

CASOS CLÍNICOS

Trastornos de la betaoxidación de los ácidos grasos de cadena media: distintas presentaciones clínicas de un mismo genotipo

A. Rodríguez Martínez, M.A. Bueno Delgado, M. Pérez Pérez, J. González Caro

Sección de Nutrición y Enfermedades Metabólicas. Hospital Infantil Virgen del Rocío. Sevilla

RESUMEN

Los trastornos de la β -oxidación mitocondrial de los ácidos grasos son un grupo de errores innatos del metabolismo heterogéneo desde el punto de vista clínico y bioquímico. Los trastornos de la β -oxidación se encuentran entre los defectos metabólicos conocidos más variables. El signo principal es la hipoglucemia hipocetósica recurrente, inducida por el ayuno o por estrés fisiológico. Los síntomas clínicos pueden variar desde una acidosis de presentación neonatal a una encefalopatía hepática, sintomatología muscular como miocardiopatía o rhabdomiólisis o síntomas neurológicos, como hipotonía, letargia o coma. Los individuos afectados pueden también permanecer asintomáticos durante toda la vida. El diagnóstico precoz antes de la instauración de los síntomas clínicos es importante para prevenir la morbilidad y actualmente se podría llevar a cabo mediante el *screening* neonatal usando la espectrometría de tándem-masas. De cualquier forma, el análisis mutacional de los EIM, como el que se realiza en los defectos de la β -oxidación, parece ser una herramienta superior para el diagnóstico específico de estos trastornos, en comparación con los tradicionales ensayos sobre cuantificación enzimática. Sobre la base de estos datos, estudiamos a cuatro pacientes diagnosticados de defecto de MCAD en el Hospital Infantil Virgen del Rocío, prestando especial atención a la presentación clínica y al análisis de la mutación, para analizar el conocimiento actual sobre las implicaciones estructurales que un tipo de mutación supone, así como el efecto modulador de los sistemas de control de calidad mitocondrial, compuestos fundamentalmente por chaperonas. El esclarecimiento de los determinantes genéticos y celulares que modifican los efectos moduladores de los sistemas de control de calidad podría ayudar a comprender la relación que existe entre estos factores genéticos y ambientales y la expresión clínica de una mutación. La observación de que el efecto de una mutación monogénica, como las mutaciones que causan enfermedad en los genes MCAD, puede ser modificada por otros genes anuncia la necesidad de elaborar nuevos análisis para estudiar posibles variaciones genéticas adicionales.

Palabras clave: errores innatos del metabolismo, β -oxidación de los ácidos grasos, *screening* neonatal, espectrometría tándem-masas, correlación genotipo-fenotipo, acil-CoA deshidrogenasa, deficiencia MCAD, plegado proteico.

SUMMARY

Disorders of medium-chain fatty acid β -oxidation (MCAD): different clinical presentations of single phenotype

Mitochondrial fatty acid β -oxidation disorders are a group of clinically and biochemically heterogeneous inherited metabolic defects. The clinical disorders of β -oxidation are among the most variable of the known metabolic defects. The cardinal sign is recurrent hypoketotic hypoglycaemia induced by fasting or physiologic stress. Clinical symptoms can range from neonatal acidosis to *hepatic encephalopathy*, muscular symptoms, as cardiomyopathy or rhabdomyolysis, or neurological symptoms, as hypotonia, lethargy or coma. Affected individuals can also remain asymptomatic for life. Early diagnosis before the onset of clinical symptoms is important to prevent morbidity, and it would be now achievable through newborn screening using tandem mass spectrometry. However, mutation analysis of metabolic disorders, such as the fatty acid oxidation defects, offers a superior tool for specific diagnosis compared to traditional enzymatic assays. On the basis of these data, we studied four patients diagnosed of MCAD deficiency at Virgen del Rocío Children's Hospital (Seville) focused on the clinical presentation and the mutation analysis, to discuss the current understanding of the structural implications of mutation type, as well as the modulating effect of the mitochondrial protein quality control systems, basically composed by molecular chaperones. The unravelling of the genetic and cellular determinants of the modulating effects of protein quality control systems may help to assess the balance between genetic and environmental factors in the clinical expression of a given mutation. The observation that the effect of a monogene mutation, such as disease-causing mutations in the MCAD genes, may be modified by variations in other genes presages the need for new analyses of additional genetic variations.

Key words: inborn errors of metabolism, fatty acid β -oxidation, newborn screening, tandem mass spectrometry, genotype-phenotype correlation, acyl-CoA dehydrogenase, MCAD deficiency, protein folding.

INTRODUCCIÓN

Los errores innatos del metabolismo (EIM) representan, en su raíz inicial, alteraciones genéticas. Sin embargo, la variedad de todas estas enfermedades proviene, no solo del grado de afectación genética que se presente, sino también del tipo y función de la proteína cuya síntesis queda alterada y de ciertos mecanismos compensadores existentes en el interior de nuestro organismo. De esta forma, según la proteína alterada actúe como enzima del metabolismo general o de un ciclo en particular, como receptor celular, como transportador de membrana o como parte de una organela celular, surgen diferentes grupos de enfermedades, cada uno de ellos con una gran variabilidad, lo cual origina una de las características de los EIM, la diversidad.

En general, las alteraciones que se presentan en un caso de EIM se deben a fenómenos por acúmulo del sustrato por dificultad para la metabolización y/o a fenómenos por defecto del producto que deja de elaborarse por alteración enzimática. Las consecuencias fisiopatológicas derivadas del exceso o acúmulo de una sustancia del metabolismo intermedio que no se metaboliza van a depender sobre todo de su toxicidad y del grado de acúmulo de la formación de sustancias derivadas (apertura de vías metabólicas latentes), potencialmente tóxicas.

En el caso concreto de los errores innatos del metabolismo de la betaoxidación de los ácidos grasos (β -OAG), éstos constituyen un grupo relativamente bien conocido desde su primera publicación en 1973^(1,2). Se han descrito hasta la actualidad más de 25 formas diferentes de β -OAG, incluyendo algún subtipo⁽³⁾. Los β -OAG más frecuentes son el déficit de acil-CoA deshidrogenasa de cadena media (MCAD), el déficit de 3-hidroxiacil-CoA deshidrogenasa de cadena larga, el déficit de acil-CoA deshidrogenasa de cadena muy larga y el déficit de carnitina palmitoil-transferasa II tipo adulto. Estos trastornos tienen base genética y se heredan con carácter autosómico recesivo. Su verdadera incidencia se encuentra subestimada, ya que muchos casos pueden pasar desapercibidos⁽⁴⁾, por lo que se debe poseer una alta sospecha diagnóstica ante determinadas situaciones clínicas (hipoglucemia hipocetósica, hipoglucemia con cetonuria, miopatía esquelética, hipotonía, dolor o debilidad muscular, rabdomiólisis, mioglobulinuria, neuropatía periférica, hepatopatía transitoria o fulminante,

miocardiopatía dilatada o hipertrófica, arritmias cardíacas, muerte súbita, síndrome Reye-like, síndrome de vómitos cíclicos, somnolencia o letargia, coma, fallo de medro, anorexia). Aunque en un principio se consideraban de mal pronóstico muchos β -OAG, en la mayoría de los casos el pronóstico es favorable una vez se ha establecido un diagnóstico precoz y se comienza el tratamiento⁽⁵⁾.

El interés de los casos comunicados sirve para subrayar la extrema variabilidad clínica existente en un mismo defecto de la β -OAG, partiendo de la misma alteración genética, así como para plantear la necesidad de un *screening* metabólico neonatal más amplio y señalar las actuales líneas de trabajo en el estudio profundo de algunos EIM.

RECUERDO BIOQUÍMICO

La β -OAG ocurre en la mitocondria y en los peroxisomas, pero fundamentalmente en la mitocondria. La β -OAG supone una importante fuente de energía, sobre todo en situaciones de ayuno (los ácidos grasos representan el combustible primario para el 80% de las necesidades energéticas corporales en niños después de 24 horas de ayuno) y estrés metabólico (ejercicio físico prolongado, procesos febriles, procesos infecciosos), circunstancias en las que se precisa sustituir el efecto energético de la glucosa una vez que los depósitos de glucógeno han sido deplecionados⁽⁶⁾. Este proceso es de suma importancia en los primeros días de vida, cuando se produce el periodo de transición del feto al recién nacido (se pasa de emplear la glucosa como fuente principal de energía a utilizar las grasas).

El corazón, el músculo esquelético, el hígado y el sistema nervioso son particularmente dependientes de esta vía. El combustible preferido del tejido cardíaco son los ácidos grasos, y también lo es para el músculo esquelético en periodos de ejercicio físico prolongado. En el hígado, la OAG provee energía para la gluconeogénesis y ureagénesis. Además, los cuerpos cetónicos allí formados son conducidos a otros tejidos como combustible auxiliar (sistema nervioso central).

Más de 25 enzimas y transportadores están implicadas en esta vía. El producto final de la OAG es el acetil-CoA, que puede ser utilizado para la síntesis de cuerpos cetónicos, para la esteroidogénesis o para formar CO_2 y H_2O a través del ciclo de Krebs.

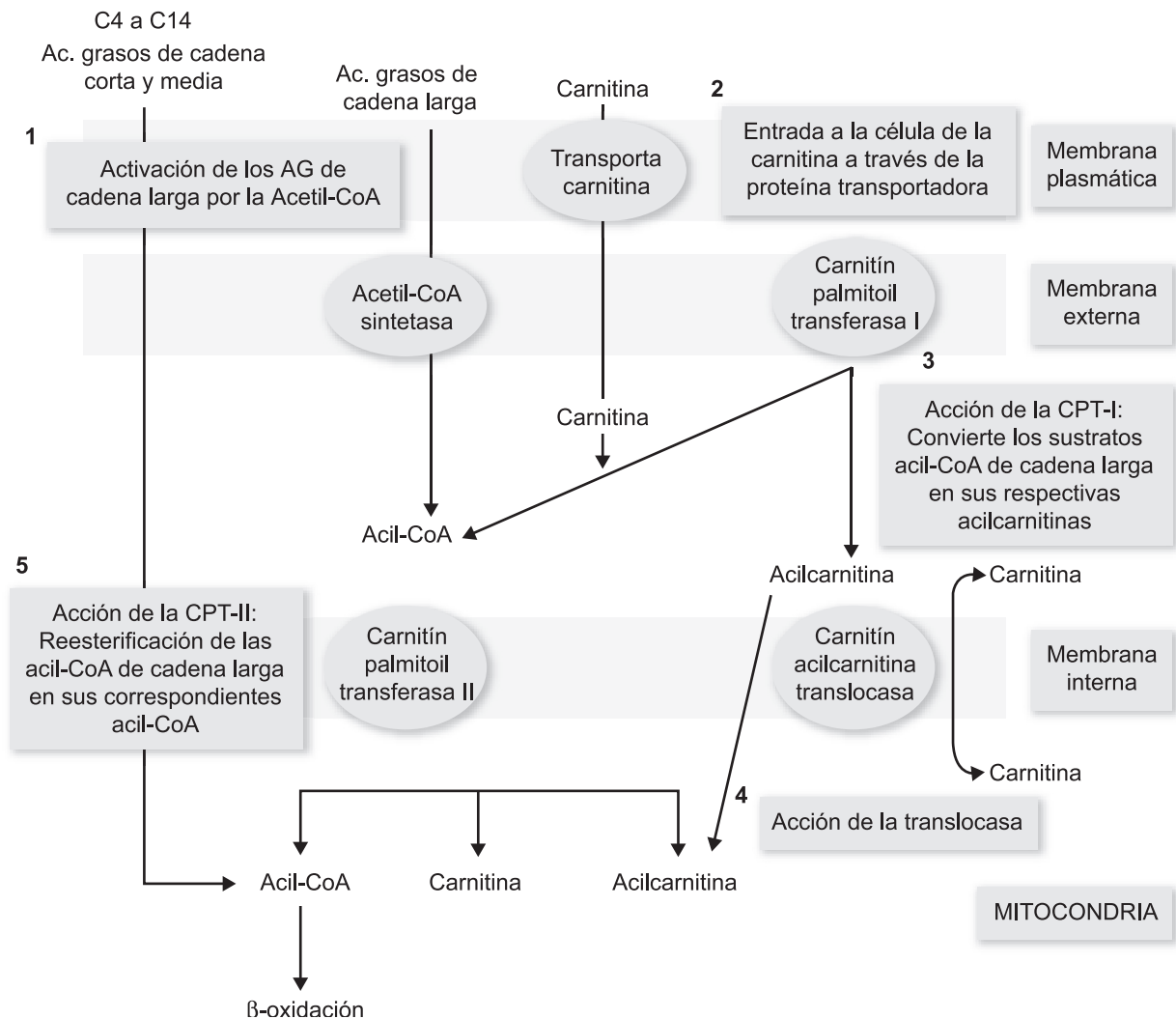


Figura 1. Ciclo de la carnitina. Modificado de www.eimaep.org (Sociedad Española de Errores Innatos del Metabolismo).

La OAG requiere varias etapas⁽⁷⁾: 1) captación y activación de los ácidos grasos por las células; 2) ciclo de la carnitina, para pasar los ácidos grasos a la matriz mitocondrial; 3) espiral de la betaoxidación; 4) vía de la transferencia de electrones; 5) enzimas para la oxidación de los ácidos grasos insaturados, y 6) síntesis de los cuerpos cetónicos.

Para pasar a la matriz mitocondrial tras la captación y activación celular, los ácidos grasos de cadena media y corta (C4 a C14) lo hacen directamente, no precisando el transporte de la carnitina. En el caso de los ácidos grasos de cadena larga (C14 a C20), éstos deben primero ser activados por la acil-CoA

sintetasa, que se encuentra en la fase interna de la membrana mitocondrial externa. Posteriormente, precisan del ciclo de la carnitina (**Figura 1**), que incluye las siguientes etapas: 1) entrada de la carnitina a la célula mediante la proteína transportadora de la carnitina; 2) acción de la carnitina-palmitoiltransferasa-I (CPT-I) de la membrana mitocondrial externa, que convierte a los acil-CoA sustratos de cadena larga en sus respectivas acilcarnitinas; 3) las acilcarnitinas son transportadas al interior mitocondrial a través de la acilcarnitina translocasa de la membrana mitocondrial interna, y 4) acción de la carnitina-palmitoiltransferasa-II (CPT-II) de la membrana mi-

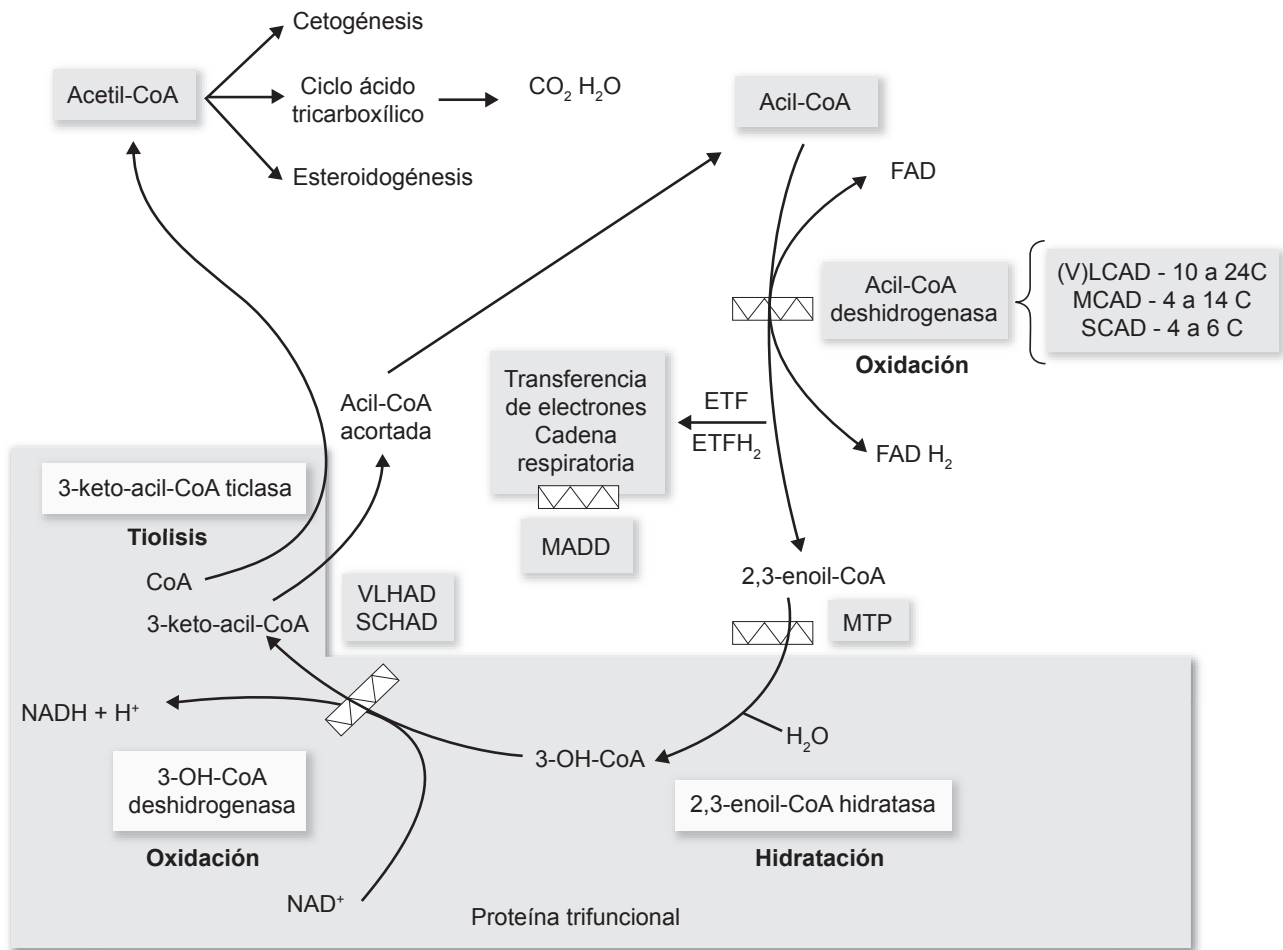


Figura 2. Espiral de la betaoxidación. Modificado de Peña *et al.*⁽⁷⁾.

tocondrial interna, que reesterifica las acilcarnitinas en sus correspondientes acil-CoA.

En el interior de la mitocondria, los ácidos grasos entran en la espiral de la betaoxidación (**Figura 2**). Por cada vuelta en este ciclo se forma una molécula de acetil-CoA, una molécula de FADH_2 y otra de NADH , y un acil-CoA de dos átomos de carbono menos que el acil-CoA inicial que, además, puede entrar en nuevos ciclos de betaoxidación hasta convertirse en su totalidad en acetil-CoA. La betaoxidación consta de cuatro etapas: 1) oxidación mediada por la acil-CoA deshidrogenasa, donde la coenzima es la FAD; 2) hidratación mediada por la enoil-CoA hidratasa; 3) oxidación mediada por la 3-hidroxiacil-CoA deshidrogenasa, donde la coenzima es la NAD, y 4) tiolisis mediada por la 3-cetoacil-CoA tiasa. En

este ciclo, la etapa más específica es la primera, donde existen cuatro deshidrogenasas específicas de diferente longitud de cadena de acil-CoA. La enoil-CoA hidratasa, la 3-hidroxiacil-CoA deshidrogenasa y la 3-cetoacil-CoA tiasa se encuentran englobadas en la proteína trifuncional, localizada en la membrana mitocondrial interna y con una especificidad mucho más amplia con respecto a la longitud del grupo acilo. Durante la primera etapa de la betaoxidación hay un flujo continuo de electrones desde los ácidos grasos a la cadena respiratoria mitocondrial. Este flujo viene determinado por una proteína transferidora de electrones (ETF) y una proteína deshidrogenasa transferidora de electrones (ETF-H₂). Para la oxidación de los ácidos grasos insaturados se requiere una isomerasa (que cambiaría la posición del doble enla-

ce a una posición par) y una reductasa (que reduce el metabolito intermediario que se forma tras la acción de la acil-CoA deshidrogenasa sobre el ácido graso con el doble enlace en posición par y permite la acción nuevamente de la isomerasa de forma similar a la anterior). En caso de que los ácidos grasos tuvieran un grupo acilo de cadena impar, en vez de liberar en la etapa final de la tiolisis dos acetil-CoA, se liberaría un acetil-CoA y un propionil-CoA (que se transformaría en succinil-CoA y serviría como sustrato para el ciclo de Krebs).

OBSERVACIONES CLÍNICAS

Se revisan cuatro pacientes pediátricos con MCAD diagnosticados y tratados en la Sección de Nutrición y Enfermedades Metabólicas del Hospital Infantil Universitario Virgen del Rocío (en Sevilla), prestando especial atención a su debut clínico y a su estudio genético.

Caso 1

Lactante mujer de 13 meses que en el contexto de un cuadro de gastroenteritis aguda presenta un episodio de disminución del nivel de conciencia, hipotonía y alteraciones metabólicas asociadas. Producto único de primera gestación de un embarazo controlado no consanguíneo que cursa sin complicaciones. Parto eutócico a término. Peso al nacimiento: 3.050 g. Apgar 9/10. Recibió lactancia materna exclusiva durante un periodo de 6 meses y, posteriormente, diversificación de la dieta sin incidencias. Correctamente vacunada, raza gitana, no ha tenido antecedentes personales de interés hasta la fecha del ingreso. No tiene antecedentes familiares de interés. En la exploración física al ingreso presentaba un estado poscrítico con obnubilación y regular respuesta a estímulos, hipotonía global con reflejos osteotendinosos presentes, bilaterales y vivos, y pupilas isocóricas con respuesta fotomotora perezosa. El resto de la exploración por aparatos y sistemas era normal, incluidos el peso y la talla. Se realizan exploraciones complementarias: hemograma: leucocitosis con neutrofilia (27.600 leucocitos con 79,8% neutrófilos); bioquímica: glucemia indetectable al ingreso que se normaliza tras la administración de suero glucosado y glucagón endovenoso, acidosis metabólica leve (pH 7,31, pCO₂ 35 mmHg, pO₂ 30 mmHg, HCO₃ 17,6 mmol/l, EB: -7,6), Na 127 mEq/l, GOT 78 mg/dl, resto normal; en

controles posteriores las glucemias se encuentran en límites bajos de la normalidad y se produce una elevación progresiva de las transaminasas, alcanzando en los últimos controles valores de hasta 740 mmol/l para la GOT y de 471 mmol/l para la GPT; estudio de coagulación normal; hemocultivo negativo; radiografía de tórax, TAC, EEG y fondo de ojo normales. Se solicitan tóxicos en sangre, orina y contenido gástrico, evidenciando la presencia de mepivacaína (anestésico local) y trimetropín (antibiótico), por lo que se sospecha ingestión medicamentosa (la paciente realizaba tratamiento para la gastroenteritis con cotrimoxazol oral y con unos "polvos" que la familia no puede precisar). Dada la buena evolución clínica y la recuperación completa, se decide el alta domiciliaria y se cita en las consultas externas de nuestro hospital para continuar seguimiento. Días después vuelve a presentar un cuadro clínico similar, motivo por el que se decide ingreso para completar estudio de forma programada. El mismo día del ingreso sufre nuevo episodio de similares características que se sigue de apnea prolongada, bradicardia y posterior parada cardiorrespiratoria que no responde a maniobras de RCP, intubación orotraqueal, infusión de drogas inotrópicas y administración de bicarbonato, siendo éxitus. El estudio de necropsia evidencia una miopatía lipídica que expresa con probabilidad un defecto metabólico global de la betaoxidación orientando hacia un fallo de las acil-CoA deshidrogenasas. Se envían muestras para análisis bioquímico de cuyo resultado no queda constancia en la historia clínica. Posteriormente, coincidiendo con el estudio metabólico en un hermano de la paciente, se rescata tejido miocárdico del banco de tejidos y se constata la mutación A985G/A985G, y ambos padres son portadores de la misma.

Caso 2

Neonato varón de pocos días de vida, sin antecedentes personales de interés, en el que se inicia estudio metabólico por tener como antecedente familiar una hermana afectada de un posible trastorno de la betaoxidación de los ácidos grasos (no correctamente filiado) que fue éxitus (Caso 1). Producto único de segunda gestación de un embarazo controlado no consanguíneo, que cursa sin complicaciones. Parto eutócico a término. Peso al nacer: 3.300 g. Apgar 9/10. Raza gitana. En el momento del estudio se encuentra totalmen-

te asintomático. Se constata en el estudio metabólico: excreción urinaria aumentada de hexanoilglicina, suberilglicina y ácido subérico, niveles aumentados de acilcarnitinas de deficiencia de MCAD de 6 a 8 átomos de carbono y niveles deficientes de carnitina total y libre. El resto de pruebas complementarias realizadas son normales. En conclusión, el perfil patológico de ácidos orgánicos en orina, así como el nivel de acilcarnitinas en plasma es compatible con el diagnóstico de deficiencia de acil-CoA deshidrogenasa de cadena media. Se estudia el defecto genético que provoca la alteración y se constata, al igual que en su hermana, la mutación A985G/A985G, siendo ambos padres portadores de la misma.

Caso 3

Lactante mujer de 6 meses, estudiada en la Consulta de Nutrición de nuestro Hospital por fallo de medro en el contexto de una alta sospecha de enfermedad metabólica no completamente filiada y sospechada por sus antecedentes personales. Producto único de cuarta gestación de un embarazo controlado no consanguíneo, que cursa sin complicaciones. Parto eutócico a término. Peso al nacer: 1.950 g. Apgar 9/10. No presenta antecedentes familiares de interés. Tiene tres hermanos varones presumiblemente sanos. Al nacimiento, se procede a su ingreso en neonatología por bajo peso para la edad gestacional y distrés respiratorio leve del que se recupera en pocas horas. Presenta una evolución clínica favorable hasta el 16.º día de vida, momento en el que muestra un cuadro de afectación del estado general, coloración cianotocorreticulada, frialdad acra, mala perfusión periférica, abdomen distendido y moderado tiraje subcostal. Se realizan pruebas complementarias que muestran los siguientes resultados: hemograma: leucocitosis importante con neutrofilia relativa (40.700 leucocitos con un 68,8% de neutrófilos); bioquímica: glucemia normal, urea 121 mg/dl, creatinina 3,2 mg/dl, Na 126 mEq/l, K 5,9 mEq/l; PCR 16,6; acidosis metabólica severa (pH 6,84, pCO₂ 35,9 mmHg, pO₂ 52 mmHg, HCO₃ 6,1 mmol/l, EB -27); elemental de orina, hemocultivo y urocultivo negativos; radiografía de tórax, ecografía renal y punción lumbar normales. Con la sospecha clínica de sepsis, se instaura tratamiento antibiótico empírico y se corrige la acidosis metabólica. Se produce una evolución inicial favorable, con progresiva normalización de los parámetros que

se encontraban alterados, pero posteriormente vuelve a repetirse este mismo cuadro clínico en dos ocasiones más, a pesar del tratamiento. Ante la sospecha de un EIM de presentación neonatal, se inicia un estudio metabólico que arroja inicialmente datos contradictorios que no clarifican la etiología (hiperlactacidemia, cuerpos cetónicos en sangre normales con glucemias también normales, excreción de ácidos orgánicos no concordante con el cuadro clínico...). A pesar de todo, presenta una evolución clínica muy favorable y se decide el alta domiciliaria sin que se demuestre posteriormente la repetición del cuadro clínico ni datos alterados en los controles analíticos. En el seguimiento posterior en la Sección de Nutrición y Enfermedades Metabólicas, se realiza nuevamente un estudio metabólico que demuestra una excreción aumentada de metabolitos del MCAD, unos niveles sanguíneos aumentados de acilcarnitinas de cadena media de 6 a 8 átomos de carbono y niveles normales de carnitina total y libre y ligeramente aumentados de carnitina esterificada. Se procede posteriormente al estudio de la mutación en la paciente y en los familiares y se confirma la mutación A985G/A985G en ella y en un hermano (Caso 4), siendo ambos padres portadores de la misma en heterocigosis. Los otros dos hermanos no poseen la mutación.

Caso 4

Adolescente varón de 15 años, sin antecedentes personales de interés, en el que se realiza estudio metabólico por poseer un familiar de primer grado afecto de déficit de acil-CoA deshidrogenasas de cadena media (Caso 3). Desde el punto de vista clínico, el paciente nunca ha presentado problemas metabólicos, ni calambres, es deportista habitual (jugador de fútbol) y la exploración física es rigurosamente normal. El estudio metabólico arroja las siguientes alteraciones: excreción aumentada de metabolitos del MCAD, niveles elevados de acilcarnitinas de 6 a 10 átomos de carbono, especialmente de C8, y carnitina total y libre disminuidas. Se procede al estudio de la mutación y se confirma la existencia de A985G/A985G en homocigosis, lo que determina un déficit completo de la enzima funcional acil-CoA deshidrogenasa de cadena media.

DISCUSIÓN

El déficit de acil-CoA deshidrogenasa de ácidos grasos de cadena media es el trastorno más frecuente de

la oxidación de los ácidos grasos⁽⁸⁾. Afecta sobre todo a la raza caucásica, con un número elevado de portadores en el norte de Europa. Más del 90% son homocigotos para una única mutación frecuente de sentido erróneo, una transición de A a G en la posición 985 del ADNc. La incidencia de la enfermedad se estima que pueda estar entre 1:3.000 y 1:17.000. En España, la mayoría de los pacientes descritos son de raza gitana⁽⁹⁾. Los pacientes con MCAD presentan manifestaciones clínicas generalmente entre los 3 y los 24 meses de vida, con episodios de enfermedad aguda que pueden estar desencadenados por periodos de ayuno prolongado. Todos los lactantes afectados presentan un mayor riesgo de enfermedad cuando empiezan a pasar la noche en ayunas o cuando atraviesan periodos de ayuno durante enfermedades intercurrentes. Aunque estos periodos de estrés metabólico pueden acabar en situaciones potencialmente letales, el pronóstico es excelente una vez se establece el diagnóstico, especialmente si se hace mediante un *screening* metabólico neonatal y antes de que el neonato presente síntomas⁽¹⁰⁾. No es infrecuente que existan en periodo neonatal episodios de hipoglucemias "benignas" que pueden pasar desapercibidas. Los signos y síntomas más clásicos incluyen los vómitos y la letargia, que podrían progresar rápidamente hacia el coma o las crisis convulsivas y posteriormente al colapso cardiorrespiratorio. No es infrecuente que exista una hepatomegalia grasa, con pruebas de función hepática anormales (elevación de las transaminasas, urea, amoníaco, alteraciones en la coagulación). Durante los episodios agudos de la enfermedad suele haber hipoglucemia con concentraciones plasmáticas y urinarias de cetonas inadecuadamente bajas (hipoglucemia hipocetósica). Los perfiles de ácidos orgánicos urinarios, determinados mediante cromatografía de gases y espectrometría de masas, presentan concentraciones bajas de cetonas y cifras elevadas de ácidos dicarboxílicos de cadena media que proceden de la omega-oxidación microsómica y peroxisómica de los ácidos grasos. Las concentraciones plasmáticas y tisulares de carnitina total suelen estar disminuidas, y la fracción de carnitina total esterificada suele aumentar. El diagnóstico de MCAD puede establecerse demostrando la existencia de metabolitos anómalos en el plasma (octanoilcarnitina) o en la orina, o de un déficit enzimático en cultivos de fibroblastos. En otras ocasiones, el diagnóstico pue-

de confirmarse si se investigan las posibles mutaciones que pueden ocasionar el MCAD⁽¹¹⁾. En cuanto al tratamiento, éste consiste en suprimir los episodios de ayuno. Esto suele requerir tan sólo un ajuste de la dieta para asegurar que los periodos de ayuno se limiten a menos de 10-12 horas. En cuanto a la limitación de la ingesta de grasas de la alimentación o el tratamiento con carnitina, los datos que existen son contradictorios.

El análisis tanto de la expresión fenotípica (forma de presentación clínica de la MCAD) como de las mutaciones que presentan los diferentes casos clínicos familiares que proponemos no arroja datos favorables para poder correlacionar los diferentes fenotipos expuestos con un mismo genotipo. Hasta hace relativamente poco tiempo, la MCAD se ha considerado como un EIM en el que los factores ambientales (ayuno, temperatura corporal, respuesta al estrés) desempeñaban un papel fundamental en el pronóstico de los pacientes afectos, sin tener en cuenta la mutación que originaba el problema en sí. Hoy sabemos, sin embargo, que existe un gran número de condicionantes patogénicos, todavía no bien descritos, que podrían ayudar a establecer una mejor correlación genotipo-fenotipo en este tipo de trastornos, más allá de los factores ambientales. En este sentido, se describen en diferentes artículos^(12,13,14) nociones sobre el sistema de control de calidad genético como sobre el sistema de control de calidad proteico intracelular, que podría modular el defecto enzimático determinado por diferentes mutaciones y, por lo tanto, podría ser un determinante importante en la expresión fenotípica de los MCAD.

En general, las mutaciones que ocasionan enfermedades genéticas se pueden dividir en al menos dos grupos. El primer grupo incluye las mutaciones denominadas "de sentido erróneo", que sustituirían un aminoácido por otro en la cadena polipeptídica, y aquellas mutaciones derivadas de la inserción o delección de 1 o 2 aminoácidos en la cadena polipeptídica. El segundo grupo incluye las mutaciones denominadas "de truncado", que son aquellas que introducen una señal de *stop* en la cadena polipeptídica, y aquellas derivadas de la delección o inserción de uno o varios aminoácidos que igualmente generarían una alteración que se percibiría como una señal de *stop* en la lectura de la cadena polipeptídica. El motivo de esta división es que los ARNm codifica-

dos que presenten una señal de *stop* antes del último exón (el gen de la acil-CoA deshidrogenasa contiene 12 exones y 1.239 pares de bases)⁽¹⁵⁾ son reconocidos por un sistema de control de calidad genético y rápidamente degradados por un mecanismo NMD (*nonsense mediated decay*), que es un proceso de eliminación de los ARNm portadores de una mutación terminadora⁽¹⁶⁾. De no eliminarse estos ARNm se producirían polipéptidos defectuosos (incompletos) al ser traducidos. De esta forma, los ARNm que contienen una mutación del tipo de las descritas en el segundo grupo no darán lugar, por regla general, a cantidades apreciables de proteína. Además, si se sintetizaran pequeñas cantidades de esta proteína defectuosa, sería probablemente degradada por alguno de los sistemas de control de calidad intracelulares que existen. En el caso de que los ARNm codificados presenten una mutación del tipo descrito en el primer grupo, éstos van a poseer una estabilidad similar a la de la proteína normal, por lo que van a ser transportados y traducidos normalmente, y de la misma forma lo hará la proteína mutante. El futuro de esta proteína mutante dependerá de la naturaleza de la propia mutación y de la eficacia de los sistemas de control de calidad de las proteínas intracelulares. En el caso concreto de la MCAD se han descrito al menos 12 mutaciones del primer tipo y 8 del segundo tipo. Teniendo en consideración estos datos, se podría plantear la posibilidad de dividir a los pacientes con MCAD en subgrupos en función del tipo de mutación existente. Sin embargo, dadas las características específicas de este tipo de trastorno de la β -OAG, en el que más del 90% de los pacientes afectados presentan la misma mutación de sentido erróneo (A985G), la aplicabilidad práctica de esta subdivisión es muy discutible⁽¹⁷⁾.

Por tanto, y según lo expuesto hasta ahora, las diferencias en la forma de presentación, la edad de debut y la severidad de los ataques, además de implicar a la mutación en sí y a los sistemas de control de calidad genéticos, deben implicar a otros factores, tanto metabólicos (solapamiento sobre las diferentes cadenas de ácidos grasos, efecto modulador a través de rutas metabólicas alternativas que detoxifican los metabolitos que se acumulan) como dependientes de un sistema de control de calidad proteico intracelular, basado sobre todo en unas proteínas denominadas chaperonas. Las chaperonas son com-

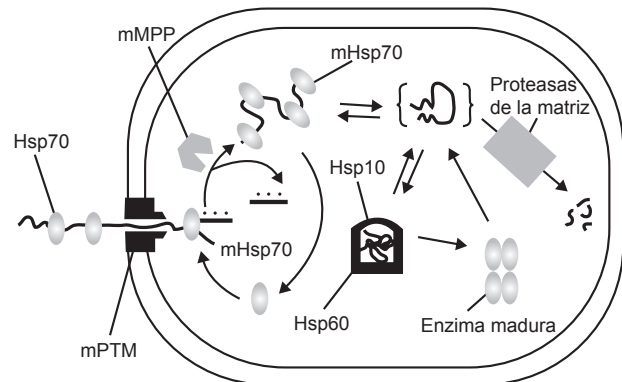


Figura 3. Modelo descriptivo de la actividad de las chaperonas. mPTM: mecanismo de transporte proteico mitocondrial; mMPP: proteasa mitocondrial procesadora de la matriz (tomado de Gregersen *et al.*)⁽¹⁴⁾.

plejos proteicos presentes en todas las células, muchas de las cuales son proteínas de choque térmico, cuya función es la de ayudar al plegamiento de otras proteínas recién formadas. Estas chaperonas no forman parte de la estructura primaria de la proteína funcional, sino que sólo se unen a ella para ayudar en su plegamiento, ensamblaje y transporte celular a otra parte de la célula donde dicha proteína realiza su función (**Figura 3**). Durante la importación de la cadena polipeptídica recién sintetizada, ésta se asocia a la chaperona Hsp70 citosólica para introducirse en el interior de la mitocondria y para evitar plegamientos incorrectos, que serían deletéreos para la célula. Posteriormente, y ya dentro de la matriz mitocondrial, esta cadena polipeptídica forma nuevamente complejos con la chaperona Hsp70 mitocondrial con el mismo objetivo, y se presentará en la forma de una estructura proteica libremente plegada a la chaperona Hsp60, que en cooperación con la Hsp10 asiste al plegamiento de la estructura proteica final. Se cree que el plegamiento a través del sistema Hsp60/10 ocurre mediante ciclos en las que el polipéptido se une a la chaperona y mediante consumo de ATP se produce el lanzamiento de proteínas total o parcialmente plegadas. Las proteínas totalmente plegadas no pueden volver a unir a las chaperonas, pero las proteínas parcialmente plegadas sí lo pueden hacer hasta ser plegadas completamente. En cada ronda, una cierta cantidad de proteína adquiere su estructura definitiva y esto implica

que la fracción que no está completamente plegada al final de cada ciclo representa la fracción susceptible de ser atacada mediante un complejo proteolítico. Lo que supone este modelo es que las mutaciones que disminuyen la fracción de proteína que no está completamente plegada representarán un mayor sustrato para el complejo de ataque proteolítico y se producirá de esta forma un nivel más bajo de proteína nativa. Esto se ha evidenciado ya en algún trabajo científico⁽¹⁸⁾.

En conclusión, todos estos datos muestran que tanto los mecanismos compensadores metabólicos como los sistemas de control de calidad genético e intracelular determinan el grado de actividad enzimática residual, así como la posible expresión clínica del trastorno en cuestión.

CONCLUSIONES

Dado que la identificación de las mutaciones en los trastornos de la β -OAG no ha conseguido aclarar la variabilidad en la expresividad clínica de muchos de ellos (y entre ellos, de forma especial, de los MCAD, por ser los más prevalentes), se concluye que los MCAD son probablemente mucho más frecuentes de lo que se podía esperar teniendo en cuenta las formas asintomáticas y oligosintomáticas que se escapan del periodo neonatal, planteándose algunos autores la posibilidad de superar en cuanto a prevalencia la de la fenilcetonuria⁽⁸⁾. Desde esta perspectiva, sería importante determinar la verdadera prevalencia de este tipo de trastornos para evaluar si es precisa su detección precoz mediante cribaje neonatal como se realiza en otras enfermedades metabólicas. Para ello, sería de suma utilidad la implantación de procedimientos como la espectrometría de masas-tándem⁽¹⁹⁾ (en sus siglas inglesas MS/MS), que se considera el avance más significativo en el campo del cribaje neonatal desde la década de los setenta. De esta forma, la MS/MS permitiría expandir el campo del cribado neonatal de una forma extraordinariamente amplia, incluyendo, además de las hiperfenilalaninemias, la detección de al menos otras 10 aminoacidopatías, incluyendo dos que no pueden incorporarse al cribado habitual, ya que requieren técnicas propias, como la enfermedad por orina de jarabe de arce y la homocistinuria, y la detección de trastornos de la degradación de ácidos orgánicos y de la oxidación de ácidos grasos⁽²⁰⁾. Estos 20-25 trastornos, que incluso

pueden llegar a 40 con técnicas novedosas (*batch type process*) y el uso de algoritmos informatizados, se analizan en un solo espécimen de sangre, evitando así la necesidad de especímenes adicionales. Por tanto, pasamos del concepto de que un test único determina un trastorno único al de que un test único es capaz de diagnosticar numerosos trastornos. Numerosos y recientes estudios han confirmado la utilidad de esta técnica^(21,22).

En conclusión, el enfoque patogénico, genético y molecular de estos trastornos que hemos apuntado en el presente trabajo abre la puerta a un probable nuevo enfoque diagnóstico y pronóstico dentro del marco de los EIM: será necesario tener presente el trastorno metabólico en cuestión, pero también la capacidad de cada individuo para compensar dicho defecto, tanto desde el punto de vista metabólico como desde el punto de vista genético o celular. Será necesario, por tanto, plantear el desarrollo de nuevas técnicas que puedan valorar cualitativa y cuantitativamente estos nuevos sistemas de "control de calidad".

BIBLIOGRAFÍA

1. Engel AG, Angelini C. Carnitine deficiency of human skeletal muscle with associated lipid storage myopathy: a new syndrome. *Science* 1973; 173: 899-902.
2. DiMauro S, DiMauro PMM. Muscle carnitine palmitoyl transferase deficiency and myoglobinuria. *Science* 1973; 182: 929-31.
3. Rinaldo P, Raymond K, Al-Odaib A, Bennett MJ. Clinical and biochemical features of fatty acid oxidation disorders. *Curr Opin Pediatr* 1998; 10: 615-21.
4. Fernández J, Sadubray JM, Van den Berghe G (eds.). Disorders of fatty acid oxidation. *Inborn metabolic diseases*. Berlín: Springer-Verlag; 2000. p. 141-50.
5. Wilson CJ, Champion MP, Collins JE, Clayton PT, Leonard JV. Outcome of medium chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency after diagnosis. *Arch Dis Child* 1999; 80: 459-62.
6. Eaton S, Bartlett K, Pourfarzam M. Mammalian mitochondrial β -oxidation. *Biochem J* 1996; 320: 345-57.
7. Peña Quintana L, Sanjurjo Crespo P. Aproximación diagnóstica y tratamiento de los errores innatos de la oxidación mitocondrial de los ácidos grasos. *An Esp Pediatr* 2001; 55 (6): 524-34.
8. Matern D, Rinaldo P. Medium chain acyl-coenzyme A (MCAD) deficiency. In: Gene Clinics: Medical Genetics

- Knowledge Base [database online]. Univ. Washington, Seattle; 2000. <http://www.geneclinics.org/profiles/mcad>.
9. Martínez G, Ribes A, Briones P, Rodes M, Núñez-Roldán A. Medium-chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency in Spain. *J Inher Metab Dis* 1998; 21: 693-4.
 10. Chace DH, Hillman SL, Van Hove JL, Naylor EW. Rapid diagnosis of MCAD deficiency: quantitatively analysis of octanoylcarnitine and other acylcarnitines in newborn blood spots by tandem mass spectrometry. *Clin Chem* 1997; 43: 2106-13.
 11. Rinaldo P, Matern D, Bennett MJ. Fatty acid oxidation disorders. *Annu Rev Physiol* 2002; 64: 477-502.
 12. Langer T, Neuper W. Regulated protein degradation in mitochondria. *Experientia* 1996; 52: 1069-76.
 13. Gottesman S, Wickner S, Maurizi MR. Protein quality control: triage by chaperones and proteases. *Genes Dev* 1997; 11: 815-23.
 14. Gregersen N, Andresen BS, Corydon MJ, Corydon TJ, Olsen RKJ, Bolund L, Bross P. Mutation analysis in mitochondrial fatty acid oxidation defects: Exemplified by acyl-CoA dehydrogenase deficiencies, with special focus on genotype-phenotype relationship. *Hum Mutat* 2001; 18: 169-89.
 15. Zhang ZF, Kelly DP, Kim JJ, Zhou YQ, Ogden ML, Whelan AJ, Strauss AW. Structural organization of the human medium-chain acyl-CoA dehydrogenase gene. *Biochem* 1992; 31: 81-9.
 16. Frischmeyer PA, Dietz HC. Nonsense-mediated mRNA decay in health and disease. *Hum Mol Genet* 1999; 8: 1893-900.
 17. Gregersen N, Andresen BS, Bross P. Prevalent mutations in fatty acid oxidation disorders: diagnostic considerations. *Eur J Pediatr* 2000; 159 (Suppl 3): S213-8.
 18. Saijo T, Welch WJ, Tanaka K. Intramitochondrial folding and assembly of medium-chain acyl-CoA dehydrogenase (MCAD) –demonstration of impaired transfer of K304E-variant MCAD from its complex with Hsp60 to the native tetramer. *J Biol Chem* 1994; 269: 4401-08.
 19. Vento-Torres M. La espectrometría de masas tándem (MS/MS): un avance en el cribado de metabolopatías en el periodo neonatal. *An Esp Pediatr* 2002; 56: 585-6.
 20. Andresen B, Dobrowolski S, O'Reilly L. Medium-chain acyl-CoA dehydrogenase (MCAD) mutations identified by MS/MS-based prospective screening of newborns differ from those observed in patients with clinical symptoms: identification and characterization of a new, prevalent mutation that results in mild MCAD deficiency. *Am J Hum Genet* 2001; 68: 1408-18.
 21. Frazier DM, Millington DS, McCandless SE, Koeberl DD, Weavil SD, Chaing SH, Muenzer J. The tandem mass spectrometry newborn screening experience in North Carolina: 1997-2005. *J Inher Metab Dis* 2006; 29: 76-85.
 22. Ghoshal AK, Guo T, Soukhova N, Soldin SJ. Rapid measurement of plasma acylcarnitines by liquid chromatography-tandem mass spectrometry without derivatization. *Clin Chim Acta* 2005; 358 (1-2): 104-12.