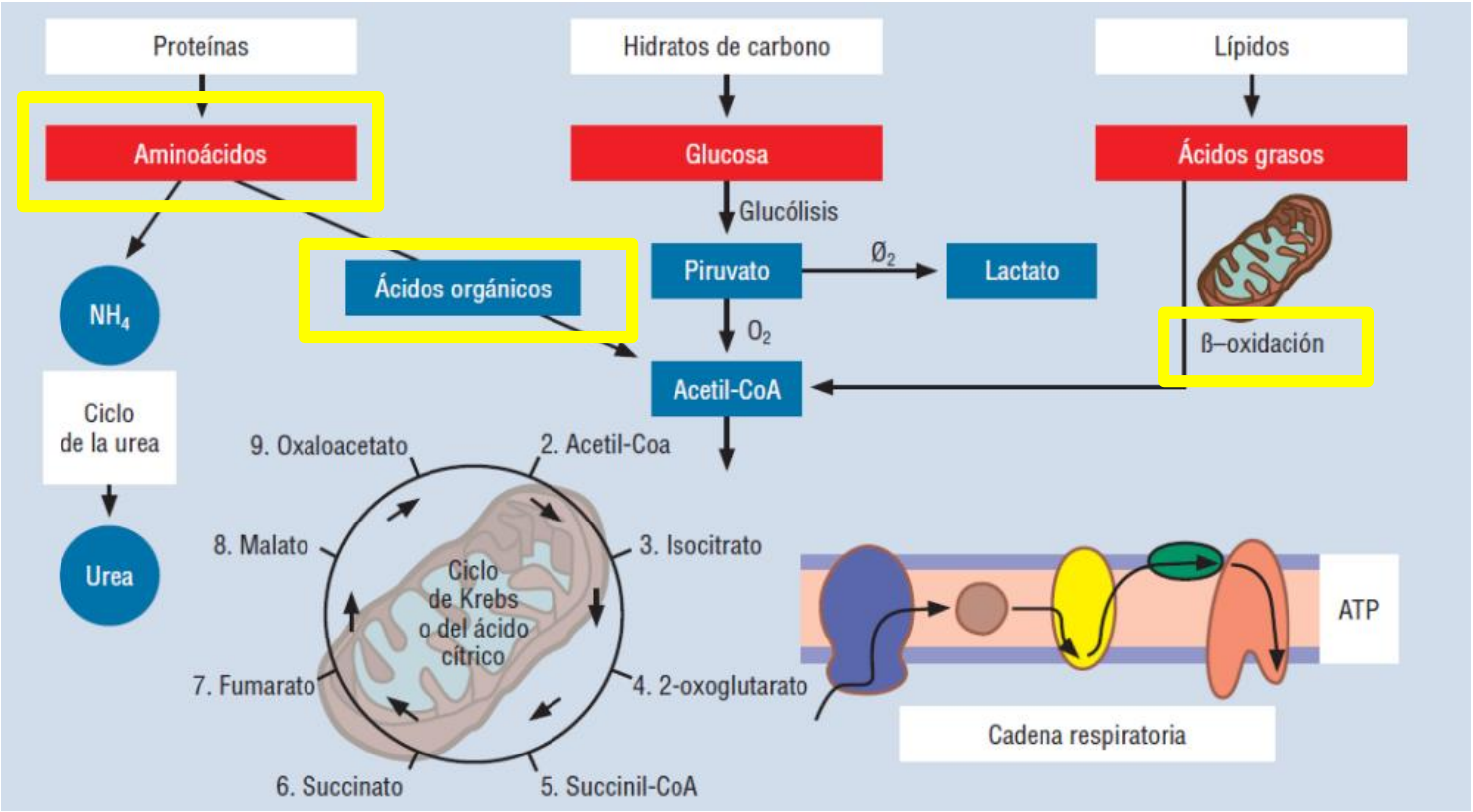
~100 parámetros analíticos
Diagnóstico

Análisis a todos los recién nacidos(RN) de Baleares (9.000/año)
CONVENIO SALUD PUBLICA

Clasificación

TABLA 2. Biomarcadores asociados a los principales grupos de enfermedades metabólicas hereditarias (EMH) en fluidos biológicos.

Grupo de EMH	Biomarcadores	Material idóneo
Metabolismo intermediario	Ácidos orgánicos	Orina
	Aminoácidos	Plasma, sangre papel
	Acilcarnitinas	Plasma, sangre papel
Enfermedades peroxisomales	Ácidos grasos de cadena muy larga	Plasma
Metabolismo colesterol	Esteroles	Plasma
Síntesis de ácidos nucleicos	Purinas y pirimidinas	Orina
Galactosemias	Galactosa-1-fosfato	Eritrocitos
Metabolismo neurotransmisores	Neurotransmisores	LCR
Enfermedades mitocondriales	Ácido láctico	Plasma, LCR
	Ácidos orgánicos	Orina
	Aminoácidos	Plasma
Defectos congénitos de la glicosilación	Isoformas de sialotransferrina. Apo CIII	Suero
Enfermedades lisosomales	Glucosaminoglicanos (GAGs)	Orina
	Oligosacáridos	Orina
	Oxiesteroles (Niemann-Pick)	Plasma
	LisoGb1 (Gaucher)	Plasma, sangre papel
	LisoGb3 (Fabry)	Plasma, sangre papel



Estudios bioquímicos para
Defectos de β-oxidación de ácidos grasos (B-OX)

Determinación de Acilcarnitinas para estudiar la b-oxidación

Defectos metabolismo

Acil-CoA + carnitina

↓

Acilcarnitina + CoA

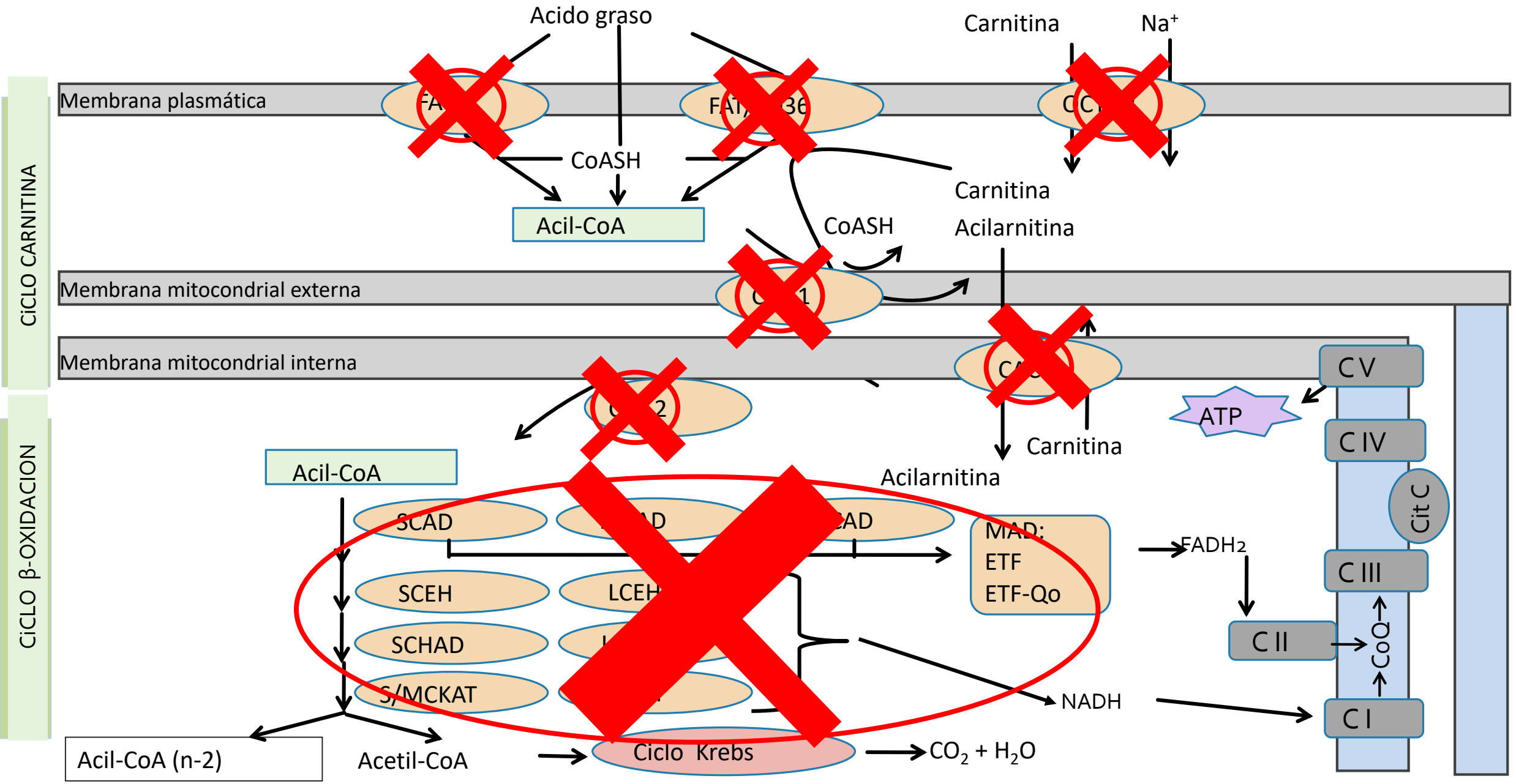
→ **Detección múltiples enfermedades**

TODOS los Defectos β-oxidación mitocondrial de ácidos grasos (B-OX)

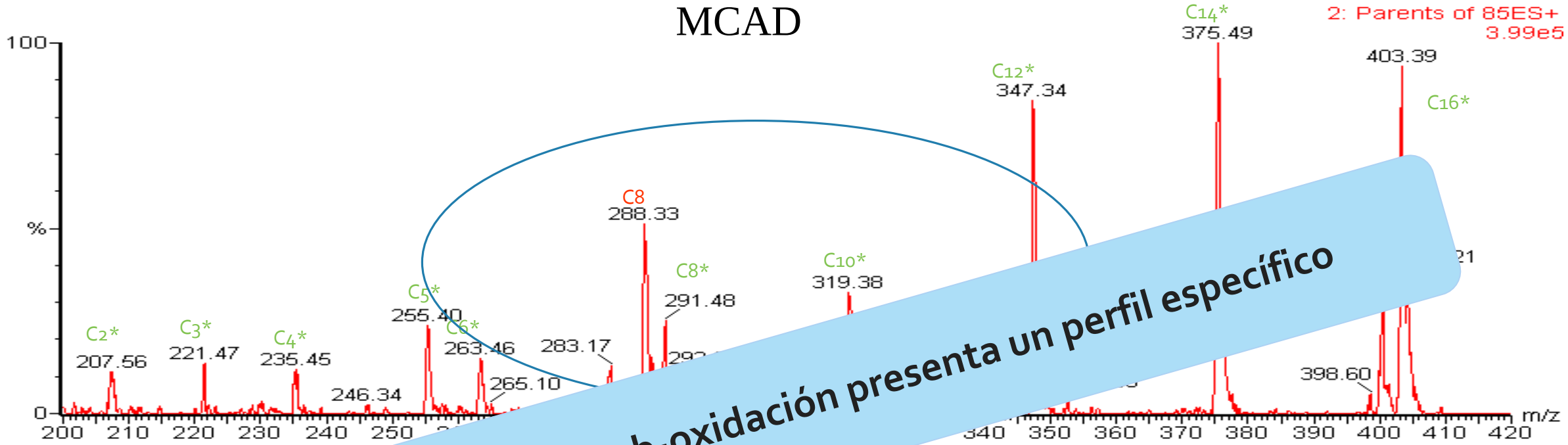
Prevalencia Global 1 : 9.000

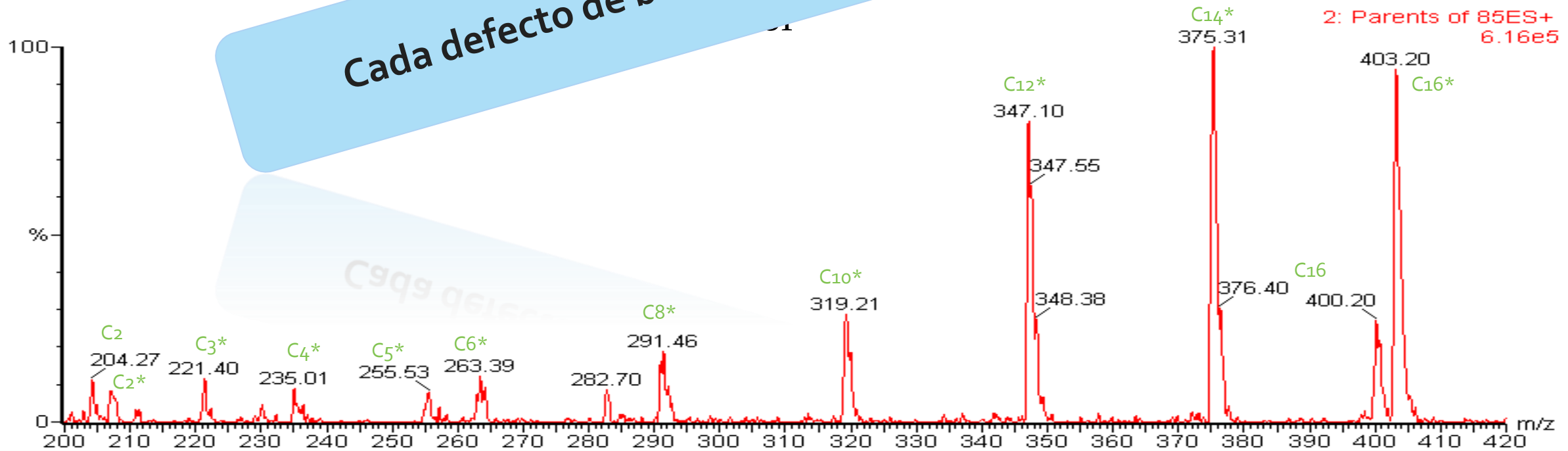
Co: Carnitina libre
C2: Acil con 2 átomos de carbono unido a la carnitina =acetilcarnitina
…
C16: Acil con 16 átomos de carbono unido a la carnitina = palmitoilcarnitina

Determinación de Acilcarnitinas para estudiar la b-oxidación



MCAD





Cada defecto de b-oxidación presenta un perfil específico

¿Cuándo sospechar defecto de b-oxidación?

TABLA 1. Sospecha clínica en los trastornos de la β-oxidación mitocondrial y del sistema carnitina.

- Hipoglucemia hipocetósica
- Hipoglucemia con cetonuria (cadena corta, cadena media en ocasiones)
- Miopatía esquelética
- Hipotonía
- Dolor muscular
- Debilidad muscular
- Rabdomiolisis
- Mioglobinuria
- Neuropatía periférica
- Hepatopatía transitoria o fulminante
- Cardiomiopatía dilatada o hipertrófica
- Arritmias cardiacas
- Muerte súbita
- Síndrome de Reye-*like*
- Síndrome de vómitos cíclicos
- Hígado graso agudo del embarazo
- Madre con síndrome HELLP en el embarazo
- Somnolencia o letargia
- Coma
- Poca ganancia ponderal
- Anorexia
- Retinopatía pigmentaria

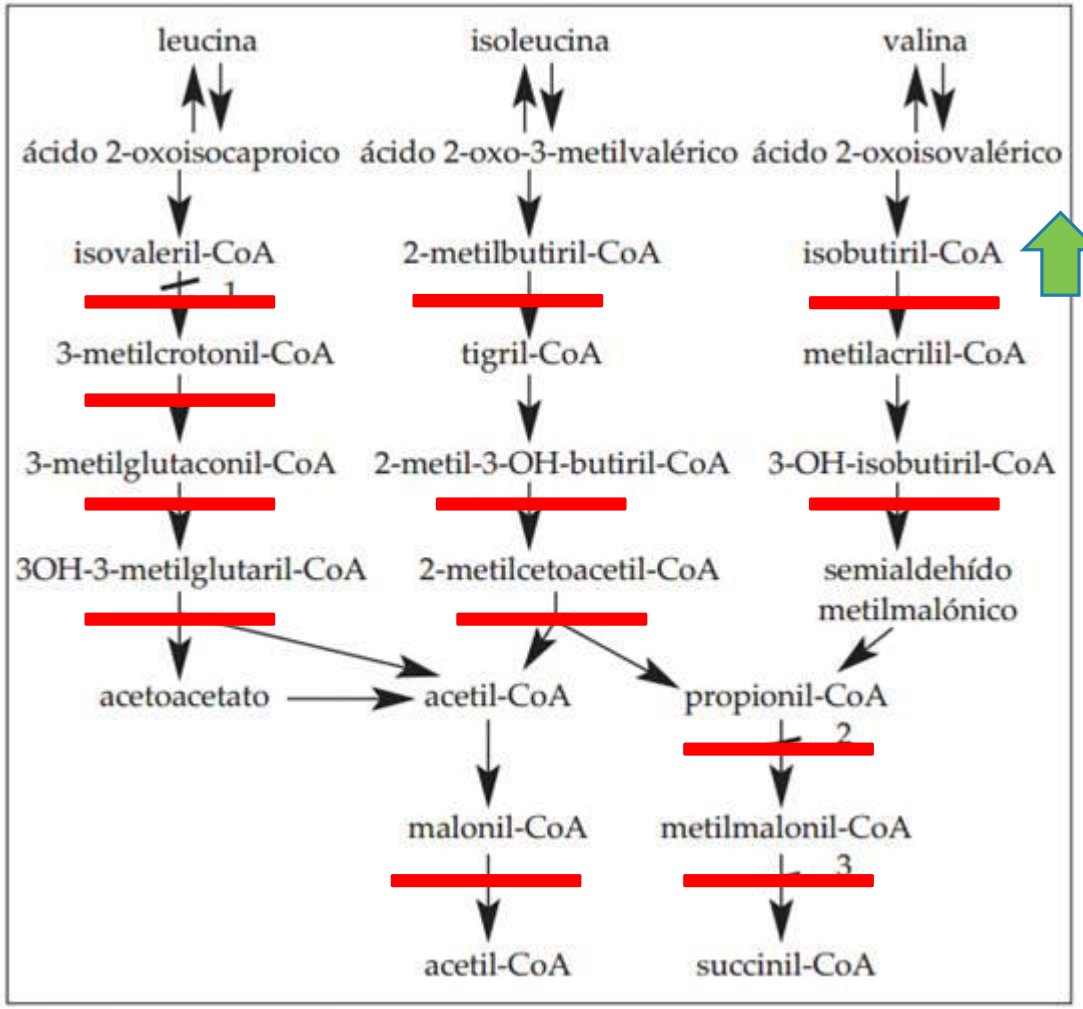
¿Qué analítica solicitar?

Acilcarnitinas

Glucosa
Cuerpos cetónicos
Amonio
ALT
CK
Úrico
....

Estudios bioquímicos para Acidurias orgánicas

Principales acidurias orgánicas



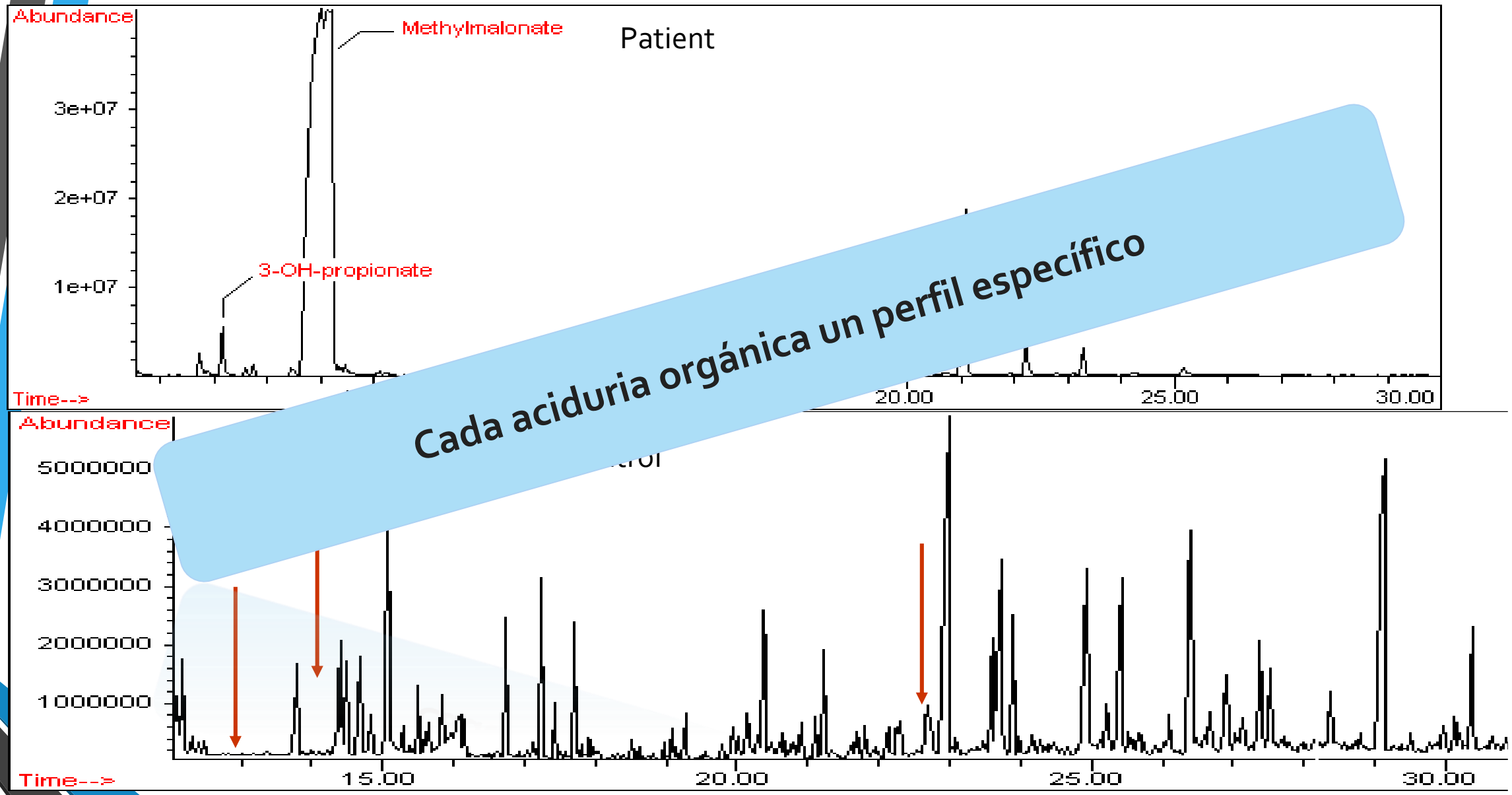
Ácido

Acilcarnitinas

Problema en el catabolismo de los aminoácidos ramificados

+30 Entidades

Prevalencia Global 1 : 30.000/50.000



Cada aciduria orgánica un perfil específico

Acilcarnitinas vs Ácidos orgánicos

Carnitina libre	C0
Acetilcarnitina	C2
Propionilcarnitina	**C3**
Malonilcarnitina\ 3-hidroxibutirilcarni	
Butirilcarnitina \isobu	**C4**
Metilmalonilcarnitina\ 3-hidroxiisovalerilcarnitina\ 3-metilcrotonilcarnitina	C4DC\C5OH
Isovalerilcarnitina\ 2-metilbutirilcarnitina\ Pivaloilcarnitina	C5
Octanoilcarnitina	C8

-Acidemia propiónica
-Acidemia metilmalónicas
-Acidemias metilmalónicas con homocistinuria
-Ac. Malónica combinada con metilmalónico
-Def. biotinidasa

- Aciduria m… metilmalónico
…adena corta
…a (SCOT).
…monocarboxilato MCT1.
-Aciduria 3-hidroxi-isobutírica

-Def. de acil-CoA deshidrogenasa de cadena corta (SCAD).
-Def. de isobutiril-CoA deshidrogenasa (IBD).
-Encefalopatía etilmalónica (*ETHE1*).
-Def. etilmalonil-CoA decarboxilasa (ECHDC1).
-Def. múltiple de deshidrogenasas (MAD).

Existen + de 30 Acidurias Orgánicas

¿Cuándo sospechar aciduria orgánica?

Los síntomas de las acidemias orgánicas pueden ser variables según la edad de presentación y la gravedad:

Neonatal Grave

- Rechazo de la alimentación
- Debilidad en la succión
- Vómitos
- Pérdida de peso
- Irritabilidad
- Letargia
- Temblor
- Convulsiones y apneas.

Aguda Intermitente

- Crisis agudas con disminución del nivel de consciencia
- Convulsiones
- Trastornos del movimiento
- Vómitos
- Problemas de hígado tras ingesta elevada de proteínas

Tardía

- Retraso del crecimiento y desarrollo
- Disminución de apetito
- Vómitos
- Alteraciones del movimiento
- Trastornos de la visión

¿Qué analítica solicitar?

Ácidos orgánicos

Gasometría
Amonio
Glucosa
Cuerpos cetónicos
....

Estudios bioquímicos para Aminoacidopatías (AA)

Aminoacidopatías

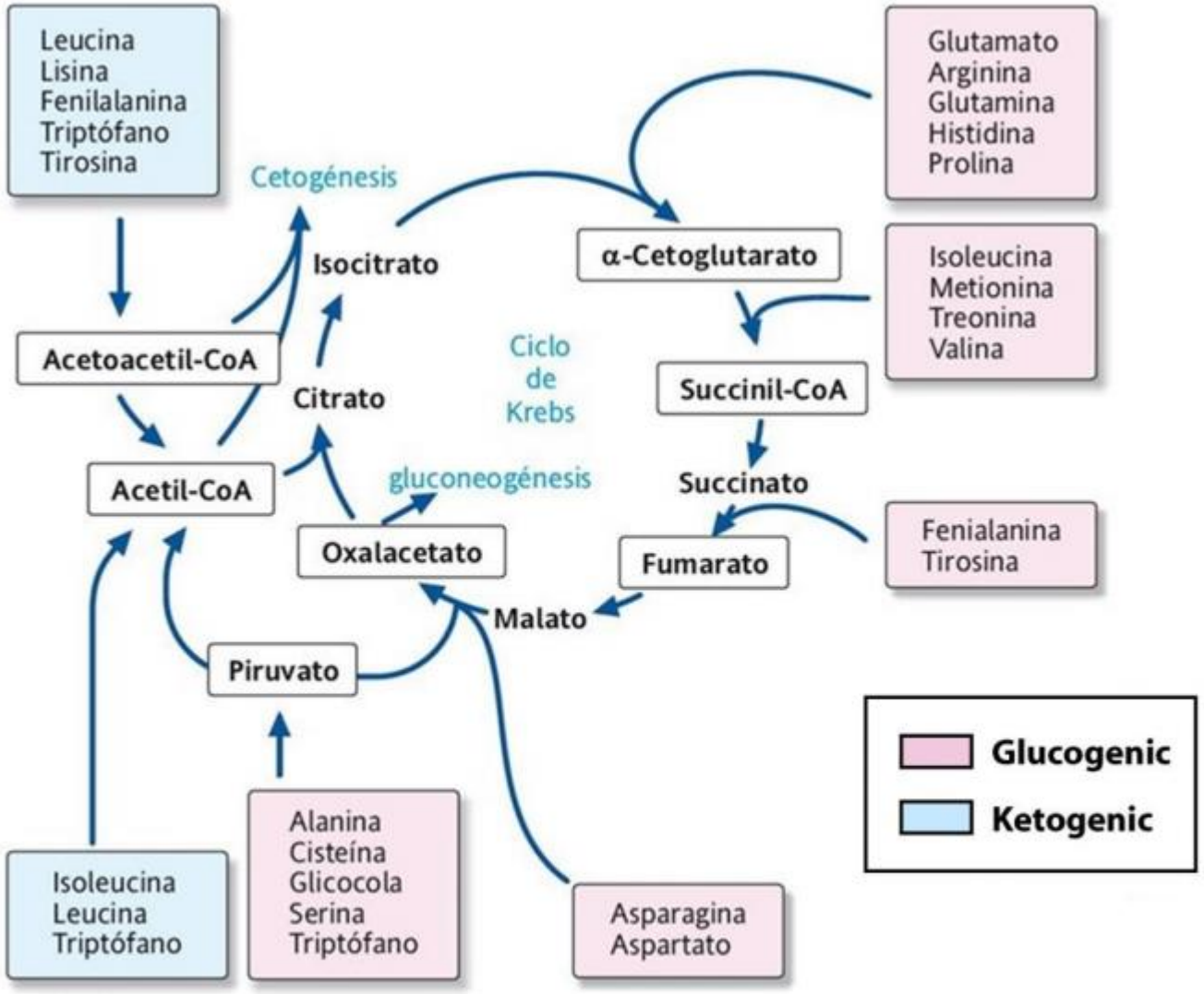


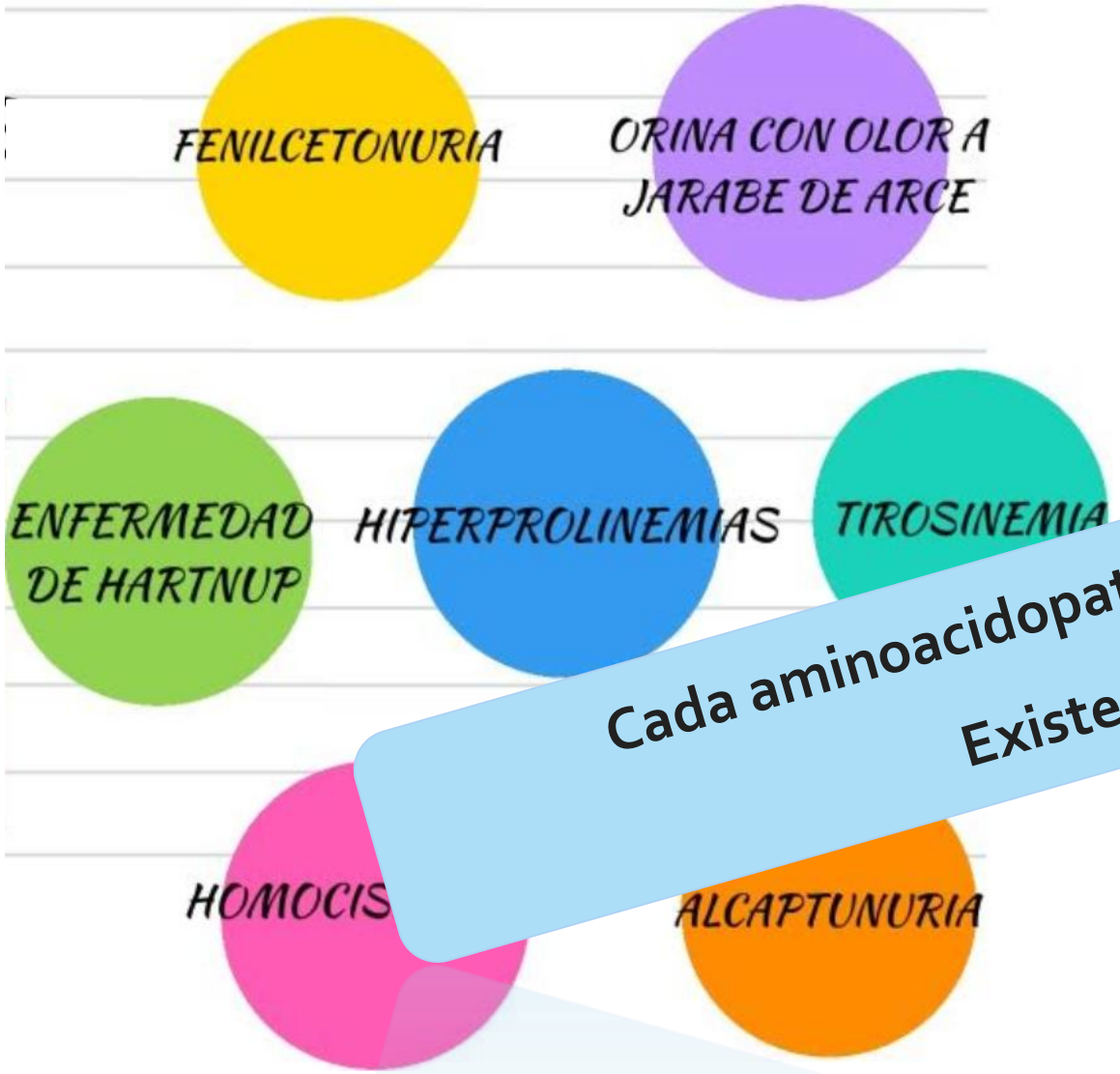
Fig. 3. Metabolismo de los aminoácidos [2].

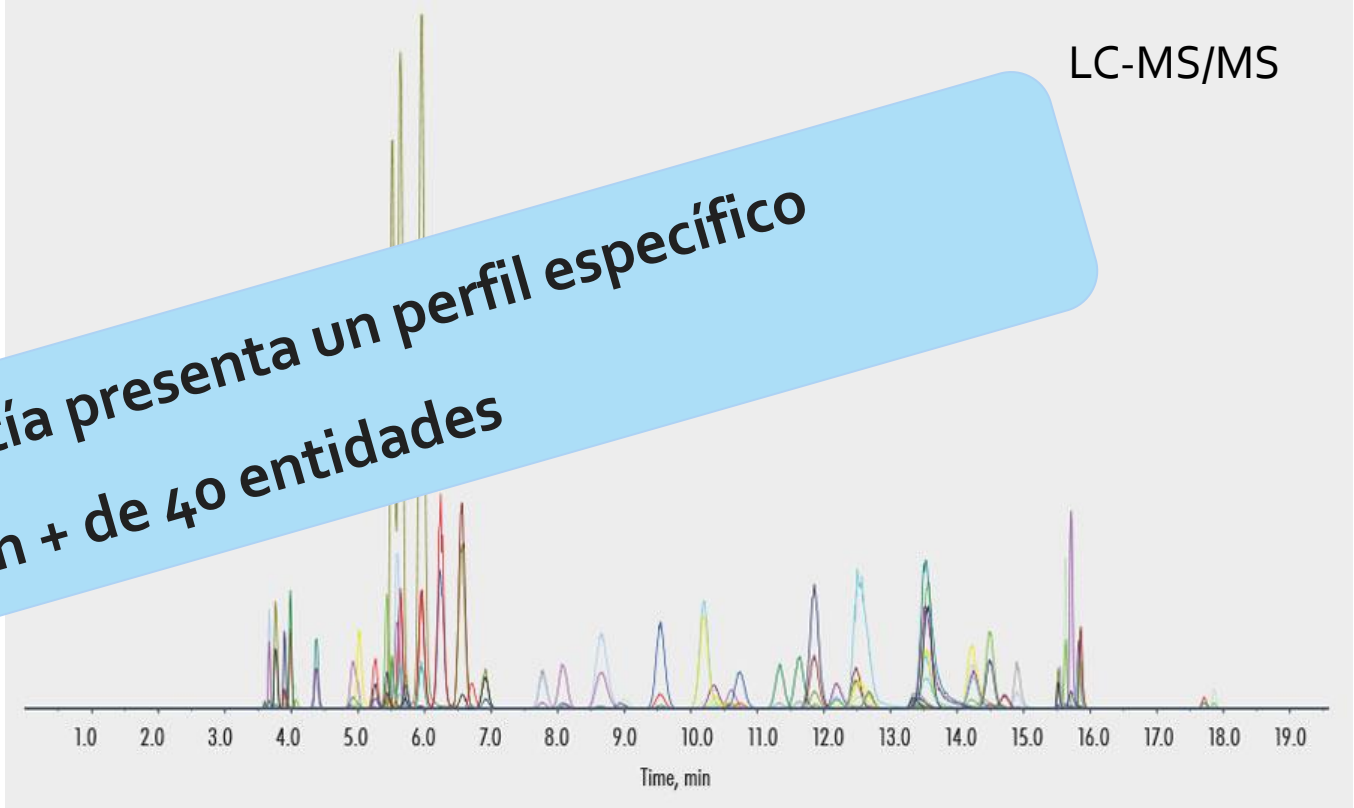
Defecto en el metabolismo o transporte de los aminoácidos.

+40 Entidades

Prevalencia global 1 : 2.500/5.000

Determinación de Aminoácidos





Cada aminoacidopatía presenta un perfil específico

Existen + de 40 entidades

¿Cuándo sospechar aminoacidopatía?

Los síntomas de las aminoacidopatías pueden ser variables según la edad de presentación y la gravedad:

Sintomatología general

- Alcalosis Respiratoria
- Hiperamonemia
- Cetosis
- Hipoglucemia
- Clínica de intoxicación aguda
- Alteraciones renales
- Encefalopatías epilépticas
- Infarto cardiovascular precoz
- Trastorno del neurodesarrollo

¿Qué analítica solicitar?

Aminoácidos

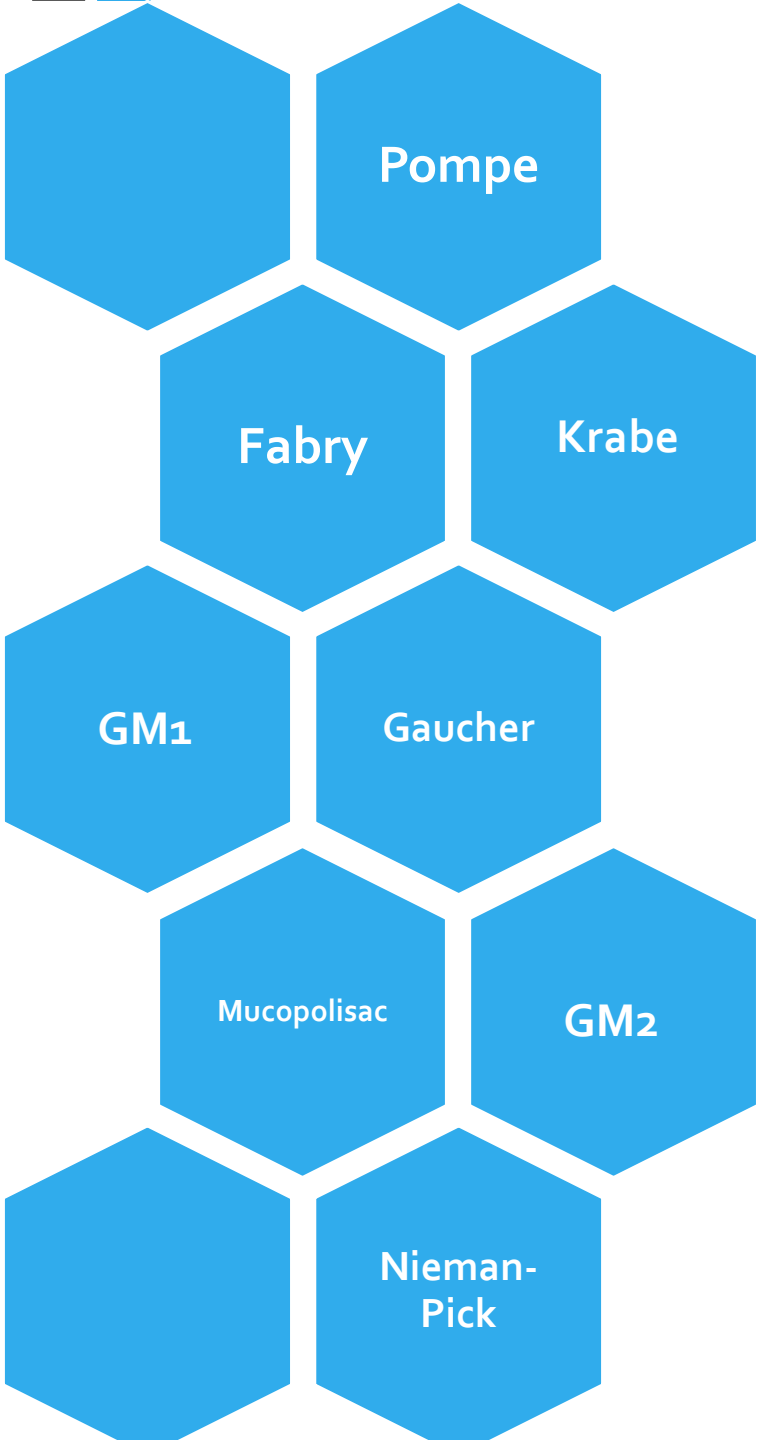
Ácidos orgánicos

Amonio

....

Según sospecha diagnóstica

Estudios bioquímicos para Enfermedades lisosomales



Enfermedades Lisosomales

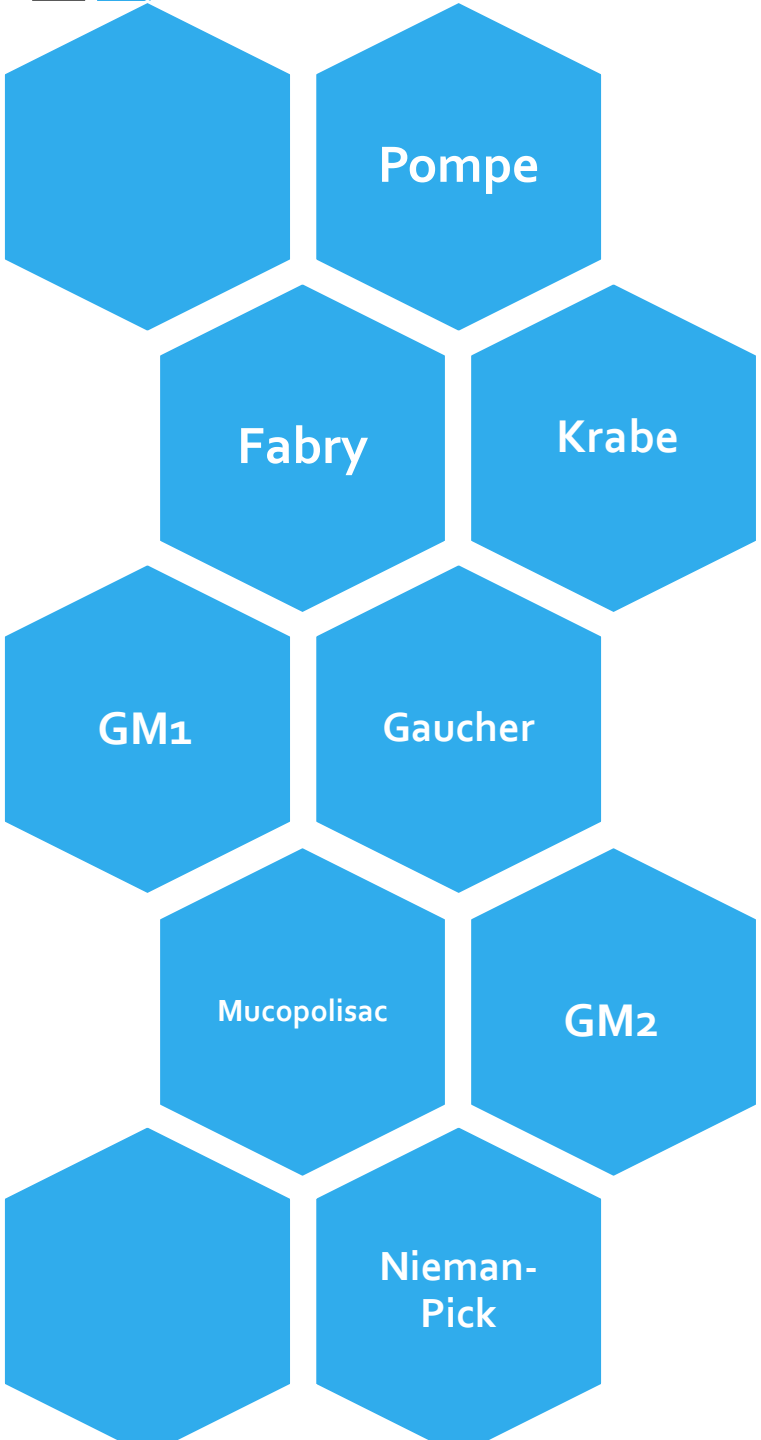
Enfermedad por depósito lisosomal por actividad deficiente de enzimas lisosomales o alteraciones de proteínas implicadas en la biogénesis - Acumulación de sustrato.

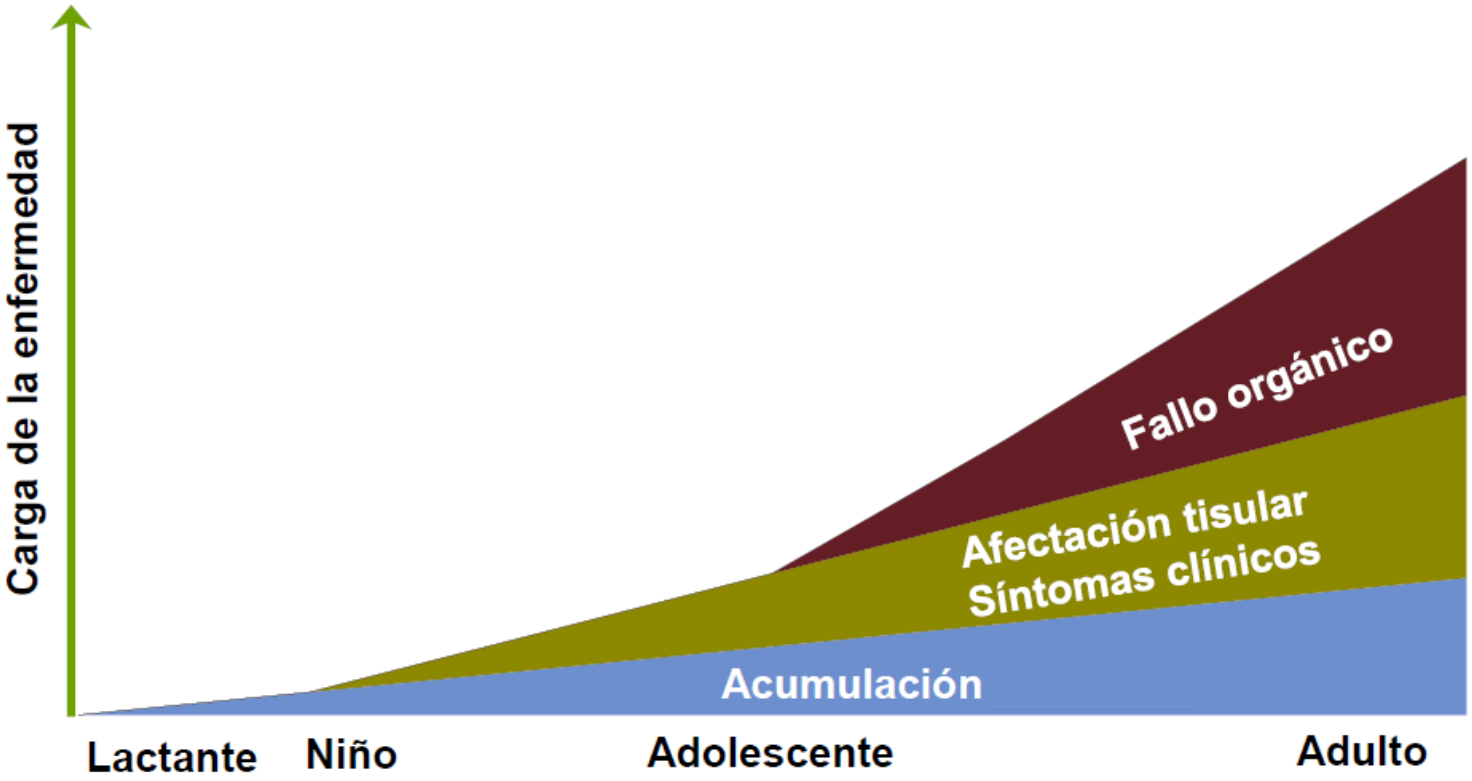
+70 Entidades

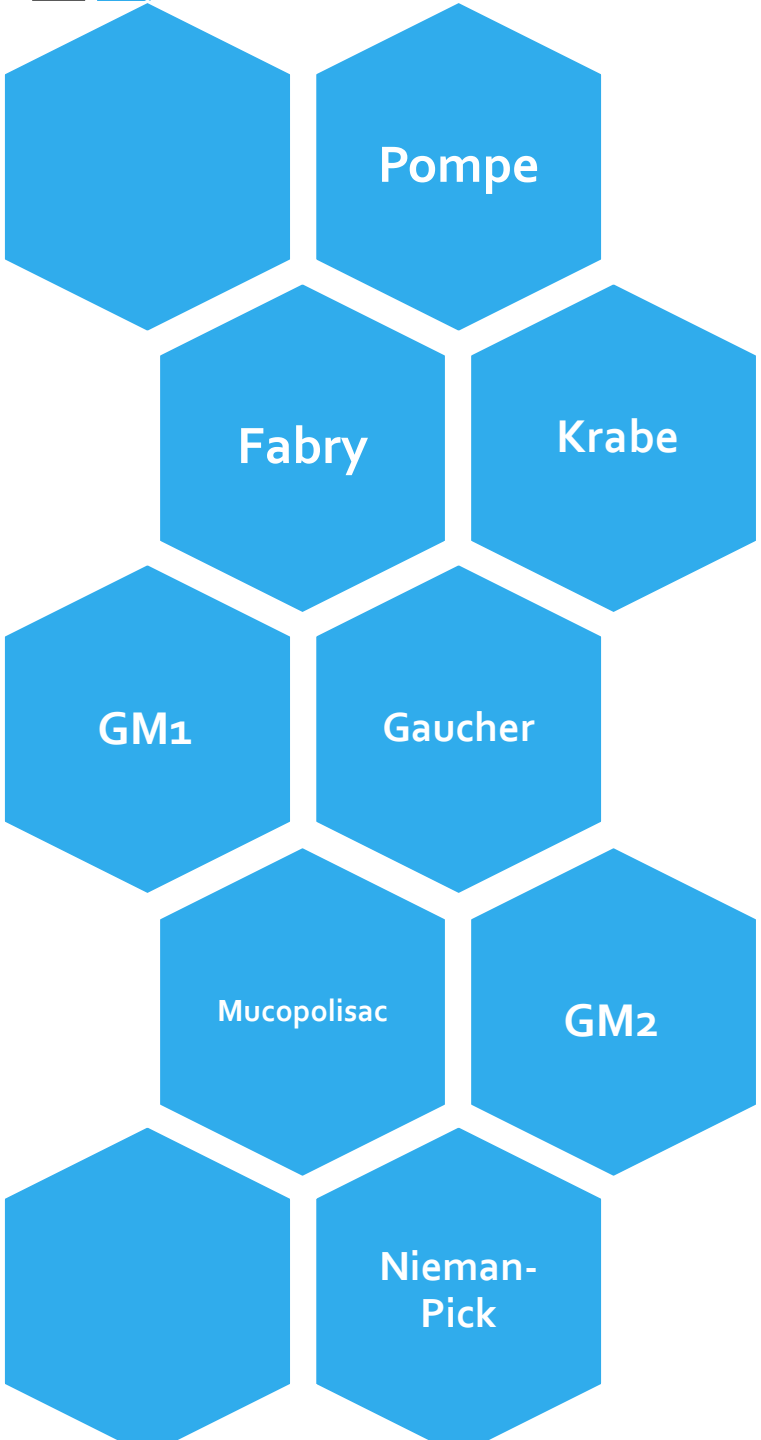
Prevalencia Global 1 : 7.000

Tratamiento enzimático sustitutivo (TES) - Gaucher, Fabry, MPS I, MPSII, MPSVI, Pompe.

Retraso diagnóstico 2 - 15 años


Pompe
Fabry
Krabe
GM1
Gaucher
Mucopolisac
GM2
Nieman-
Pick


Carga de la enfermedad
Fallo orgánico
Afectación tisular
Síntomas clínicos
Acumulación
Lactante
Niño
Adolescente
Adulto



Actividad Enzimática

Alfa-Galactosidasa
Beta-galactosidasa
Beta-Hexosaminidasa
Arilsulfatasa A
Iduronosulfatasa
....

Metabolitos

Lyso-GB1
Lyso-GB3
GB3
Quitotriosidasa
....

Anticuerpos

IgG
IgE
Neutralizantes
....

Estudio Genético

Condiciones especiales preanalíticas

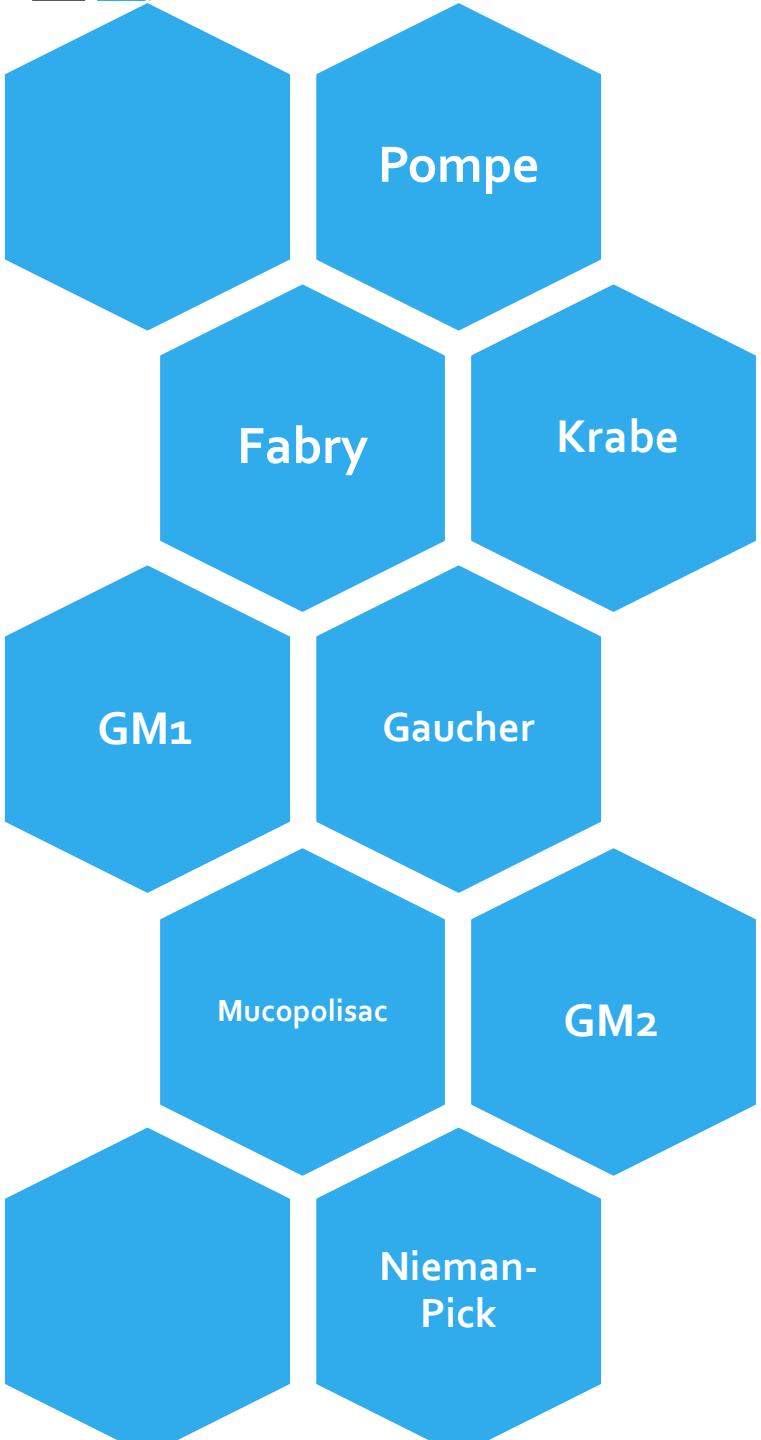


TABLA 4. Síntomas clínicos de las enfermedades más prevalentes.

	MPS	EG	EF	EP	ENP
Fenotipo tosco	x				
Alteraciones esqueléticas	x	x			
Hepatoesplenomegalia	x	x		x	x
Miocardiopatía	x		x	x	
Miopatía				x	
Enfermedad renal			x		
Enfermedad hematológica		x			x
Afectación ocular	x		x		
Deterioro neurológico	x	x			x
Hydrops fetalis	x	x			x

MPS: mucopolisacaridosis; EG: enfermedad de Gaucher; EF: enfermedad de Fabry; EP: enfermedad de Pompe; ENP: enfermedad de Niemann-Pick.

Cribado Neonatal

Cribado Neonatal

Aminoacidopatías

B-Oxidación

Acidurias Orgánicas

Otras enfermedades

Pendiente incorporar

1. Fenilcetonuria
2. Hiperfenilalaninemias/Defectos cofactor de tetrahidrobiopterina (HFA).
3. Tirosinemia tipo I (TYR-I)
4. Tirosinemia tipo II y III (TYR-II, TIR-III).
5. Citrulinemia tipo I y II (CIT I, CIT II).
6. Aciduria argininosuccínica (ASLD).
7. Argininemia (ARG).
8. Hipermetioninemia (MET).
9. Enfermedad de la orina con olor a jarabe de arce (MSUD)
10. Homocistinuria (HCY)

Cribado Neonatal

Aminoacidopatías

B-Oxidación

Acidurias Orgánicas

Otras enfermedades

Pendiente incorporar

11. Deficiencia de acil-CoA deshidrogenasa de cadena media (MCADD)
12. Deficiencia de 3-hidroxiacil-CoA deshidrogenasa de cadena larga (LCHADD)
13. Deficiencia primaria de carnitina (CUD).
14. Deficiencia de la proteína trifuncional (TFPD).
15. Déficit de carnitin palmitoil transferasa tipo I (CPT I).
16. Déficit de carnitin palmitoil transferasa tipo II (CPT II).
17. Deficiencia de carnitina/acilcarnitina traslocasa (CACTD).
18. Déficit de acil-CoA deshidrogenasa de cadena muy larga (VLCADD).D
19. Déficit de acil-CoA deshidrogenasa de cadena corta (SCADD).
20. Deficiencia múltiple de acil-CoA deshidrogenasa (MADD)

Cribado Neonatal

Aminoacidopatías

B-Oxidación

Acidurias Orgánicas

Otras enfermedades

Pendiente incorporar

21. Acidemia isovalérica (IVA).
22. Acidemia propiónica (PA).
23. Acidemia metilmalónica (MMA).
24. Déficit de Ketotiolasa (KTD).
25. Aciduria 3-hidroxi 3-metilglutárica (HMG-CoALD).
26. Deficiencia de 3-metilcrotonil-CoA carboxilasa (3-MCCD).
27. Aciduria 3-metilglutacónica (3MGA).
28. Deficiencia múltiple de carboxilasa (MCD).
29. Aciduria 2-metil-3-hidroxibutírica (2M3HBA).
30. Deficiencia de 2-metilbutirilglicinuria (2MBG).
31. Isobutitilglicuniria (IBG).
32. Aciduria malónica (MAL).

Cribado Neonatal

Aminoacidopatías

B-Oxidación

Acidurias Orgánicas

Otras enfermedades

Pendiente incorporar

33. Hipotiroidismo congénito
34. Fibrosis Quística
35. Anemia Falciforme
36. Déficit de biotinidasa

Cribado Neonatal

Aminoacidopatías

B-Oxidación

Acidurias Orgánicas

Otras enfermedades

Pendiente incorporar

37. Hiperplasia suprarrenal congénita (HSC)
38. Adrenoleucodistrofia ligada al X (ADLX)
39. Inmunodeficiencia combinada grave (SCID)
40. Atrofia muscular espinal (AME)

Determinación de aminoácidos y acilcarnitinas

AA

Alanina	126.24
Arginina	7.87
Citrulina	12.89
Ornitina	79.04
Aspartico	36.32
Glutamico	239.03
Glicina	266.96
Metionina	22.78
Fenilalanina	57.63
Tirosina	55.42
Valina	106.66

AC

C0	22.81
C2	23.51
C3	1.70
C4-DC	0.31
C4	0.27
C3-DC	0.04
C5	0.10
C5-OH	0.13
C5-DC	0.09
C6	0.04
C8	0.03
C8:1	0.03
C10	0.06
C10:1	0.04
C12:1	0.06
C14:1	0.14

AC

C14:2	0.02
C16	2.93
C18	0.67
C18:1	1.40
C16-OH	0.03
C16:1OH	0.02
C18-OH	0.01
C14-OH	0.02

Ratios

Fenilalanina/Tirosina	1.04
Metionina/Fenilalanina	0.40
Citrulina/Arginina	1.64
Arginina/Fenilalanina	0.14
C3/C0	0.07
C3/C16	0.58
C3/C2	0.07
C4/C2	0.01
C4/C3	0.16
C4/C8	8.77
C5/C0	0.01
C5/C2	0.00
C5/C3	0.06
C5-DC/C8	2.94
C5-DC/C16	0.03
C5-OH/C0	0.01
C5-OH/C8	4.32
C8/C10	0.49
C12	0.07

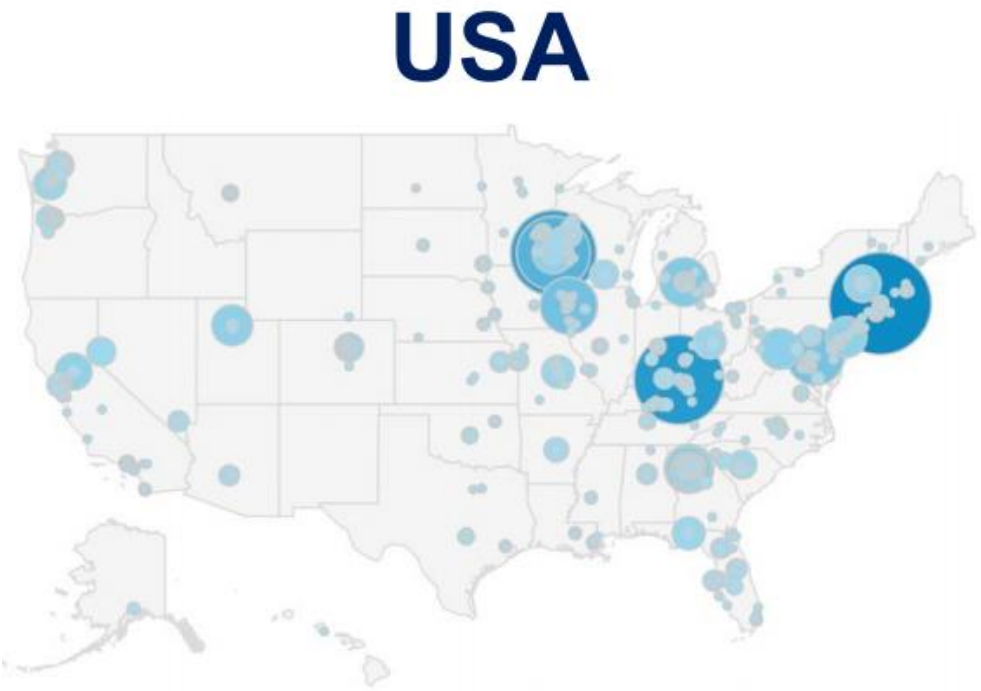
Ratios

C8/C2	0.00
C14:1/C12:1	2.53
C14:1/C16	0.05
C16-OH/C16	0.01
C4-OH	0.26
C0/(C16+C18)	6.33
C16:1	0.31
C5:1	0.01
C3/Metionina	0.07
Citrulina/Fenilalanina	0.22
C14:1/C2	0.01
Metionina/Tirosina	0.41
Metionina/Citrulina	1.77
Valina/Fenilalanina	1.85
C16:1OH/C2	0.00
Glutamina	398.05
Glutamina/Citrulina	30.89
Succinilacetona	0.63
Prolina	200.88
Prolina/Citrulina	15.59
(C0+C2+C3+C16+C18)/Citru...	4.01
(C16+C18:1)/C2	0.18
C14	0.23
C18:2-OH	0.01
C18:1-OH	0.02
C6-OH	0.01
Leucina-Isoleucina	138.01

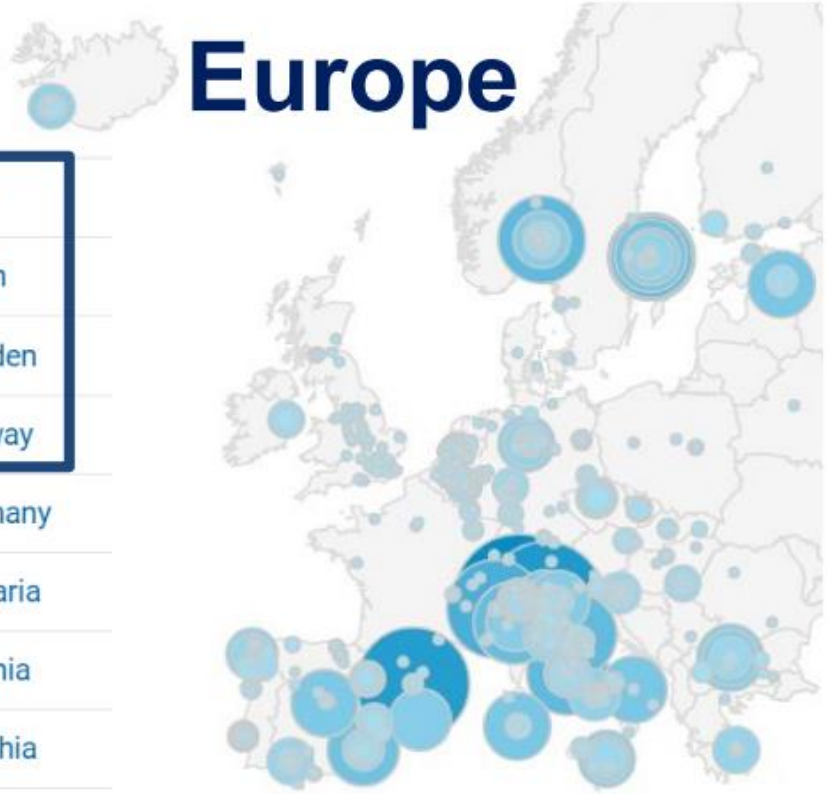
Ratios

Fenilalanina/(C3+C16)	12.44
Leucina-Isoleucina/Fenilalan...	2.40
Leucina-Isoleucina/Alanina	1.09
Leucina-Isoleucina/Tirosina	2.49
Metionina/Leucina-Isoleucina	0.17
Succinilacetona/Tirosina	0.01
Succinilacetona/Metionina	0.03
Succinilacetona/Fenilalanina	0.01
Alanina/Citrulina	9.80
Ornitina/Citrulina	6.13
Arginina/Alanina	0.06
Arginina/Ornitina	0.10
Ornitina/Fenilalanina	1.37
C4-OH/C4	0.94
C4-OH/C8	8.29
C4-OH/C16	0.09
C12/C8	2.19
C12/C10	1.08
C3-DC/C10	0.65
C4-DC/C2	0.01
C4-DC/C5-DC	3.41
C5-DC/C5-OH	0.68
C5-DC/C0	0.00
C5-DC/C3-DC	2.22
C18-OH/C18	0.02
C16-OH/C14	0.14
(Leucina-Isoleucina+Valina)/(...	2.16
C18:2	0.14
Tirosina/Prolina	0.28
Ornitina/Prolina	0.39

CLIR – Clínica Mayo



1. Italy
2. Spain
3. Sweden
4. Norway
5. Germany
6. Bulgaria
7. Estonia
8. Czechia



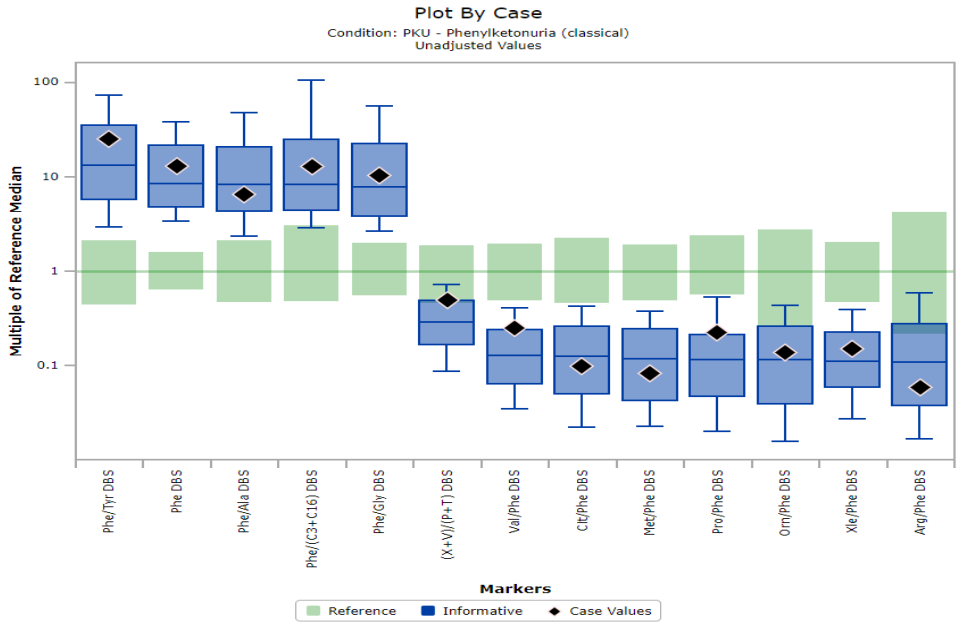
CLIR – Clínica Mayo

Genetics inMedicine | ORIGINAL RESEARCH ARTICLE

Enhanced interpretation of newborn screening results without analyte cutoff values

2012

Perfil bioquímico completo



Case Score		
905 All	802 ESP	N/A ESP-IB
%ile Rank of all PKU Scores		
71 All	53 ESP	N/A ESP-IB
Count of PKU Scores		
814 All	80 ESP	0 ESP-IB

Score Interpretation Guidelines

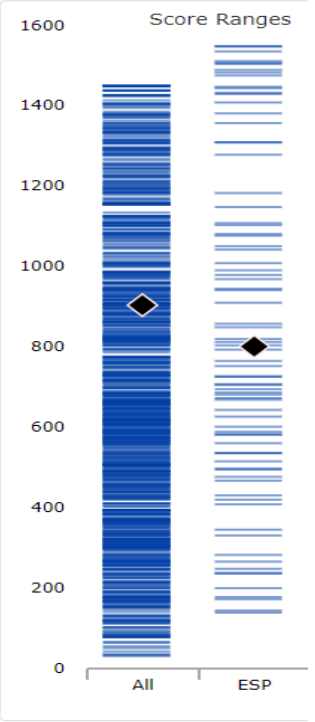
Post-analytical tools are intended to assist in the interpretation of laboratory results, and are not meant to be a substitute for professional judgment. All guidelines, interpretations, figures and calculations must be confirmed by qualified healthcare professionals before clinical use.

Score is >= 980
Condition is very likely PKU

Score is >= 400 and < 980
Condition is likely PKU

Score is >= 10 and < 400
Condition is possibly PKU

Score is < 10
Profile is not informative for PKU



CLIR

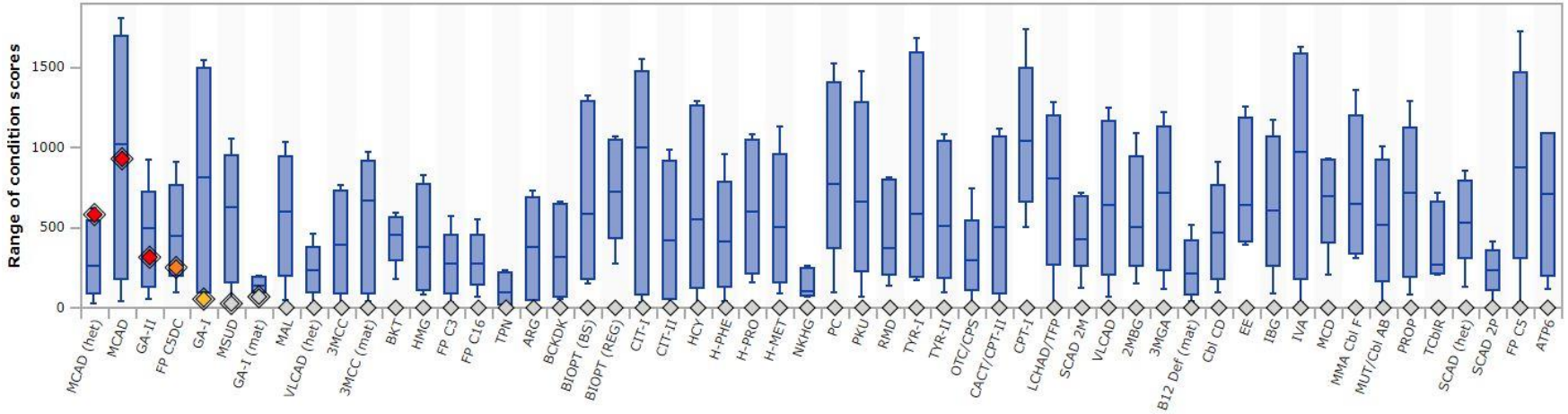
MAYO CLINIC

Datos Crudos LC-MS/MS

Evaluar probabilidades

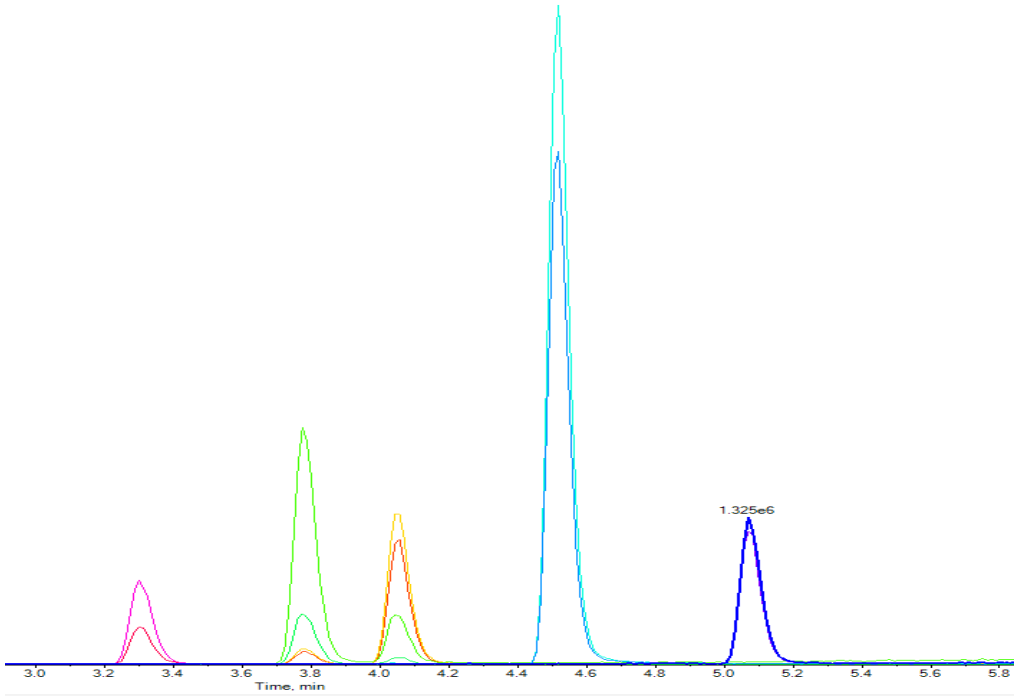
Evaluar scores

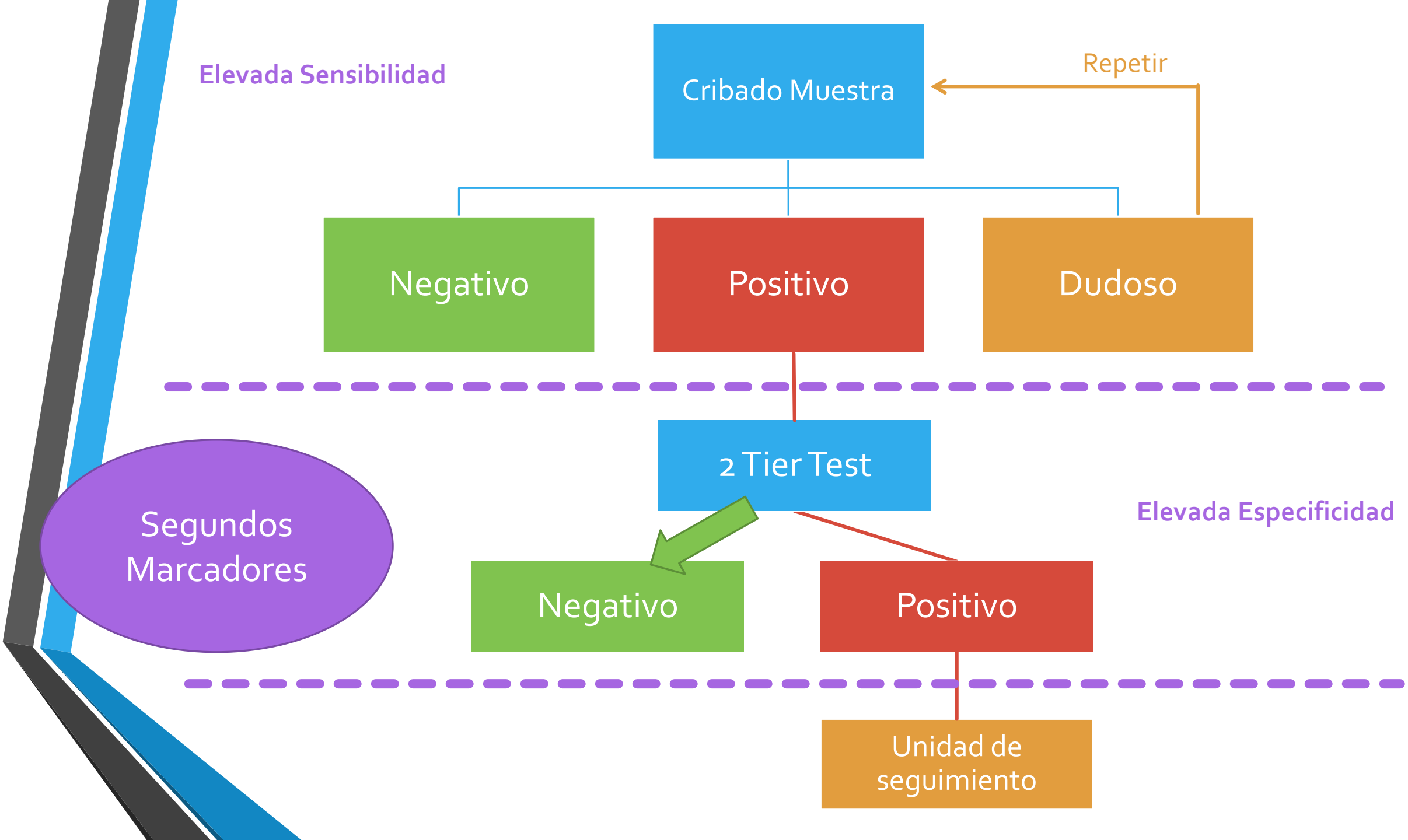
Interpretar perfil



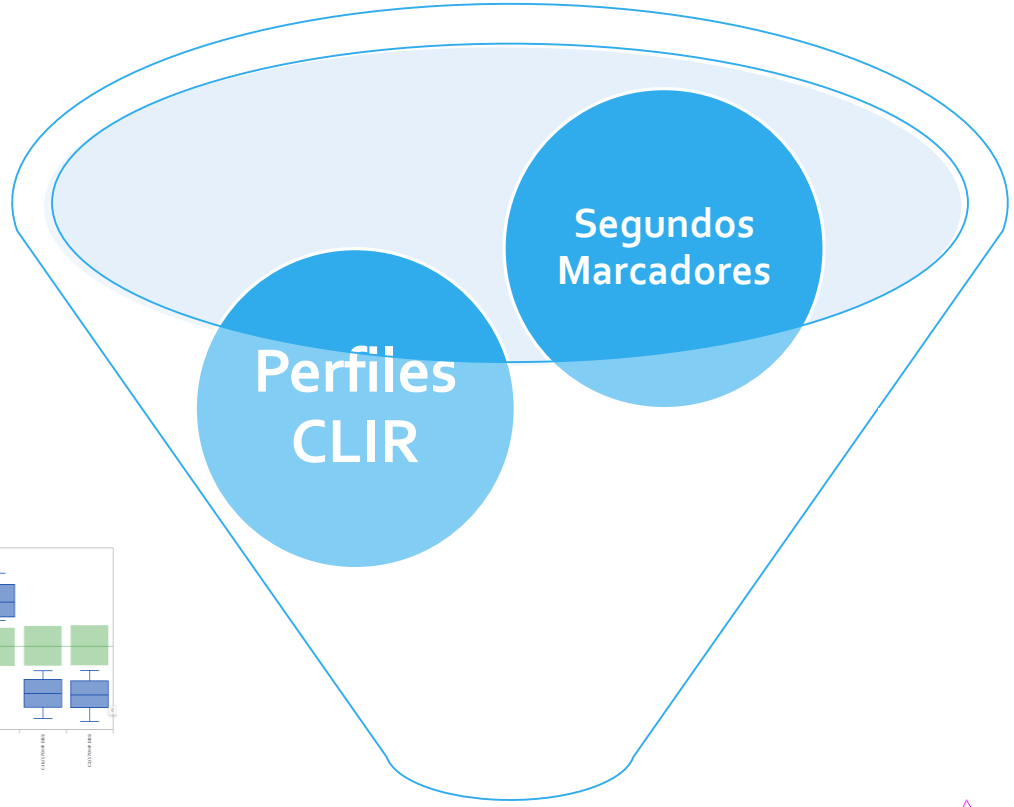
Segundos Marcadores

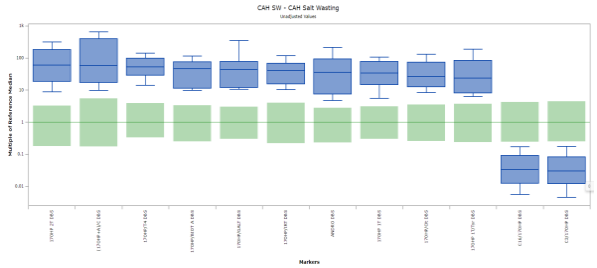
- Pruebas realizadas ante un primer test de cribado positivo.
- Se determina sobre la **MISMA MUESTRA** un metabolito diferente normalmente más especifico.
- Permiten reducir la tasa de FP y rellamadas.
- Técnicas más complejas.
- Mayor tiempo de análisis.

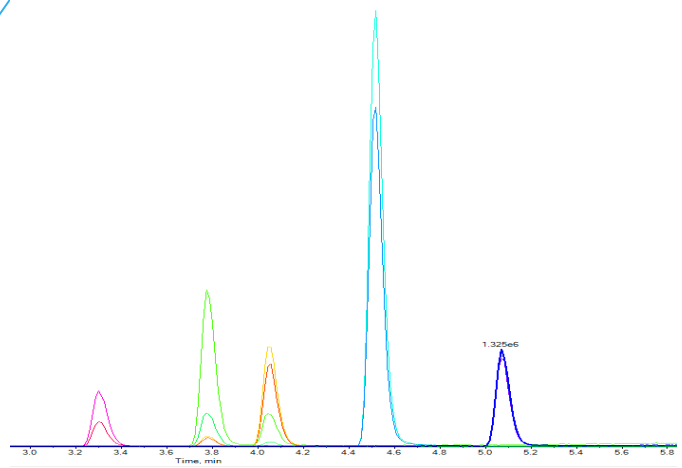



Elevada Sensibilidad
Cribado Muestra
Repetir
Negativo
Positivo
Dudoso
2 Tier Test
Segundos Marcadores
Elevada Especificidad
Negativo
Positivo
Unidad de seguimiento

Nuestra experiencia

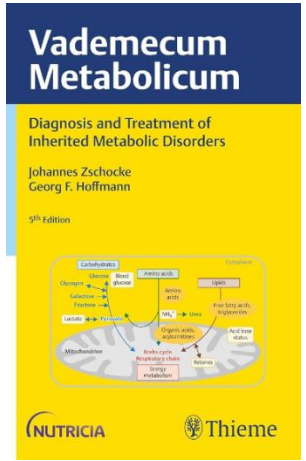






Reducción de falsos positivos

http://www.vademetab.org/



Laboratorio Errores congénitos del metabolismo y Cribado neonatal

Juan.Robles@ssib.es
JM.Bauca@ssib.es
Ana.Rubio@ssib.es

Busca 44488

Agradecimientos

Dra. Ruiz
Dr. Perez
Dra. Magdalena Vila
Dra. Judith García

Gracias !

Agradecimientos
Dra. Ruiz
Dr. Perez
Dra. Magdalena Vila
Dra. Judith García