

Encefalopatía epiléptica por fenilcetonuria

Epileptic encephalopathy by phenylcetonuria

Miryan Barboza U., Ciro Alvear S., Carlos Moneriz P.,
Alicia N. Alayon, Amileth Suárez C.

RESUMEN

La fenilcetonuria es un error innato del metabolismo con graves repercusiones neurológicas y sistémicas, si no se detecta antes del primer mes de vida. La implementación de pruebas de tamizaje metabólico en la etapa neonatal, constituye una herramienta económica, sencilla y no invasiva, que permite por lo menos sospechar si un niño nace con esta patología. El presente artículo muestra evidencia del daño neurológico de un niño con diagnóstico tardío de fenilcetonuria (PKU) en la Fundación Instituto de Rehabilitación “El Rosario” de Cartagena - Colombia, para niños con retardo mental. Este niño, tuvo un neurodesarrollo acorde a su edad hasta los siete meses, época en la que aparecieron crisis epilépticas, instalándose una encefalopatía epiléptica progresiva y con pobre respuesta a fármacos antiepilépticos. Se le practicó una tomografía axial computarizada (TAC), la cual no mostró daño estructural. Las crisis cesaron a los cuatro años, sin embargo, el paciente quedó con secuelas motoras y psíquicas. Sólo hasta los ocho años, después de una resonancia magnética nuclear (RM), se decidió practicar un tamizaje metabólico en suero y orina, cuyos resultados orientaron a solicitar pruebas más específicas, que permitieron cuantificar el aumento en plasma del aminoácido fenilalanina y confirmar el diagnóstico.

Es de resaltar que la realización de un tamizaje metabólico en la etapa neonatal o al momento de la aparición de los espasmos, hubiera permitido incidir favorablemente en el curso de esta enfermedad, evitando el daño neurológico por medio de la instauración de una dieta libre de fenilalanina en etapas tempranas del desarrollo.

PALABRAS CLAVE. Epilepsia, fenilcetonuria, fenilalanina.

(Barboza M, Alvear C, Moneriz C, Alayon A, Suárez A. Encefalopatía epiléptica por fenilcetonuria (Acta Neurol Colomb 2006;22:316-322).

SUMMARY

Phenylketonuria is an inborn error of metabolism with serious neurological and systemic repercussions, if it is not detected before the first month of life. The implementation of metabolic screening in the neonatal stage, constitutes an economic, simple and not invasive tool that allows suspecting at least if a child is born with this pathology.

This paper article shows evidence of the neurological damage of a child with late diagnosis of Phenylketonuria (PKU) in “Rosario” Institute Foundation in Cartagena - Colombia, for children with mental delay.

This child had a neurodevelopment according to his age up to seven months; time in which epileptic seizures appeared and an epileptic progressive encephalopathy with poor response to antiepileptics was installed.

It was practiced a CAT (TC), which did not show structural damage. The seizures stopped at the age of four, nevertheless, the patient stayed with motor and psychic sequels. Only up to eight years, after a (MRI), it was decided to perform a metabolic screening in serum and urine. The results orientated us to request more specific tests, which allowed to quantify the increase in plasma of the phenylalanine amino acid and to confirm the diagnosis.

It is of highlighting that the accomplishment of a screening metabolic in the neonatal stage or at the moment of the appearance of the had allowed us affecting favourably the course of this disease, avoiding the neurological damage by means of the establishment of a diet free of the phenylalanine in early stages of the development.

KEY WORDS. Epilepsy, phenylketonuria, phenylalanine, self-management.

(Barboza M, Alvear C, Moneriz C, Alayon A, Suárez A. Epileptic encephalopathy by phenylcetonuria (Acta Neurol Colomb 2006;22:316-322).

Recibido: 02/03/06. Revisado: 7/06/06. Aceptado: 28/06/06.

Miryan Barboza Ubarnes, Neuróloga Pediatra. Docente Investigadora área de Pediatría y Bioquímica. Ciro Alvear Sedan, Químico Farmacéutico. Magíster en Bioquímica Clínica. Docente Investigador área de Bioquímica. Carlos Moneriz Pretel, Químico Farmacéutico. Especialista en Bioquímica Clínica. Especialista en Pedagogía para el desarrollo del Aprendizaje Autónomo. Docente Investigador área de Bioquímica. Facultad de Medicina. Universidad de Cartagena. Alicia Norma Alayon, Bacterióloga. Especialista en teoría, métodos y técnicas de investigación social. Especialista en Bioquímica Clínica. Candidata a Magíster en Desarrollo Social. Coordinadora de Investigaciones. Programa de Bacteriología. Facultad de Ciencias de la Salud. Universidad de San Buenaventura-Cartagena. Amileth Suarez Causado, Químico Farmacéutico. Especialista en Bioquímica Clínica. Especialista en Pedagogía para el desarrollo del Aprendizaje Autónomo. Docente Investigadora área de Bioquímica. Facultad de Medicina. Universidad de Cartagena.

Correspondencia: Crespo 3ª avenida, calle 64, Edificio La Playa Apartamento 203 N° 64-15. Email: mirbar2001@yahoo.com

Presentación de casos

INTRODUCCIÓN

La fenilcetonuria clásica (PKU) es un error innato del metabolismo (EIM) de los aminoácidos, con una prevalencia en Estados Unidos de aproximadamente 1: 15.000 recién nacidos vivos, igual para ambos sexos (1). Usualmente es el resultado de la deficiencia de una enzima hepática denominada fenilalanina hidroxilasa (PAH) (EC. 1.14.16.1) (2), lo que conduce a la elevación de los niveles del aminoácido fenilalanina en la sangre y de sus metabolitos en la orina (3-6). La fenilalanina hidroxilasa cataliza la conversión de fenilalanina a tirosina, usando tetrahidrobiopterina (BH4) como cofactor y oxígeno molecular (Figura 1), requiriendo además, ión hierro (III) para llevar a cabo la reacción de hidroxilación (3-19).

La fenilalanina es un aminoácido esencial, pero la tirosina no lo es. Sin embargo la tirosina en la dieta disminuye los requerimientos de fenilalanina. Los pacientes con fenilcetonuria no pueden sintetizar tirosina, que se convierte entonces en un aminoácido esencial (20, 21).

La tirosina es un aminoácido de vital importancia; es el precursor de la melanina y de neurotransmisores como la noradrenalina y la adrenalina (Figura 1) (3,7,9,10). La tirosina también genera fumarato y acetoacetato, importantes sustratos energéticos que intervienen en el ciclo de Krebs (Figura 1) (3,22,23).

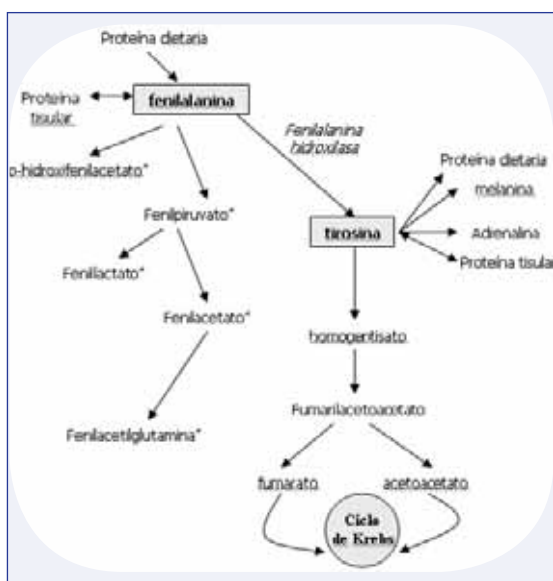


FIGURA 1. DESTINOS METABÓLICOS DE LA FENILALANINA. *
METABOLITOS ACUMULADOS EN PKU

La fenilcetonuria es una enfermedad autosómica recesiva; el gen humano de la fenilalanina hidroxilasa está ubicado en el *locus* cromosómico 12q24.1 y está compuesto por 90 Kb de ADN (24,25). En la fenilcetonuria, la fenilalanina se acumula en los líquidos biológicos y tejidos, conduciendo a retardo mental, signos piramidales, temblor, erupción cutánea (eczema), microcefalia, crisis epilépticas, retraso psicomotor, un fuerte olor a moho o ratón mojado (olor muy desagradable) en la orina y el sudor, coloración pálida, cabello rubio y ojos azules (10,14,21,26).

Como todos los desórdenes genéticos, la PKU presenta una gran variabilidad genotípica y clínica, habiéndose encontrado en el *locus* de la PKU, más de 600 mutaciones incluyendo delecciones, inserciones, etc. Estas mutaciones, además de los factores ambientales y estilos de vida, contribuyen a que exista una gran heterogeneidad bioquímica y, consecuentemente, la relación entre el fenotipo clínico y el genotipo no siempre es constante (27-31).

Presentación del caso. Escolar masculino de ocho años, llevado a los cinco años a la consulta externa de neuropediatría en la Fundación Instituto de Rehabilitación “El Rosario” de Cartagena- Colombia, por agresividad, inquietud, retardo en el desarrollo del lenguaje y bajo rendimiento académico.

Antecedentes: producto del 3er embarazo de madre G:3,A:2, de ocho meses de gestación. Pre-eclampsia a los siete meses. Cesarea programada. Neonato normal. A los siete meses de edad se le diagnosticaron espasmos infantiles, fue manejado con ácido valproico, ACTH y clobazán. A los cuatro años desaparecieron los espasmos infantiles. El paciente cursó con retraso psicomotor y del lenguaje, trastornos del comportamiento, agresividad y pobre socialización, por lo cual fue retirado del colegio formal.

Antecedentes familiares: negativos, padres no consanguíneos

Examen físico: datos antropométricos: 26 K de peso, estatura 120 cm., perímetro cefálico 48 cm. Paciente de raza mestiza, inquieto, agresivo, poco colaborador, lenguaje incoherente, tics tronculares. Cardiopulmonar: normal y abdomen depresible. No se palpaban visceromegalias.

En el examen neurológico: pares craneales normales, fuerza muscular normal, reflejos tendinosos normales. Torpeza motriz gruesa y fina, sin focalizaciones motoras. Incoordinación troncular. Se ordenaron los siguientes exámenes que mostraron estos resultados:

TAC y RM: cerebro normal. Potenciales auditivos: normales. Pruebas tiroideas: normales. Al descartar trastornos estructurales se decidió investigar trastornos neurometabólicos, realizándose tamizaje metabólico en orina con los siguientes resultados: cloruro férrico y dinitrofenilhidrazina, positivos (32-36). Cromatografía de aminoácidos en orina y suero (37): fenilalaninuria y fenilalaninemia respectivamente (prueba cualitativa). Con sospecha de fenilcetonuria se indicaron medidas dietéticas con restricción de alimentos que contenían fenilalanina, pero la madre no siguió las recomendaciones, aduciendo no tolerancia del niño a las restricciones dietéticas. Regresó a los ocho años de edad, encontrándose mayor deterioro intelectual, pobre socialización y agresividad. Se decidió retirar medicación anticonvulsiva, dado que no había presentado convulsiones desde los cinco años de edad. En marzo del 2001 se repitieron pruebas de tamizaje metabólico siendo positivas nuevamente. En esta ocasión se cuantificó fenilalanina en plasma por método fluorométrico, obteniéndose un resultado de 26.12 mg/dL (control 1.03 mg/dL), referencia hasta 2 mg/dL.(38). Cromatografía de aminoácidos: aumento de banda correspondiente al sitio de migración de fenilalanina tanto en plasma como en orina (Figura 2). Con estos resultados y con el diagnóstico definitivo de fenilcetonuria clásica se le insistió a la madre en la necesidad de la dieta restrictiva de fenilalanina, para evitar el progreso de daño neurológico. No fue posible adquirir las leches especiales para este paciente por su alto costo. Actualmente el niño tiene 12 años, y sigue acudiendo a la Fundación Instituto de Rehabilitación “El Rosario”, persistiendo sus trastornos de comportamiento, emocionales y lenguaje incoherente. Hasta esta edad, no ha presentado más crisis epilépticas.

DISCUSIÓN

Este caso de fenilcetonuria se constituye en el primer reporte de esta enfermedad en la ciudad

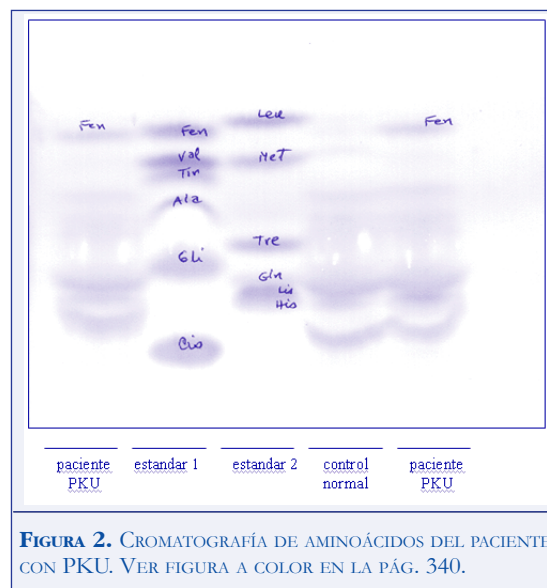


FIGURA 2. CROMATOGRAFÍA DE AMINOÁCIDOS DEL PACIENTE CON PKU. VER FIGURA A COLOR EN LA PÁG. 340.

de Cartagena. Posiblemente el subdiagnóstico de fenilcetonuria en este medio está dado por el concepto de que esta enfermedad no se presenta en niños de raza mestiza, como lo es nuestra población, por la inexperiencia del personal, la inespecificidad de los síntomas, la falta de accesibilidad a los métodos diagnósticos, etc. El neonato con fenilcetonuria es fenotípicamente normal al nacer, como este paciente. Después de iniciada la ingesta de proteínas se presentan los síntomas neurológicos caracterizados por: retraso psicomotor, espasmos, hiperactividad; otros síntomas que presentan son: irritabilidad y vómitos, que no se encontraron en este paciente. Las crisis se presentan en un 25 por ciento de los fenilcetonúricos, generalmente son mioclónicas o espasmos; posteriormente aparece el deterioro cognitivo y conductual, microcefalia, torpeza motriz y déficit mental, síntomas también presentes en este niño.

Como hemos enfatizado, las hiperfenilalaninurias son alteraciones que presentan gran heterogeneidad genética, clínica y bioquímica. Las mutaciones en el gen de la fenilalanina hidroxilasa son un factor en la determinación del fenotipo metabólico, sin desconocer que los factores ambientales influyen en la genética y por ende en la clínica de cada paciente; como se pudo observar, en la forma particular de expresión de la enfermedad en este paciente (30, 39 - 42).

El daño del sistema nervioso central del niño afectado se presenta como consecuencia del incremento de fenilalanina y sus metabolitos (fenilpiruvato, fenilacetato, fenilactato, fenilacetilglutamina) (Figura 1), ocasionando las siguientes alteraciones bioquímicas:

- Inhibición de la conversión enzimática de fenilalanina en tirosina, hidroxilación de tirosina a dihidroxifenilalanina (Dopa) y la formación de noradrenalina. La tirosina es un precursor de los neurotransmisores dopamina y noradrenalina. Es así como en la fenilcetonuria las concentraciones de tirosina y triptofano en plasma y cerebro son más bajas que lo normal (43-45).
- Inhibición de la enzima glutamato descarboxilasa, que cataliza la transformación de glutamato en ácido gamma amino butírico (GABA), el cual es un importante neurotransmisor inhibitorio del sistema nervioso central, de ahí las convulsiones e hiperactividad del paciente. También se inhibe la enzima 5-hidroxitriptofano descarboxilasa, que cataliza la conversión de triptofano en serotonina, importante neurotransmisor (45).
- Inhibición de otras enzimas como la creatin cinasa y piruvato cinasa cerebrales, importantes para la obtención de energía en forma de ATP en este tejido (7).
- Inhibición del transporte de aminoácidos neutros de gran tamaño, especialmente metionina, triptofano y tirosina, lo anterior se explica porque la proteína transportadora de fenilalanina es compartida por estos aminoácidos neutros de gran tamaño, disminuyendo así la concentración de estos aminoácidos en el cerebro (44); eso trae como consecuencia una deficiencia en la síntesis de neurotransmisores, reducción de la síntesis proteica y desmielinización (46,47).

Es significativo resaltar que el estrés oxidativo observado en algunos errores innatos del metabolismo, como en la PKU, se debe a los intermediarios metabólicos producidos y al acúmulo de metabolitos tóxicos que generan radicales libres, sumado a la restricción dietética que produce una disminución en la síntesis del sistema antioxidante, de manera que en conjunto, incrementan el estrés oxidativo, que contribuye

a la fisiopatología del daño en los tejidos de estos pacientes (48).

Es interesante resaltar, que el grado de deterioro intelectual y su asociación con el genotipo en PKU es muy difícil de establecer, dado que el coeficiente intelectual (CI) es influenciado por muchas variables incluyendo factores socio-ambientales y otros determinantes genéticos. Por lo tanto, dentro de una misma población el grado de inteligencia es variable, dependiendo de la edad y de la dieta. Pero aun así, el genotipo puede ser útil para predecir cambios intelectuales en los niños con PKU (49).

A este propósito podemos adicionar que es poco probable que se dé una simple relación entre el genotipo y la inteligencia del niño, pues las múltiples variantes genéticas y los factores ambientales pueden modular la expresión *in vivo* del gen PAH; sin embargo, la influencia del medio ambiente y otros factores genéticos, más que la mutación de la enzima, pueden reducir sustancialmente el CI a través del tiempo en algunos de los pacientes con PKU, en relación con su genotipo (40, 49, 50).

Por otro lado, el eczema característico de esta enfermedad, se encuentra en la tercera parte de los pacientes desde la lactancia. Generalmente son niños rubios y de ojos azules, ya que el exceso de fenilalanina inhibe la tirosinasa, enzima que favorece la conversión de tirosina en melanina, el pigmento que proporciona al pelo y a los ojos su color (Figura 1). Sin embargo una tercera parte de los pacientes pueden tener la piel oscura como en este caso. Al respecto de la fenilcetonuria, conviene decir que, el exceso de fenilalanina origina fenilcetonas: fenilpiruvato, fenilactato y fenilacetato, que son los responsables del olor desagradable que se produce en el cuerpo y la orina de estos pacientes (Figura 1) (2, 21, 51).

El diagnóstico de la fenilcetonuria se debería hacer en la primera semana de vida, para iniciar una dieta con fórmulas especializadas libres de fenilalanina, ya que la importancia del control de la dieta, en los primeros años de vida está universalmente reconocida (52-58). Cuando se instituye rápidamente el tratamiento (antes de la cuarta semana de vida), el paciente se desarrolla con inteligencia normal (59, 44), pero si se descontinúa el tratamiento puede conducir a un deterioro en el desempeño neurofisiológico (44, 60).

Este paciente fue diagnosticado tardíamente, sin embargo es necesario continuar el tratamiento controlando los niveles séricos de fenilalanina con un monitoreo permanente (61), porque el deterioro neurológico continua hasta los doce años de vida; a lo cual se suma el hecho de que la degeneración esponjosa, al igual que la desmielinización, ocurren en niños mayores.

Es importante señalar que la lactancia materna no esta contraindicada, al contrario favorece el vínculo afectivo entre el niño y los padres y se convierte en una alternativa, si se hace el diagnóstico en la etapa neonatal y se puede combinar con leches libres de fenilalanina. Un niño con un EIM lactado normalmente tiene menor disponibilidad de precursores de metabolitos intermediarios indeseados y se ha demostrado que el cociente intelectual es mejor en los niños que sufren un error innato del metabolismo y reciben lactancia materna, en comparación con los que no la reciben (62). Hay que destacar que la dieta libre de este aminoácido posee efectos secundarios: vómitos, letargo, anorexia, erupciones, diarrea, retraso en el crecimiento, además de su sabor desagradable, generando rechazo como sucedió en este caso (21, 63).

Se ha demostrado, que inclusive en pacientes tratados a tiempo y adecuadamente, se pueden presentar alteraciones de la sustancia blanca como hipomielinización o desmielinización, demostradas por resonancia magnética (21, 64).

CONCLUSIONES

Es necesario implementar las pruebas de tamizaje metabólico masivo en nuestra ciudad durante la etapa neonatal. El diagnóstico precoz de fenilcetonuria permite iniciar un tratamiento adecuado previniéndose secuelas graves; el lactante no tratado pierde 50 puntos de su coeficiente intelectual (CI) en el primer año de vida. En nuestra raza mestiza es posible que se detecten muchos más casos, que no siempre corresponderán al fenotipo de niños rubios. Los antecedentes familiares negativos tampoco descartan la enfermedad, porque su transmisión es autosómica recesiva, pudiendo dos padres, sin alteración visible, ser portadores del gen defectuoso y transmitir la enfermedad a su hijo.

Un componente fundamental del tratamiento es la administración de fórmulas lácteas especialmente diseñadas para esta patología, sin embargo son productos costosos y difíciles de conseguir en nuestro país.

Finalmente, la población afectada y toda la población en general, deberían tomar conciencia sobre la importancia de conocer estos temas y luego adoptar conductas que conduzcan a la solución de los mismos. Si la población tiene conocimiento de este tema y exige el cumplimiento de la ley de pesquisa neonatal, los porcentajes de cobertura en Colombia y sobre todo en la Costa Norte del país, podrían aumentar, traduciéndose en un mayor número de recién nacidos sometidos a la prueba. A su vez, probablemente se detectarían más casos de niños afectados atendiendo a la particularidad de nuestra región y raza mestiza, permitiendo comenzar el tratamiento adecuado en forma temprana y evitando las consecuencias no deseadas, sin comprometer la calidad de vida del niño y de su familia (65,66).

REFERENCIAS

1. **Barrera L, Homero S, Marjorie Y, et al.** Fenilcetonuria En: Manual de Enfermedades Metabólicas. Instituto de Errores Innatos del Metabolismo. Pontificia Universidad Javeriana. Panamericana Formas e Impresos SA. Bogota; 2004: 59-66.
2. **Martínez A, Knappskog PM, Olafsdottir S, et al.** Expression of recombinant human phenylalanine hydroxylase as fusion protein in *Escherichia coli* circumvents proteolytic degradation by host cell proteases. *Biochem J* 1995; 306 :589 -597.
3. **Scriver C, Kaufman S.** The hyperphenylalaninemias. In: Scriver C, Beaudet A, Sly W, Valle D, eds. The metabolic and molecular bases of inherited disease. 8th Ed New York. McGraw-Hill.; 2001 (Vol II):1667-1724.
4. **Koch R, Moseley K, Ning J, Romstad A, Guldborg P and Güttler F.** Long-term beneficial effects of the phenylalanine-restricted diet in late-diagnosed individuals with phenylketonuria. *Molecular Genetics and Metabolism* 1999; 67: 148-155.
5. **Guldborg P, Levy HL, Hanley WB, Koch R, Matalon R and Rouse BM.** Phenylalanine hydroxylase gene mutations in the United States. Report from the Maternal PKU Collaborative Study. *The American Journal of Human Genetics* 1996; 59: 84-94.
6. **Okano Y, Eisensmith RC, Güttler F, et al.** Molecular basis of phenotypic heterogeneity in phenylketonuria. *The New England Journal of Medicine* 1991; 324:1232-1238.
7. **Pacheco D.** Metabolismo de aminoácidos y bases nitrogenadas. En: Bioquímica Médica. México: Limusa Editorial; 2004: 445-455.
8. **Erlandsen H, Patch MG, Gamez A, Straub M and Stevens RC.** Structural Studies on Phenylalanine Hydroxylase

and Implications Toward Understanding and Treating Phenylketonuria *pediatrics* 2003; 112: 1557-1565.

9. Bowden J, McArthur C. Possible biochemical model for phenylketonuria. *Nature* 1972; 235: 230.

10. Smith I, Lee P. The Hiperphenylalaninemias. In: Fernandes F, Saudubray JM, eds. *Inborn Metabolic Diseases. Diagnosis and Treatment*. 3rd Edition. Heilderberg: Springer; 2000: 171-184.

11. Erlandsen H, Fusetti F, Martinez A, Hough E, Flatmark T, Stevens RC. Crystal structure of the catalytic domain of human phenylalanine hydroxylase reveals the structural basis for phenylketonuria. *Nat Struct Biol* 1997; 4 :995 -1000.

12. Fusetti F, Erlandsen H, Flatmark T, Stevens RC. Structure of tetrameric human phenylalanine hydroxylase and its implications for phenylketonuria. *J Biol Chem* 1998; 273:16962 -16967.

13.Kobe B, Jennings IG, House CM et al. Structural basis of autoregulation of phenylalanine hydroxylase. *Nat Struct Biol* 1999; 6 :442 -448.

14.Erlandsen H, Bjørge E, Flatmark T, Stevens RC. Crystal structure and site-specific mutagenesis of pterin-bound human phenylalanine hydroxylase. *Biochemistry* 2000; 39 :2208 -2217.

15.Andersen OA, Flatmark T, Hough E. High resolution crystal structures of the catalytic domain of human phenylalanine hydroxylase in its catalytically active Fe(II) form and binary complex with tetrahydrobiopterin. *J Mol Biol* 2001; 314:279 -291.

16. Andersen OA, Flatmark T, Hough E. Crystal structure of the ternary complex of the catalytic domain of human phenylalanine hydroxylase with tetrahydrobiopterin and 3-(2-thienyl)-L-alanine, and its implications for the mechanism of catalysis and substrate activation. *J Mol Biol* 2002; 320 :1095 -1108.

17. Martinez A, Andersson KK, Haavik J, Flatmark T. EPR and 1H-NMR spectroscopic studies on the paramagnetic iron at the active site of phenylalanine hydroxylase and its interaction with substrates and inhibitors. *Eur J Biochem* 1991; 198 :675 -682.

18. Gibbs BS, Wojchowski D, Benkovic SJ. Expression of rat liver phenylalanine hydroxylase in insect cells and site-directed mutagenesis of putative non-heme iron-binding sites. *J Biol Chem* 1993; 268 :8046 -8052.

19. Hufton SE, Jennings IG, Cotton RGH. Structure and function of the aromatic amino acid hydroxylases. *Biochem J* 1995; 311 :353 -366.

20. The Ross Metabolic Formula System. Nutrition Support Protocols. 3rd edition; 1997:1-32.

21. Rezvani I. Defectos del Metabolismo de los aminoácidos. Fenilalanina. In: Berhrman R, Kliegman R, Jensen H. eds. *Nelson Tratado de Pediatría*. 16 Edición México; Mc- Graw-Hill 2001(Vol. 1): 378-382.

22. Mathews C, Van Holde KE, Ahern KG. Metabolismo de los compuestos nitrogenados: aminoácidos, porfirinas y neurotransmisores. En: *Bioquímica. Tercera Edición* Addison Wesley; 2002:859 -862.

23. Mehler AH. Metabolismo de aminoácidos. En: Devlin TM. ed. *Bioquímica Libro de textos con Aplicaciones Clínicas*. 2a edición Bogotá; Reverte Colombiana SA; 1998 (Vol. I): 588 - 593.

24. Erlandsen H, Stevens RC. The structural basis of phenylketonuria. *Molecular Genetics and Metabolic* 1999; 68:103 -125.

25. Güttler F, Guldberg P. Phenylketonuria. In: Cooper DN, Antonarakis S, eds. *Encyclopedia of the Human Genome. Genes and Disease*. London, Nature; 2002.

26. Gassio R, Campistol J, Vilaseca MA, Lambruschini N, Cambra F J and Fusté E. Do adult PKU patients improve their quality of life after introduction/resumption of a phenylalanine-restricted diet. *Acta Paediatr* 2003; 92: 1474-1478.

27. Health Resources Services Administration, the American Academy of Pediatrics, et al. serving the family from birth to the medical home: a report from the Newborn Screening Task Force convened in Washington, DC, May 10-11, 1999. *Pediatrics* 2000; 106:383-427.

28. American Society of Human Genetics ASHG report: statement on informed consent for genetic research. *Am J Hum Genet* 1996; 59:471-474.

29. Guldberg P, Henriksen K, Lou H, Guttler F. Aberrant phenylalanine metabolism in phenylketonuria heterozygotes. *J inherit Metab Dis* 1998; 21: 365.

30. National Institutes of Health Consensus Development Conference Statement: Phenylketonuria: Screening and Management, October 16-18, 2000. *Pediatrics* 2001; 108: 972-982.

31. Trefz F, Scheible D, Frauendienst-Egger G, Korall H, Blau N. Long-term treatment of patients with mild and classical phenylketonuria by tetrahydrobiopterin. *Molecular Genetics and Metabolism* 2005; 86: S75-S80.

32. Boeckx R. Screening for inherited metabolic disease. Washington D.C: American association for clinical chemists; 1985:52-75 y 87-94.

33. Graff SL. Análisis de orina. Atlas color. Buenos aires. Argentina: Editorial médica. Panamericana; 1987: 44-45 y 202-204.

34.Thomas GH, Howell RR. Selected screening tests for genetic metabolic diseases. Washington D.C: yearbook Medical Publishers;1973: 9-48.

35. Alvear C, Uribe A, Barrera L. Los Errores innatos del metabolismo en Colombia. *Acta Médica Colombiana* 1998; 23:23-27.

36. Barrera LA. Enfermedades genéticas de origen Metabólico. *Revista de Pediatría* 1990; 25:64-68.

37. Bremer H, Duran M, Kamerling J, Przyrembel H, Wadman S. Disturbances of Amino Acid Metabolism: Clinical Chemistry and Diagnosis. Editorial Urban Schawarzenberg, 1981: 423-506.

38.Tocci M. Phenylalanine fluorometric method. Selected methods for the small clinical chemistry laboratory. American Association for Clinical Chemistry 1982; 9: 305-311.

39. Gutiérrez R, Gutiérrez E, Barrios B, Marcos L. Correlación entre el genotipo y el fenotipo bioquímico en pacientes cubanos con hiperfenilalaninemias. *Rev Cubana Pediatr* 2005: 77.

40. Okano Y, Eisensmith RC, Güttler F, et al. Molecular basis of phenotypic heterogeneity in phenylketonuria. *N Engl J Med* 1991; 324:1232-1238.

41. Scriver CR, Huttubise M, Konecki D, et al. what a locus specific knowledgebase can do. *Hum Mutat* 2003; 21: 333-44.

42.Johnston JJ, Lichter-Konecki U, Wilson E, et al. Discordant PKU phenotype in one family due to disparate genotypes and a novel mutation. *J Inherit Metab Dis* 2004; 27:157-63.

43. Smith ML, Hanley WB, Clarke JTR, et al.

Randomized controlled trial of tyrosine supplementation on neuropsychological performance in phenylketonuria. *Arch Dis Child* 1998;78:116-121.

44. Bross R, Ball RO, Clarke JTR, Pencharz PB. Tyrosine requirements in children with classical PKU determined by indicator amino acid oxidation *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2000; 278: 195 - 201.

45. McKean CM. The effect of high phenylalanine concentration on serotonin and catecholamine metabolism in the human brain. *Brain Res* 1972;47:469-476.

46. Surtees R, Blau N. The neurochemistry of phenylketonuria. *European Journal of Pediatrics* 2000; 159: S109-S113.

47. Bekhof J, Rijn MV, Sauer PJJ, et al. Plasma phenylalanine in patients with phenylketonuria self-managing their diet. *Archives of Disease in Childhood* 2005;90:163-164.

48. Sirtori LR, Dutra-Filho CS, Fitarelli D, et al. Oxidative stress in patients with phenylketonuria. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease* 2005; 1740: 68-73.

49. Greeves IG, Patterson CC, Carson DJ. Effect of genotype on changes in intelligence quotient after dietary relaxation in phenylketonuria and hyperphenylalaninaemia. *Arch Dis Childh* 2000; 82:216-221.

50. Güttler F, Guldberg P, Henriksen KF. Mutation genotype of mentally retarded patients with phenylketonuria. *Developmental Brain Dysfunction* 1993; 6:92-96.

51. Viña JR, Miralles VJ, Barber T. Enfermedades del metabolismo de los aminoácidos. En: Gonzalez A., Medina JM. eds. *Patología Molecular*. México: McGraw Hill. Interamericana; 2001:126 - 128.

52. Smith I, Beasley MG, Ades AE. Intelligence and quality of dietary treatment in phenylketonuria. *Archives of Disease in Childhood* 1990; 65:472-478.

53. Azen C, Koch R, Friedman E, Wenz E, Fishler K. Summary of findings from the United States collaborative study of children treated for phenylketonuria. *Eur J Pediatr* 1996; 155:S29-S32.

54. Burgard P, Schmidt E, Rupp A, Schneider W, Bremer HJ. Intellectual development of the patients of the German collaborative study of children treated for phenylketonuria. *Eur J Pediatr* 1996; 155:S33-S38.

55. Scheibenreiter S, Tiefenthaler M, Hinteregger V et al. Austrian report on longitudinal outcome in

phenylketonuria. *Eur J Pediatr* 1996; 155:S45-S49.

56. Schuler A, Somogyi Cs, Törös I, et al. A longitudinal study of phenylketonuria based on the data of the Budapest screening center. *Eur J Pediatr* 1996; 155:S50-S52.

57. Cabalska MB, Nowaczewska I, Sendeczka E, Zorska K. Longitudinal study on early diagnosis and treatment of phenylketonuria in Poland. *Eur J Pediatr* 1996;155:S53-S55.

58. Zeman J, Pijackova A, Behulova J, Urge O, Saligova D, Hyanek J. Intellectual and school performance in adolescents with phenylketonuria according to their dietary compliance. *Eur J Pediatr* 1996; 155:S56-S58.

59. Koch R, Azen C, Friedman EG, Williamson ML. Paired comparison between early treated phenylketonuria children and their matched sibling controls on intellectual and school achievement test results at eight years. *J Inherit Metab Dis* 1984; 7:86-90.

60. Klim P, Mallozzi E, Hanley WB. A test of the frontal specificity hypothesis in the cognitive performance of adults with Phenylketonuria. *Dev Neuropsychol* 1996;12:327-341.

61. Cockburn F, Barwell B, Brenton D. Report of Medical Research Council Working Party on Phenylketonuria. Recommendations on the dietary management of phenylketonuria. *Arch Dis Childh* 1993; 68:426-427.

62. Riva E, Agustin C. Early breast feeding in linked to higher intelligence quotient scores in dietary treated phenylketonuric children. *Acta pediatric* 1996; 85: 56-59.

63. Cockburn F, Clark BJ, Byrne A, et al. Fenilcetonuria materna: dieta, peligro y dilemas. *International pediatric* 1993; 1: 303-310.

64. Bick U, Fahrendorf G, Ludolph AC, Vassallo P, Weglage J, Ullrich K. Disturbed myelination in patients with treated hyperphenylalaninaemia: evaluation with magnetic resonance imaging. *Eur J Pediatr* 1991; 150:185-189.

65. Smith I. Recommendations on the dietary management of phenylketonuria. *Arch Dis Childh* 1993; 68:426.

66. Fitzgerald B, Morgan J, Keene N, Rollinson R, Hodgson A and Dalrymple-Smith J. An investigation into diet treatment for adults with previously untreated phenylketonuria and severe intellectual disability. *J Intellect Disabil Res* 2000; 44: 53-59.