

Cristiana Maria Dionísio Rodrigues

A fenilcetonúria: doença monogénica de défice enzimático

Universidade Fernando Pessoa

Porto, 2015





Cristiana Maria Dionísio Rodrigues

A fenilcetonúria: doença monogénica de défice enzimático

Universidade Fernando Pessoa

Porto, 2015



Cristiana Maria Dionísio Rodrigues

A fenilcetonúria: doença monogénica de défice enzimático

**Orientadora:** Professora Doutora Maria Coelho

Trabalho apresentado à Universidade  
Fernando Pessoa como parte dos  
requisitos para a obtenção do grau  
de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

**Assinatura da Aluna** \_\_\_\_\_



## **Dedicatórias e Agradecimentos**

Agradeço e dedico este trabalho aos meus pais que me proporcionaram a possibilidade de me licenciar e tornar mestre em Ciências Farmacêuticas, um dos meus grandes sonhos. À minha irmã que sempre me ajudou em todas as etapas deste curso, sendo a minha bússola, pois sem a orientação dela nada seria possível. Às minhas amigas, que sempre me ouviram, ajudaram e apoiaram.

Ao Renato Neves pela paciência, compreensão e amor demonstrado desde que apareceu na minha vida e por ter acreditado que tudo isto seria concretizável.

À tia Elisa e ao tio Dinis pela eupatia e hospedagem no decorrer da minha formação.

A toda a minha família que sempre me acarinhou e acreditou em mim, orgulhando-se de todo este meu processo em crescendo.

Agradeço à professora Maria Coelho pela disponibilidade, compreensão, prontidão e orientação prestadas no decurso da elaboração da presente tese.

Este trabalho é dedicado a todos aqueles que me ajudaram na sua realização, e em especial a todos os doentes fenilcetonúricos.



## Resumo

A fenilcetonúria é uma doença hereditária do metabolismo das proteínas de que pode resultar num atraso mental grave, no caso de não ser tratada atempadamente e de forma adequada. O tratamento convencional consiste numa dieta restrita em fenilalanina. Estas restrições dietéticas são difíceis de cumprir, sendo que a maioria dos doentes tende a não cumprir a dieta na adolescência e início da idade adulta.

Para além da restrição alimentar de fenilalanina e proteínas naturais, que deve ser seguida ao longo da vida, existem outros tratamentos que ainda se encontram a ser alvo de investigação devido ao fato de não serem conclusivos.

Quando não tratada, a fenilcetonúria pode resultar em complicações neurológicas irreversíveis a vários níveis.

As mulheres grávidas com fenilcetonúria devem ter especial controlo alimentar, antes e durante a gravidez de forma a prevenir lesões no feto.

Têm sido estudadas novas abordagens terapêuticas com o objetivo de diminuir as restrições alimentares e tornar a dieta mais fácil de cumprir.

A abordagem multidisciplinar deve ter um peso considerável nesta doença visando ajudar estes doentes e suas famílias.



## Abstract

Phenylketonuria is an inherited disorder of protein metabolism that can result in severe mental retardation, if not treated promptly and appropriately. The conventional treatment is a Phe-restricted diet. These dietary restrictions are difficult to fulfill, and most patients tend not to comply with the diet in adolescence and early adulthood.

In addition to the dietary restriction of phenylalanine and natural proteins to be followed throughout life, there are other treatments that are still the subject of research due to the fact that they are not conclusive.

When phenylketonuria untreated can result in irreversible neurological complications at various levels.

Pregnant women with phenylketonuria should take special food control before and during pregnancy to prevent damage to the fetus.

They have been studied new therapeutic approaches with the aim of reducing dietary restrictions and make it easier to meet diet.

The multidisciplinary approach must have considerable weight in this disease in order to help these patients and their families.



<b>Índice Geral</b>	<b>Página</b>
I. Introdução.....	1
II. Metabolismo da fenilalanina .....	4
III. Tipos de hiperfenilalaninemias .....	6
IV. Genética .....	9
V. Diagnóstico .....	11
VI. Tratamento da fenilcetonúria	
6.1.Tratamento convencional .....	13
6.2.Terapia génica .....	15
6.3.Terapia enzimática com fenilalanina amónia liase .....	15
6.4.Suplementos à base de aminoácidos .....	16
6.5.Suplementos tetrahidropeterina.....	17
6.6.Transplante de fígado .....	17
6.7.Tratamento com glicopéptido .....	17
6.8.Suplementação dietética com aminoácidos grandes e neutros.....	18
VII. Complicações da fenilcetonúria	
7.1.Complicações neurológicas .....	20
7.2.Complicações nutricionais.....	21
7.3.Complicações ósseas .....	21
VIII. Conclusão .....	23
IX. Bibliografia .....	25



<b>Índice de Figuras</b>	<b>Página</b>
<b>Figura 1-</b> Reacção da fenilalanina catalisado pela enzima fenilalanina hidroxilase.....	4
<b>Figura 2-</b> Vias de metabolização da fenilalanina.....	5
<b>Figura 3 –</b> Teste do pezinho.....	12
<b>Figura 4:</b> Vias da degradação da fenilalanina.....	16
<b>Figura 5:</b> Tipos de tratamento da fenilcetonúria.....	19



## LISTA DE ABREVIATURAS

BH2- Dihidrobiopterina

BH4- Tetrahidrobiopterina

DMO- Densidade mineral óssea

LNAA- Aminoácidos grandes e neutros

NADH- Nicotinamida-adenina-dinucléotide

PAH- Fenilalanina hidroxilase

PAL- Fenilalanina amónia liase

PKU- Fenilcetonúria

QI- Coeficiente de Inteligência

## I. Introdução

Na presente tese de mestrado referente ao 5º ano de licenciatura em Ciências Farmacêuticas, foi escolhido o tema da fenilcetonúria como objeto de estudo de mestrado pelo fato de ser uma área de interesse relacionada com a bioquímica, ciência que estuda os processos da química aplicada à vida.

Ao longo do presente trabalho pretende-se descrever a fenilcetonúria, suas causas, consequências, tratamentos possíveis, complicações associadas e a especificidade da fenilcetonúria materna.

Assim, segundo Amaya *et al.*, (2011) pode-se descrever a fenilcetonúria como uma alteração autossômica recessiva no cromossoma 12 no gene 12q22-24.1 (gene PAH). Este gene é importante para a produção da enzima fenilalanina hidroxilase no fígado, sendo que sem a produção desta enzima não há quebra do aminoácido fenilalanina em tirosina. Quando esta não é convertida em tirosina ocorre uma transaminação secundária, convertendo a fenilalanina em fenilpiruvato, o que provoca problemas irreversíveis no sistema nervoso central como hiperatividade, microcefalia, comportamentos autistas, atraso no desenvolvimento, déficit intelectual, entre outros.

A fenilalanina é um aminoácido essencial que se encontra nas proteínas. Como é considerado um aminoácido essencial tem que ser ingerido na alimentação uma vez que o organismo não é capaz de sintetizá-lo. Apresenta um importante papel no organismo visto ser componente das células, constituir tecidos e ser também precursor de neurotransmissores como a noradrenalina, dopamina e da melanina (Sandra *et al.*, 2012).

Os indivíduos com esta desordem metabólica apresentam hiperfenilalaninemia, sendo o tratamento difícil de adaptar uma vez que passa unicamente por adotar uma dieta isenta de fenilalanina para o resto da vida (Amaya *et al.*, 2011). No entanto, existem diversos tipos de tratamentos que se irão explorar ao longo da presente tese.

Em 1934, Asbjorn Folling descobriu a fenilcetonúria (PKU), pois verificou uma alteração no metabolismo da fenilalanina resultando num atraso mental e odor corporal. O autor efetuou um estudo com duas amostras de urina que continham ácido fenilpirúvico que recebera no seu laboratório provenientes de duas crianças, tendo



verificado ser a causa do atraso mental e de odor corporal (Centerwall e Centerwall, 2000; Scriver, 2007).

Após ter verificado a presença de ácido fenilpirúvico, Foling recolheu uma série de amostras de urina de doentes com atraso mental, constatando a presença desta substância noutros doentes e nalguns casos, na mesma família. O autor aferiu que se tratava de um erro congénito do metabolismo dando-lhe o nome de “oligofrenia fenilpirúvica”, fato descrito e constatado também por Archibald Garrog em 1909 (Centerwall e Centerwall, 2000; Scriver, 2007).

Em 1935, a fenilcetonúria foi caracterizada como uma doença autossómica recessiva por Lionel Penrose. Posteriormente, Jervis provou que a enzima fenilalanina hidroxilase produzida no fígado era deficiente nos fenilcetonúricos (Centerwall e Centerwall, 2000; Scriver, 2007).

Nos anos 50 foi implementado por Bickel um plano alimentar para doentes com fenilcetonúria, através de uma alimentação isenta de fenilalanina, tendo sido verificado uma diminuição dos níveis plasmáticos de fenilalanina, e uma redução do atraso mental (Centerwall e Centerwall, 2000; Scriver, 2007).

Em 1961, Guthrie criou um teste laboratorial que permitiu verificar os níveis plasmáticos de fenilalanina. O teste de inibição bacteriana de Guthrie permitiu um diagnóstico precoce desta doença logo após o nascimento e a implementação de uma dieta isenta de fenilalanina diminuindo os problemas de atraso mental e todas as dificuldades que acarreta (Matalon, 2001).

Em 1983, Woo descobriu que o gene que codifica a enzima fenilalanina hidroxilase se encontrava no cromossoma 12. A partir desta descoberta foi possível estudar melhor a funcionamento da fenilalanina hidroxilase e esclarecer algumas dúvidas relativas a esta doença (Matalon, 2001).

Konecki obteve a sequência genómica completa do gene codificante da enzima em questão e concluiu que existiam inúmeras mutações que podiam originar diferentes graus de fenilcetonúria (Matalon, 2001).



A fenilcetonúria foi uma das primeiras doenças genéticas humanas a ser descoberta com um tratamento que pressupõe apenas a restrição da ingestão da fenilalanina (Scriver, 2007).

## II. Metabolismo da fenilalanina

A fenilalanina é um aminoácido essencial presente nas proteínas da dieta. Parte do aminoácido é aproveitada para a síntese dos tecidos proteicos e outra parte é convertida em tirosina. A fenilalanina é metabolizada no fígado pela enzima fenilalanina hidroxilase, sendo assim a fenilalanina convertida em tirosina, com o auxílio do co-fator tetrahidrobiopterina e da presença de NADH que mantém o co-fator activo (figura 1). Após a formação da tirosina, a tetrahidrobiopterina é oxidada a dihidropteridina, sendo esta reduzida e ocorre nova ativação da fenilalanina hidroxilase (Denise *et al.*, 2014).

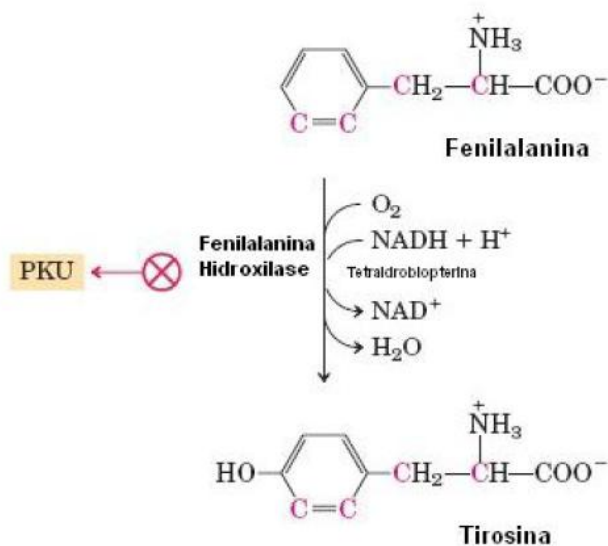


Figura 1- Reação da fenilalanina catalisado pela enzima fenilalanina hidroxilase (Adaptado de Lehninger, 2004)

No caso da fenilcetonúria, esta reação encontra-se deficiente, tendo como consequência um aumento dos níveis plasmáticos de fenilalanina e uma diminuição dos de tirosina. Para compensar este aumento existem outras vias de metabolismo da fenilalanina que originam ácido fenilpirúvico, ácido fenilacético e ácido fenilático, detetáveis na urina (figura 2). Tal fato permite detetar se o recém-nascido se encontra com fenilcetonúria (Denise *et al.*, 2014).

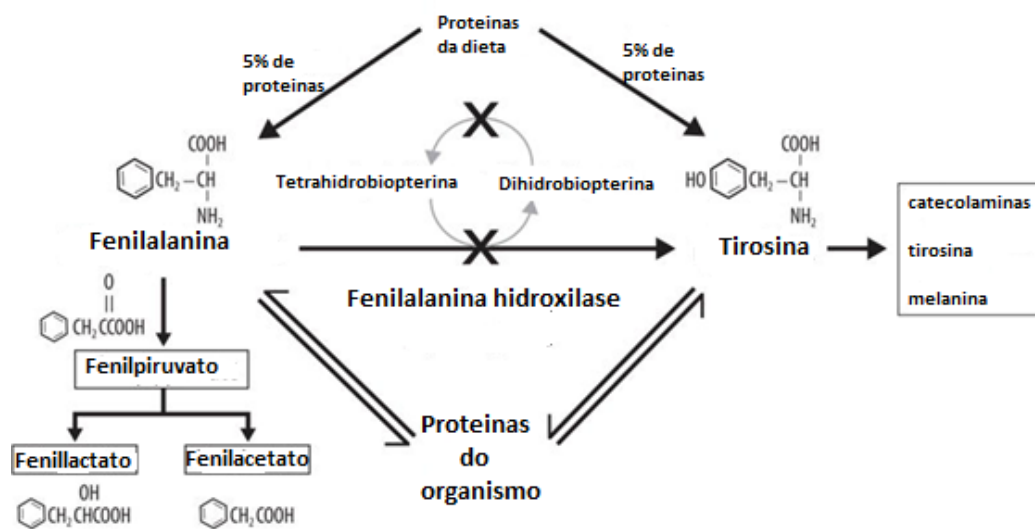


Figura 2- Vias de metabolização da fenilalanina (Adaptado de Denise. *et al.*, 2014).

### III. Tipos de hiperfenilalaninemias

Existem quatro tipos de hiperfenilalaninemias: a hiperfenilalaninemia persistente benigna, a hiperfenilalaninemias transitória, a fenilcetonúria materna e a fenilcetonúria clássica, todas elas caracterizadas por apresentarem níveis de fenilalanina elevados no sangue (Smith e Lee, 2000).

No caso da hiperfenilalaninemia persistente benigna ou moderada os níveis plasmáticos de fenilalanina estão compreendidos entre 2 e 6mg/dl, não apresentando risco para o indivíduo, sendo que a atividade da fenilalanina hidroxilase varia relativamente pouco relativamente ao que acontece num indivíduo saudável (Smith e Lee, 2000).

A hiperfenilalaninemia transitória é caracterizada pela inatividade da enzima, que se verifica apenas num período inicial de vida no recém-nascido. Após ter findado esse período, a fenilalanina hidroxilase apresenta uma atividade normal (Smith e Lee, 2000).

Na fenilcetonúria materna, as mães devem controlar os níveis de fenilalanina a fim de não causarem problemas para os filhos com baixo peso e problemas relacionados com esta doença (Smith e Lee, 2000).

Segundo a Comissão de Fenilcetonúria Materna (Genetics. Pediatrics, 2008), em 1937, Jervis teve em contacto com a síndrome da fenilcetonúria materna quando verificou que mulheres com fenilcetonúria tinham tido filhos, alguns deles portadores da doença. No entanto, apenas em 1956 se verificou que a fenilcetonúria materna poderia ser uma complicação da fenilcetonúria.

Assim, para que os níveis de fenilalanina se mantenham adequados, sem causar risco para a saúde do bebé, as mulheres que nasceram com fenilcetonúria, devem controlar a ingestão do aminoácido fenilalanina (Levy *et al.*, 2003).

De acordo com Levy *et al.*, (2003) a fenilcetonúria materna é caracterizada pelos elevados níveis de fenilalanina plasmática na grávida, trazendo consequências no desenvolvimento fetal, nomeadamente atraso mental, dificuldades de aprendizagem, doença cardíaca congénita, atraso no crescimento intra-uterino e disformologia facial. De referir que existe uma probabilidade maior de aborto em mulher com esta doença não tratada.

A Sociedade Portuguesa de Doenças Metabólicas (2007) aconselha que para além da dieta com restrição de fenilalanina, as mulheres que apresentam fenilcetonúria materna devem ingerir os suplementos necessários, nomeadamente tirosina e ácidos gordos essenciais. Estes permitem o desenvolvimento fetal normal. Para além do referido, é necessária a monitorização dos níveis de fenilalanina duas vezes por semana, principalmente em mulheres grávidas que aderem tardiamente a esta dieta e com o coeficiente baixo. De referir que a dieta deve ter início antes da conceção do feto ou no máximo até às 8 semanas de gestação, de forma a evitar os efeitos nocivos referenciados anteriormente. Caso contrário, quanto mais tarde se iniciar a dieta, mais notórios e nefastos serão os efeitos. Na prática, esta recomendação nem sempre é linear uma vez que algumas mulheres que não adotaram a dieta não tiveram problemas enquanto que algumas mães que adotaram a dieta pré-concepcional, manifestaram problemas.

Segundo Clarke (2003), existem inúmeros fatores que condicionam o sucesso terapêutico da síndrome da fenilcetonúria materna, como sejam o risco biológico da elevada exposição à fenilalanina no útero, o coeficiente de inteligência materna, o genótipo para a fenilalanina hidroxilase, o controlo metabólico, a nutrição, o apoio familiar e clínico, entre outros.

Por último, na fenilcetonúria clássica os níveis de fenilalanina plasmática são superiores a 10mg/dl e paralelamente ocorre uma baixa atividade da enzima fenilalanina hidroxilase. Esta é a forma mais comum de hiperfenilalaninemia sendo a aminoacidopatia mais frequente, sendo possível efetuar terapia profilática (Vallian e Moeini, 2006).

No caso da fenilcetonúria clássica a enzima que processa o aminoácido fenilalanina (fenilalanina hidroxilase) encontra-se ausente, provocando um aumento dos níveis plasmáticos acima de 10 mg/dl e resultando uma passagem dos metabolitos em grande quantidade para o sistema nervoso central, o que origina alterações no desenvolvimento (Campistol, *et al.*, 2001).

Os recém-nascidos não apresentam anomalias aquando do seu nascimento, sendo que os sintomas, tal como atraso no desenvolvimento, hipotermia, espasmos e erupções cutâneas, são detetados apenas passados alguns meses. De realçar que a pigmentação dos recém-nascidos é baixa comparado com indivíduos saudáveis. (Matalon, 2001).



O diagnóstico da fenilcetonúria é feito por deteção das concentrações elevadas de fenilalanina no sangue, caracterizado por níveis superiores a 10 mg/dl. É importante que seja feito numa fase precoce a fim de evitar ao máximo os danos neurológicos que este causa. A não adesão ao tratamento provoca danos irreversíveis tanto a nível mental, físico e psicológico (Matalon, 2001).

#### IV. Genética

A fenilcetonúria apresenta uma grande variabilidade genética, já foram descritas dezenas de mutações diferentes localizadas no gene codificante da fenilalanina hidroxilase, que vão originar diferentes graus de gravidade na actividade da enzima e consequentemente diferentes tipos de hiperfenilalaninemias (Matalon, 2001).

O gene que codifica a produção de fenilalanina hidroxilase está localizado entre as bandas 2 e 4 da região da região 2 braço longo do cromossoma 12 (Hendriksz e Walte, 2004; Pfaendner *et al.*, 2005).

As mutações neste cromossoma podem causar a diminuição da atividade da fenilalanina hidroxilase ou a perda completa da sua atividade. Pode-se verificar inserções de bases adicionais, deleções de partes de um gene, mutações “missense”, “nonsense”, deleções defeitos no processo de “splicing” (Matalon, 2001).

De acordo com Hendriksz e Walte, 2004; Pfaendner *et al.*, 2005, é importante fazer uma análise molecular a fim de obter uma previsão do fenótipo metabólico. Contudo nem sempre as mutações mais severas caracterizadas a partir do fenótipo demonstram hiperfenilalaninemia mais graves.

A nível europeu têm sido feitas diversas investigações no sentido de caracterizar os diferentes tipos de mutações, onde se verificaram grandes discrepâncias de região para região. De realçar que cada região está relacionada com determinadas mutações, nomeadamente, regiões com elevado grau de imigração em diferentes alturas (Matalon, 2001).

Em Portugal, as mutações mais frequentes são as “splice junction” e “missense”. Relativamente à mutação “splice junction” há uma alteração de guanina para adenina no nucleótido 1066. Ao passo que na mutação “missense”, ocorre uma mudança de arginina para glutamina no aminoácido 261 que resulta numa alteração de guanina para adenina no nucleótido 782 e mudança de valina para metionina no aminoácido 388 que resulta numa alteração de guanina para adenina no nucleótido 1162 (Matalon, 2001).



Em todos os indivíduos fenilcetonúricos devem ser efetuados a análise mutacional e a determinação do genótipo, não só para que se consiga um diagnóstico diferencial mas também para um aconselhamento genético, seguimento do doente e prognóstico a longo prazo. A análise mutacional pode ser usada também na determinação dos genótipos associados com a possível resposta à tetrahydrobiopterina (Walter *et al.*, 2006).



## V. Diagnóstico

Atualmente, o rastreio da PKU em Portugal é feito nos primeiros dias de vida, numa fase pré-sintomática. O diagnóstico desta doença baseia-se normalmente na deteção de níveis elevados de fenilalanina no plasma, obtidos no decurso de uma dieta normal e de um resultado positivo no diagnóstico precoce (Blau, *et al.*, 2003).

Ao longo dos anos foram usados vários métodos para rastreio da fenilcetonúria: o ensaio de inibição bacteriana de Guthrie ou “teste do pezinho”, cromatografia, método fluorimétrico método enzimático e método de espetrometria de massa (National Institute of Health Consensus Development Conference Statement: Phenylketonuria. 2001).

O ensaio de inibição bacteriana de Guthrie é um método que utiliza o crescimento bacteriano de *Bacillus subtilis* num meio de cultura específico em presença de fenilalanina contida em discos de sangue, no qual obtemos resultados semi-quantitativos e sujeitos a interferências devido à presença de antibióticos na amostra de sangue. O resultado positivo neste teste para fenilalanina necessita de uma repetição e confirmação por análise quantitativa (National Institute of Health Consensus Development Conference Statement: Phenylketonuria, 2001).

A cromatografia pode ser realizada de três formas: em papel, em camada fina, líquida de troca iónica. A cromatografia em papel e em camada fina são métodos semi-quantitativos, ao passo que a cromatografia líquida de troca iónica é o método de referência para a quantificação da fenilalanina. (National Institute of Health Consensus Development Conference Statement: Phenylketonuria, 2001).

No método fluorimétrico, o doseamento da fenilalanina utiliza como marcador fluorescente a ninidrina. Trata-se de um teste quantitativo e semi-automatizado, que apresenta menos resultados falsos positivos que no caso da inibição bactéria não acontece. (National Institute of Health Consensus Development Conference Statement: Phenylketonuria, 2001).

Relativamente ao método enzimático, este método de doseamento utiliza a enzima fenilalanina desidrogenase que catalisa a desaminação oxidativa da fenilalanina em fenilpiruvato e amónia. Trata-se de uma técnica específica, sensível que apresenta um

reduzido número de falsos positivos (National Institute of Health Consensus Development Conference Statement: Phenylketonuria, 2001).

Por último, a espectrometria de massa tem os mesmos benefícios que o método enzimático, mas também pode medir a concentração de tirosina (aminoácido cujo precursor é a fenilalanina), cujo valor obtido pode ser importante na interpretação da concentração de fenilalanina. Para além disso, este método pode identificar outras inúmeras doenças metabólicas na mesma amostra (National Institute of Health Consensus Development Conference Statement: Phenylketonuria, 2001).

O rastreio da fenilcetonúria em amostras de urina iniciou-se em Portugal em 1972. Em 1979, o rastreio, chamado teste do pezinho, conforme se pode visualizar na figura 3, passou a ser feito no sangue. Estas colheitas são realizadas nos centros de saúde nos 8 primeiros dias de vida, e é feito o doseamento da fenilalanina e a atividade da dihidrobiopterina. Depois de se terem efetuado todos os diagnósticos da doença, é indispensável uma dieta isenta de fenilalanina (Matalon, 2001).



Figura 3: Teste do Pezinho (Adaptado de <http://www.engravidar.blog.br/teste-do-pezinho/>).

## VI. Tratamento da fenilcetonúria

### 6.1. Tratamento convencional

O tratamento principal passa pela redução dos níveis plasmáticos de fenilalanina, para deste modo evitar as patologias que esta doença provoca. (Matalon, 2001).

Assim sendo, é muito importante o diagnóstico pré-natal, para caracterizar o tipo de hiperfenilalaninemia e caracterizar a mutação, a fim de estabelecer o tratamento adequado para prevenir o atraso mental (Bickel *et al.*, 1953).

A adoção de uma dieta pobre em proteínas reduz os níveis de fenilalanina, no entanto, é necessária a suplementação com um substituto proteico, de modo a repor as necessidades proteicas dos indivíduos (Santos *et al.*, 2006).

Ao longo dos anos foram realizados vários estudos com o objetivo de apreender a eficácia da isenção de proteínas nestes doentes, sendo que aqueles que iniciaram a restrição numa fase inicial e a seguiram de forma rigorosa apresentaram um grau de inteligência normal e não apresentaram alterações neurológicas (Amaya, 2011). Contudo, os doentes que não procederam desta forma e não praticaram um controlo rigoroso, verificaram alterações neurológicas, e baixo coeficiente de inteligência (Sandra, 2012).

O tratamento dietético acarreta muitas responsabilidades tanto a nível económico como social. Por estes motivos, existe uma falha no cumprimento da terapêutica nas fases de adolescência e adulta. Os doentes que seguem um tratamento rigoroso durante a infância podem, ainda assim, desenvolver um ligeiro atraso mental, o que causa muitos abandonos do tratamento (Amaya, 2011). Nos casos em que se verifica adesão a terapêutica, é normal ocorrerem situações de atrasos em determinadas funções neurológicas que contribuem para um menor aproveitamento a nível escolar e no futuro trabalho. Ansiedade, depressão e baixa auto-estima também foram situações descritas (Amaya, 2011).

A dieta pobre em fenilalanina deve ser uma terapêutica mantida para toda a vida, mesmo após o desenvolvimento neurológico do indivíduo estar completo, uma vez que os níveis altos de fenilalanina podem alterar as funções cognitivas (Amaya, 2011).

A monitorização dos níveis plasmáticos de fenilalanina no primeiro ano de vida é efetuado semanalmente, no segundo e terceiro quinzenalmente e a partir desta idade mensalmente (Sociedade Portuguesa das Doenças Metabólicas (SPDM), 2007).

Segundo Isabelyth *et al.*, (1991) os alimentos permitidos na alimentação destes doentes são aqueles que apresentam baixos níveis de fenilalanina. Nesta dieta, estão proibidos alimentos como a carne, leite, produtos lácticos, ovos, cereais, amendoins, lentilha, leguminosas, e derivados do aspartame. A quantidade dos alimentos deve ser determinada de acordo com a idade, tolerância do indivíduo e níveis séricos analisados posteriormente (Linda, 2013).

Devido ao fato da fenilalanina ser um aminoácido essencial dos doentes fenilcetonúricos, a dieta deve conter tirosina em quantidade adequada, possibilitando tanto a manutenção dos níveis séricos de fenilalanina como o desenvolvimento do doente dentro da normalidade (Isabelyth *et al.*, 1991).

Assim, recorre-se a suplementos de substituição proteica que se baseia numa mistura de aminoácidos isentos de fenilalanina que contêm minerais, vitaminas e outros nutrientes (Spronsen *et al.*, 2001).

A tirosina sintetizada a partir da fenilalanina é um precursor da tiroxina, melanina e dos neurotransmissores dopamina e noraepinefrina. Uma vez que os indivíduos fenilcetonúricos não conseguem sintetizar a tirosina a partir da fenilalanina, necessitam de outras fontes proteicas que compensem este défice. Estes doentes devem tomar suplementos alimentares ricos em tirosina isentos de fenilalanina (Bross *et al.*, 2000; Matalon, 2001).

Segundo a Sociedade Portuguesa das Doenças Metabólicas (SPDM), 2007) deve-se manter os valores fisiológicos normais de 2 a 6mg/dl principalmente nos primeiros anos de vida.

Assim, para que o controlo da doença seja eficaz é necessário o diagnóstico precoce nos primeiros dias de vida, o tratamento e controlo periódico essencialmente durante a infância, o controlo rigoroso antes e durante a gravidez em adultas fenilcetonúricas e a restrição de fenilalanina na dieta, de modo manter as concentrações plasmáticas até a 6 mg/dL na criança, e até 8 mg/dL no adulto (Isabelyth *et al.*, 1991).

Para além do tratamento dietético encontram-se em desenvolvimento outras técnicas que não passam somente pelo objetivo de manter os níveis plasmáticos de fenilalanina segura, como também pela manutenção da concentração de aminoácidos no cérebro e no neurodesenvolvimento e evolução neurológica a longo prazo. Alcançar um nível de vida o mais próximo possível do normal tanto a nível económico, social, e psicológico é o objetivo do desenvolvimento de todas as terapêuticas aplicadas nesta doença (Amaya *et al.*, 2011).

## **6.2. Terapia génica**

Para os doentes com fenilcetonúria, tal como para muitas outras doenças metabólicas hereditárias, a terapia génica oferece esperança para o futuro. Com a ajuda de modelos animais, foi possível testar diferentes veículos de transferência de genes. No entanto, a realidade é bastante diferente do que seria de esperar. Tanto a transferência genica da fenilalanina hidroxilase *in vitro* e *in vivo*, como o *gene targeting* autólogo nao-hepático, falharam devido à baixa eficiência de *gene delivery* e/ou falta do cofator essencial BH4 (Blau, *et al.*, 2004).

Foram analisadas três formas de terapia génica: a substituição; a correção e o aumento de genes (Amaya *et al.*, 2011).

No caso da substituição, o gene com a anomalia é substituído por um gene normal. Na correção, apenas a zona afetada do gene é corrigida. No aumento do gene, há introdução de material genético estranho através de adenovírus e retrovírus nas células afetadas (Amaya *et al.*, 2011).

Existem muitas dificuldades nas técnicas associadas à terapia génica, uma vez que apesar da maior parte das mutações de fenilcetonúria levarem à perda da função, a proteína continua presente (Amaya *et al.*, 2011).

## **6.3. Terapia enzimática com fenilalanina amónia liase (PAL)**

A terapêutica de substituição com PAL é uma possível alternativa para o tratamento da fenilcetonúria que se encontra sob investigação. Esta enzima catalisa a degradação da fenilalanina em ácido trans-cinámico amónia livre (figura 4) (Amaya *et al.*, 2011). O

ácido trans-cinâmico é convertido em ácido úrico que é excretado na urina. Esta enzima é mais estável e não é necessária a intervenção de um cofator (Amaya *et al.*, 2011).

Em estudos realizados em ratinho *Pahenu2* (ratinhos modelos), esta enzima foi administrada tanto por via injetável, como por via oral verificando-se uma diminuição dos níveis de fenilalanina no plasma. Na forma intravenosa, ocorre uma baixa estabilidade desta enzima, ao passo que no caso da administração oral o processo é mais eficaz. (Matalon, 2001; Santos *et al.*, 2006).

Segundo Santos *et al.*, (2006) existem problemas de inativação por parte de enzimas digestivas, sendo também um método relativamente caro.

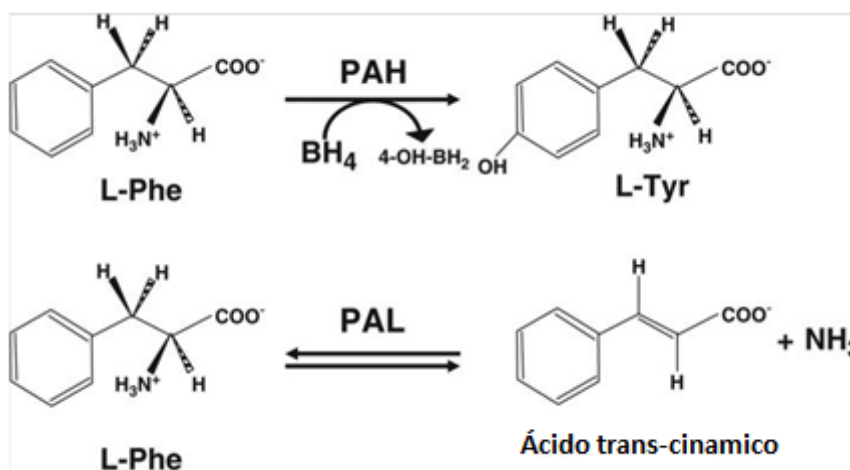


Figura 4: Vias da degradação da fenilalanina (Adaptado de Amaya *et al.*, 2011).

#### 6.4. Suplementos à base de aminoácidos

Nos indivíduos fenilcetonúricos, os níveis de fenilalanina são elevados e há um aumento do seu transporte para o cérebro e, conseqüentemente, há uma diminuição dos níveis dos restantes aminoácidos, o que resulta num atraso mental característico destes indivíduos (Amaya *et al.*, 2011).

Assim, para evitar este desequilíbrio, foram desenvolvidos os suplementos de aminoácidos isentos de fenilalanina. Esta terapêutica teve uma boa adesão e tem efeitos positivos no equilíbrio de aminoácidos essenciais. Segundo Matalon *et al.*, (2003) através de um estudo verificou-se que adolescentes que cumprem este tratamento não



apresentam os efeitos adversos comparativamente com os adolescentes que não seguem esta terapêutica.

### **6.5. Suplementos de tetrahydrobiopterina**

Os suplementos de tetrahydrobiopterina consistem na forma sintética deste composto. A ingestão deste cofator tem como objetivo aumentar a atividade da enzima fenilalanina hidrolase e ajudar a estabilizar a atividade das enzimas mutantes (Amaya *et al.*, 2011).

Os indivíduos com fenilcetonúria suave e moderada respondem positivamente a este tratamento, mas nem todos de igual forma. Por norma, os indivíduos com fenótipos mais leves têm uma resposta maior comparada com aqueles que apresentam baixam tolerância para a fenilcetonúria. Contudo, este tratamento não pode ser aplicado a doentes com fenilcetonúria clássica sem atividade da enzima, pois estes não apresentam resposta a este tratamento, pelo facto das formas leves e moderadas ainda terem enzima disponível no fígado para reagir com a tetrahydrobiopterina. Este tratamento é bastante dispendioso, e, isoladamente, não é suficiente para estes indivíduos (Amaya *et al.*, 2011).

### **6.6. Transplante de fígado**

Segundo Harding (2008), o transplante de fígado é o principal tratamento permanente da fenilcetonúria. Apesar de não ser afetado directamente é neste órgão que não ocorre a produção da fenilalanina hidroxilase importante para o metabolismo da fenilalanina.

A eficácia do transplante de fígado inteiro e transplante de hepatócitos como terapias para a fenilcetonúria está limitada, uma vez que é necessária a medicação com imunossuppressores para o resto da vida, acarretando muitos riscos para o doente (Harding, 2008).

### **6.7. Tratamento com glicopéptido**

O glicomacropéptido aplica-se em doentes com fenilcetonúria pois possui uma pequena quantidade de fenilalanina. Estes alimentos com glicopéptidos têm uma boa aceitação por parte dos doentes com fenilcetonúria e fazem parte de uma alimentação completa

com elevada variedade de fontes proteicas, e proporciona mais saciedade comparada com os aminoácidos (Sandra *et al.*, 2012).

GMP é um péptido glicosilado com 64 aminoácidos. Obtém-se naturalmente a partir do leite bovino na fração do soro do leite, de onde é libertado pela ação da pepsina no intestino humano. Está presente em grande quantidade no leite e compreende cerca de 15 a 20% da proteína total do soro do queijo (Sandra *et al.*, 2012).

De acordo com Sandra *et al.*, 2012, GMP é um suplemento utilizável nos doentes com fenilcetonúria, pois apresenta pouca quantidade de fenilalanina. Comparada com os ácidos grandes e neutros de aminoácidos (LNAA) apresentam o triplo da quantidade de isoleucina, treonina e valina.

### **6.8. Suplementação dietética com aminoácidos grandes e neutros (LNAA)**

A suplementação dietética de aminoácidos grandes e neutros (LNAA) pode ou não ser associada à dieta tradicional (Sandra *et al.*, 2012).

Existem no nosso organismo proteínas transportadoras de aminoácidos neutros que são específicos para a fenilalanina, arginina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, treonina, triptofano, tirosina e valina. No caso dos indivíduos com fenilcetonúria há uma maior concentração plasmática de fenilalanina e como os transportadores para o cérebro apresentam maior afinidade para a fenilalanina do que para os restantes aminoácidos, ocorre um aumento do aporte desta para o cérebro e consequentemente uma diminuição dos restantes aminoácidos (Sandra *et al.*, 2012).

Assim, a ingestão diária destes suplementos irá diminuir a concentração de fenilalanina, diminuindo desta forma os efeitos neurológicos desta doença. Apesar de ser um bom tratamento e com efeitos positivos, neste tipo de doença antes dos 12 anos de idade não se deve excluir o cumprimento da dieta isenta de fenilalanina (Sandra *et al.*, 2012).

Na figura 5, estão esquematizados as diferentes terapêuticas existentes para o tratamento da fenilcetonúria.

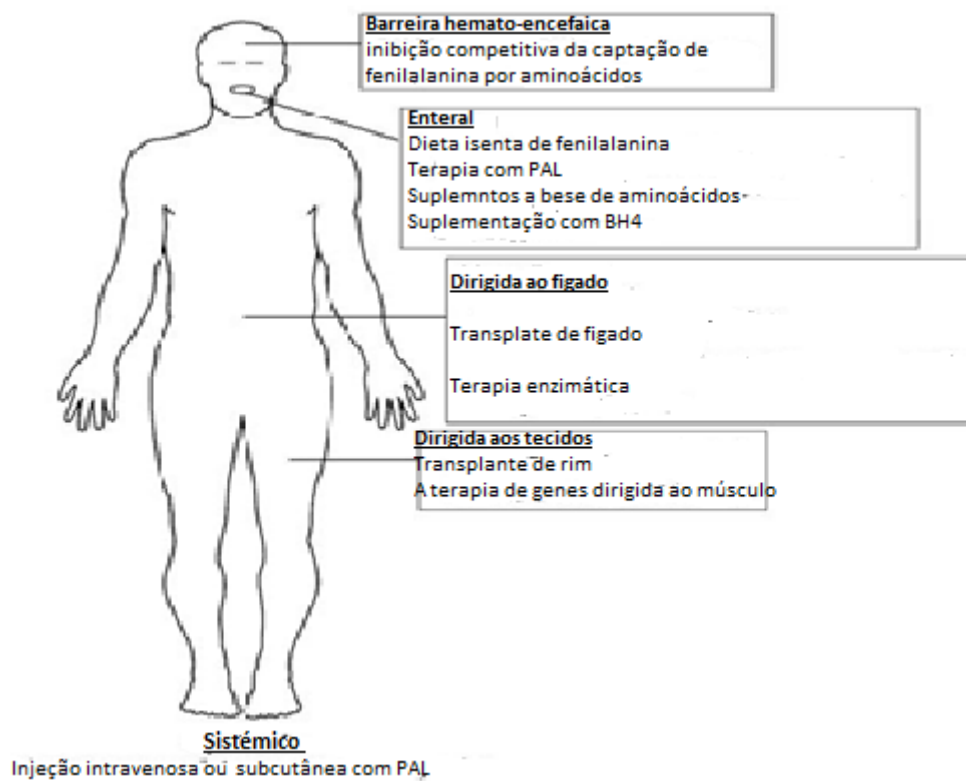


Figura 5: Tipos de tratamento da fenilcetonúria (Adaptado do Harding, 2008).

## VII. Complicações da fenilcetonúria

### 7.1. Complicações neurológicas

Apesar da fenilcetonúria ser uma doença autossómica recessiva cujas causas e possíveis tratamentos já são bem conhecidos, o mecanismo que contribui para o atraso mental não está ainda descrito (Sandra *et al.*, 2012).

Sabe-se que ao existir uma grande quantidade de fenilalanina plasmática, maior do que é normal, os transportadores de aminoácidos neutros que vão para o cérebro estão ocupados com a fenilalanina, pois estes apresentam maior afinidade para este aminoácido, não transportando os restantes aminoácidos essenciais, o que vai colmatar no atraso mental. Segundo Matalon, (2003) é apenas por inferência que as taxas de síntese proteica no cérebro parecem ser afetadas.

A nível cerebral dos doentes não tratados, verifica-se uma diminuição do peso cerebral, uma alteração da estrutura da mielina e redução da arborização dendrítica do número de ligações sinápticas (Matalon, 2003).

Krause *et al.*, (1985) e Moats *et al.*, (2000) referem que através de exames realizados, nomeadamente através de ressonância magnética, verificou-se uma alteração da substância branca. Os autores pensam que esta pode ser resultante da produção de mielina ou da sua destruição. Esta conclusão também foi proposta por Philips *et al.*, 2001.

Através de estudos realizados por espectroscopia de ressonância magnética concluiu-se que indivíduos com níveis plasmáticos de fenilalanina semelhantes, apresentaram diferentes concentrações cerebrais de fenilalanina, o que torna os níveis plasmáticos nem sempre conclusivos. Esta diferença pode ser consequência da variação individual do transporte da fenilalanina e devido à quantidade de fenilalanina ingerida (Koch *et al.*, 2000; Moats *et al.*, 2000; Moller *et al.*, 2003; Young e Palmour 1999).

Como já foi referido anteriormente, um maior aporte de fenilalanina para o cérebro tem como consequência uma redução da concentração de aminoácidos intraneurais, dificultando deste modo o seu transporte para o cérebro, ao mesmo tempo que inibe a hidroxilação da tirosina e do triptofano. Consequentemente, ocorre uma redução da síntese proteica que pode afetar a proliferação dendrítica e a mielinização, resultando

numa diminuição de neurotransmissores (dopamina e norepinefrina) (Amaya *et al.*, 2011).

Estudos demonstram que a eficácia do tratamento depende do controlo alimentar. Adolescentes e adultos apresentaram doença neurológica por não seguir o cumprimento dietético à risca, tendo melhorado quando retomada a dieta. Indivíduos com dieta alimentar iniciada na infância, que atenuaram a mesma ao longo da fase adulta, apresentaram menores riscos de desenvolvimento de doença neurológica (Walter *et al.*, 2006).

## **7.2. Complicações nutricionais**

Segundo Amaya *et al.*, (2011) apesar de uma dieta rigorosa, isenta de fenilalanina, a não associação de suplementos vitamínicos a esta dieta pode originar défices vitamínicos, nomeadamente da vitamina B12 e sais minerais, entre eles o cálcio, ferro, selénio, zinco e vitamina D, não sendo consequência das patologias associadas a esta doença.

Uma das consequências da dieta implementada a estes doentes é, não só a isenção da fenilalanina, mas também de outras fontes essenciais contidas nos alimentos, como sejam os ácidos gordos, poliinsaturados de cadeia longa (Agostoni *et al.*, 2003). Estes ácidos gordos apresentam um papel importante na neurotransmissão e a sua deficiência na dieta, como anteriormente enunciado, pode resultar no fraco desenvolvimento destes doentes (Agostoni *et al.*, 2003).

Foram efetuados diversos estudos em doentes fenilcetonúricos, pelo período de um ano, a quem foi atribuída uma alimentação com suplementos de ácidos gordos poliinsaturados de cadeia longa, que obtiveram resultados positivos, o que indica que esta poderá contribuir para o atraso do desenvolvimento neurológico, facto ainda não provado, segundo Agostoni *et al.*, 2003.

## **7.3. Complicações ósseas**

De acordo com Serwet *et al.*, 2015 apesar do sucesso do tratamento dietético, foram observados problemas secundários no tratamento da fenilcetonúria ao longo da vida, alguns deles supracitados anteriormente. A primeira ocorrência foi relatada em 1962, na



qual se observou o estado anormal do osso em pacientes tratados precocemente e de forma contínua. A baixa densidade mineral óssea (DMO) é considerada um importante fator de risco para fraturas.

Paralelamente, Villares e Leal (2006) referem que não há certezas se a alteração da mineralização óssea é uma consequência da própria doença ou do plano alimentar restrito implementado nestes doentes.

Como consequência da doença, surge uma acumulação de metabolitos tóxicos e de fenilalanina que vão interferir no processo de mineralização. No caso da dieta alimentar destes doentes, a carência nutricional pode contribuir para uma diminuição do aporte de cálcio e fósforo. Estes são alguns dos possíveis motivos que podem originar o desenvolvimento de doenças ósseas. No entanto, é de referir que são necessários mais estudos para se aferir com certeza quais as causas que provocam estes distúrbios (Serwet. *et al.*, 2015).

A maioria dos estudos sobre doenças ósseas em pacientes com fenilcetonúria concorda que o osso é afetado, no entanto, existem lacunas significativas no conhecimento e não há consenso sobre o grau e as implicações das alterações ósseas, causas biológicas e fatores de risco para baixa densidade mineral óssea, bem como a identificação de subgrupos de pacientes de risco de fraturas e estado ósseo comprometido (Serwet. *et al.*, 2015).

## VIII. Conclusão

O presente trabalho de pesquisa bibliográfica, baseado em artigos de investigação publicados sobre esta temática permitiu compreender a evolução da doença fenilcetonúria ao longo dos seus 70 anos de referência. Esta doença é considerada o erro do metabolismo dos aminoácidos mais comum entre a população e o diagnóstico precoce, que por norma é efetuado no rastreio neonatal aos recém-nascidos, é de extrema importância. Do seu diagnóstico depende o tratamento que consiste maioritariamente na restrição alimentar. Além deste, existem outros que ainda são alvo de estudo, como o transplante de fígado, terapia enzimática com fenilalanina amónia liase, suplementos de tetrahidrobiopterina, terapia génica, suplementos à base de aminoácidos, tratamento com glicopéptido e suplementos com LNAA. Todas estas terapias apresentam as suas vantagens e desvantagens, não sendo ainda bastantes conclusivas.

Ao longo do estudo fez-se referência às complicações na fase adulta, como sejam as neurológicas, nutricionais, ósseas, dando especial destaque à síndrome da fenilcetonúria materna.

A base do tratamento desta doença incide, como foi possível verificar ao longo de todo o trabalho de investigação sobre a dieta rigorosa e exigente, bem como a sua monitorização que deve ser continuada, quer ao nível metabólico, quer ao nível de funcionamento neuropsicológico e comportamental, exigindo a utilização de instrumentos de avaliação sensíveis à problemática específica desta população pelas equipas multidisciplinares.

Como estratégias de intervenção futura, sugere-se a continuação da realização de atividades extra consulta de rotina, que promovam uma maior autonomia do doente. No tocante à dieta e ao modo de confeção e preparação de uma alimentação saudável, sugere-se que seja atrativa para a vista e agradável ao paladar. Conhecer, conviver e poder partilhar os seus sentimentos relativos à doença com outros doentes que vivem a mesma realidade demonstra ter carácter terapêutico e integrador.

A chave do sucesso dos indivíduos com esta doença poderá residir num controlo metabólico e dietético continuado. A necessidade de se estudarem e avaliarem estes doentes, quer do ponto de vista clínico, metabólico, intelectual e neuropsicológico só pode levar a uma maior compreensão dos mecanismos envolvidos nesta patologia, que podem ser tão subtis a ponto de passarem despercebidos aos olhos menos sensíveis.



## **IX. Bibliografia**



Agostoni C, Verduci E, Massetto N, et al. (2003) Long-term effects of long chain polyunsaturated fats in hyperphenylalaninemic children. *Archives of Disease in Child*; 88: 582-583.

Amaya Bélanger-Quintana, Alberto Burlina, Cary O, Harding e Ania C. Muntau. *Molecular genetics and metabolism* 2011; 104(0): S19-S25.

Bickel H, Gerrard J, Hickmans EM. Influence of phenylalanine intake on phenylketonuria. *Lancet* 1953; 2:812-813.

Blau N, Bernegger C, Trefz FK. Tetrahydrobiopterin-responsive hyperphenylalaninemia due to homozygous mutations in the phenylalanine hydroxylase gene (correspondence). *European Journal of Pediatrics*, 2003; 162:196).

Blog Engravidar. Disponível em: (<http://www.engravidar.blog.br/teste-do-pezinho/>).

Campistol J, Lambruschini N, Vilaseca MA, Cambra FJ, Fuste E, Gomez L. Hiperfenilalaninemia. In: Sanjurjo P, Baldellu A (eds.). *Diagnóstico e tratamento de las Enfermedades Metabólicas Hereditarias*. Madrid, Ed Ergon, 2001;195-206).

Centerwall SA, Centerwall WR. (2000) The discovery of Phenylketonuria: The story of a young couple, two retarded children, and a scientist. *Pediatrics*; 105: 89-103.

Comissão de fenilcetonúria materna Genetics. *Pediatrics*. 2008; 122 (2): 445-9.

CO Harding. *Clinical Genetics* 2008; 74(2): 97-104.

Denise M. Ney, Robert D. Blank, Karen E. Hansen. Current opinion in clinical nutrition and metabolic care 2014; 17(1): 61-68.

Isabelyth, Beverleyk, Martin Basley. Review of neonatal screening programme for phenylketonuria 1991; 303(6798): 333-335.

Hendriksz CJ, Walter JH. Update on phenylketonuria. *Current Paediatrics* 2004; 14: 400-406.

Koch R, Hanley W, Levy H, e tal. Maternal Phenylketonuria: Na International Study Molecular Genetics and Metabolism 2000; 71: 233-239 (a).



Krause W, Halminski M, McDonald L, Dembure P, Saho R, Freides D, Elsas L. Biochemical and Neuropsychological Effects of Elevated Plasma Phenylalanine in Patients with Treated Phenylketonuria: a model for the study of phenylalanine and brain function in man. *Journals Impact Factors* 1985; 75: 40-48.

Lehninger, A. L. Principles of Biochemistry. 4.<sup>a</sup> Edição. New York: Freeman and Company 2004: pp 656-689.

Levy HL. Phenylketonuria: old disease, new approach to treatment. Commentary. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1999; 96:1811-1813.

Linda Casey. Canadian Family Physician. 2013; 59(8): 837-840.

Matalon KM. Developments in Phenylketonuria. Topics in Clinical Nutrition 2001; 16 (4): 41-50.

Matalon R, Surendran S, Matalon KM, et al. Future Role of Large Neutral Amino Acids in Transport of Phenylalanine Into the Brain. *Pediatrics* 2003; 112: 1570-1574.

Moats RA, Koch R, Moseley K, et al. Brain phenylalanine concentration in the management of adults with phenylketonuria. *Journal of Inherited Metabolic Disease* 2000; 23: 7-14. Magnetic Resonance Spectroscopy in Patients with Phenylketonuria. *Pediatrics* 2003; 112: 1580-1583.

National Institutes of Health Consensus Development Panel. National Institutes of Health Consensus Development Conference Statement. Phenylketonuria: Screening and Management. *Pediatrics* 2001; 108: 972-982.

Philips MD, McGraw P, Lowe MJ, Mathews VP, Hainline BE. Diffusion-Weighted Imaging of White Matter Abnormalities in Patients with Phenylketonuria. *American Journal of Neuroradiology* 2001; 22: 1583-1586.

Pfaendner NH, Reuner G, Pietz J, et al. MR Imaging-Based Volumetry in Patients with Early-Treated Phenylketonuria. *American Journal of Neuroradiology* 2005; 26: 1681-1685.

Sandra C. Van Calcar, PhD, RD, CD, Professor Assistente e Denise M. Ney, PhD, RD, 2012



Santos LL, Magalhaes MC, Januario JN, Aguiar MJB, Carvalho MRS. The time as come: a new scene for PKU treatment. *Online Journal Genetics and Molecular Research* 2006; 5 (1): 33-44.

Serwet Demirdas, Katie E Coakley, Peter H Bisschop, Carla E M Hollak, Annet M Bosch, Rani H Singh. *Orphanet Journal of Rare Diseases* 2015; 10:17.

Smith, L., Lee, P. The Hyperphenylalaninemias. In: Fernandes, J. Saudubray, J. M., van den Berghe, G. (eds). *Inborn Metabolic Diseases*. 3.<sup>a</sup> edição Springer 2000. pp. 171.179.

Scriver CR. The PAH Gene, Phenylketonuria, and a Paradigm Shift. *Human Mutation* 2007; 28 (9): 831-845.

Sociedade Portuguesa das Doenças Metabólicas (SPDM). Consenso para o Tratamento Nutricional da fenilcetonúria. *Acta Pediátrica Portuguesa* 2007. 38 (1); 44-54.

Sprosen FJ, Rijn M, Bekhof J, Koch R, Smit PGA. Phenylketonuria: tyrosine supplementation in phenylalanine-restricted diets. *The American Journal Clinical Nutrition* 2001; 73: 153-157.

Vallian S, Moeini H. A quantitative bacterial micro-assay for rapid detection of serum phenylalanine in dry blood-spots: Application in phenylketonuria screening. *Journal of Applied Genetics* 2006; 47 (1): 79-83.

Villares JMM, Leal LO. Recambio mineral óseo y densitometría ósea en pacientes sometidos a dieta de riesgo: hiperfenilalaninemia y galactosemia. *Anales de Pediatría* 2006; 64 (3): 284-284.

Walter JH, Lee PJ, Burgard P. Hyperphenylalaninaemia. In: Fernandes, Saudubray, van der Verghe, Walter. *Inborn Metabolic Diseases, Diagnosis and Treatment*. Germany: Springer; 2006. pp. 222-232.

Young SN, Palmour RM. Research on genes: promises and limitations. Commentary. *Journal of Psychiatry and Neuroscience* 1999; 24 (4): 300-303.