

FENILCETONURIA DE DIAGNÓSTICO PRECOZ. BASES FISIOPATOLÓGICAS DEL DAÑO NEURONAL Y OPCIONES-TERAPÉUTICAS

JAUME CAMPISTOL PLANA

Servicio de Neuropediatría, Hospital Universitario Sant Joan de Deu, Barcelona, España

Resumen La fenilcetonuria, también conocida como PKU, es el error congénito más frecuente del metabolismo de los aminoácidos. La forma grave o PKU clásica no tratada, causa una discapacidad intelectual, aunque los programas de detección en el período neonatal, el diagnóstico y el tratamiento evitan la aparición de los síntomas. A pesar de un diagnóstico y tratamiento temprano hemos observado cierta neurotoxicidad en los pacientes con PKU tratados. Analizamos los demás factores implicados, aparte de la toxicidad por las elevadas concentraciones cerebrales de fenilalanina (Phe), se revisan los defectos de síntesis de neurotransmisores, la alteración de la mielinización cerebral, el efecto de la elevación de Phe en los procesos de transporte y distribución de los aminoácidos neutros con una síntesis anómala de proteínas cerebrales, la deficiencia plasmática y cerebral de tirosina, la neurotoxicidad de los metabolitos de Phe, el defecto de la biosíntesis del colesterol o el aumento del estrés oxidativo. Las alteraciones de la sustancia blanca en los pacientes con PKU tienen un papel importante en las manifestaciones neurológicas. El tratamiento de la PKU es para toda la vida y se basa en la reducción del aporte de alimentos que contienen Phe combinado con la administración de una fórmula especial, o en el tratamiento con tetrahidropterina (BH4). Se analizan nuevas opciones terapéuticas.

Palabras clave: fenilcetonuria, diagnóstico precoz, tratamiento, neurotoxicidad, nuevas terapias

Abstract *Early diagnosis of phenylketonuria. Physiopathology of the neuronal damage and therapeutic options.* Phenylketonuria, also known as PKU, is the most frequent congenital inborn error of metabolism. The severe form or classic PKU untreated causes intellectual disability, although with the early detection programs in the neonatal period, diagnosis and treatment prevent the appearance of the symptoms. Despite early diagnosis and treatment we have observed some neurotoxicity in treated PKU patients. We analyzed the factors involved apart from the toxicity due to the high cerebral concentrations of phenylalanine (Phe), the defects of synthesis of neurotransmitters, the alteration of cerebral myelination, the effect of the elevation of Phe in the processes of transport and distribution of neutral amino acids with an abnormal synthesis of brain proteins, plasma and cerebral tyrosine deficiency, the neurotoxicity of Phe metabolites, the defect of cholesterol biosynthesis or the increase of oxidative stress. White matter alterations in early treated PKU patients have an important role in neurological manifestations. The treatment of PKU is for life and is based on the reduction of foods containing Phe combined with the administration of a special formula or tetrahydrobiopterin (BH4) treatment. New therapeutic options will be analyzed.

Key words: phenylketonuria, early diagnosis, treatment, neurotoxicity, new therapies

La hiperfenilalaninemia es un término genérico que se otorga a un fenotipo bioquímico en el cual existe un aumento persistente de la concentración plasmática de fenilalanina (Phe) causado por una deficiente hidroxilación hepática de este aminoácido¹. La hidroxilación de la Phe a tirosina, implica la enzima hepática fenilalanina hidroxilasa y el coenzima tetrahidropterina (BH4), que se reduce en la reacción de hidroxilación y debe ser regenerado por otra enzima, la dihidropteridina reductasa. Cualquier defecto

que interfiera en el sistema de hidroxilación (deficiencia de actividad de PAH, de dihidropterina reductasa DHPR o defectos de la biosíntesis de BH4) causará una hiperfenilalaninemia. Los defectos de síntesis y reciclaje corresponden al 2% de casos, hay que considerarlos especialmente en el diagnóstico diferencial de la hiperfenilalaninemia, ya que su tratamiento y pronóstico son diferentes.

La principal causa de hiperfenilalaninemia (98% de los casos) es la fenilcetonuria que se produce por mutaciones en el gen de la PAH (cromosoma 12q22-12q24.1). El déficit de PAH causa una acumulación de Phe y un descenso de tirosina en los tejidos y fluidos biológicos¹.

La PKU es el error congénito del metabolismo más frecuente. La incidencia en Europa es de 1:10 000-17 000 recién nacidos vivos con variación según la zona geo-

Dirección postal: Jaume Campistol Plana, Via Augusta 211,1,1, 08021 Barcelona, España

e-mail: campistol@hsjdbcn.es

*Este trabajo obtuvo el Premio Santiago Ramon y Cajal de la Academia Iberoamericana de Neurología Pediátrica 2019

gráfica². La frecuencia de portadores es del 2% de la población general.

La forma grave o PKU clásica, no tratada causa una discapacidad intelectual¹, aunque en muchos países con los programas de detección en el período neonatal, el diagnóstico y el tratamiento tempranos evitan la aparición de síntomas.

El principal efecto clínico asociado a la hiperfenilalaninemia es una alteración del desarrollo y función cerebral.

El tratamiento de la PKU es para toda la vida y se basa en la reducción del aporte de alimentos que contienen Phe combinado con la administración de una fórmula especial, o el tratamiento con BH4. La atención de estos pacientes es compleja y cuando siguen una dieta estricta y están bien controlados desde el punto de vista bioquímico-clínico-dietético, el pronóstico final es mejor⁴.

No hay dudas sobre el tratamiento y los controles que deben de seguir los enfermos⁴.

Los pacientes con PKU diagnosticados y tratados precozmente siguen una buena, por no decir excelente, evolución pero presentan una incidencia elevada de anomalías bioquímicas y disfunciones neurológicas, que en la mayor parte de los casos van a ser leves. Se ha hipotetizado mucho sobre los mecanismos causantes de neurotoxicidad en la fenilcetonuria^{3,4} (Tabla 1).

Fenilcetonuria clásica tratada precozmente

El diagnóstico y tratamiento temprano de la PKU permite un desarrollo físico e intelectual normal. Debido a los requerimientos proteicos del organismo no es conveniente la eliminación completa de la Phe de la dieta y por lo tanto, incluso los niños tratados precozmente, mantienen leves elevaciones de Phe en plasma (3-5 veces más altos) y, por lo tanto, en el cerebro.

TABLA 1.– *Mecanismos implicados en la neurotoxicidad en pacientes con PKU de diagnóstico y tratamiento precoces*

-
- Toxicidad por las elevadas concentraciones cerebrales de Phe
 - Defecto de síntesis de neurotransmisores
 - Alteración de la mielinización
 - Efecto de la elevación de Phe en los procesos de transporte y distribución de los aminoácidos neutros con síntesis anómala de proteínas en el cerebro
 - Deficiencia plasmática y cerebral de tirosina
 - Neurotoxicidad por los metabolitos de Phe (ácido fenilacético)
 - Defecto de la biosíntesis del colesterol
 - Deficit en ácidos grasos poliinsaturados
 - Aumento del estrés oxidativo y déficits de sustancias antioxidantes
 - Disminución de proteínas pre y post sinápticas
-

Los tratados precozmente tienen una inteligencia normal, aunque los valores medios de cociente intelectual (CI) son ligeramente inferiores a los de la población general⁵.

Se han descrito alteraciones específicas de las funciones ejecutivas en los pacientes con PKU tratados de forma precoz. También hay reportadas alteraciones en otras funciones cognitivas, dificultades visuoespaciales y visuoespaciales, alteración en la sensibilidad al contraste visual^{5,6}, y problemas en la motricidad fina⁵.

El cerebro es mucho más vulnerable a las concentraciones elevadas de Phe durante los primeros años de vida. Los valores de Phe por encima de 360 $\mu\text{mol/l}$ durante los primeros años de vida pueden tener efectos negativos sobre el CI⁵⁻⁷, así como en el desarrollo de las funciones ejecutivas⁸.

Los pacientes PKU tratados tienen además un mayor riesgo de presentar trastorno por déficit de atención e hiperactividad (TDAH), problemas de conducta y trastornos psicológicos como ansiedad y depresión⁹.

Además de las alteraciones neurocognitivas, es frecuente el hallazgo de otros signos neurológicos menores como hiperreflexia y temblor (28-30%)¹⁰ cuyas causas en la actualidad aún se desconocen.

Análisis de los posibles factores que pueden influir en la neurotoxicidad de los pacientes con PKU con diagnóstico y tratamiento precoces

Los mecanismos responsables de la neurotoxicidad en la PKU podrían atribuirse exclusivamente a la elevada concentración de Phe, que además comparte el mismo sistema de transporte con otros aminoácidos neutros, lo que dificulta el paso de los mismos a través de las membranas celulares y de la barrera hemato-encefálica. Los desequilibrios plasmáticos e intracelulares que comporta y que provocan la formación de proteínas anómalas se relacionan con la proliferación dendrítica y mielinización defectuosas^{1,3}.

La deficiencia de tirosina, que se convierte en un aminoácido esencial al estar interferida total o parcialmente su biosíntesis, puede ser otro factor causal. Se ha constatado que existen importantes fluctuaciones en las concentraciones plasmáticas de tirosina a lo largo del día, especialmente después de un ayuno prolongado. La tirosina y el triptófano son aminoácidos neutros cuyo transporte (LAT-1) a través de la barrera hematoencefálica está interferido cuando hay una elevada concentración de Phe. El hecho de que la tirosina y el triptófano sean precursores de los neurotransmisores determina que el defecto relativo de estos aminoácidos se traduzca en una reducción de la síntesis de serotonina, dopamina y norepinefrina, debido no solo a la disminución de la

concentración intraneuronal de sustratos, sino también a la inhibición competitiva de la hidroxilación de la tirosina y del triptófano, que comparten un mismo coenzima, la BH4¹¹. La síntesis de dopamina en el cortex prefrontal está pues disminuída, debido a la menor concentración cerebral de tirosina. Se postula que estos déficits son por una disfunción del córtex prefrontal debido a disminución de la síntesis de dopamina por una menor disponibilidad de tirosina⁸. Aunque también se postula una segunda hipótesis sobre la lesión primaria en el cerebro de los pacientes PKU tratados, que la misma pueda deberse a la pérdida de mielina y al compromiso en la síntesis de neurotransmisores^{1,3}.

Existe también la hipótesis de la neurotoxicidad de los metabolitos de Phe (en especial el ácido fenilacético), que pueden contribuir a la patofisiología de la PKU^{1,4}. Recientemente se ha visto en estudios experimentales con modelos animales a nivel del hipocampo una disminución de proteínas pre y post-sinápticas^{1,4}.

Las concentraciones elevadas de Phe inhiben la síntesis de colesterol^{3,12}. Estudios realizados en un modelo murino para la PKU han evidenciado además que la patogénesis de las alteraciones de la sustancia blanca (SB) cerebral puede ser debida a una inhibición de la enzima limitante de la biosíntesis del colesterol, la 3-hidroximetilglutaril-CoA reductasa a nivel de los oligodendrocitos, ocasionando una incapacidad del oligodendrocito para producir o mantener la mielina¹³.

La prevalencia de anomalías a nivel SB cerebral es alta, especialmente en los pacientes que no siguen un tratamiento dietético adecuado³. Estas anomalías macroscópicas, se identifican mediante resonancia magnética (RM) craneal como áreas de aumento de señal en secuencias T2 predominantemente en la SB periventricular parieto-occipital. Tienden a ser más graves en los pacientes mayores y en aquellos que están sin tratamiento o con unas concentraciones más elevadas de Phe los días previos¹⁴. Algunas de estas lesiones pueden disminuir tras pocos meses de dieta baja en Phe, lo cual sugiere que la agresión de la mielina podría ser reversible aunque posiblemente dejaría secuelas¹⁵. Estudios más recientes con RM por difusión muestran en los pacientes PKU anomalías en la integridad microestructural de la SB, aún en ausencia de anomalías en la RM craneal^{15,16}. En contraste con la hipomielinización que ocurre en pacientes no tratados, el compromiso de la SB en los tratados precozmente reflejaría la presencia de un edema intramielínico. Dentro de este contexto las anomalías de la SB identificadas en los individuos PKU podrían comprometer las funciones cerebrales afectando la velocidad de procesamiento de la información o bien producir alteraciones en la interconectividad entre diferentes regiones cerebrales. Recientemente se ha demostrado mediante RM funcional una disminución de la conectividad en el cortex prefrontal y otras estructuras. Aunque la neuroimagen sea normal,

se ha detectado una notable disminución del coeficiente de difusión (medio y radial) en la SB, que se asocia a concentraciones elevadas de Phe en los pacientes PKU tratados cuando se compara con grupo control. Estas anomalías traducen el daño microestructural de la SB debido a elevadas concentraciones de Phe a lo largo de la vida del paciente^{16,17}.

Otros factores posiblemente implicados en la génesis del daño neuronal son las alteraciones del sistema antioxidante y los déficits en los ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (LCPUFA), como consecuencia de las elevaciones de Phe y las de las restricciones dietéticas. Lógicamente en los que están sometidos a una dieta restrictiva en proteínas animales se producen carencias nutricionales, deficiencias vitamínicas y de oligoelementos, y consecuentemente alteraciones en el sistema antioxidante que pueden repercutir negativamente en la maduración del cerebro en desarrollo. Se han relacionado tres alteraciones en diferentes componentes del sistema antioxidante como posibles causantes de alteración en la PKU: 1) deficiencia de selenio por la restricción dietética, que causa una disminución en la actividad de la glutatión peroxidasa, enzima clave en el sistema de detoxificación de radicales libres; 2) déficit de ubiquinona-10 por reducción del aporte dietético y por inhibición de la 3 hidroxil-3 metilglutaril CoA reductasa (potente antioxidante lipofílico); 3) las concentraciones elevadas de Phe ejercen una acción directa inhibitoria sobre las actividades de varias enzimas antioxidantes en los tejidos, especialmente sobre la catalasa y la glutatión peroxidasa en el cerebro^{1,3}.

También se ha visto que los pacientes con PKU muestran niveles bajos LCPUFA en plasma y en los fosfolípidos de la membrana plasmática eritrocitaria^{1,3,4,15}. Los LCPUFA tienen un importante papel estructural como componentes de los fosfolípidos de la membrana plasmática celular. En concreto, el ácido docosahexaenoico que es el principal lípido de la membrana de las neuronas y de las células de la retina, es fundamental para el desarrollo funcional tanto del cerebro como de la retina y de las vías visuales¹⁵.

Del análisis de estos datos se puede concluir que el daño neurológico en la PKU se produce probablemente por un mecanismo multifactorial, en el cual parecen estar implicados muchos de los factores previamente analizados y quizás otros aún mal conocidos^{1,3,4,18}.

Opciones terapéuticas en la PKU

En la actualidad, la restricción de Phe en la dieta es el pilar del tratamiento de por vida⁴. Este tratamiento consta de 3 partes: restricción de proteínas naturales, sustitución de proteínas y alimentos bajos en proteínas. Con el fin de promover la síntesis de proteínas para el crecimiento y para la función celular en diversos órganos, es impor-

tante dar la cantidad máxima de proteína natural tolerada individualmente.

En caso de respuesta a la BH4, la sapropterina aumenta la tolerancia de Phe permitiendo aumentar la ingesta de proteínas de alto valor biológico y mantener niveles de Phe y tirosina similares o incluso más bajos, mejorar los valores de selenio y zinc, normalizar los ácidos grasos poliinsaturados y mejorar calidad de vida del paciente con excelente tolerancia en todas las edades. El único inconveniente es el costo elevado del producto¹⁹.

Aunque los suplementos con aminoácidos neutros (*large neutral aminoacids*) LNAA sin Phe se administran a algunos pacientes PKU adultos que no pueden seguir un tratamiento dietético, no se han ensayado en niños menores de 11 años y no se recomiendan en el embarazo. Ofrece pocas ventajas en pacientes que están adheridos al tratamiento dietético o con respuesta BH4⁴.

El glicromacropéptido que se obtiene de la leche bovina dentro de la fracción de suero, proporciona una fuente de proteína intacta de bajo contenido en Phe y es la única proteína dietética conocida que no contiene Phe. Es una alternativa a los aminoácidos sintéticos en la dieta PKU.

Los probióticos (*Lactococcus lactis*) pueden ser posibles candidatos como vectores para mejorar la actividad metabólica residual en duodeno.

La fenilalanina amonio liasa es una enzima (PEG fenilalanina –amonio liasa PAL o pegvaliasa) de origen vegetal que degrada la fenilalanina a amonio y ácido transcinámico, productos que pueden ser eliminados por orina. El control de los niveles de fenilalanina ha sido bueno, pero en el ensayo se han puesto de manifiesto reacciones cutáneas en los puntos de inyección, reacciones inmunitarias e hipofenilalaninemia en algunos casos. Se trabaja en presentaciones orales que obviarían las inyecciones periódicas.

La terapia génica está siendo investigada y es muy posible un ensayo clínico en pacientes con PKU⁴.

Conflicto de intereses: El autor ha pertenecido al *advisory board* de SHS, Nutricia-Danone, Merck Serono, Biomarin. Ha impartido conferencias para SHS, Nutricia-Danone, Merck-Serono, Cassen Fleet y Biomarin. Biomarin esponsoriza esta ponencia.

Bibliografía

1. Scriver CR, Levy H, Donlon J. Hyperphenylalaninemia. Phenylalanine hydroxylase deficiency. En: Valle D, Beaudet A, Vogelstein B, Kinzler K, Antonarakis S, Ballabio A (eds.); Scriver CR, Childs B, Sly WS (emeritus eds.). The metabolic and molecular bases of inherited disease. New York: McGraw Hill; Chapter 77, 2008.
2. Villoria JG, Pajares S, López RM, Marin JL, Ribes A. Neonatal screening for inherited metabolic diseases in 2016. *Semin Pediatr Neurol* 2016, 23: 257-72.
3. Campistol J, Lambruschini N, Castejón E, Gutiérrez A, Fusté E, Gassió R, Vilaseca MA. Hiperfenilalaninemia. En Sanjurjo P, Baldellou A, Diagnóstico y tratamiento de las enfermedades metabólicas hereditarias, 4ª ed. Madrid: Editorial Ergón Creación, SA., 2014.
4. van Spronsen FJ, van Wegberg AM, Ahring K, et al. Key European guidelines for the diagnosis and management of patients with phenylketonuria. *Lancet Diabetes Endocrinol* 2017; 5: 743-56.
5. Gassió R, Artuch R, Vilaseca MA, et al. Cognitive functions in classic phenylketonuria and mild hyperphenylalaninemia: experience in a paediatric population. *Dev Med Child Neurol* 2005; 47: 443-8.
6. Diamond A, Prevor MB, Callender G, Druin DP. Prefrontal cortex cognitive deficits in children treated early and continuously for PKU. *Monogr Soc Res Child Dev* 1997; 62: i-v. 1-208.
7. Smith ML, Klim P, Hanley WB. Executive function in school-aged children with phenylketonuria. *J Dev Phys Disabil* 2000; 12: 317-32.
8. Huijbregts SCJ, de Sonnevill LMJ, van Spronsen FJ, Licht R, Sergeant JA. The neuropsychological profile of early and continuously treated phenylketonuria: orienting, vigilance, and maintenance versus manipulation-functions of working memory. *Neurosci Biobehav Rev* 2002; 26: 697-712.
9. Antshel KM, Waisbren SE. Timing is everything: executive functions in children exposed to elevated levels of phenylalanine. *Neuropsychology* 2003; 17: 458-68.
10. Pérez-Dueñas B, Valls-Solé J, Fernández-Álvarez E, et al. Characterization of tremor in phenylketonuric patients. *J Neurol* 2005; 252: 1328-34.
11. de Groot MJ, Hoeksma M, Blau N, Reijngoud DJ, van Spronsen FJ. Pathogenesis of cognitive dysfunction in phenylketonuria: review of hypotheses. *Mol Genet Metab* 2010;99 Suppl 1: S86-9.
12. Ormazábal A, Artuch R, Vilaseca MA, García-Cazorla A, Campistol J. Mecanismos de patogenia en la fenilcetonuria: alteraciones del metabolismo de los neurotransmisores y del sistema antioxidante. *Rev Neurol* 2004; 39: 956-61.
13. Shefer S, Tint GS, Jean-Guillaume D, et al. Is there a relationship between 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme a reductase activity and forebrain pathology in the PKU mouse? *J Neurosci Res* 2000; 61: 549-63.
14. Cleary MA, Walter JH, Wraith JE, White F, Tyler K, Jenkins JP. Magnetic resonance imaging in phenylketonuria: reversal of cerebral white matter change. *J Pediatr* 1995;127(2): 251-5.
15. Gutiérrez Mata AP, Vilaseca MA, Capdevila-Cirera A, et al. Evolución neurológica, neuropsicológica y oftalmológica tras un año de suplementación con ácido docosahexaenoico en pacientes fenilcetonúricos. *Rev Neurol* 2012; 55: 200-6.
16. Christ SE, Huijbregts SCJ, de Sonnevill LM, White DA. Executive function in early-treated phenylketonuria: profile and underlying mechanisms. *Mol Genet Metab* 2010; 99: S22-32.
17. González MJ, Rebollo M, Ripollés P, et al. White matter microstructural damage in early treated phenylketonuric patients. *Orphanet J Rare Dis* 2018; 13: 188.
18. Campistol J, Gassió R, Artuch R, Vilaseca MA; PKU Follow-up Unit. Neurocognitive function in mild hyperphenylalaninemia. *Dev Med Child Neurol* 2011; 53: 405-8.
19. Lambruschini N, Pérez-Dueñas B, Vilaseca MA, et al. Clinical and nutritional evaluation of phenylketonuric patients on tetrahydrobiopterin monotherapy. *Mol Genet Metab* 2005; 86 Suppl 1: S54-60.