



TRASTORNOS NEUROLÓGICOS A CONSECUENCIA DE LA MUTACIÓN DEL GEN QUE CODIFICA PARA FENILALANINA HIDROXILASA

NEUROLOGICAL DISORDERS AS CONSEQUENCE OF THE GENE MUTATION THAT CODIFIES FOR PHENYLALANINE HYDROXYLASE

Alvear-Sedán Ciro¹
Barboza-Ubarnes Miriam²
Stave-Salgado Karen³

Correspondencia: cialse@hotmail.com

Recibido para evaluación: mayo – 3 – 2013. Aceptado para publicación: septiembre – 8 – 2013

RESUMEN

Introducción: la fenilcetonuria (PKU) es un error del metabolismo de los aminoácidos debido a la mutación del gen que codifica para la enzima fenilalanina hidroxilasa (PAH). Se han reportado 564 mutaciones en diferentes exones. Tiene patrón de herencia autosómica recesiva y genera graves repercusiones neurológicas y sistémicas, si no se detecta en etapa neonatal.

Caso clínico: paciente masculino de 19 años con diagnóstico PKU clásica a los 8 años de edad. Producto de embarazo a término, padres no consanguíneos, cursó con retraso psicomotor, retraso en lenguaje, deterioro cognitivo y pobre adaptación social. Se determinaron dos tipos de mutaciones: una grave S349P y una leve L348V. Niveles de fenilalanina (Fen) en sangre elevados (26.12 mg/dL ó 1567.2 µmol/L), que permiten clasificar como PKU clásica.

Conclusión: es importante realizar de forma temprana estudios moleculares que permitan correlacionar el genotipo con el fenotipo, para predecir la gravedad de la enfermedad y orientar el tratamiento. **Rev.cienc.biomed.2013;4(2):339-344**

PALABRAS CLAVES

Fenilcetonuria; Fenilalanina; Mutación; Fenilalanina hidroxilasa; Trastornos neurológicos.

SUMMARY

Introduction: Phenylketonuria (PKU) is an error of the metabolism of the amino acids due to the gene mutation that codifies for the enzyme called phenylalanine hydroxylase (PAH). 564 cases of mutations in different exons have been reported. It has an autosomal recessive inheritance pattern and generates severe neurological and systemic consequences if it is not detected in the neonatal stage.

Case report: 19-year-old man who was diagnosed with PKU at the age of 8 years, product of at term pregnancy, with non-consanguineous parents. He presented psycho-

¹ Químico Farmacéutico. Magíster en Bioquímica Clínica. Docente Titular. Líder del Grupo de Investigación BYME. Facultad de Medicina. Universidad de Cartagena. Colombia.

² Médico. Especialista en Neuropediatría. Docente. Departamento de Pediatría. Facultad de Medicina. Universidad de Cartagena. Colombia.

³ Médico. Pediatra. Universidad de Cartagena.

motor retardation, language delay, cognitive deterioration and poor social adaptation. Two types of mutation were determined: A severe type S349P and a mild type L348V. High serum phenylalanine levels (26.12 mg/dL ó 1567.2 $\mu\text{mol/L}$) allow classifying as classic PKU.

Conclusion: It is important to carry out early molecular studies that allow correlating the genotype with the phenotype, which permit to predict the severity of the disease and to orientate to the correct treatment. **Rev.cienc.biomed.2013;4(2):339-344**

KEYWORDS:

Phenylketonuria; Phenylalanine; Mutation; Phenylalanine hydroxylase; Neurological disorders.

INTRODUCCIÓN

La genética molecular ha experimentado un avance importante en los últimos años, permitiendo el diagnóstico de varios trastornos neurológicos. Los errores congénitos del metabolismo son alteraciones bioquímicas de origen genético ocasionadas por falla en la estructura o función de las enzimas producto del gen, lo cual genera pérdida de funciones y desequilibrios químicos en el organismo con las consiguientes manifestaciones clínicas (1,2). Cuando la mutación altera un aminoácido que ocupa un lugar clave en la secuencia para la disposición activa de una proteína, su funcionalidad podría disminuir o anularse (2).

La fenilcetonuria clásica (PKU) es un error innato del metabolismo de los aminoácidos que se caracteriza por mutaciones en el gen que codifica la enzima fenilalanina hidroxilasa (GEN PAH: OMIM 261600). Es de patrón hereditario autosómico recesivo, con repercusiones neurológicas y sistémicas graves, si no es identificado desde la etapa neonatal (3,4).

La prevalencia varía de acuerdo a la población, siendo uno por cada 10.000 nacidos vivos en Europa y un caso por cada 15.000 en Estados Unidos. En América Latina, se presenta un caso por 5.000 - 2.500 nacimientos, siendo más alta la prevalencia en Suramérica (3).

La enzima PAH (EC1.14.16.1) convierte la fenilalanina (Fen) en tirosina y requiere del cofactor tetrahidrobiopterina (BH_4), hierro y oxígeno, para que se adelante la reacción (Figura N° 1). Se han reportado 564 mutaciones del gen que producen deficiencia de la función enzimática (5). De la posición y naturaleza de la mutación se deriva el defecto en la actividad de la enzima PAH, lo cual determina el fenotipo del paciente (3).

La alteración del funcionamiento enzimático lleva a acumulación de niveles elevados de Fen en sangre y tejido cerebral lo que se ha relacionado con retraso en el desarrollo psicomotor, ansiedad, distonía, corea, epilepsia, trastorno de déficit de atención e hiperactividad y autismo (3,4). La detección temprana de un paciente con hiperfenilalaninemia (HFA), a través de screening neonatal, debe ser confirmada en un centro metabólico lo más pronto posible. La valoración inicial se hará con análisis de aminoácidos en sangre, del cual se esperan concentraciones de Fen superiores a 1200 $\mu\text{mol/L}$, niveles normales o reducidos de tirosina y concentraciones normales del resto de aminoácidos (3). El tratamiento de la PKU consiste en el inicio desde las primeras semanas de vida, de una dieta restringida en Fen, lo cual ha demostrado que puede mejorar el pronóstico neurológico de los pacientes (6).

CASO CLÍNICO

Paciente masculino de 19 años de edad, natural y residente de Cartagena, Colombia, en educación especial por trastornos del comportamiento y déficit cognitivo. Paciente producto del tercer embarazo, de madre G3,P1,A2. Embarazo de ocho meses de gestación de padres no consanguíneos. Cursó con retraso psicomotor y del lenguaje, dificultades escolares y déficit cognitivo. Ningún antecedente familiar relacionado con el cuadro neurológico presentado.

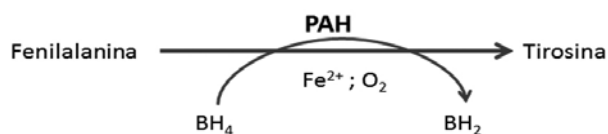


FIGURA N° 1. Reacción bioquímica de la fenilalanina hidroxilasa (PAH).

Las manifestaciones se iniciaron a los siete meses de edad con crisis epilépticas tipo espasmos flexores. Inicialmente se diagnosticó síndrome de West de tipo idiopático, manejado con diferentes antiepilépticos como ácido valproico y clobazam. Además recibió hormona adrenocorticotropa logrando control parcial de los espasmos. Estos desaparecieron a los cuatro años de edad, pero comenzó a presentar crisis tónico-clónicas generalizadas, las cuales fueron controladas con ácido valproico. A los ocho años de edad se le realizó diagnóstico de PKU clásica y se ordenó manejo dietético con restricción de proteínas en especial las de alto contenido en fenilalanina, lo que no fue cumplido estrictamente, por rechazo del paciente. Se trató de reemplazar la alimentación regular por leches importadas, pero por su alto costo no estaban al alcance de la madre y además la seguridad social no las cubría. Continuó con crisis epilépticas asociadas a deterioro cognitivo, agresividad y pobre socialización.

En el examen clínico realizado a los 19 años de edad, se observó: inquieto, con movimientos perseverativos en extremidades superiores, sin fijar la mirada, sin comprender ni ejecutar órdenes y sin hacer contacto visual con el examinador. Presencia de torpeza motora. No se observó asimetría facial, paresias ni parálisis. Reflejos osteotendinosos fueron normales y sin ataxia. No se realizaron otras pruebas cerebelosas por falta de colaboración del paciente.

El tamizaje metabólico en orina encontró presencia de cloruro férrico y dinitrofenilhidracina. La cromatografía de aminoácidos en sangre y orina reportó aumento de la Fen en ambas muestras (Figura No 2). Los niveles de Fen en sangre fueron 26.12 mg/dL ó de 1567.2 $\mu\text{mol/L}$, siendo el valor de referencia de normalidad: 1.03 mg/dL o de 61.8 $\mu\text{mol/L}$. El estudio genético se realizó con muestra de sangre recogida en papel de filtro, enviada al Centro de Diagnóstico de Enfermedades Moleculares de la Universidad Autónoma de Madrid, donde emplearon la metodología DGGE/Secuenciación, la cual reportó que el paciente es portador de una mutación severa (S349P) y una mutación leve (L348V). También se realizó estudio a la madre, de condición soltera y con este único hijo, quien presentó la mutación S349P.

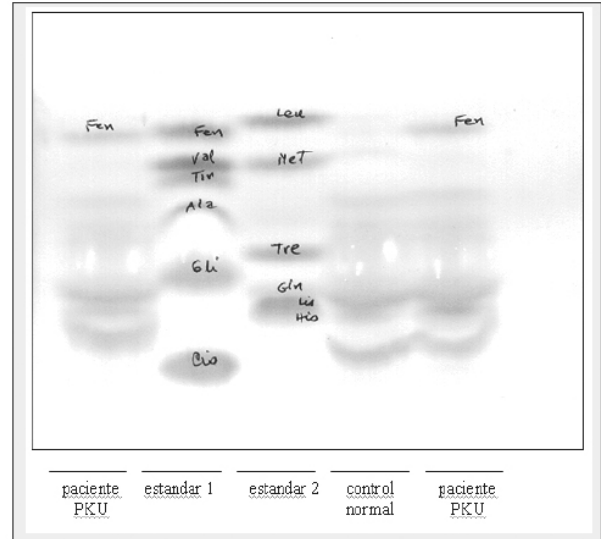


FIGURA N° 2. Cromatografía de aminoácidos.

Se consideró que el paciente tenía daño neurológico instaurado, por lo que no se esperaban adelantos en su calidad de vida y vinculación a la sociedad, a consecuencia de las mutaciones detectadas y a lo tardío del diagnóstico. Se ha señalado que en estas condiciones de daño neural severo ya es pobre la respuesta a la restricción de Fen en la dieta. No obstante se ordenó programa de alimentación con fórmulas metabólicas libres de Fen.

DISCUSIÓN

La PAH es una enzima homotetramérica en la que cada subunidad está compuesta de tres dominios funcionales: dominio regular N-terminal (residuos 1-142), dominio catalítico (residuos 143-410) que incluye sitio de unión al sustrato y cofactor y dominio de oligomerización en los residuos 411-452 (7).

El gen que codifica para la enzima PAH tiene 90 kbp, está localizado en la región q22-q24.1 del cromosoma 12, consta de 13 exones y sus respectivos intrones. Las mutaciones pueden ocurrir en cualquiera de los exones, en las uniones de empalme de los intrones que intervienen, o en otras áreas del gen como la región promotora (3). Se han señalado 564 mutaciones que producen deficiencia en la función enzimática (3,5,8). La posición y naturaleza de la mutación señalan su efecto en la actividad de la enzima PAH, uno de los factores que determina el

fenotipo de HFA del paciente (3). Mutaciones en el dominio regular y dominio de oligomerización llevan a menor reducción de la actividad enzimática, mientras que mutaciones en el dominio catalítico causan pérdida completa de la función de la PAH (7). Cuando hay poca o ninguna actividad enzimática resulta en fenotipo PKU clásico. Otras mutaciones inhiben parcialmente la actividad de la PAH dando lugar a PKU leve o HFA leve (2).

Los tipos de mutaciones de genes en esta entidad comprenden: cambio de sentido (60.5%), deleciones (13.5%), empalme (11%), silenciosa (5.7%), sin sentido (5%) y pequeñas inserciones (1.8%) (5,8). En el paciente se identificaron dos tipos de mutaciones, una severa y una leve. La severa corresponde a S349P y la leve a L348V. Una de las mutaciones encontradas es de tipo cambio de sentido que corresponde al tipo de mutación más frecuente, con fenotipo de la PKU clásica.

Si bien el estudio genético es indispensable, los niveles de Fen en sangre, la tolerancia individual a la Fen y el curso clínico de la enfermedad, pueden ayudar a discriminar los diferentes fenotipos de la PKU. Los valores normales de Fen en sangre son de 50-110 $\mu\text{mol/L}$ (0.8-1.8 mg/dL). La figura N° 3 presenta la clasificación de la PKU de acuerdo a la severidad de la HFA (3,5).

Las concentraciones de Fen en sangre del paciente fueron 26.12 mg/dL lo que equivale

a un valor mayor de 1200 $\mu\text{mol/L}$, que permite también clasificarlo como PKU clásica.

El fenotipo también se clasifica según el estado cognitivo (coeficiente intelectual) y metabólico (Fen al momento del diagnóstico y tolerancia diaria a Fen). Scriver y Wateers (8) explicaron el fenotipo de la PKU y analizaron los diferentes factores que influyen en él, tales como el transporte de Fen a través de la barrera hematoencefálica, la disposición de la Fen y la degradación de la proteína.

Dentro de las manifestaciones clínicas del paciente se encuentran: retraso psicomotor, síndrome de West (caracterizado por crisis epilépticas tipo espasmos flexores, extensores o mixto, un electroencefalograma caótico llamado hipsarrítmico y retraso psicomotor) (9), epilepsia tónico clónica generalizada, trastornos del comportamiento y deterioro neurológico con déficit cognitivo severo. Existen varias teorías que explican el daño neurológico establecido en los casos de PKU. El transportador de aminoácidos neutros tipo 1 (LAT1) permite el paso de algunos aminoácidos de la sangre al cerebro a través de un proceso competitivo, estos aminoácidos son valina, leucina, isoleucina, metionina, treonina, triptófano, histidina, fenilalanina y tirosina. La unión del transportador LAT1 a la Fen es más fuerte que para los otros aminoácidos, por lo que de existir niveles elevados en sangre, se podría esperar mayor entrada de Fen y menor concentración de los demás

aminoácidos en el tejido cerebral, aumentando la disfunción de neurotransmisores y su disponibilidad para la síntesis de proteínas. Por lo tanto, la disminución de los niveles de aminoácidos neutros más que el aumento de Fen en el cerebro, puede ser considerada importante en la patogénesis de PKU (3,4).

Los resultados de un reciente estudio realizado en pacientes con PKU sugieren que la síntesis de

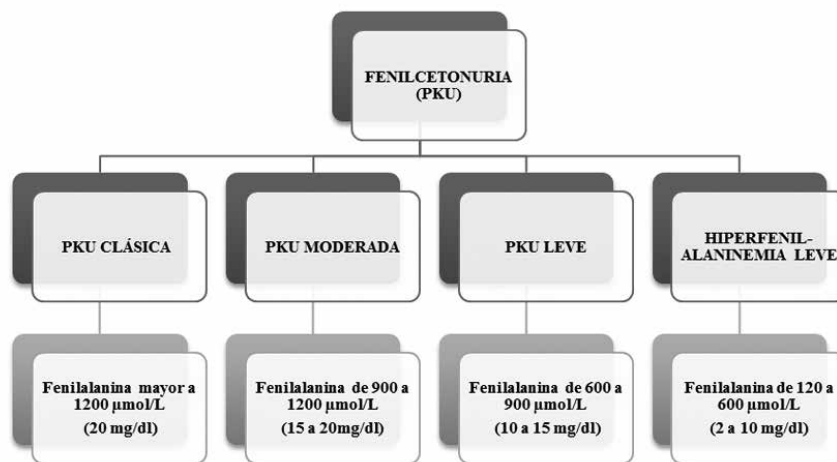


FIGURA N° 3. Clasificación de la fenilcetonuria (PKU).

proteína cerebral puede ser anormal debido a altas concentraciones de Fen en sangre, por lo que los autores especulan que es importante continuar el tratamiento dietario durante la vida adulta, buscando mantener concentraciones de Fen menores de 600-800 $\mu\text{mol/L}$ (10).

El tratamiento dietario en PKU se recomienda para toda la vida, sin embargo esto no se cumple frecuentemente. Hay consenso, guías y recomendaciones donde señalan que el tratamiento debe iniciarse tan pronto sea posible y el monitoreo de los niveles sanguíneos de Fen y los parámetros clínicos deben continuarse a lo largo de la vida (11).

Otros mecanismos posibles para explicar el daño cerebral causado por la HFA son: actividad disminuida de la piruvato quinasa, alteración en la transmisión del glutamato y reducción de la actividad monoamino oxidasa B (3). La relación entre resultados cognitivos y concentraciones de Fen en sangre está bien establecida. Se ha demostrado que personas con PKU tienen coeficiente intelectual más bajo que la población general, además pueden presentar retraso en el desarrollo psicomotor, epilepsia, déficit de atención, hiperactividad, distonía, corea, depresión, autismo y ansiedad (3,4). En estudios de anatomía patológicos se observa que en la PKU existe degeneración temprana de la mielina y falta de maduración neuronal (4).

Dentro de los factores no genéticos que pueden influenciar en el grado de deterioro cognitivo de un paciente con PKU, es importante mencionar el diagnóstico precoz (8). El caso presentado fue diagnosticado de forma tardía, a la edad de ocho años, lo cual impactó negativamente en el deterioro neurológico y del comportamiento. La ausencia de un programa de tamizaje neonatal para diagnóstico de PKU lleva a que este tipo de trastornos metabólicos no sean detectados en etapas tempranas.

Cuando se diagnostica la PKU es importante conocer la mutación mediante estudio genético, ya que permite relacionar el genotipo (mutaciones del gen PAH) con el fenotipo (manifestaciones clínicas), para predecir la

gravedad de la enfermedad y el manejo óptimo. Determinando los pacientes que necesitan tratamiento dietario estricto, los que no lo necesitan tratamiento y los que ameritan ser tratados con BH4 (1,5). En países europeos, el paciente es hospitalizado para administrar una dosis de carga de BH4 20 mg/kg vía oral, se miden niveles basales de fenilalanina en sangre y a las 8, 16 y 24 horas después de administrar la carga. Si dentro de 8 horas se obtienen concentraciones normales indica deficiencia de BH4, mientras que poca o ninguna reducción indica fenilcetonuria que no responde al BH4 (3).

La tetrahidrobiopterina (BH4), cofactor natural de la PAH, actúa mayoritariamente haciendo que la enzima se pliegue correctamente. A dosis altas, consigue que algunas proteínas ligeramente mutadas puedan recobrar su función al recuperar una forma más adecuada. Sin embargo, cuando las mutaciones en la PAH son graves, la BH4 puede no ejercer su acción sobre ella. Por este motivo, algunos pacientes se les llaman respondedores a BH4 y a otros no respondedores (12).

Las verdaderas implicaciones sobre las correlaciones genotipo/fenotipo son varias (5). Primero, combinaciones de mutaciones que permitan <15% de la actividad enzimática in vitro, causan PKU clásica y no responden a BH4. Si permiten >20% de actividad enzimática residual responden a BH4 y tienen fenotipos leves a moderados. Segundo, mutaciones en el sitio de empalme pueden causar PKU clásica o leve. Tercero, combinaciones de mutaciones leves y clásicas, con actividad enzimática residual pueden tener diferentes fenotipos.

El tratamiento de la PKU consiste en restricción de Fen en la dieta, combinada con aminoácidos mixtos y suplementados con elementos trazas para prevenir las deficiencias nutricionales (7). Los pacientes con PKU clásica y leve deben iniciar el tratamiento dietético una vez se hace el diagnóstico, a aquellos con HFA leve se les debe hacer seguimiento, ya que no hay consenso sobre cuándo introducir la dieta, a menos que tengan algún compromiso neuropsicomotor (6).

El objetivo del régimen dietético es lograr concentraciones de fenilalanina sanguínea dentro de los niveles recomendados y promover el crecimiento y el desarrollo normales. La dieta se basa en recibir fórmulas libres de fenilalanina, evitar alimentos ricos en proteínas (huevos, pescados, carnes, la mayoría de los quesos, frutos secos y semillas) y alimentos y bebidas que contengan aspartame, (harina, soya, cerveza y crema de licor). Sin embargo, la fenilalanina es un aminoácido esencial y no puede ser excluido totalmente de la dieta. Por consiguiente, la ingesta apropiada diaria de fenilalanina es proporcionada por cantidades cuidadosamente medidas de alimentos naturales bajos en proteínas, como patatas, algunas verduras, y la mayoría de los cereales. La estrecha monitorización del cumplimiento y la adecuación nutricional del régimen dietético son esenciales para asegurar el crecimiento adecuado y para evitar carencias nutricionales (13).

CONCLUSIÓN

La prevalencia de PKU no es alta, sin embargo, sus repercusiones neurológicas pueden ser graves llevando a deterioro cognitivo. El tamizaje metabólico en etapa neonatal es primordial para su detección precoz, permitiendo iniciar de forma temprana el tratamiento dietético y evitar situaciones como la del caso presentado, donde la lesión neuronal es severa e irreversible. Un solo niño que se diagnostique en período neonatal justifica el programa ya que disminuiría la prevalencia de los trastornos neurológicos secundarios a la PKU.

CONFLICTOS DE INTERESES: ninguno que declarar.

FINANCIACIÓN: recursos propios de los autores. Estudios de laboratorio y honorarios profesionales fueron cubiertos dentro de la atención asistencial.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Coll M.J, Ribes A. Aportación de la genética molecular a los trastornos neurometabólicos hereditarios. *Rev Neurol.* 2002;35(2):149-153.
2. Fernández I, Tellería JJ, Alonso M, Palencia R, Durán M, López B, et al. Enfermedades autosómicas recesivas con retraso mental. *Rev Neurol.* 2006;42(Supl-1):S39-S43.
3. Blau N, van Spronsen FJ, Levy H. Phenylketonuria. *Lancet.* 2010; 376(9750):1417-1427.
4. 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:S86-S89.
5. Blau N, Hennermann JB, Langenbeck U, Lichter-Konecki U. Diagnosis, classification, and genetics of phenylketonuria and tetrahydrobiopterin (BH4) deficiencies. *Mol Genet Metab.* 2011;104:S2-S9.
6. Osmo G, Westphal I, Feferbaum R. Fenilcetonuria da restricao dietética a inclusao socioeconomic. *Rev Bras Nutr Clin.* 2008;23(2):104-10.
7. Gersting S, Kemter F, Staudigl M, Dunja D, Messing DD, Danecka MK, Florian B, Lagler FB, et al. Loss of Function in Phenylketonuria Is Caused by Impaired Molecular Motions and Conformational Instability. *A J HG.* 2008;83(1):5-17.
8. Scriver CH. The PAH Gene, Phenylketonuria and A Paradigm Shift. *Hum Mutat.* 2007;28(9):831-845.
9. Pelloc JM, Hrachovy R, Shinnar S, Borana TZ, Bettis D, Dlugas DJ, et al. Infantile spasms: a US consensus report. *Epilepsia.* 2010;51(10):2175-2189.
10. Hoeksma M, Reijngoud DJ, Pruim J, de Valk H, Pannas A, van Spronsen FJ. Phenylketonuria: High plasma phenylalanine decreases cerebral protein synthesis. *Mol Genet Metab.* 2009;96(4):177-182.
11. Demirkol M, Gizewska M, Giovannini M, Walter J. Follow up of phenylketonuria patients. *Mol Genet Metab.* 2011;104:S31-S39.
12. Trefz FK, Belanger-Quintana A. Sapropterin dihydrochloride: a new drug and a new concept in the management of phenylketonuria. *Drugs Today.* 2010; 46(8):589-600.
13. Acosta P, Michals K. Nutrition management of patients with inherited disorders of aromatic amino acid metabolism. En: Acosta P. *Nutrition Management of patients with inherited metabolic disorders*, 1st edition, Sudbury MA: Jones and Bartlett Publisher; 2010. p. 119-74.