

Errores innatos del metabolismo. Aspectos preventivos

MD Lluch Fernández

Prof. Asociado de la Facultad de Medicina. Hospital Universitario Virgen Macarena. Sevilla.

La prevención de deficiencia mental y otras discapacidades es un objetivo sanitario importante en países desarrollados como el nuestro, donde la medicina ya cubre objetivos sanitarios, como pueden ser el control nutricional de la población, el control de enfermedades parasitarias o la atención al recién nacido y al niño, para bajar las tasas de mortalidad infantil. Una de las medidas preventivas fundamentales en la lucha contra la deficiencia mental es la intervención sobre sus posibles etiologías, dada la irreversibilidad actual de las discapacidades ya establecidas.

Entre estas etiologías están los errores innatos del metabolismo (EIM), considerados como enfermedades con base metabólica, originados por la herencia de un gen mutante (ADN) que produce un defecto en la estructura o función de una determinada molécula proteica; en el 95% de los EIM la herencia es autosómica recesiva, siendo los portadores heterocigotos fenotípicamente normales y sólo un pequeño número de ellos tiene herencia dominante ligada al sexo. Aunque **la incidencia individual es baja** y, en general, subestimada por las dificultades en el diagnóstico (como ejemplos 1/10.000-1/20.000 para las más frecuentes como fenilcetonuria, histidinemia, enfermedad de Harnutp e iminoglicinuria, 1/20.000-1/100.000 para homocistinuria, hiperglicinemia y enfermedad de jarabe de arce y 1/300.000 para acidemias metilmalónica y propiónica), en conjunto representan una patología relevante con **una incidencia acumulada de 2 ‰** en toda la población y su número se incrementa día a día. Con los métodos de diagnósticos actuales, en el estudio etiológico de un grupo adulto de enfermos deficientes mentales la incidencia de EIM podría situarse en el 20%^(1,2).

MEDIDAS PREVENTIVAS

Aunque al ser originados por una mutación genética no se pueden prevenir en un sentido absoluto, si se pueden emprender algunas medidas preventivas

concretas basadas en su conocimiento y que **se justifican por su severidad** ya que los EIM:

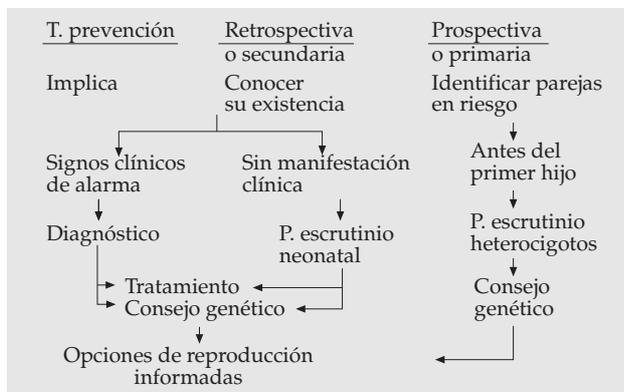
- En casos no diagnosticados son causa de muerte prematura y los diagnosticados de una gran complejidad terapéutica, y sólo en un pequeño grupo el tratamiento puede estabilizar o controlar la enfermedad.
- Sus repercusiones sobre el desarrollo físico y psíquico son importantes, en general, con deficiencias sobre el crecimiento, deficiencia mental presente en la mayoría de los EIM no tratados y deficiencias sensoriales.
- Condicionan deficiente calidad de vida por la alta morbilidad con hospitalizaciones repetidas por las discapacidades que pueden conllevar e incluso por la necesidad de institucionalización.
- Generan, además, importantes gastos sanitarios por lo que la carga económica familiar y social que conllevan es relevante.

La actuación preventiva la podemos concretar en dos grandes líneas: la primera como prevención primaria para evitar la aparición de nuevos casos, mediante los programas de escrutinio poblacional posibles sólo en procesos aislados⁽³⁻⁶⁾; la segunda como prevención secundaria de los déficit, e incluso de la muerte que conllevan los casos de diagnóstico tardío, mediante la actuación diagnóstico-terapéutica⁽⁶⁻⁹⁾ (Tabla I).

A- LOS PROGRAMAS DE ESCRUTINIO POBLACIONAL que se pueden diseñar para distintos grupos:

1- En adultos prerreproductivos, identificando parejas con riesgo de un EIM determinado. El escrutinio es considerado como un proceso de búsqueda, entre individuos que al poseer determinado genotipo pudieran padecer la enfermedad ellos mismos o sus descendientes, **para prevenir nuevos casos en la población general**; nos acercaríamos a una prevención prospectiva o primaria. Un ejemplo serían los estudios en grupos de riesgo de la enfermedad de Gau-

Tabla I ICM. Aspectos preventivos



cher o la deficiencia de alfa 1-antitripsina. Además de tomar medidas sobre ellos mismos permitiría a individuos portadores aplicar medidas sobre su descendencia, para evitar tener hijos afectados.

2- **En recién nacidos mediante el desarrollo de programas de escrutinio poblacional universal** para la detección precoz de individuos ya afectados de un EIM, pero aún asintomáticos, siempre que haya un tratamiento efectivo que poder realizar precozmente. Sería una medida de prevención secundaria para evitar, en lo posible, la expresión de la enfermedad. Para incluir una enfermedad en programa de escrutinio neonatal financiado con fondos de la comunidad, se deben cumplir unos criterios internacionalmente aceptados y establecidos por el Committee on Screening for Inborn Errors of Metabolism⁽³⁾ y que se resumen en los siguientes:

- La enfermedad tiene una incidencia relativamente elevada (menor 1/10.000 - 15.000 recién nacidos).

- La enfermedad produce una severa morbilidad (mental y física) y/o mortalidad si no se detecta en el período neonatal.

- La enfermedad no es diagnosticable o fácilmente reproducible por medios clínicos durante el período neonatal.

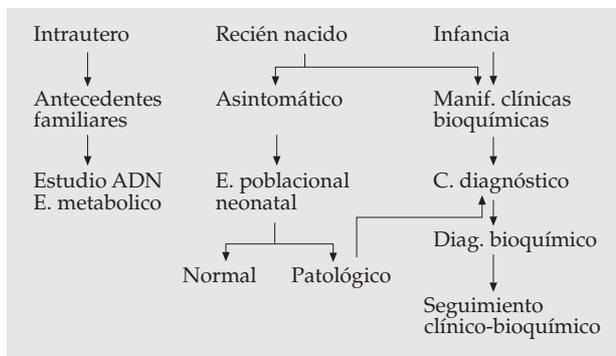
- Existe un tratamiento eficaz o al menos parcialmente eficaz y su realización es asequible.

- Se requiere la aplicación inmediata del tratamiento para prevenir alteraciones irreversibles, haciendo el pronóstico clínico más favorable.

- Existe un ensayo analítico de escrutinio simple, rápido, fiable y de bajo coste.

Cada uno de estos criterios que se han llegado a aceptar por sí solos o en conjunto, son válidos y asumibles por una comunidad determinada, siempre que

Tabla II EIM. Posibilidades diagnosticadas



no existan otras prioridades en materia de salud para la misma. Su implantación precisa de una compleja estructura que coordine sus intervenciones.

En el caso concreto de la PKU es ya una realidad en muchos países desarrollados el escrutinio neonatal cumpliendo los criterios previos. En España se inician los programas de escrutinio en granada en 1968 y hoy funcionan 20 unidades de escrutinio en el territorio nacional⁽⁶⁾.

3- **Programas de búsqueda en familias previamente identificadas** por existir en ellas individuos afectados conocidos para la **detección de heterocigotos**. El **diagnóstico bioquímico** del producto genético alterado, mediante determinaciones enzimáticas, o las determinaciones de niveles de metabolitos de las rutas afectas y/o diagnóstico genético les proporcionará información sobre la herencia de la enfermedad sería el consejo genético, (tratado por otros ponentes del curso), para que puedan tomar opciones reproductoras que eviten la presentación nuevos casos.

B- LA INTERVENCIÓN DIAGNOSTICO-TERAPÉUTICA como prevención secundaria para conseguir prevenir o reducir al mínimo consecuencias clínicas o las secuelas de la enfermedad⁽⁷⁻¹¹⁾, (Tabla II).

Se puede estructurar en varios niveles:

1- **Diagnóstico en fases precoces de la enfermedad**. En conjunto los EIM son muy numerosos y sólo entidades muy concretas van a ser diagnosticadas en programas de escrutinio neonatal, por lo que para todos los demás EIM es necesario un **alto índice de sospecha del pediatra**, que desde Atención Primaria debe pensar en ellos y saber cómo recoger las muestras y/o dirigir a los pacientes con la rapidez necesaria a centros especializados, donde se planteará una estrategia diagnóstica y terapéutica específica antes

de iniciar complejos estudios metabólicos, ello implica conocer bien las manifestaciones de los EIM.

2- El diagnóstico también se puede realizar en **individuos afectados de presentación tardía** en una familia portadora, cuando la enfermedad aún no se ha manifestado y se puede beneficiar de medidas específicas. Estos programas deben cumplir una serie de criterios que hacen referencia no sólo a las características de la enfermedad y posibilidades técnicas, sino a aspectos más amplios sociales y económicos que necesitan ser cuidadosamente contemplados por la organización sanitaria que los pone en marcha.

3- **Diagnóstico prenatal** sólo indicado en familias que tienen ya un caso índice, y que es posible para muchos EIM lo que evitaría el nacimiento de niños afectados, obviando aquí aspectos éticos y legales. Aunque como acción preventiva para disminuir el número de casos tiene relativamente poca relevancia, el interés social es creciente por estas técnicas. En general, la metodología para el diagnóstico genético o bioquímico sería la misma que para el diagnóstico de individuos afectados mediante la toma de muestras de materiales fetales; es necesario que el diagnóstico del caso índice sea preciso y conocer a fondo la expresión del defecto bioquímico en los distintos tejidos fetales y en las distintas etapas de la gestación, y aun así a veces es difícil distinguir entre portador y afectado^(13,14), desarrollados en este curso por otros ponentes.

Exponemos a continuación algunos aspectos de su sintomatología, diagnóstico y tratamiento, ya que, como hemos dicho, su conocimiento lleva a medidas de prevención secundaria.

SINTOMATOLOGÍA

En general, existe una gran pluralidad en la expresión clínica de los EIM: los excesos o defectos de metabolitos se van a expresar con sintomatología variable según el tejido prioritariamente afectado; en ocasiones se afecta un solo órgano o un solo sistema funcional con repercusiones sistémicas, pero lo habitual es la afectación de varios órganos. No hemos de olvidar que son hereditarios, pero no todos connatales, lo que significa que su expresión clínica se puede demorar varios años. Desde una perspectiva fisiopatológica y siguiendo a Saudubray⁽¹²⁾ nos encontraríamos al realizar la historia clínica con **tres grupos sintomáticos**:

1 - **Enfermedades que afectan a la síntesis o catabolismo de moléculas complejas** que se acumulan en el interior de las células con síntomas permanentes

progresivos y sin relación con la ingesta. Ejemplos de este grupo son las lipidosis y enf. peroxisomales.

2 - EIM intermediario que conllevan **una intoxicación por acumulo de metabolitos proximales al bloqueo**. Algunas manifestaciones pueden presentarse ya en **el período neonatal**, así ocurre en trastornos del metabolismo de aminoácidos, acidemias orgánicas y trastornos del ciclo de la urea. Nos encontraríamos después de un parto normal y tras iniciar la alimentación, un deterioro progresivo del recién nacido con manifestaciones polimorfas: hepatomegalia, síntomas digestivos, respiratorios, cardiológicos y neurológicos, expresión de la toxicidad de determinados metabolitos acumulados y de la carencia de otros. La acidosis metabólica que no responde a tratamientos habituales, la hipoglucemia con o sin cetonemia y la hiperamonemia son hallazgos bioquímicos también sugestivos. En otros casos en **el niño mayor** las manifestaciones se ponen de manifiesto ante situaciones catabólicas y los síntomas son intermitentes. Destacamos como más característicos: un olor característico, las crisis metabólicas sin causa aparente desencadenante o una leve afectación hepática persistente. Entre las manifestaciones neurológicas destacamos por su frecuencia la deficiencia mental, presente con distintos grados de intensidad en la mayoría de los EIM no tratados, trastornos de la conducta, convulsiones, neuropatía periférica o síntomas intermitentes como cuadros atáxicos. Especial interés tienen también las repercusiones sensoriales, como el déficit visual por alteración en cualquiera de las estructuras del ojo, como la degeneración retiniana, luxación del cristalino, cataratas, opacidad corneal o el déficit auditivo.

3 - **EIM con síntomas dependientes de un déficit en la producción o utilización energética** que se presentan con manifestaciones hepáticas, musculares, miocárdicas o cerebrales. Incluyen glicogenosis, glucogenosis, acidosis láctica, trastornos de la oxidación de ácidos grasos y trastornos de la cadena respiratoria.

En general, cualquier órgano se puede afectar, incluso algunas dismorfias pueden ser la expresión de un EIM, serán las agrupaciones de síntomas las que nos sugieran entidades concretas.

DIAGNÓSTICO

Después de una aproximación por la historia clínica, el diagnóstico bioquímico se puede realizar a tres niveles⁽⁸⁻¹⁰⁾:

1- La base del diagnóstico en EIM es el estudio **bioquímico de los metabolitos que se acumulan** en los fluidos biológicos: sangre orina y LCR, en el contexto del metabolismo intermediario de moléculas sencillas implicadas en los procesos de síntesis, acatólicos y energéticos como consecuencia del fallo enzimático. Este nivel constituye la aproximación inicial al diagnóstico EIM de aminoácidos, acidemias orgánicas, ciclo de la urea, vías de producción energética mitocondrial, de hidratos de carbono y enfermedades peroxisomales.

Dado su elevado número, cerca de 500 EIM ya conocidos, que se puede multiplicar por cuatro en los próximos años, es necesaria la colaboración entre el pediatra y el bioquímico de un laboratorio especializado para establecer **una estrategia planificada en cada paciente**. Las muestras han de ser recogidas en condiciones idóneas, variables según la sospecha diagnóstica, en algunos casos si queremos ver que sube patológicamente una sustancia que no se puede metabolizar, tras sobrecarga de proteínas, de glucosa, de lípidos o tras un ayuno prolongado. Estas sobrecargas tienen el máximo interés en la detección de portadores.

Los métodos cromatográficos son importantes en el diagnóstico bioquímico de los EIM: cromatografía en capa fina para mono y disacáridos, de intercambio iónico, de alta resolución (HPLC) para aminoácidos, o acoplada a espectrometría de masas para ácido orgánicos.

2- Aunque el estudio de metabolitos proporciona, en algunos casos, un diagnóstico bastante preciso, se deben verificar o completar **determinaciones enzimáticas** del producto genético alterado en linfocitos, fibroblastos de piel o biopsia de otros tejidos en los que se exprese. Es hoy la forma de diagnóstico de enfermedades lisosomales.

3- **El diagnóstico genético** sin ser el punto de partida, puede ser conveniente llegar a él para la catalogación precisa del enfermo, para el diagnóstico prenatal y para la prevención de nuevos casos en la familia. Las técnicas de amplificación del ADN con PCR, y la secuenciación directa o mediante clonaje permiten detectar nuevas mutaciones o polimorfismos, las distintas formas de expresión y su epidemiología. Para la fenilcetonuria se han diagnosticado en España 14 mutaciones que afectan al 55% de los niños PKU. Los análisis de polimorfismos en fragmentos de restricción del gen, RFLP, son métodos indirectos también útiles.

Existe una sociedad, ERDIN, para la investigación en escrutinio, diagnóstico y tratamiento de los EIM, auspiciada por la Unión Europea.

INTERVENCIÓN TERAPÉUTICA

El tratamiento precoz de los EIM va encaminado a evitar, en lo posible, las manifestaciones clínicas y bioquímicas de la enfermedad, y la instauración de secuelas irreversibles, intentando mantener al mismo tiempo un crecimiento y desarrollo satisfactorios en el niño. Todavía hoy el tratamiento plantea grandes problemas, ya que restaurar la normalidad total es aún una ilusión en los EIM⁽¹¹⁻¹³⁾.

En general, podemos decir que la eficacia del tratamiento es mayor al mejorar el conocimiento de estas entidades no obstante, conseguir una buena regulación metabólica puede ser complejo y requiere muchas horas de dedicación en unidades de alto grado de especialización y con la colaboración de los equipos de Atención Primaria. La opción terapéutica a elegir será planteada por una Unidad especializada y en cada entidad según los conocimientos y disponibilidades que en la práctica existan. Un ejemplo claro de la eficacia del tratamiento lo tenemos en la fenilcetonuria, entidad con muchos niños tratados que conservan inteligencia normal desde que Bickel comprobó que una dieta baja en fenilalanina en estos pacientes evitaba la deficiencia mental.

En un plano teórico y basados en la fisiopatología que hemos expuesto, podemos plantearnos cuatro niveles de actuación:

1- **Terapia genética somática**. Sería realmente la más definitiva. Una copia normal del gen defectuoso introducida mediante un vector, el viral es el más experimentado, en las células somáticas recuperaría la función genética deficiente. Esta técnica, avanzada en su fase experimental, no está aún disponible para el tratamiento efectivo de los pacientes.

2- **A nivel de la proteína disfuncional** mediante tres posibilidades:

La sustitución enzimática es aún difícil en la práctica, aunque ya se han realizado algunas experiencias en este sentido, como el uso de glucocerebrosidasa en la enfermedad de Gaucher no neuronopática.

La suplementación de grandes dosis de **vitaminas y coenzimas** que actuarían como cofactores, produciendo una inducción del sistema enzimático, es una posibilidad real en algunos EIM vitamínosensibles; un ejemplo sería el aporte de biotina o rivoflavina

en algunas acidosis lácticas o la tiamina en algunas formas intermedias de jarabe de arce.

Los trasplantes de hígado y médula ósea constituyen una posibilidad más definitiva de aportar al organismo células con un código genético normal, capaces de sintetizar enzimas competentes, aunque con dificultades no totalmente resueltas en la actualidad.

3- El **tratamiento dietético a nivel de metabolitos** es hoy el más factible. En determinados EIM en un plano teórico y basados en la fisiopatogenia antes expuesta, toda enfermedad metabólica en la que se produce acúmulo de un sustrato exógeno es susceptible de ser tratada dietéticamente evitando así la expresión fenotípica del defecto.

Se plantean varios niveles de actuación terapéutica nutricional:

- Control de ingesta con **restricción dietética del sustrato que patológicamente se acumula y/o de sus precursores**, limitándolo si el sustrato es imprescindible como nutriente o suprimiéndolo si no lo es. La restricción de aminoácidos esenciales en las aminoacidopatías ha sido el procedimiento más usado con buenos resultados. En caso de sustratos de síntesis endógena, como sucede en algunos trastornos del ciclo de la urea una dieta específica reduciendo el aporte proteico puede limitar la producción de amonio. Otro ejemplo sería la restricción de los aminoácidos ramificados precursores de propiónico y metilmalónico en las acidemias orgánicas.

- **Administración de los productos deficitarios** con la dieta en cantidades suficientes en aquellos casos en los que las manifestaciones de la enfermedad sean debidas a la carencia de un metabolito. Un ejemplo sería el tratamiento con neurotransmisores en la fenilcetonuria por deficiencia de bipterinas.

- **La administración de inhibidores metabólicos o la eliminación de los metabolitos tóxicos** acumulados por diuresis forzada, quelación o diálisis, son otras posibilidades.

4- El **tratamiento sintomático** a nivel del fenotipo clínico también será coadyuvante en muchos casos.

La opción terapéutica a elegir ha de ser planteada en cada entidad según los conocimientos y disponibilidades que en la práctica existan.

PLANES ESPECÍFICOS DE ACTUACIÓN

Las dificultades que plantean todas las actuaciones para el diagnóstico precoz, tratamiento y segui-

miento de estas enfermedades requieren la existencia una actuación coordinada que organice las distintas actividades a desarrollar.

Aunque existen muy diversos modelos de organización, lo fundamental es la colaboración de los distintos estamentos implicados, entre los que queremos destacar a: la administración sanitaria, las unidades de escrutinio, las unidades hospitalarias multidisciplinarias, los equipos de Atención Primaria y las asociaciones de afectados. Entre todos establecer un desarrollo adecuado de los programas establecidos, con actuaciones bien delimitadas.

Actuaciones de la administración: estarían englobadas dentro de una política global de prevención que según sus disponibilidades priorice las necesidades en cada comunidad, en las que no vamos a entrar por no ser objetivo de esta ponencia, sólo a modo de grandes epígrafes destacaríamos: el nivel sanitario que debidamente asesorado debe definir las actuaciones globalmente, coordinar, desarrollar y dotar económicamente las estructuras necesarias para el funcionamiento de los programas establecidos en una comunidad. El nivel legislativo debe desarrollar un marco jurídico adecuado para el desarrollo coordinado de las distintas actuaciones.

Unidades de detección

Aunque en muchos países se ubican en los mismos centros que las unidades de diagnóstico y tratamiento, no siempre ocurre así, pudiendo tener cierta autonomía, aunque requieran su colaboración para el estudio y seguimiento de casos detectados

La FENILCETONURIA, que es el EIM más frecuente en la práctica clínica y los programas de escrutinio neonatal en muchos países desarrollados incluida España, ha permitido el diagnóstico de más de 8.000 niños en los que el tratamiento ha evitado la deficiencia mental.

Actuaciones de las unidades especializadas de diagnóstico, tratamiento y seguimiento

Están ubicadas en hospitales donde pueden contar con expertos y técnicos en distintas especialidades: pediatría y medicina interna, nutrición, bioquímica de procesos metabólicos, química analítica, biología molecular, genética, psicología y un amplio etc., adecuadamente coordinados.

Sus actuaciones se centran prioritariamente en:

1- Orientación diagnóstica ante manifestaciones sugestivas de EIM asesorando sobre muestra idónea-

as y técnica de recogida y posterior diagnóstico completo (clínico, bioquímico, genético) de cada caso.

2- Diseño y desarrollo de protocolos de actuación y de tratamiento por entidades y luego individualizados para cada paciente.

3- Seguimiento evolutivo clínico del paciente específicamente de crecimiento y dietéticos-nutricionales y valoración neurológica, protocolizados para cada entidad, completando la actuación de Atención Primaria.

4- Controles bioquímicos protocolizados.

5- Valoración y orientación psicológicas.

6- Orientación para la familia (consejo genético).

7- Las Unidades hospitalarias facilitarán la pauta de actuación programada para cada entidad el apoyo necesario para su ejecución a los pediatras que se ocupen del niño en Atención Primaria.

8- Recopilación de datos para estudios estadísticos.

9- Asesoramiento a nivel científico-técnico para el desarrollo, si procede, de nuevos programas que favorezcan el diagnóstico precoz por escrutinio metabólico universal neonatal o escrutinio selectivo a poblaciones de especial riesgo.

Debido a la gran diversidad de EIM y la baja frecuencia individual de cada uno de ellos, y la cada vez mayor complejidad de las técnicas diagnósticas, es recomendable **concentrar las actuaciones diagnósticas muy específicas en centros de referencia** que cubran áreas geográficas amplias a nivel nacional o internacional. El European Directory of Diagnostic Laboratories recoge los recursos europeos en este sentido.

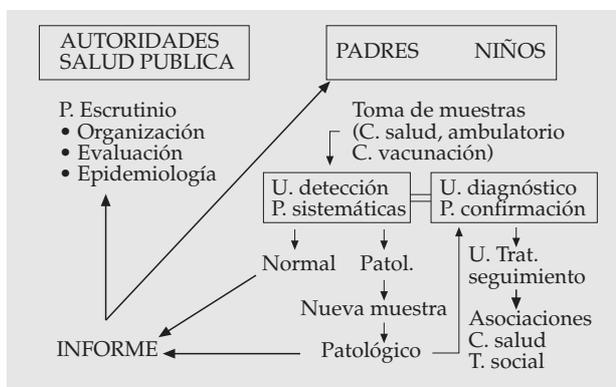
Actuación en Atención Primaria

Los programas a desarrollar en Atención Primaria incluirán:

Controles pediátricos generales: serán establecidos por su pediatra en colaboración con la Unidad hospitalaria de la que requerirá la información adicional que considere precisa, con atención especial a:

- crecimiento y desarrollo;
- apoyo al cumplimiento de la dieta para lo que deberá familiarizarse con los normas generales de confección de la dieta, la composición de alimentos y productos especiales indicados en cada niño;
- atención especial en enfermedades infecciosas por el riesgo de desestabilización que conllevan. Conocimiento de medicamentos que pueden contener productos prohibidos.

Tabla III EIM. Programa de escrutinio



La adecuada supervisión en Atención Primaria y la atención en los problemas diarios que puedan surgir, puede conllevar un distanciamiento en controles hospitalarios.

Apoyo de la **unidad de trabajo social** de su Centro.

Apoyo psicológico en **Unidad de Salud mental**.

Organización de **Asociaciones de padres y afectados**.

La colaboración de **escuela** y otros niveles de actuación son similares a los generales para el niño crónico con diversa patología.

En general, podemos decir que la eficacia de las distintas actuaciones mejora al mejorar el conocimiento de estas entidades y la coordinación entre responsables a distintos niveles. Conseguir una buena planificación puede ser complejo y requiere muchas horas de dedicación y alto grado de especialización de las personas responsables de los programas.

Podemos decir que existe en nuestra Comunidad andaluza coordinado por la Consejería de Sanidad un programa de actuación en EIM iniciado con el escrutinio metabólico de la fenilcetonuria e hipotiroidismo congénito, que ya cuenta con una base funcional organizada con un esquema de actuación preventiva, que mediante el diagnóstico precoz seguido del tratamiento del trastorno metabólico en la colaboración de unidades de seguimiento, sirve para prevenir la deficiencia mental que conllevaría la enfermedad no tratada (Tabla III). Esperamos su ampliación con la creación de un centro de referencia y su perfeccionamiento con la colaboración de todos los que estamos implicados en los EIM.

BIBLIOGRAFÍA

- 1 Scriver ChR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D.(eds) 1995 The metabolic basis of inherited disease. 7 ed. New York, McGraw-Hill Inc, 3-28.
- 2 Hoffmann GF. Selective Screening for inborn errors of metabolism. Past, present and future. *Eur J Pediatr* 1994; **153**(suppl 1):S2-S8.
- 3 Committee on Screening for Inborn Errors of Metabolism, Genetic Screening: Programs, Principles and Research. National Academy of Sciences, Washington DC, 1992.
- 4 Farriaux JP, Dhont JL (ed) 1994: New Horizons in Neonatal Screening. Amsterdam, Excerpta Medica, Elsevier Science.
- 5 Pampols T. Futuro de la detección precoz o tria poblacional. en: Del Cromosoma al Gen. Institut d Edicions de la Diputació de Barcelona 1995; 513-526.
- 7 Roth KS: Inborn Errors of Metabolism: The Essential of Clinical Diagnosis, *Clin Pediat* 1991; **30**:183-190.
- 8 Fernández J, Saudubray JM. Diagnostic procedures: function test and postmortem protocols. En: Inborn Metabolic Diseases. Diagnosis and treatment. Fernández J, Saudubray JM, Tada K (eds). Springer Verlag. Berlin, Heidelberg, 2ª ed, 1995:41-46.
- 9 Blom W, Huigmans JGM, Van Der Berg GB. A clinical biochemist's view of the investigation of suspected Inherited Metabolic Diseases. *J Inher Metab Dis* 1989; **12**(suppl 1):66-88.
- 10 Ugarte M. Errores congénitos del metabolismo. *Acta Pediatr Esp* 1993; **51**:771-781.
- 11 Martínez Pardo M. Tratamiento de los errores congénitos del metabolismo. En: Hernández A. Alimentación Infantil. 2ª ed, Díaz Santos, Madrid 1993.
- 12 Saudubray JM, Charpentier, C. Clinical phenotypes: diagnosis algorithms. En Scriver CR, Beudet AL, Sly WS, Valle D, (eds). The Metabolic and Molecular bases of Inherited Diseases: McGraw-Hill, 1995: 327-400.
- 13 Carreras JM, DI Renzo GC (ed.) Recommendations and protocols for prenatal diagnosis. *Progresos en diagnóstico prenatal* 1993 ; 5.
- 14 Pampols T. Errores en bioquímica. *Progresos en diagnóstico Prenatal* 1992; **4**:169-175.