

DEFICIENCIA DE FENILALANINA HIDROXILASA: ESPECTRO CLÍNICO Y ESTADO ACTUAL DEL DIAGNÓSTICO EN COLOMBIA

Natalia García Restrepo¹
Jorge Hernández G.²
María Laura Londoño³
Richard Muriel Ramírez⁴

RESUMEN

Las mutaciones del gen PAH generan deficiencia de la enzima fenilalanina hidroxilasa. Su actividad final varía desde una actividad casi nula o indetectable en la fenilcetonuria clásica hasta una actividad residual del 10 al 35% de la normal. Esta alteración corresponde al error innato del metabolismo de los aminoácidos más frecuente, afectando a 1 de cada 10.000 personas. Las diferentes cantidades de fenilalanina en sangre se traducen en un espectro amplio de manifestaciones clínicas que incluyen retraso global del desarrollo, discapacidad intelectual, convulsiones, rasgos autistas y comportamiento agresivo en los casos más graves. El diagnóstico temprano a través de los programas de tamizaje neonatal se considera prioritario pues las intervenciones oportunas evitan el daño del sistema nervioso central. Conclusiones: El diagnóstico en Colombia es tardío, las intervenciones realizadas a partir de ese momento son fútiles pues el deterioro cognitivo es irreparable, por lo tanto es imperativa la realización de pruebas diagnósticas tempranas cuando aún las intervenciones médicas pueden impactar la mejoría clínica del paciente con disminución importante de la morbilidad propia de esta patología, convirtiéndose en

una necesidad la ampliación del programa de tamizaje neonatal, el cual estaría amparado bajo la ley colombiana de enfermedades huérfanas.

Palabras clave: fenilalanina, fenilcetonuria, neonatal, metabolismo, deficiencia, aminoácidos, hidroxilasa, tamizaje, fenilalanina hidroxilasa, hiperfenilalaninemia.

PHENYLALANINE HYDROXYLASE DEFICIENCY: CLINICAL SPECTRUM AND CURRENT DIAGNOSIS IN COLOMBIA

ABSTRACT

Mutations in the PAH gene generate phenylalanine hydroxylase enzyme deficiency. Its final activity varies from almost null or undetectable in classical phenylketonuria to a residual activity of 10 to 35% of normal activity. This alteration corresponds to the innate more frequent error of the metabolism of the amino acids, affecting 1 of every 10,000 people. Different amounts of phenylalanine in blood translate into a broad spectrum of clinical manifestations including global developmental delay, intellectual disability, seizures, autistic

¹ Especialista en Genética Médica. Docente del Departamento Materno-Infantil, Universidad de Caldas. Manizales, Colombia. E-mail: natalia.garcia@ucaldas.edu.co ORCID: 0000-0003-0673-8500

² Estudiante de Medicina, Universidad de Caldas. Manizales, Colombia. E-mail: jorge.521214272@ucaldas.edu.co ORCID: 0000-0002-8274-1085

³ Estudiante de Medicina, Universidad de Caldas. Manizales, Colombia. E-mail: maria.521514333@ucaldas.edu.co ORCID: 0000-0002-0484-170X

⁴ Estudiante de Medicina, Universidad de Caldas. Manizales, Colombia. E-mail: richard.521211486@ucaldas.edu.co ORCID: 0000-0002-3071-3592

traits, and aggressive behavior in the most severe cases. Early diagnosis through neonatal screening programs is considered a priority because timely interventions avoid damage to the central nervous system. Conclusions: The diagnosis in Colombia is belated, the interventions made from that moment are futile because the cognitive deterioration is irreparable. Therefore, it is imperative to carry out early diagnostic tests when medical interventions can still impact the clinical

improvement of the patient with an important decrease of the morbidity characteristic of this pathology, making it necessary to expand the neonatal screening program which would be protected under the Colombian law of orphan diseases.

Key words: phenylalanine, phenylketonuria, neonatal, metabolism, deficiency, amino acids, hydroxylase, screening, phenylalanine hydroxylase, hyperphenylalaninemia.

INTRODUCCIÓN

La deficiencia de la enzima fenilalanina hidroxilasa (PAH; EC 1.14.16.1) (1,2) es un error congénito del metabolismo, causado por mutaciones en el gen PAH (OMIM: 612349) que se puede presentar con un patrón de herencia autosómico recesivo. Esta enzima convierte la fenilalanina (Phe) en tirosina (Tyr) (3,4) en presencia del cofactor BH_4 (tetrahidrobiopterina). Esta deficiencia causa intolerancia al consumo diario de fenilalanina, con aumento en sus niveles, ocasionando un espectro de manifestaciones clínicas que dependen precisamente del grado de alteración enzimática. La fenilcetonuria clásica (OMIM: 261600) (5) se define como el aumento de los valores de fenilalanina superiores a $1200 \mu\text{mol/L}$ (20 mg/dL). De igual manera, existen individuos afectados con valores de fenilalanina menores a $1200 \mu\text{mol/L}$ (20 mg/dL) pero mayores a $120 \mu\text{mol/L}$ clasificados actualmente como Hiperfenilalaninemia No Clásica (HPA, OMIM: 261600) (6,5). Las concentraciones elevadas de Phe son neurotóxicas (7). Si no es tratada, la fenilcetonuria tiene consecuencias graves como retraso global del desarrollo y discapacidad intelectual, acompañados por síntomas adicionales como eczema eritematoso, convulsiones, rasgos autistas y comportamiento agresivo, así como diversos

síntomas psiquiátricos que se presentan de manera progresiva con el crecimiento de la persona (8). Además, la fenilalanina juega un papel importante en la producción corporal de melanina, el pigmento responsable del color de la piel y del cabello. Por lo tanto, los niños con esta afección usualmente tienen un cutis, cabello y ojos más claros que sus padres u otros hermanos no afectados (9).

Estas alteraciones se pueden prevenir con la identificación temprana de las personas afectadas. Una de las estrategias utilizadas en diversos países para la identificación de estos pacientes es el tamizaje neonatal (TN), con esto aseguramos el tratamiento oportuno y por lo tanto la reducción significativa de las manifestaciones clínicas. En países en vías de desarrollo los programas ampliados de tamiz neonatal se convierten en una prioridad para el diagnóstico de errores congénitos del metabolismo susceptibles de tratamientos tempranos evitando todas las complicaciones (10-12).

METODOLOGÍA

Con el objetivo de establecer la importancia del tamizaje neonatal en nuestro país, se realizó una búsqueda de artículos publicados hasta abril de 2017 en las bases de datos

PubMed, Scopus, Embase, SciELO y Google Académico. Se usaron las combinaciones de términos: “deficiency phenylalanine”, “phenylketonuria”, “phenylalanine hydroxylase”, “hyperphenylalaninemia”. En algunos casos se buscaron de manera aislada Guías de práctica clínica o errores innatos del metabolismo. La búsqueda no tuvo un límite en cuanto a fecha de publicación debido a que se buscaba contar con la mayor cantidad de información disponible respecto al tema. El artículo más antiguo que se tiene es de enero de 1954, aunque debe aclararse que aproximadamente un 70% de la información es de 2010 en adelante. Se buscaron principalmente estudios originales y revisiones de tema, pero además se tuvieron en cuenta artículos sobre epidemiología local y latinoamericana.

EPIDEMIOLOGÍA

A pesar de que en la actualidad no se cuenta (13) con datos sobre la incidencia de esta enfermedad en América Latina son diversas las apreciaciones que existen. Una de las más aceptadas es la propuesta por Zerjav y cols., 2015, en esta se establece que si bien la fenilcetonuria corresponde al error innato del metabolismo de los aminoácidos más frecuente, afectando a 1 de cada 10.000 personas (14), la incidencia varía de manera trascendental entre una población y otra, favoreciendo la aparición y un peor pronóstico de la enfermedad en países en vías de desarrollo, esto explicado por el matrimonio entre familiares, en donde la consanguinidad parental y los antecedentes de poblamiento son factores de riesgo para patologías con patrón de herencia autosómico recesivo (15); y en donde los programas de tamizaje neonatal son precarios o inclusive inexistentes. Según estudios previos del Dr. Borrajo et al., 2012, la cobertura actual en gran parte de los países latinoamericanos en la tamización para PKU no supera el 10%, en Colombia realizan el tamizaje neonatal para PKU a demanda y solo desde el sector privado; la situación sigue siendo desconsoladora para algunos países como Haití

y El Salvador donde no se realiza tamizaje; en relación a las legislaciones, en la actualidad solo 7 países definen como obligatorio el tamizaje para PKU: Costa Rica, Chile, Argentina, Brasil, Uruguay, Panamá y Paraguay; esto explica por qué algunos de estos países presentan la menor morbilidad y mortalidad neonatal (16,17).

Además de los estudios del Dr. Borrajo, existen otros trabajos disponibles sobre la incidencia de fenilcetonuria en Latinoamérica. Tanto los estudios en población latinoamericana como los estudios en población europea mencionan la necesidad del diagnóstico precoz. Campistol et al., en estudios realizados en población española, reportaron incidencias similares que las encontradas en población latina, sin embargo consideramos que la incidencia de esta enfermedad en países europeos sea probablemente menor, dado que en muchos de estos países se cuenta con programas activos de tamización neonatal (18,19) Respecto a los estudios latinoamericanos, resulta dificultoso realizar conclusiones extrapolables para la población colombiana, dado que se ha encontrado presencia de sesgos poblacionales, no cobertura de población rural, origen étnico, entre otros. Lo reportado refleja la no inclusión o la precariedad de los programas de tamizaje neonatal (20,21).

FISIOPATOLOGÍA

El sistema de hidroxilación de la fenilalanina consta de dos enzimas, la fenilalanina hidroxilasa (PAH) y la dihidropterina reductasa, y un cofactor no proteico llamado tetrahidrobiopterina (BH4). La PAH cataliza la hidroxilación de fenilalanina convirtiéndola en tirosina y la BH4 se comporta como donador de electrones y se oxida convirtiéndose en dihidrobiopterina, esta se reduce de nuevo a BH4 a través de la dihidropterina reductasa. El sistema puede fallar si el defecto enzimático se encuentra en la PAH o en el cofactor. Si el defecto enzimático se encuentra en la PAH se afecta exclusivamente la hidroxilación hepática de la fenilalanina, dando

lugar a un aumento de la concentración de la fenilalanina en fluidos y tejidos, especialmente el tejido cerebral. Si la fenilalaninemia es superior a 600 micromoles/L (> 10 mg/dl) se produce daño cerebral y apoptosis neuronal, que es mayor cuanto mayor es la concentración de fenilalanina, condicionando un fenotipo de retraso mental grave. El bloqueo enzimático de la PAH hace que se tomen caminos metabólicos alternos con producción excesiva de metabolitos como los ácidos fenil-acético, fenilpirúvico y fenil-láctico. La acumulación del fenil-acético produce el olor a moho característico de la mayoría de los pacientes no tratados y también están asociados con neurotoxicidad.

Aún no se tiene claridad sobre cómo se produce el daño neurológico severo en esta enfermedad, se cree que los responsables son la fenilalanina y sus metabolitos (22). Esto se debe a que comparten el mismo sistema de transporte que otros aminoácidos neutros, dificultando el paso de los mismos por la barrera hematoencefálica y las membranas celulares (23). Aquí se presenta la revisión de algunas hipótesis:

Estrés oxidativo

Podríamos definir el daño oxidativo como un desbalance entre la producción de especies reactivas de oxígeno y la disminución de los antioxidantes. Las especies reactivas de oxígeno son metabolitos fisiológicos, pero en ciertos estados patológicos su producción se incrementa; se producen principalmente en la mitocondria al ser esta la que más oxígeno consume, aproximadamente 90%. Las especies reactivas de oxígeno producen daños al reaccionar con cualquier biomolécula y causar daños en proteínas, lípidos y ADN a través de la alteración de su estructura, en el caso del ADN uniéndose a las bases púricas y pirimidínicas. El principal sistema enzimático de defensa antioxidante está compuesto por cuatro enzimas: superóxido dismutasa, glutatión peroxidasa, glutatión reductasa y catalasa. Además, hay compuestos como algunas vitaminas (E, A, C,

β-caroteno y carotenoides), metales (selenio, manganeso, zinc, cobre, hierro), proteínas transportadoras (ceruloplasmina, ferritina) y otras biomoléculas (glutatión, ubiquinona, ácido úrico) (24). El tejido cerebral es más susceptible al daño oxidativo debido a su alto consumo de oxígeno, las altas concentraciones de hierro, la presencia de aminoácidos excitatorios, el metabolismo de la dopamina que usualmente genera peróxido de hidrógeno y el bajo nivel de defensas antioxidantes (25,26). El daño oxidativo se mide por la formación de carbonilo y la oxidación de sulfhidrilo, que están muy altos en estos pacientes debido a que los radicales libres inducen en las proteínas la formación de grupos carbonilo y la medición de la oxidación de los grupos permite determinar el grado de estrés oxidativo debido a que los grupos sulfhidrilo de las proteínas son en su mayoría responsables de los efectos antioxidantes (27,28). También, se ha encontrado en estos pacientes una disminución en la actividad de la enzima glutatión peroxidasa que requiere de la presencia de selenocisteína y glutatión para activarse, tanto el selenio como el glutatión se ven disminuidos en la fenilcetonuria. La selenocisteína procede de la selenometionina, la metionina tiene transporte intra-eritrocitario común a la fenilalanina, que podría generar concentraciones subóptimas de metionina para la síntesis de selenocisteína (29,30). También, se ha observado que el decrecimiento del glutatión está asociado al bloqueo o inhibición que produce la fenilalanina en el sistema de transporte de los aminoácidos glicina y cisteína, necesarios para la producción de glutatión. El glutatión tiene funciones de detoxificación y sirve como almacenamiento y transporte de cisteína, es esencial para la proliferación celular y tiene un papel importante en la apoptosis, ya que la disminución de la cantidad de glutatión es permisiva para la activación de caspasas y la progresión de los mecanismos de apoptosis, en el cerebro se comporta como neuro-hormona y se ha observado que la deficiencia del mismo está asociada a menor supervivencia de neuronas dopaminérgicas (31). En cuanto a otras defensas antioxidantes no enzimáticas,

se ha observado disminución en los niveles de selenio, alfa tocoferol y ácido úrico (32,33). Otra causa de daño significativo en los tejidos es la disminución de ubiquinona-10 debido a que la fenilalanina puede inhibir la acción de la enzima 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA reductasa encargada no solo de la síntesis de colesterol sino también de ubiquinona-10 antioxidante lipofílico que previene la peroxidación de lípidos y desempeña un papel clave en la protección de las membranas biológicas, además ayuda a reciclar un antioxidante natural: la vitamina E (34-36).

Metabolismo de neurotransmisores

Dentro del metabolismo de las catecolaminas es importante destacar la transformación de noradrenalina en adrenalina, en este cambio participa la enzima feniletanolamina N-metil transferasa; se ha observado que un incremento en las concentraciones de fenilalanina podrían inhibir la actividad de esta enzima. Dicha inhibición se ha relacionado con disminución en las concentraciones de adrenalina. En bioensayos realizados por Landvogt y Pascucci encontramos deficiencia en otros neurotransmisores como dopamina, serotonina y norepinefrina (37-39), esto explicado por la disminución de aminoácidos neutros, como la valina, la leucina, la isoleucina, el triptófano y la histidina necesarios para la fabricación de estas catecolaminas; dichos aminoácidos comparten este sistema de transporte conocido como transportador de aminoácidos neutros 1 (LAT1), el cual presenta mayor afinidad por la fenilalanina. La fenilalanina y sus metabolitos son inhibidores competitivos de las enzimas triptófano y tirosina hidroxilasa necesarios para la fabricación de neurotransmisores, además inhiben otras enzimas como la hidroxitriptófano descarboxilasa o dopa descarboxilasa que también son necesarias en el metabolismo de estos neurotransmisores. La deficiencia de estos neurotransmisores se ha asociado con cambios en la sustancia blanca y parkinsonismo, esto probablemente secundario al déficit de serotonina (36,40).

Síntesis de proteínas

El bloqueo en el transportador de aminoácidos neutros por parte de la fenilalanina influye negativamente en la síntesis de proteínas, pues no se encuentran en suficiente cantidad los aminoácidos necesarios para la fabricación de las mismas (41). Se han encontrado bajos niveles de IgG e IgA en estos pacientes así como una disminución en la producción de enzimas antioxidantes y esto a su vez se relaciona con un mayor estrés oxidativo celular, y por ende una menor producción de proteínas (42). Los estudios de imagen han descrito cambios en la sustancia blanca asociados con la reducción de formación de mielina.

Metabolismo de los lípidos

La fenilcetonuria altera el metabolismo de los lípidos porque, como se dijo anteriormente, la fenilalanina tiene la capacidad de inhibir la HGM-CoA reductasa por lo que en pacientes con PKU se han visto disminuidos los niveles de colesterol en sangre de HDL y LDL así como de apoproteínas A-I, A-II y B (43,44). Estos pacientes también presentan niveles muy bajos de otros lípidos o derivados lipídicos de nuestro organismo como los eicosanoides y el ácido araquidónico (45,46).

Metabolismo energético en PKU

Dentro del metabolismo energético es importante destacar la disminución de los complejos mitocondriales I-III, explicada por la inhibición de la actividad de la enzima succinato deshidrogenasa, generando una reducción significativa en el desempeño energético celular (47). Estudios en modelos murinos han encontrado alteración en la creatina cinasa cerebral, lo cual extrapolado a seres humanos podría explicar algunas de las alteraciones cognitivas encontradas en pacientes con PKU (48). La fenilalanina y sus metabolitos también intervienen en el metabolismo de los cuerpos cetónicos, inhibiendo enzimas como la

3-hidroxi- butirato-deshidrogenasa y la 3-oxo-ácido-CoA transferasa (49). Se ha observado que los iones como el zinc, el hierro y el magnesio, claves en el metabolismo enzimático por su acción regulatoria, están alterados en pacientes con PKU; estas son algunas de las hipótesis que explican el porqué de las alteraciones metabólicas en pacientes con PKU (50).

Homeostasis del calcio

Revisiones actuales han encontrado que la fenilalanina puede alterar el calcio intracelular, alterando la actividad de la enzima calcio ATPasa en las neuronas, razón por la cual en estos pacientes se han encontrado niveles incrementados de dihidroxicolecalciferol, paratohormona (PTH) y osteocalcina, sin embargo resulta llamativo que en las mediciones de calcitonina, esta se ha encontrado disminuida postulando una contrarregulación negativa como posible explicación (51). Como es de esperarse, la elevación de estas hormonas produce a su vez disminución en la densidad ósea, debido a que las mismas aumentan el calcio sérico (52). Se ha encontrado que el calcio podría estar relacionado además con la patología neurológica asociada a la fenilcetonuria o PKU (53).

CLASIFICACIÓN

La deficiencia de fenilalanina hidroxilasa (PAH) se subdivide en las siguientes categorías según la concentración de fenilalanina en sangre, teniendo en cuenta que la normal es de 60 micromoles/L (1 mg/dl) y que hablamos de hiperfenilalaninemia con concentraciones mayores a 150 micromoles/L o 2,5 mg/dl, también se tiene en cuenta la tolerancia o cantidad de fenilalanina que tolera el paciente (54):

Fenilcetonuria clásica

Deficiencia completa de PAH, concentraciones plasmáticas de fenilalanina > 1200 μ mol/L y una

tolerancia dietaria de fenilalanina < 350 mg/día, siempre asociada a trastorno del desarrollo intelectual si no se trata.

Hiperfenilalaninemia no clásica

Que se divide a su vez en variantes moderadas y leves, moderadas entre 600 y 1200 micromoles/L y tolerancia entre 350 y 400 mg/día de fenilalanina. La variante leve que está comprendida entre 360 y 600 micromoles/L y una tolerancia de 600 a 400 mg/día, en ambas la actividad residual de la enzima es inferior al 10% de la normal por lo que no requieren tratamiento.

MANIFESTACIONES CLÍNICAS

La principal característica clínica observada en pacientes no tratados corresponde al retardo en el desarrollo psicomotor en los niños, y en el caso de los pacientes de mayor edad una discapacidad intelectual franca (55-57), debido a que la fisiopatología de la enfermedad está dada por el acúmulo de metabolitos tóxicos secundario a la ingesta de fenilalanina, las manifestaciones clínicas tardan en presentarse por lo cual los pacientes durante sus primeros meses de vida pueden cursar asintomáticos o con manifestaciones clínicas inespecíficas, presentando indicios de la enfermedad entre los 4 y 8 meses. Es muy frecuente que presenten vómito secundario a la neurotoxicidad e irritabilidad, algunos presentan crisis convulsivas generalizadas tónico-clónicas o mioclónicas. Hay hiperactividad, episodios de agresividad y conductas del espectro autista, se ha observado temblor secundario a la disminución de producción de neurotransmisores como dopamina (58-60). Son comunes los signos de compromiso de la neurona motora superior como lo es el aumento del tono muscular con mayor predominio en miembros inferiores, la hiperreflexia y signo de Babinski positivo. Todos secundarios a las alteraciones en la sustancia blanca y el metabolismo de los neurotransmisores (61,62).

Se presenta eczema, los pacientes suelen tener ojos azules y cabello claro debido a la inhibición de la enzima tirosinasa, responsable de la producción de melanina (63), pero estas características no son específicas pues con los años el cabello tiende a tomar un color oscuro, suelen tener un olor a “ratón” debido a la excreción de ácido fenil-acético (64).

Lo más importante es realizar un diagnóstico oportuno a partir del tamizaje metabólico neonatal (65).

Deficiencia de fenilalanina hidroxilasa (PAH) y embarazo (6)

La exposición del feto a niveles elevados de fenilalanina en una materna con deficiencia de fenilalanina hidroxilasa (PAH) trae consecuencias en el desarrollo prenatal, ya que la fenilalanina tiene efectos teratogénicos (66,67).

Afectación en el desarrollo	Porcentaje de afectación
Trastorno del desarrollo intelectual	Mayor al 90%
Microcefalia	Entre 5-18%
Cardiopatías congénitas	12%

Fuente: Koch et al. (68).

El síndrome fetal de hiperfenilalaninemia materna se debe sospechar en madres con fenilcetonuria ya diagnosticada, madres con discapacidad intelectual o inteligencia límite sin diagnóstico, y/o en aquellas que sin tener discapacidad intelectual, tengan o hayan tenido abortos a repetición, hijos previos con microcefalia desde el nacimiento con o sin discapacidad intelectual, cardiopatías y malformaciones renales (69).

DIAGNÓSTICO

Cribado neonatal de la hiperfenilalaninemia

El análisis de inhibición bacteriana de Guthrie era el método más utilizado. Sin embargo, actualmente se cuenta con otros métodos. El método de elección es la espectrometría de masas en tándem usado en el tamiz neonatal ampliado (TNA), este se realiza con una gota de sangre depositada en papel filtro, obteniendo simultáneamente el perfil de 11 aminoácidos (AA), incluida la fenilalanina y 33 acilcarnitinas

(AC). Así que se tiene capacidad de análisis de múltiples compuestos de manera simultánea, con un alto grado de sensibilidad en muy poco tiempo (70). De esta manera, el diagnóstico temprano permite el inicio del manejo, evitando las complicaciones.

Individuos sin cribado neonatal

El diagnóstico bioquímico de la fenilcetonuria se realiza al encontrar concentraciones séricas de fenilalanina por encima de 120 $\mu\text{mol/L}$ (2 mg/dl) (66), una relación alterada fenilalanina/tirosina y niveles normales del cofactor BH_4 (tetrahidrobiopterina). Son de utilidad los metabolitos excretados en orina de la fenilalanina (ácido fenilpirúvico y/o hidroxifenilacético). El ideal del diagnóstico e inicio de tratamiento en estos casos es antes de los dos años.

El diagnóstico molecular se realiza mediante la secuenciación completa del gen PAH (OMIM-*612349), ubicado en 12q23.2 y el hallazgo de variantes patogénicas bialélicas en dicho gen (71)

Estado del diagnóstico de fenilcetonuria clásica e hiperfenilalaninemia en Colombia

En la guía de práctica clínica para la detección de anomalías congénitas en el recién nacido, emanada del Ministerio de Salud y Protección Social, se sugiere la tamización universal, la cual incluye: hipotiroidismo congénito, hiperplasia suprarrenal congénita, deficiencia de biotinidasa, fenilcetonuria, galactosemia, deficiencia de acilCoA deshidrogenasa de cadena media (MCAD), acidurias orgánicas (acidemia propiónica y acidemia metilmalónica) (72).

Actualmente solo se realizan estudios de Tamiz Neonatal para Hipotiroidismo Congénito (73), y la ampliación del programa a los errores innatos del metabolismo apenas está comenzando.

El proyecto piloto para MS/MS para el año 2014 había analizado 2.381 muestras de recién nacidos en hospitales de Huila, Cauca, Atlántico y Risaralda, con intervalos de confianza (IC) de 95% para 43 analitos distintos que comprenden aminoácidos, carnitinas trazadoras de ácidos orgánicos y carnitinas trazadoras de ácidos grasos (74).

En Colombia el tamizaje lo realiza el sector privado a demanda; los datos en Latinoamérica, recogidos a partir de los programas de TN en los países que realizan dichos tamizajes, muestran una incidencia entre 1: 23,518 y 1: 20,759, respectivamente (13). Según el estimativo de la frecuencia de enfermedades genéticas según su patrón de herencia, frecuencia de aparición de la enfermedad por cada 10.000 nacimientos y proyección quinquenal de casos en Colombia en el periodo 1996-2025, según proyecciones de la población colombiana en el mismo periodo (75), en Colombia hay aproximadamente un caso de fenilcetonuria por cada 10.000 nacimientos, con una proyección por quinquenios así: 1996-2000: 466 casos, 2001-2005: 472 casos, 2006-2010: 481 casos, 2011-2015: 489 casos, 2016-2020: 508 casos, 2021-2025: 515 casos y un acumulado de 2931 casos.

En una supuesta implementación de un programa de tamizaje neonatal universal mediante espectrometría de masas en tándem para errores innatos del metabolismo en Colombia, al tamizar anualmente 518.400 neonatos, se podrían detectar unos 50 casos a un costo aproximado de \$330 millones por caso correctamente detectado. (76).

La Ley 1392 de 2010, ley de enfermedades huérfanas, sustenta jurídicamente al programa de tamización neonatal ampliado, ya que por ahora solo se realiza tamizaje para hipotiroidismo congénito; según los valores epidemiológicos aceptados para la fenilcetonuria en Colombia, esta enfermedad debe ser cobijada por la ley, con la implementación de acciones para su atención, debiendo ser la detección temprana del trastorno el pilar de todas estas medidas (77).

DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL

El principal diagnóstico diferencial de la deficiencia de fenilalanina hidroxilasa (PAH) es la deficiencia del cofactor BH_4 (tetrahidrobiopterina - OMIM: 261640), ya que este cofactor participa en la hidroxilación de la fenilalanina, la tirosina y el triptófano y también ocasiona elevación de la fenilalanina, pero solo en el 2% de los casos. Sin embargo, las complicaciones reportadas son las mismas que para la fenilcetonuria clásica, y por lo tanto el tratamiento debe instaurarse rápidamente, con la suplementación del cofactor (78).

TRATAMIENTO

En nuestro medio uno de los mayores problemas que existe con el tratamiento de la fenilcetonuria es la carga económica que presenta para el sistema de salud, debido a los altos costos de los suplementos dietéticos (79,80).

Fenilcetonuria clásica (81)

En pacientes con fenilcetonuria clásica o severa la restricción dietaría de fenilalanina sigue

siendo el pilar fundamental, planteamiento introducido en 1953 por Bickel y cols. (82). Según este planteamiento, las restricciones deben realizarse de acuerdo a la edad del individuo, buscando conservar niveles de fenilalanina entre 120 $\mu\text{mol/L}$ y 360 $\mu\text{mol/L}$ (83). Este tratamiento debe iniciarse desde el periodo neonatal y podrá ser modificado a través de la vida; es importante mencionar que, debido a la restricción severa de proteínas en estos pacientes, deben complementarse con sustitutos de aminoácidos esenciales; el 90% de la fenilalanina se convierte en tirosina, por lo que es fundamental suplementar a estos pacientes con tirosina; Williamson y cols., en estudios en niños y adultos, demostraron que la suplementación continua mejora el rendimiento escolar en niños y disminución significativa en conductas psicosociales en adultos (84).

Farmacoterapia

Tetrahydrobiopterina (BH4) es un cofactor de la fenilalanina hidroxilasa; la saproterina es una forma sintética de la BH4 que ha sido usada como opción o en conjunto con los cambios en la dieta para el tratamiento de la fenilcetonuria. Entre un 25 a 50% de pacientes con fenilcetonuria responden al tratamiento con saproterina, en su mayoría pacientes con formas leves de la enfermedad, pero también se ha reportado respuesta en pacientes con deficiencia total de la fenilalanina hidroxilasa.

Los estudios han reportado capacidad de la saproterina para disminuir los niveles de fenilalanina en sangre hasta un 30% y no se han reportado reacciones adversas importantes. Sin embargo, muchas publicaciones europeas reportan la necesidad de hacer más estudios en cuanto a la efectividad de la BH4 (85–89).

El tratamiento usualmente consta de dosis diarias entre 5-20 mg/kg, siendo la dosis de 20 mg/kg la más usada para inicio y mantenimiento. La respuesta al tratamiento se determina obteniendo los niveles de Phe en sangre el día

del inicio del tratamiento, luego a las 24 horas, a la semana, dos semanas e incluso hasta las cuatro semanas. En la literatura se cita continuamente 30% de descenso en los niveles de Phe en sangre como el punto de corte para hablar de una reducción efectiva, pero el juicio clínico debe dictar si el tratamiento ha resultado beneficioso; la mejoría de los síntomas neuropsiquiátricos o el incremento a la tolerancia de más Phe en la dieta a pesar de que no haya disminución en los niveles sanguíneos, es justificación suficiente para seguir el tratamiento (90).

Los aminoácidos neutros largos (LNAA) se han propuesto como terapia por su habilidad para bloquear la captación de Phe del intestino y en la barrera hematoencefálica. Un estudio demostró la reducción de Phe en sangre del 40% con el consumo de alimentos formulados suplementados con LNAA a dosis de 0,5 o 1,0 g/kg (91), sin embargo son necesarios más estudios.

La fenilalanina amoniaco liasa conjugada con polietilenglicol (PEG-PAL), alcanzó la fase III en 2013, parece ser efectiva en disminuir los niveles de Phe en sangre, aun en pacientes sin dieta restrictiva. Su administración es mediante una inyección subcutánea diaria, metaboliza el Phe por una vía independiente de la fenilalanina hidroxilasa, por lo que teóricamente sería útil en cualquier paciente con deficiencia de esta enzima (92).

Hiperfenilalaninemia no clásica: si los niveles son mayores a 600 $\mu\text{mol/L}$ se recomienda seguimiento neurológico sin restricción dietaria.

Mujeres embarazadas con fenilcetonuria clásica o hiperfenilalaninemia no clásica (93,94): Cualquier elevación de la fenilalanina durante el embarazo puede producir efectos teratogénicos (95).

Preconcepcionalmente (3 meses previos) se deben tener niveles de fenilalanina menores a 360 $\mu\text{mol/L}$; una vez embarazada se deben

mantener niveles entre 120 y 360 $\mu\text{mol/L}$, con una restricción dietaria controlada (96,97).

Duración del tratamiento

Existe fuerte evidencia de que apoya el tratamiento y el mantenimiento del control metabólico de por vida con el fin de obtener un funcionamiento óptimo en los pacientes con deficiencia en la fenilalanina hidroxilasa.

A pesar de que la discapacidad intelectual no se presenta en pacientes que son bien manejados durante su infancia y adolescencia, existen alteraciones neuro-cognitivas como alteración en las funciones ejecutivas y psiquiátricas como ansiedad, depresión y fobias que se pueden presentar posteriormente si no se persiste el control estricto de la Phe. Alteraciones que pueden resultar discapacitantes, resultando incluso en dificultades para la adherencia al tratamiento pues para esto es necesario planear y organizar, tareas que dependen de las funciones ejecutivas (98).

CONCLUSIONES

La deficiencia de fenilalanina hidroxilasa (PAH) corresponde al error congénito del metabolismo más frecuente, dado que el tamizaje solo se realiza en países desarrollados y que el diagnóstico inicial en nuestro medio es clínico. Conocer e identificar las manifestaciones clínicas resulta fundamental para el personal de la salud en nuestro medio, tratando de evitar el diagnóstico tardío cuando el deterioro cognitivo

es irreparable y es poco lo que se puede ofrecer frente a las complicaciones secundarias a la enfermedad. Por otro lado, en nuestro medio se necesitan más estudios que permitan identificar los pacientes de una forma adecuada y así determinar las tasas de incidencia real, que hasta el momento no han sido establecidas. Lo que a futuro conducirá a tomar medidas activas tendientes a mejorar la calidad de vida de los pacientes. Frente a este dilema, el programa de tamizaje neonatal ampliado se presenta como fuerte candidato para brindar capacidad al equipo médico de hacer diagnósticos tempranos –cuando aún son útiles las intervenciones médicas– no solo para la fenilketonuria, sino también para muchos de los errores congénitos del metabolismo más comunes en nuestro medio. Se han realizado estudios, como el citado en esta revisión,, (13) en donde se habla del panorama económico para la implementación de este tipo de programas y amparados por la ley colombiana de enfermedades huérfanas se debe llevar a cabo prontamente la instauración de un programa con estas características, o por lo menos es lo que se busca recomendar con la revisión de la bibliografía actual. Es importante anotar que, ante un eventual programa con estas características que permita hacer diagnósticos oportunos, también se hace necesario que se garantice el acceso a los tratamientos disponibles para la fenilketonuria y los demás que sean propios para disminuir la morbilidad de la enfermedad, pues de nada valdría el diagnóstico temprano si no se pueden llevar a cabo acciones terapéuticas, pilar fundamental para el pronóstico.

REFERENCIAS

1. Becerra C. Hipotiroidismo congénito y fenilcetonuria en el niño. *Rev Chil Pediatr*. 2008;79:96-102.
2. ENZYME entry 1.14.16.1.
3. Babaoğlu Aydaş S, Şirin S, Aslim B. Biochemical analysis of *Centaurea depressa* phenylalanine ammonia lyase (PAL) for biotechnological applications in phenylketonuria (PKU). *Pharm Biol*. 2016;54(12):2838-2884.
4. Al Hafid N, Christodoulou J. Phenylketonuria: a review of current and future treatments. *Transl Pediatr*. 2015;4(4):304-17.
5. Flydal MI, Martinez A. Phenylalanine Hydroxylase: Function, Structure, and regulation. *IUBMB*. 2013;64:341-9.
6. Patel D, Kopec J, Fitzpatrick F, McCorvie TJ, Yue WW. Structural basis for ligand-dependent dimerization of phenylalanine hydroxylase regulatory domain. *Sci Rep*. 2016;6:23748. doi: 10.1038/srep23748.
7. OMIM Entry - # 261600 - Phenylketonuria; PKU.
8. Vockley J, Andersson HC, Antshel KM, Braverman NE, Burton BK, Frazier DM, et al. Phenylalanine hydroxylase deficiency: diagnosis and management guideline. *Genet Med*. 2014;16(2):188-200.
9. Cleary M, Trefz F, Muntau AC, Feillet F, van Spronsen FJ, Burlina A, et al. Fluctuations in phenylalanine concentrations in phenylketonuria: A review of possible relationships with outcomes. *Mol Genet Metab*. 2013;10(4):418-423.
10. White DA, Waisbren S, van Spronsen FJ. Final commentary: A new chapter. *Mol Genet Metab*. 2010;99:S106-7.
11. Otręba M, Buszman E, Miliński M, Wrześniok D. [Hypomelanoses transmitted from generation to generation]. *Postpy Hig Med Dośw Online*. 2014;68:1081-1090.
12. Pereda-Torales L, Calcáneo-García JA, Enríquez-Torrecilla R, Badillo-Báez EM, Soler-Huerta E. Identificación de un caso de fenilcetonuria a través del tamizaje neonatal. *Bol Méd Hosp Infant México*. 2008;65(4):290-296.
13. Vela-Amieva M, Ibarra-González I, Belmont-Martínez L. Tamiz neonatal y fenilcetonuria. *Acta Pediátrica México*. 2014;33(6):271.
14. Lemes A, Queijo C, Garlo P, Machado M, Queiruga G. Pesquisa neonatal. *Arch Pediatr Urug*. 2012;83(1):40-44.
15. Borrajo GJ. Panorama epidemiológico de la fenilcetonuria (PKU) en Latinoamérica. *Acta Pediatr Mex*. 2012;33:279-287.
16. Aldámiz-Echevarría L, Llarena M, Bueno MA, Dalmau J, Vitoria I, Fernández-Marmiesse A, et al. Molecular epidemiology, genotype-phenotype correlation and BH4 responsiveness in Spanish patients with phenylketonuria. *J Hum Genet*. 2016;61(8):731-744.
17. González-Andrade F, López R, Aguinaga G, Echeverría S, Guerrón A, Fuenmayor G. Diagnóstico y tratamiento nutricional del paciente pediátrico y adolescente con fenilcetonuria. *Guía de Práctica Clínica (GPC)*. Quito: Ministerio de Salud Pública del Ecuador; 2013.
18. Borrajo GJC. Newborn screening in Latin America at the beginning of the 21st century. *J Inher Metab Dis*. 2007;30(4):466-481.
19. Comisión Económica para América Latina y el Caribe. Protección social para la infancia y la adolescencia en Chile. Serie Políticas sociales N°108
20. Campistol J, González MJ, Gutiérrez AP, Vilaseca MA. Tratamiento y control de los pacientes con fenilcetonuria: resultados del Grupo Colaborativo de Unidades de Seguimiento en España. *Med Clínica*. 2012;138(5):185-191.

21. Lindner M, Gramer G, Haege G, Fang-Hoffmann J, Schwab KO, Tacke U, et al. Efficacy and outcome of expanded newborn screening for metabolic diseases - Report of 10 years from South-West Germany. *Orphanet J Rare Dis.* 2011;6:44.
22. Galán-Rodas E, Dueñas M, Obando S, Saborio M. Tamizaje neonatal en el Perú: ¿hacia dónde vamos? *Rev Peru Med Exp Salud Pública.* 2014;30(4).
23. De Céspedes C, Saborío M, Trejos R, Casco T. Prevención de retardo mental y otras discapacidades por tamizaje neonatal masivo en Costa Rica. Madrid: Real Patronato Sobre Discapacidad; 2003.
24. Blau N, van Spronsen FJ, Levy HL. Phenylketonuria. *Lancet Lond Engl.* 2010;376(9750):1417-27.
25. Schuck PF, Malgarin F, Cararo JH, Cardoso F, Streck EL, Costa G. Phenylketonuria Pathophysiology: on the Role of Metabolic Alterations. *Aging Dis.* 2015;6(5):390-399.
26. Vargas CR, Wajner M, Sitta A. Oxidative stress in phenylketonuric patients. *Mol Genet Metab.* 2011;104(Suppl):S97-99.
27. Fernandes CG, Leipnitz G, Seminotti B, Amaral AU, Zanatta A, Vargas CR, et al. Experimental evidence that phenylalanine provokes oxidative stress in hippocampus and cerebral cortex of developing rats. *Cell Mol Neurobiol.* 2010;30(2):317-326.
28. Mc Guire PJ, Parikh A, Diaz GA. Profiling of Oxidative Stress in Patients with Inborn Errors of Metabolism. *Mol Genet Metab.* 2009;98(1-2):173-80.
29. Bar-Or D, Bar-Or R, Rael LT, Brody EN. Oxidative stress in severe acute illness. *Redox Biol.* 2015;4:340-5.
30. Sitta A, Barschak AG, Deon M, Barden AT, Biancini GB, Vargas PR, et al. Effect of short- and long-term exposition to high phenylalanine blood levels on oxidative damage in phenylketonuric patients. *Int J Dev Neurosci Off J Int Soc Dev Neurosci.* 2009;27(3):243-247.
31. Sierra C, Vilaseca MA, Moyano D, Brandi N, Campistol J, Lambruschini N, et al. Antioxidant status in hyperphenylalaninemia. *Clin Chim Acta.* 1998;276(1):1-9.
32. Veyrat-Durebex C, Debeissat C, Blasco H, Patin F, Henique H, Emond P, et al. Hyperphenylalaninemia Correlated with Global Decrease of Antioxidant Genes Expression in White Blood Cells of Adult Patients with Phenylketonuria. *JIMD Rep.* 2017. doi: 10.1007/8904_2017_16.
33. Sirtori LR, Dutra-Filho CS, Fitarelli D, Sitta A, Haeser A, Barschak AG, et al. Oxidative stress in patients with phenylketonuria. *Biochim Biophys Acta.* 2005;1740(1):68-73.
34. Van Bakel MM, Printzen G, Wermuth B, Wiesmann UN. Antioxidant and thyroid hormone status in selenium-deficient phenylketonuric and hyperphenylalaninemic patients. *Am J Clin Nutr.* 2000;72(4):976-981.
35. Wilke BC, Vidailhet M, Favier A, Guillemin C, Ducros V, Arnaud J, et al. Selenium, glutathione peroxidase (GSH-Px) and lipid peroxidation products before and after selenium supplementation. *Clin Chim Acta Int J Clin Chem.* 1992;207(1-2):137-142.
36. Artuch R, Vilaseca MA, Moreno J, Lambruschini N, Cambra FJ, Campistol J. Decreased serum ubiquinone-10 concentrations in phenylketonuria. *Am J Clin Nutr.* 1999;70(5):892-895.
37. Castillo M, Zafra MF, Garcia-Peregrin E. Inhibition of brain and liver 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase and mevalonate-5-pyrophosphate decarboxylase in experimental hyperphenylalaninemia. *Neurochem Res.* 1988;13(6):551-555.
38. 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(10):956-961.
39. Pascucci T, Ventura R, Puglisi-Allegra S, Cabib S. Deficits in brain serotonin synthesis in a genetic mouse model of phenylketonuria. *Neuroreport.* 2002;13(18):2561-4.
40. Landvogt C, Mengel E, Bartenstein P, Buchholz HG, Schreckenberger M, Siessmeier T, et al. Reduced cerebral fluoro-L-dopamine uptake in adult patients suffering from phenylketonuria. *J Cereb Blood Flow Metab Off J Int Soc Cereb Blood Flow Metab.* 2008;28(4):824-831.

41. Puglisi-Allegra S, Cabib S, Pascucci T, Ventura R, Cali F, Romano V. Dramatic brain aminergic deficit in a genetic mouse model of phenylketonuria. *Neuroreport*. 2000;11(6):1361-4.
42. Pietz J, Kreis R, Rupp A, Mayatepek E, Rating D, Boesch C, et al. Large neutral amino acids block phenylalanine transport into brain tissue in patients with phenylketonuria. *J Clin Invest*. 1999;103(8):1169-78.
43. De Groot MJ, Sijens PE, Reijngoud D-J, Paans AM, van Spronsen FJ. Phenylketonuria: brain phenylalanine concentrations relate inversely to cerebral protein synthesis. *J Cereb Blood Flow Metab Off J Int Soc Cereb Blood Flow Metab*. 2015;35(2):200-205.
44. Hoeksma M, Reijngoud D-J, Pruim J, de Valk HW, Paans AMJ, van Spronsen FJ. Phenylketonuria: High plasma phenylalanine decreases cerebral protein synthesis. *Mol Genet Metab*. 2009;96(4):177-182.
45. Nagasaka H, Tsukahara H, Okano Y, Hirano K, Sakurai T, Hui S-P, et al. Changes of lipoproteins in phenylalanine hydroxylase-deficient children during the first year of life. *Clin Chim Acta Int J Clin Chem*. 2014;433:1-4.
46. Shefer S, Tint GS, Jean-Guillaume D, Daikhin E, Kendler A, Nguyen LB, 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(5):549-563.
47. Giovannini M, Verduci E, Radaelli G, Lammardo A, Minghetti D, Cagnoli G, et al. Long-chain polyunsaturated fatty acids profile in plasma phospholipids of hyperphenylalaninemic children on unrestricted diet. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*. 2011;84(1-2):39-42.
48. Infante JP, Huszagh VA. Impaired arachidonic (20:4n-6) and docosahexaenoic (22:6n-3) acid synthesis by phenylalanine metabolites as etiological factors in the neuropathology of phenylketonuria. *Mol Genet Metab*. 2001;72(3):185-198.
49. Rech VC, Feksa LR, Dutra-Filho CS, Wyse AT, Wajner M, Wannmacher CMD. Inhibition of the mitochondrial respiratory chain by phenylalanine in rat cerebral cortex. *Neurochem Res*. 2002;27(5):353-357.
50. Costabeber E, Kessler A, Severo Dutra-Filho C, de Souza Wyse AT, Wajner M, Wannmacher CMD. Hyperphenylalaninemia reduces creatine kinase activity in the cerebral cortex of rats. *Int J Dev Neurosci Off J Int Soc Dev Neurosci*. 2003;21(2):111-116.
51. Benavides J, Gimenez C, Valdivieso F, Mayor F. Effect of phenylalanine metabolites on the activities of enzymes of ketone-body utilization in brain of suckling rats. *Biochem J*. 1976;160(2):217-222.
52. Brown DA, Cook RA. Role of metal cofactors in enzyme regulation. Differences in the regulatory properties of the *Escherichia coli* nicotinamide adenine dinucleotide phosphate specific malic enzyme, depending on whether magnesium ion or manganese ion serves as divalent cation. *Biochemistry (Mosc)*. 1981;20(9):2503-12.
53. Bushueva TV, Ladodo KS, Spirichev VB, Denisova SN, Rybakova EP. [Calcium homeostasis and calcium-regulating hormones in young children with phenylketonuria]. *Vopr Pitan*. 1993;(3):16-21.
54. Demirdas S, Coakley KE, Bisschop PH, Hollak CEM, Bosch AM, Singh RH. Bone health in phenylketonuria: a systematic review and meta-analysis. *Orphanet J Rare Dis*. 2015;10:17.
55. Yu YG, Tang FG, Pan J, Gu XF. Effects of phenylalanine and its metabolites on cytoplasmic free calcium in cortical neurons. *Neurochem Res*. 2007;32(8):1292-1301.
56. Kayaalp E, Treacy E, Byck S, Nowacki P. Human Phenylalanine Hydroxylase Mutations and Hyperphenylalaninemia Phenotypes: A Metanalysis of Genotype-Phenotype Correlations. *Am J Hum Genet*. 1997;61(6):1309-17.
57. Mitchell JJ. Phenylalanine Hydroxylase Deficiency. En: Pagon RA, Adam MP, Ardinger HH, Wallace SE, Amemiya A, Bean LJ, et al., editores. *GeneReviews*(®). Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993.
58. Anderson PJ, Wood SJ, Francis DE, Coleman L, Anderson V, Boneh A. Are neuropsychological impairments in children with early-treated phenylketonuria (PKU) related to white matter abnormalities or elevated phenylalanine levels? *Dev Neuropsychol*. 2007;32(2):645-668.

59. Hood A, Antenor-Dorsey JAV, Rutlin J, Hershey T, Shimony JS, McKinstry RC, et al. Prolonged Exposure to High and Variable Phenylalanine Levels over the Lifetime Predicts Brain White Matter Integrity in Children with Phenylketonuria. *Mol Genet Metab.* 2015;114(1):19-24.
60. Rasner M, Vomero A, Varacchi C, Peluffo G, Giachetto G, Kanopa B. Fenilcetonuria. Descripción de un caso clínico. *Arch Pediatr Urug.* 2014;85(1):29-33.
61. Hood A, Grange DK, Christ SE, Steiner R, White DA. Variability in Phenylalanine Control Predicts IQ and Executive Abilities in Children with Phenylketonuria. *Mol Genet Metab.* 2014;111(4):445-451.
62. Romani C, Palermo L, MacDonald A, Limback E, Hall SK, Geberhiwot T. The Impact of Phenylalanine Levels on Cognitive Outcomes in Adults With Phenylketonuria: Effects Across Tasks and Developmental Stages. *Neuropsychology.* 2017;31(3):242-254.
63. Benítez V, San Julián E, Rodríguez MM. Fenilcetonuria. A propósito de dos pacientes. *Arch. Pediatr. Urug.* 2001;72(4).
64. Güttler F, Azen C, Guldberg P, Romstad A, Hanley WB, Levy HL, et al. Relationship among genotype, biochemical phenotype, and cognitive performance in females with phenylalanine hydroxylase deficiency: report from the Maternal Phenylketonuria Collaborative Study. *Pediatrics.* 1999;104(2 Pt 1):258-262.
65. Koch R, Fishler K, Azen C, Guldberg P, Güttler F. The relationship of genotype to phenotype in phenylalanine hydroxylase deficiency. *Biochem Mol Med.* 1997;60(2):92-101.
66. Paine RS. The Variability in Manifestations of Untreated Patients with Phenylketonuria (phenylpyruvic Aciduria). *Pediatrics.* 1957;20(2):290-302.
67. Nissenkorn A, Michelson M, Ben-Zeev B, Lerman-Sagie T. Inborn errors of metabolism: a cause of abnormal brain development. *Neurology.* 2001;56(10):1265-72.
68. Rouse B, Azen C. Effect of high maternal blood phenylalanine on offspring congenital anomalies and developmental outcome at ages 4 and 6 years: the importance of strict dietary control preconception and throughout pregnancy. *The Journal of Pediatrics.* 2014;144(2):235-9.
69. Prick BW, Hop WC, Duvekot JJ. Maternal phenylketonuria and hyperphenylalaninemia in pregnancy: pregnancy complications and neonatal sequelae in untreated and treated pregnancies. *Am J Clin Nutr.* 2012;95(2):374-382.
70. Koch R, Hanley W, Levy H, Matalon K, Matalon R, Rouse B, et al. The Maternal Phenylketonuria International Study: 1984-2002. *Pediatrics.* 2003;112(Supplement 4):1523-9.
71. Arrieta F, Bélanger A, Vázquez C, Martínez M. Importancia del diagnóstico precoz de fenilcetonuria en la mujer y del control de los niveles de fenilalanina en la gestación. *Nutr Hosp.* 2012;27(5):1658-61.
72. Fernández-Lainez C, Vela-Amieva M, Ibarra-González I. Espectrometría de masas en tándem: una nueva herramienta para el estudio de la metabolómica en pediatría. *Acta Pediatr Mex.* 2009;30:258-263.
73. Regier DS, Greene CL. Phenylalanine Hydroxylase Deficiency. En: Pagon RA, Adam MP, Ardinger HH, Wallace SE, Amemiya A, Bean LJ, et al., editores. *GeneReviews*(®). Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993.
74. Ruiz JG, Romero R, Buitrago A. Guía de la práctica clínica. Detección de anomalías congénitas en el recién nacido. Bogotá: Ministerio de Salud y Protección Social - Colciencias; 2013.
75. Currea S, Bustos JC, Calderón CA, Pardo R. Guía de promoción de la salud y prevención de enfermedades en salud pública. Guía 9: Guía para la atención del recién nacido. Bogotá: Ministerio de Salud y Protección Social; 2015.
76. Bermúdez AJ, Valera D de los Á, Robayo DB, Ascencio A, Ching RB. Desarrollo de la tamización neonatal en Colombia: espectrometría de masas en tándem. *Pediatría.* 2015;48(02):47-54.
77. Bernal J, Suárez F. La carga de la enfermedad genética en Colombia, 1996-2025. *Univ. Méd. Bogotá (Colombia).* 2008;49(1):12-28.

78. Rosselli D, Rueda JD, Ruiz-Patiño A. Análisis de costos de la tamización neonatal universal mediante espectrometría de masas en tándem para errores innatos del metabolismo en Colombia. *Pediatría*. 2014;47(03):68-73.
79. República de Colombia. Ministerio de Salud y de la Protección social. Ley 1392 de 2010 sobre las Enfermedades Huérfanas. Bogotá 2010.
80. Thiele AG, Rohde C, Mütze U, Arelin M, Ceglarek U, Thiery J, et al. The challenge of long-term tetrahydrobiopterin (BH4) therapy in phenylketonuria: Effects on metabolic control, nutritional habits and nutrient supply. *Mol Genet Metab Rep*. 2015;4:62-67.
81. Guest JF, Bai JJ, Taylor RR, Sladkevicius E, Lee PJ, Lachmann RH. Costs and outcomes over 36 years of patients with phenylketonuria who do and do not remain on a phenylalanine-restricted diet. *J Intellect Disabil Res JIDR*. 2013;57(6):567-579.
82. Awiszus D, Unger I. Coping with PKU: results of narrative interviews with parents. *Eur J Pediatr*. 1990;149(Suppl 1):S45-51.
83. Schwahn B, Mokov E, Scheidhauer K, Lettgen B, Schönau E. Decreased trabecular bone mineral density in patients with phenylketonuria measured by peripheral quantitative computed tomography. *Acta Paediatr*. 1998;87(1):61-63.
84. Bickel H, Gerrard J, Hickmans EM. The influence of phenylalanine intake on the chemistry and behaviour of a phenyl-ketonuric child. *Acta Paediatr*. 1954;43(1):64-77.
85. Fitzgerald B, Morgan J, Keene N, Rollinson R, Hodgson A, Dalrymple-Smith J. An investigation into diet treatment for adults with previously untreated phenylketonuria and severe intellectual disability. *J Intellect Disabil Res JIDR*. 2000;44(Pt 1):53-59.
86. Williamson M, Dobson JC, Koch R. Collaborative study of children treated for phenylketonuria: study design. *Pediatrics*. 1977;60(6):815-821.
87. Burton BK, Grange DK, Milanowski A, Vockley G, Feillet F, Crombez EA, et al. The response of patients with phenylketonuria and elevated serum phenylalanine to treatment with oral sapropterin dihydrochloride (6R-tetrahydrobiopterin): a phase II, multicentre, open-label, screening study. *J Inherit Metab Dis*. 2007;30(5):700-707.
88. Trunzo R, Santacroce R, D'Andrea G, Longo V, De Girolamo G, Dimatteo C, et al. Phenylalanine hydroxylase deficiency in south Italy: Genotype-phenotype correlations, identification of a novel mutant PAH allele and prediction of BH4 responsiveness. *Clin Chim Acta Int J Clin Chem*. 2015;450:51-55.
89. Polak E, Ficek A, Radvanszky J, Soltysova A, Urge O, Cmelova E, et al. Phenylalanine hydroxylase deficiency in the Slovak population: genotype-phenotype correlations and genotype-based predictions of BH4-responsiveness. *Gene*. 2013;526(2):347-355.
90. Couce ML, Bóveda MD, Fernández-Marmiesse A, Mirás A, Pérez B, Desviat LR, et al. Molecular epidemiology and BH4-responsiveness in patients with phenylalanine hydroxylase deficiency from Galicia region of Spain. *Gene*. 2013;521(1):100-104.
91. Bueno MA, González-Lamuño D, Delgado-Pecellín C, Aldámiz-Echevarría L, Pérez B, Desviat LR, et al. Molecular epidemiology and genotype-phenotype correlation in phenylketonuria patients from South Spain. *J Hum Genet*. 2013;58(5):279-284.
92. [Levy HL](#), [Milanowski A](#), [Chakrapani A](#), [Cleary M](#), [Lee P](#), [Trefz FK](#), et al. Efficacy of sapropterin dihydrochloride (tetrahydrobiopterin, 6R-BH4) for reduction of phenylalanine concentration in patients with phenylketonuria: a phase III randomised placebo-controlled study. *Lancet*. 2007;370(9586):504-510.
93. Trefz FK, Burton BK, Longo N, Casanova MM-P, Gruskin DJ, Dorenbaum A, et al. Efficacy of sapropterin dihydrochloride in increasing phenylalanine tolerance in children with phenylketonuria: a phase III, randomized, double-blind, placebo-controlled study. *J Pediatr*. 2009;154(5):700-707.
94. Matalon R, Michals-Matalon K, Bhatia G, Burlina AB, Burlina AP, Braga C, et al. Double blind placebo control trial of large neutral amino acids in treatment of PKU: effect on blood phenylalanine. *J Inherit Metab Dis*. 2007;30(2):153-158.

95. Rouse B, Azen C, Koch R, Matalon R, Hanley W, de la Cruz F, et al. Maternal Phenylketonuria Collaborative Study (MPKUUS) offspring: facial anomalies, malformations, and early neurological sequelae. *Am J Med Genet.* 1997;69(1):89-95.
96. Matalon KM, Acosta PB, Azen C. Role of nutrition in pregnancy with phenylketonuria and birth defects. *Pediatrics.* 2003;112(6 Pt 2):1534-6.
97. Trefz FK, Blau N. Potential role of tetrahydrobiopterin in the treatment of maternal phenylketonuria. *Pediatrics.* 2003;112(6 Pt 2):1566-9.
98. Singh RH, Rohr F, Frazier D, Cunningham A, Mofidi S, Ogata B, et al. Recommendations for the nutrition management of phenylalanine hydroxylase deficiency. *Genet Med.* 2014;16(2):121-131.
99. Singh RH, Cunningham AC, Mofidi S, Douglas TD, Frazier DM, Hook DG, et al. Updated, web-based nutrition management guideline for PKU: An evidence and consensus based approach. *Mol Genet Metab.* 2016;118(2):72-83.
100. Committee the AC of MG and GT. Phenylalanine hydroxylase deficiency: diagnosis and management guideline. *Genet Med.* 2014;16(2):188-200.