Programa de detección precoz de la hiperfenilalaninemia: 11 años de andadura

Program for the early detection of hyperphenylalaninemia: 11 years on

A. Rivero[1], J.F. García de Juan[1], J. Elso[2], J.E. Olivera[2], A. Grijalba[1], M. Palacios[1], S. García[1]

RESUMEN

En 1980 se puso en marcha en Navarra el Programa de Detección Precoz de Metabolopatías. Uno de sus objetivos es la detección temprana de las hiperfenilalaninemias. En 1987 la cuantificación de la fenilalanina pasó a realizarse en el Servicio de Bioquímica Clínica del Hospital de Navarra. Desde entonces hasta Diciembre de 1997 se han estudiado 51.815 recién nacidos, lo cual supone el 99,24% de los niños nacidos en Navarra. La cuantificación de la fenilalanina en mancha de sangre seca durante 1989 nos permitió obtener el intervalo de referencia para este aminoácido que está comprendido entre 69,5 ± 0,01 µmol/L y 139,9 ± 0,03 µmol/L. Durante estos 11 años se han detectado 2 casos de hiperfenilalaninemia fenilcetonúrica y un caso de hiperfenilalaninemia transitoria. Desde el punto de vista clínico, los niños se encuentran actualmente bien después de que se iniciara el tratamiento adecuado, el cual se basa en una dieta con bajo contenido en fenilalanina.

Palabras clave: Fenilalanina. Hiperfenilalaninemia. Detección Precoz.

ABSTRACT

In 1980 the Neonatal Screening Program was set in motion in Navarra. One of its aims is the early detection of hyperphenylalaninemias. In 1987 the quantification of phenylalanine came to be carried out in the Clinical Chemistry Department of the Hospital of Navarra. From then until December 1997, 51,815 newborn babies have been studied, which represents 99.24% of the infants born in Navarra. The quantification of phenylalanine in dried blood spots during 1989 enabled us to obtain the reference interval for this aminoacid that is contained between 69.5 ± 0.01 µmol/L and 139.9 ± 0.03 µmol/L. During these 11 years we detected 2 cases of phenylketonuric hyperphenylalaninemia and one case of transitory hyperphenylalaninemia. From the clinical point of view, the children are well at present, following prescription of adequate treatment, which is based on a diet with a low phenylalanine content.

Key words: Phenylalanine. Hyperphenylalaninemia. Neonatal Screening.

ANALES Sis San Navarra 1998; 21 (3): 301-311.

1. Servicio de Bioquímica Clínica. Hospital de Navarra.
2. Servicio de Pediatría. Hospital Virgen del Camino.

Parte de este trabajo ha contado con una Ayuda del Departamento de Salud del Gobierno de Navarra concedida en 1988.

Aceptado para su publicación el 22 de julio de 1998.

Correspondencia
Adriana Rivero Marcotegui
Servicio de Bioquímica
Hospital de Navarra
C/ Irunlarrea 3
31008 Pamplona
Tfno. 948 422241
Fax 948 422303

INTRODUCCIÓN

La hiperfenilalaninemia fue descrita por Fölling en 1934, al comprobar en dos gemelos la excreción aumentada de ácido fenilpirúvico en orina[1].

Este desorden autosómico recesivo que cursa con concentraciones elevadas de fenilalanina (Phe) es causado fundamentalmente por un defecto de la fenilalanina hidroxilasa (E.C. 1.14.3.1), aunque también puede deberse a un defecto en la síntesis del cofactor de dicha hidroxilasa o a un déficit de otra enzima, la dihidropteridina reductasa (DHPR), implicada en la ruta metabólica[2-4].

Fisiológicamente, el principal paso metabólico consiste en la transformación de la Phe en tirosina (Tir) mediante la Phe hidroxilasa (Fig. 1). Este enzima requiere un cofactor, la tetrahidrobiopterina (BH_4) para llevar a cabo su transformación enzimática[5]. La biopterina actúa además como cofactor necesario para la hidroxilación de otros aminoácidos aromáticos como Tir y triptófano. La reducción de dihidrobiopterina a tetrahidrobiopterina se realiza gracias a la dihidrofolato reductasa dependiente de NADPH. La regeneración de BH_4 se produce mediante la DHPR.

Se distinguen dos grupos de hiperfenilalaninemia. El primer grupo (tipos I, II y III) está constituido por las hiperfenilalaninemias típicas. Los tipos I,II y III tienen en común el déficit de Phe hidroxilasa (Fig. 1). El segundo grupo está formado por las hiperfenilalaninemias malignas (tipos IV y V) y el defecto se encuentra a nivel del cofactor BH_4 (tipo V)[6-8] o de su reciclaje por déficit de DHPR (tipo IV)[3]. Los tipos IV y V representan únicamente el 1-3% de las hiperfenilalaninemias.

El diagnóstico de hiperfenilalaninemia se basa en la demostración de concentraciones elevadas de Phe en sangre. En el caso de las hiperfenilalaninemias tipos IV y V se debe poner además en evidencia un déficit de DHPR en hematíes[9,10], o una alteración de la excreción urinaria de las pteridinas, biopterina y neopterina. La cuantificación de ambas pteridinas se realiza mediante cromatografía líquida de alta resolución[11].

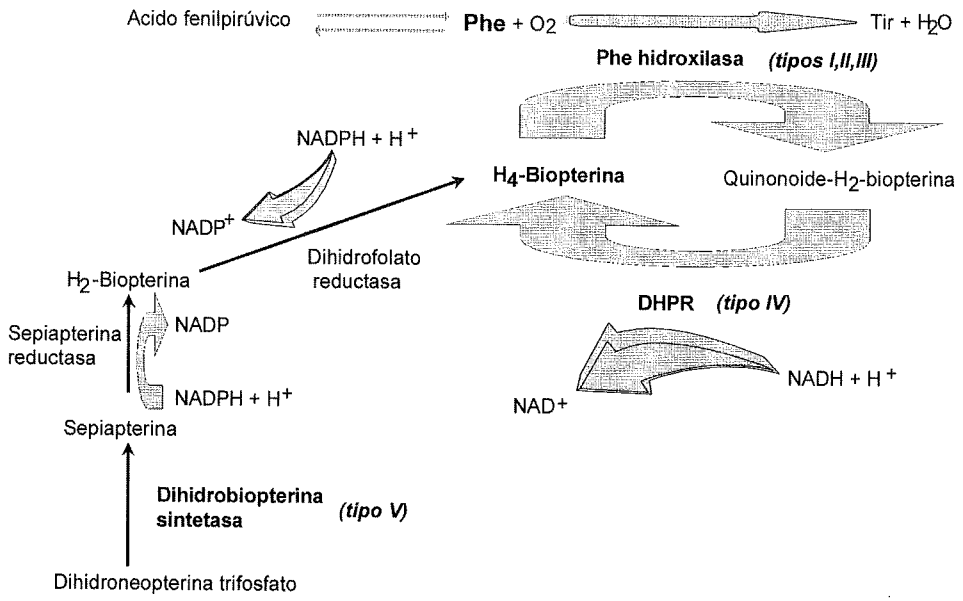

Figura 1. Ruta metabólica de la fenilalanina (Phe) y puntos clave en los que se originan los diferentes tipos de hiperfenilalaninemia.

En caso de no iniciarse rápidamente el tratamiento indicado[12,13], los cuadros de hiperfenilalaninemia pueden cursar con una gran variedad de signos y síntomas clínicos desde leves a muy graves, entre estos últimos se incluyen retraso mental, retraso psicomotor, convulsiones, microcefalia, hiperactividad y/o lesiones dérmicas como eczemas, entre otros rasgos clínicos.

La puesta en marcha hace más de dos décadas de Programas de Detección Precoz de la Hiperfenilalaninemia ha permitido el diagnóstico temprano de esta enfermedad con la lógica mejora en cuanto a la clínica de los niños afectos, como consecuencia de la instauración inmediata del tratamiento "ad hoc". Dicho tratamiento depende del tipo de hiperfenilalaninemia del que se trate, en cualquier caso debe indicarse una dieta con bajo contenido en Phe. Así, Bickel en 1953[14] fue el primero en mostrar la mejoría del retraso mental tras dieta pobre en Phe. El déficit de BH_4 tiene diferente tratamiento[15] debiéndose además administrarse neurotransmisores como L-Dopa y 5-hidroxitriptófano o el cofactor BH_4.

En 1980 se inició el Programa de Detección Precoz de Metabolopatías, el cual incluye la detección precoz de la hiperfenilalaninemia. Desde entonces hasta la actualidad se ha estudiado la mayoría de los niños nacidos en Navarra. El objeto de este trabajo retrospectivo es dar a conocer los resultados obtenidos en los últimos 11 años del Programa.

MATERIAL Y MÉTODOS

Población

Desde Marzo de 1987 hasta Diciembre de 1997 se han estudiado 51.815 recién nacidos. La procedencia de los niños estudiados dentro del Programa se muestra en la figura 2a pudiendo observarse que el mayor número de nacimientos y por tanto de niños estudiados se produce en el Hospital Virgen del Camino.

Obtención de los valores de referencia de Phe en sangre

Los valores de referencia de la Phe fueron obtenidos en una subpoblación de los recién nacidos, concretamente en aquellos nacidos durante 1989, y cuya procedencia

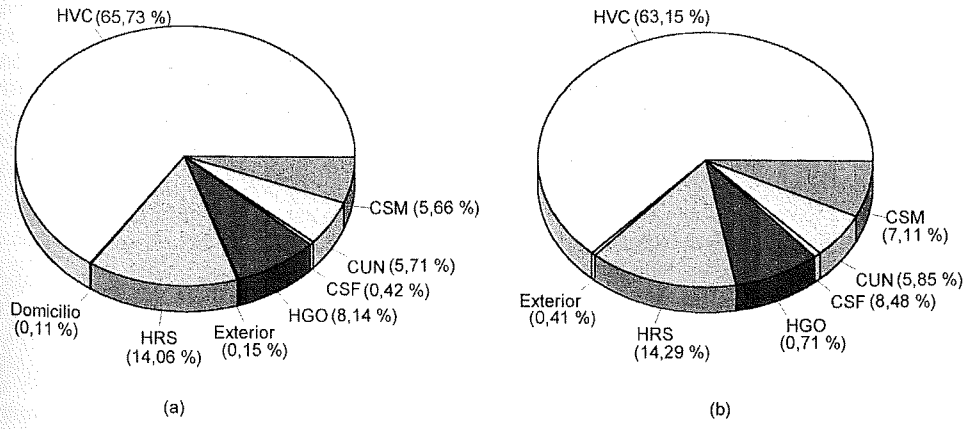

Figura 2. Procedencia de los recién nacidos incluídos en el Programa de Detección Precoz (1987-1997)(a) y de los recién nacidos estudiados para la obtención de los valores de referencia (1989)(b).

(HVC: Hospital Virgen del Camino, HRS: Hospital Reina Sofía de Tudela, HGO: Hospital García Orcoyen de Estella, CUN: Clínica Universitaria de Navarra, CSF: Clínica San Francisco Javier, CSM: Clínica San Miguel, Exterior: Fuera de la Comunidad Foral de Navarra).

se muestra en la figura 2b. En ese año nacieron 4.910 niños y los valores de referencia se obtuvieron en una población de 4.361 niños, lo cual representa el 88,82% de la misma.

Toma del espécimen de sangre

La recogida de la sangre se realiza en rectángulos de papel de filtro Scheiler & Schuell (ref. 903) de 11,5 x 6 cm^2, en el que 1/4 de la longitud lo ocupan tres círculos de 1 cm de diámetro destinados a la recogida de sendas gotas de sangre, y el resto está destinado a la recogida de los datos demográficos del recién nacido. Con carácter general la toma de muestra de sangre se realiza el 4º o el 5º día de vida del niño. Se sigue el protocolo diseñado dentro del Programa de Detección Precoz para la recogida del espécimen. Este protocolo sigue las pautas indicadas por otros autores[16,17] y consiste básicamente en:

1. Anotar los datos demográficos en el papel de filtro

2. Impregnar los tres círculos del papel con sendas gotas de sangre obtenidas por punción en el talón del niño, para lo cual se siguen los siguientes pasos:

– calentar la zona a pinchar con lo que se consigue un flujo sanguíneo varias veces superior al normal

– limpiar con alcohol y dejar secar para evitar la hemólisis

– eliminar la primera gota de sangre y recoger las siguientes

– dejar secar el papel de filtro aproximadamente durante 30 minutos a temperatura ambiente

3. Enviar a la Sección de Metabolopatías del Servicio de Pediatría del Hospital Virgen del Camino desde donde se remite al Servicio de Bioquímica Clínica del Hospital de Navarra.

Técnica de cuantificación de Phe

La cuantificación de la Phe en mancha de sangre de seca se realiza por fluorimetría mediante una modificación de la técnica descrita por McCamans y Robins[18]. Si el valor obtenido de Phe en mancha de sangre seca es mayor al margen superior del intervalo de referencia se repite la determinación en suero.

Análisis estadístico

Para la obtención de los valores de referencia y su posterior análisis se siguieron las recomendaciones del Panel de Expertos de la Federación Internacional de Química Clínica (IFCC)[19].

Esquemáticamente el estudio estadístico consta de los siguientes pasos: en primer lugar es necesario conocer la distribución de la población sometida a estudio, para ello se aplica el test de Anderson-Darling y se valora el sesgo, el curtosis, así como la presencia de datos aberrantes o "outliers" mediante la prueba de Dixon[20]. En caso de no presentarse una distribución gaussiana para la población sometida a estudio se pasa a la transformación de los datos, de tal modo que los coeficientes de sesgo y curtosis sean iguales o menores que la quinta parte de sus correspondientes desvíos estándar. Una vez obtenidas unas poblaciones paramétricas se hallan los estadísticos media, desvío estándar, intervalos de referencia y márgenes de confianza. Si la población estudiada sigue una distribución no gaussiana se aplican pruebas no paramétricas y se hallan los fractiles 0,975 y 0,025. Para estimar los intervalos de confianza de estos fractiles se han seguido las indicaciones de Elveback y Taylor[21]. Las diferencias entre grupos se estudiaron mediante la aplicación de las pruebas estadísticas no paramétricas de Kruskal-Wallis y de Mann-Whitney. Además se emplearon otras pruebas estadísticas como la prueba de Chi^2 y la t de Student.

RESULTADOS

Desde Marzo de 1987 hasta Diciembre de 1997 el número de niños estudiados ha sido de 51.815 lo cual representa el 99,24% de todos los recién nacidos en este periodo de tiempo. En los años 1987 y 1988 se solicitó el envío de nueva muestra de mancha de sangre seca en un elevado número de ocasiones, circunstancia que se redujo claramente al tercer año de experiencia, manteniéndose hasta la fecha en torno a 10-20 ocasiones (Tabla 1). Cuando el valor obtenido en mancha de sangre seca es

Tabla 1. Resultados obtenidos en el periodo 1987-1997.

	1987	1988	1989	1990	1991	1992	1993	1994	1995	1996	1997	Total
Nacimientos	3.956	4.960	4.910	4.710	4.831	4.741	4.737	4.740	4.720	4.894	5.012	52.211
Cobertura												
(n)	3.931	4.935	4.815	4.652	4.762	4.699	4.712	4.712	4.719	4.879	4.999	51.815
%	99,36	99,49	98,06	98,76	98,57	99,11	99,47	99,40	99,97	99,69	99,74	99,24
Nuestra muestra[a]	135	150	22	16	19	23	22	22	10	9	12	440
Reanalizado en suero[b]	5	4	4	3	10	2	0	5	14	11	8	61
Casos de Fenilcetonuria	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	2
Casos de Hiperfenilalaninemia transitoria	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1

[a] Número de veces que se solicitó el envío de nueva muestra
[b] Número de veces que se realizó la determinación en suero

Tabla 2. Valores de referencia de Fenilalanina (Phe) en mancha de sangre seca en recién nacidos.

	$\bar{x} \pm s$	Phe (µmol/L) Intervalo de Referencia (IR) (β=0,90)
Varones (n=2.255)	98,1 ± 18,4	68,9 (±0,01) -140,9 (±0,03)
Mujeres (n=2.106)	97,4 ± 17,5	70,2 (±0,01) -138,9 (±0,03)
Varones (n=4.361)	97,8 ± 17,9	69,5 (±0,01) -139,9 (±0,03)

Se muestra la media ($\bar{x}$), desvío estándar (s), intervalo de referencia (IR=0,95) e intervalo de confianza (β=0,90)

mayor que el margen superior del intervalo de referencia, el Servicio de Bioquímica solicita un espécimen de sangre al Centro de Coordinación del Programa sito en el Hospital Virgen del Camino, con objeto de realizar la determinación en suero. Fue en 1995 cuando se pidió un mayor número de especímenes de sangre.

Los valores de referencia de la Phe (Tabla 2) fueron obtenidos en una subpoblación de 4361 recién nacidos estudiados durante 1989 (51,71% varones, n= 2255; 48,29% hembras, n= 2106), no observándose diferencias entre sexos tras la aplicación de la prueba no paramétrica de Mann-Whitney (U=0,3; p=0,37).

Por otra parte, encontramos diferencias significativas (p<0,005) para la Phe en función del día en que se extrae la muestra de sangre (Fig. 3). Concretamente, se constataron diferencias en la concentración de Phe si la toma de muestra se realiza el 4º día o el 5º día después del nacimiento ($p< 5x10^{-4}$; t= 3,16), entre el grupo en que la toma de muestra se realiza el 5º o el 6º-9º día ($p< 1x10^{-8}$; t= -0,51) y finalmente entre el grupo en que la muestra se toma el 6º-9º día o con posterioridad al 9º día después del nacimiento ($p< 1x10^{-4}$; t= 4,3).

Estratificando la población según el tipo de alimentación (materna o artificial), el 89,54% de la población de referencia sometida a estudio recibió lactancia materna, mientras que el 10,46% restante se alimentó de forma artificial. No encontramos diferencias significativas entre ambos grupos tras aplicar la prueba estadística de Kruskal-Wallis. Por contra, existen diferencias significativas si comparamos el lugar de nacimiento y el día en que se tomó la muestra.

Según se muestra en la figura 4 existen diferencias significativas (Chi^2=763,73; p=0) si estratificamos la población teniendo en cuenta el peso de los niños al nacer y el día de la extracción de sangre.

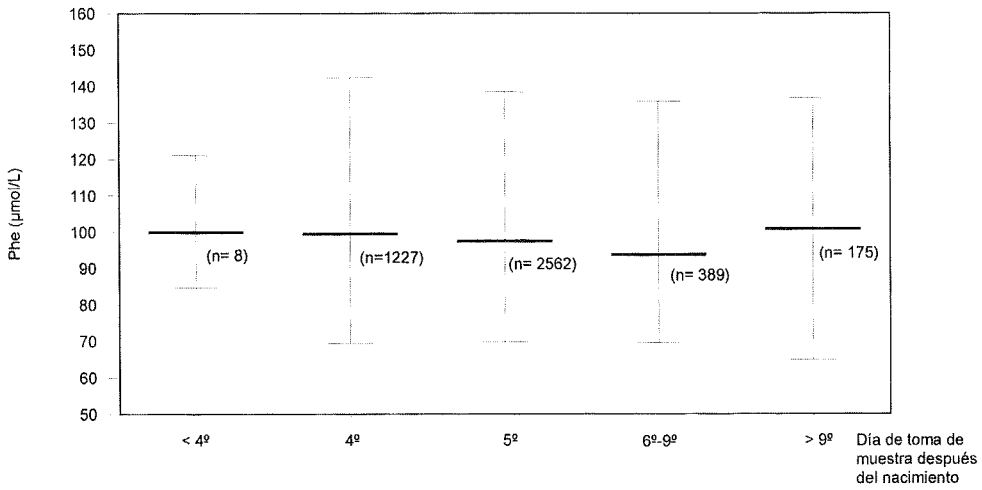

Figura 3. Concentración de Phe en mancha de sangre seca en los recién nacidos según el día de toma de muestra.

(Se representa la media, los límites superior e inferior del intervalo de referencia, así como el número de casos;para el grupo de extracción de sangre antes del 4º día se representa la mediana, el valor máximo y el mínimo).

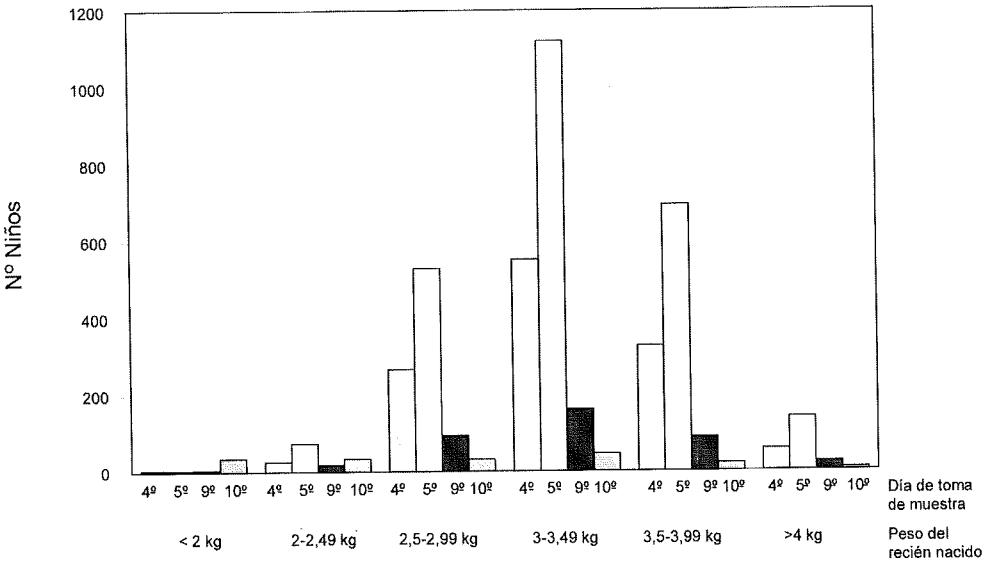

Figura 4. Número de niños a los que se les extrajo sangre según el día y el peso de los recién nacidos.

Durante este periodo de tiempo se han diagnosticado 2 casos de hiperfenilalaninemia fenilcetonúrica, en los años 1988 y 1991 (Tabla 1). Las concentraciones en suero en el momento del diagnóstico fueron de 345,05 µmol/L (5,7 mg/dL) y 2348,81 µmol/L (38,8 mg/dL), respectivamente. Se inició de manera inmediata una dieta con bajo contenido en Phe y se sometió a los niños a un seguimiento exhaustivo. La evolución de ambos niños se muestra en la figura 5.

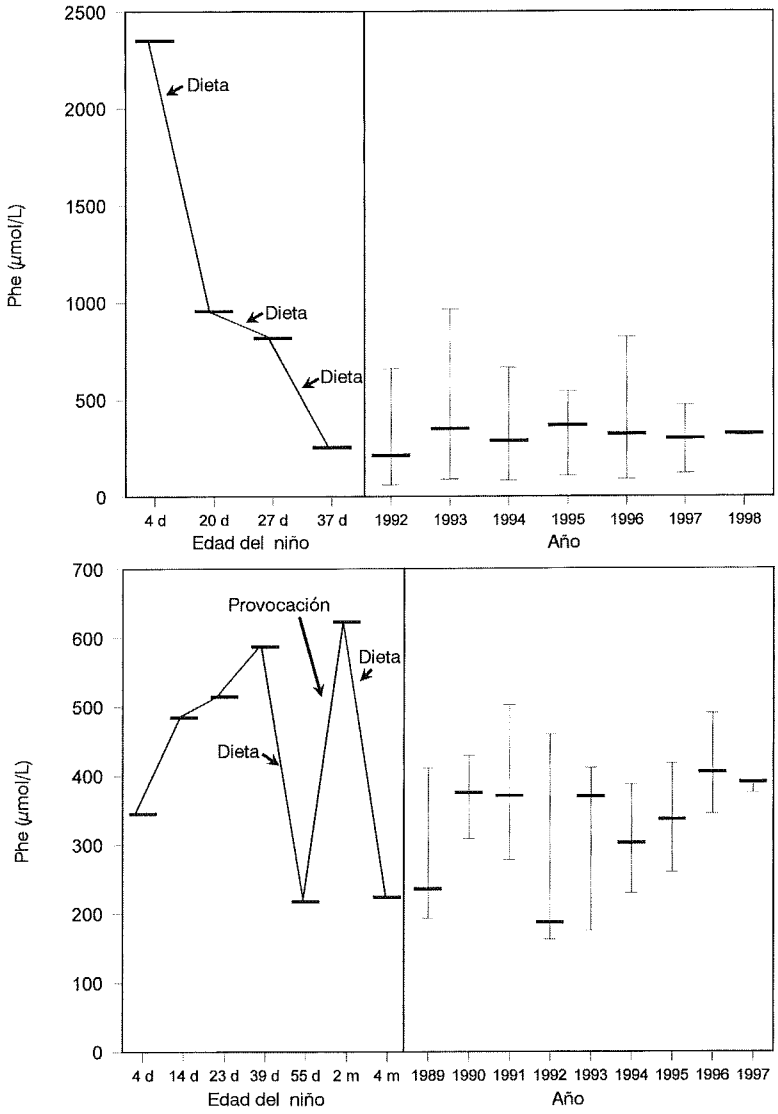

Figura 5. Evolución de la Phe sanguínea en los dos casos diagnosticados de hiperfenilalaninemia fenilcetonúrica.

(Los valores correspondientes a los años están representados por la media, el valor máximo y el mínimo; d: días de vida, m: meses de edad).

Por otra parte, un niño fue diagnosticado de hiperfenilalaninemia transitoria por presentar concentraciones de Phe más altas que el margen superior del intervalo de referencia.

DISCUSIÓN

Desde 1987 el Programa de Detección Precoz de Metabolopatías ha permitido el estudio de la mayoría de los niños nacidos en Navarra durante este periodo de tiempo, alcanzando a una población de 51.815 niños, lo cual representa el 99,24% de los niños que podrían haber sido estudiados. Las razones por las que un 0,76% de niños no han sido incluidos en el Programa pueden ser, entre otras, la existencia de otras patologías de mayor gravedad que hacen improcedente la investigación de la existencia de la hiperfenilalaninemia o bien la muerte temprana del niño.

Tal y como se muestra en la figura 2a, la mayor parte de los niños nacieron en el Hospital Virgen del Camino (65,73%), le siguen en cuanto a frecuencia los niños nacidos en el Hospital Reina Sofía de Tudela (14,06%) y en el Hospital García-Orcoyen de Estella (8,14%). Además, se producen nacimientos en otros Centros como la Clínica Universitaria de Navarra, las Clínicas San Miguel y San Francisco Javier y en menor porcentaje niños nacidos fuera de la Comunidad Foral de Navarra y/o en el domicilio materno.

Durante 1989 se estudiaron 4.361 recién nacidos que constituyeron la subpoblación en la que obtuvimos los intervalos de referencia. En este año se produjeron en Navarra 4.910 nacimientos y el estudio recogió 4.361 niños, es decir el 88,82% de la población global. El intervalo de confianza es del 99,6%, lo que permitió tener la seguridad de que el estudio de nuestro colectivo era representativo de la población de recién nacidos de ese año. La procedencia de los niños nacidos en 1989 e incluidos en la subpoblación en la cual obtuvimos los valores de referencia es similar a la de la población global del periodo 1987-1997 (Fig. 2b).

Separados los valores de Phe según sexo no se aprecian diferencias significativas por lo que el estudio posterior de este aminoácido se realiza sobre el global de la población. Este hecho coincide con los datos publicados por Morris y col.[22] y Wong y col.[23]. El intervalo de referencia en recién nacidos queda por tanto comprendido entre 69,5 ± 0,01 y 139,9 ± 0,03 µmol/L (Tabla 2). En la práctica podemos tomar como extremo superior 140,0 µmol/L (2,3 mg/dL) correspondiente al fractil 0,975, siendo este el límite superior para comenzar a hablar de hiperfenilalaninemia de cualquier tipo. Morris y col.[22] admiten como límite inferior para hablar de fenilcetonuria el de 240 µmol/L, correspondiente al fractil 0,9975. Aunque en nuestra serie este fractil corresponde a una cifra de 176,5 µmol/L, opinamos que cualquier recién nacido con cifras mayores al fractil 0,975 debe ser reestudiado. Por tanto, cuando inicialmente la concentración de Phe en mancha de sangre seca es superior a 140 µmol/L (2,3 mg/dL) se repite la determinación de Phe en sangre total para corroborar dicho valor, en cuyo caso puede confirmarse desde el punto de vista bioquímico el diagnóstico de hiperfenilalaninemia. No obstante, este diagnóstico inicial puede posteriormente ser especificado como una hiperfenilalaninemia transitoria (Tipo III), la cual se origina por un retraso en la maduración del sistema enzimático de hidroxilación[24].

Según se muestra en la figura 3 el número de niños a los cuales se les extrajo sangre en los tres primeros días de vida es de ocho casos únicamente, tres del sexo masculino y cinco del femenino por lo que es difícil su comparación estadística con el resto y sólo nos limitamos a hallar la amplitud del grupo, el valor mínimo y el máximo y la mediana. La Phe presenta una evolución en los primeros días de vida que merece reseñarse por su posible implicación en el Programa de Detección Precoz. Existen diferencias significativas (Fig. 3) entre los grupos previamente establecidos en función del día en que se tomó la muestra de sangre. La concentración de Phe disminuye progresiva y significativamente entre el 4º y el 9º día de extracción, si bien posteriormente aumenta también de modo significativo si la toma de muestra se produce con posterioridad al 9º día de vida.

Por otra parte, encontramos diferencias significativas en el número de niños al considerar el peso al nacer y el día en que se realizó la toma de muestra (Fig. 4). Hay que resaltar que en los prematuros y muy especialmente en los de menos de 2 kg de peso, el protocolo de trabajo pospone la toma de muestra para el descarte de hiperfenilalaninemia al décimo día o después, ya que es bastante frecuente encontrar concentraciones de Phe elevadas en los niños prematuros. Así, en nuestro grupo de 51 prematuros de menos de 2 kg de peso, en 36 (70,6%) se realiza la toma de muestra el décimo día o después y en los 153 niños de peso comprendido (Fig. 4) entre 2 kg y 2,49 kg de peso, en 34 de ellos (22,2%) la toma de muestra se realizó con posterioridad al 10º día, hecho que contrasta con el 1,8% al 3,5% en los de peso aceptable para estos días de toma de muestra.

Algunos autores[22] encuentran cambios en los valores de Phe según el peso al nacimiento, sin embargo nosotros no encontramos diferencias significativas para la Phe entre los distintos grupos establecidos según el peso al nacer y tampoco hubo diferencias significativas según el tipo de alimentación (materna o artificial).

Curiosamente, pudimos comprobar que el nacer en uno u otro lugar de la geografía navarra conllevaba diferentes concentraciones de Phe. Este fenómeno parece ser debido a las grandes diferencias en cuanto al día de toma de muestra en los diferentes hospitales.

En 1991 se detectó un caso de hiperfenilalaninemia transitoria que presentó en el momento del diagnóstico una concentración de Phe en suero de 242,14 µmol/L (4 mg/dL) y en mancha de sangre seca de 284,52 µmol/L (4,7 mg/dL). Se inició dieta baja en Phe presentando a los 3 meses de edad una concentración en suero de 175,55 µmol/L (2,9 mg/dL) que aumentó posteriormente a 308,73 µmol/L (5,1 mg/dL) tras dieta de provocación (dieta libre). Se inició nuevamente dieta pobre en Phe lo que resultó en una disminución de la concentración de Phe a 121,07 µmol/L (2 mg/dL) un mes más tarde. A la edad de un año se repitió la prueba de provocación lo cual produjo un aumento de la concentración de Phe de 175,55 µmol/L (2,9 mg/dL) a 211,87 µmol/L (3,5 mg/dL). Se indicó dieta con contenido normal en Phe manteniendo unos niveles aceptables de Phe en sangre hasta la fecha.

En este periodo de tiempo se han diagnosticado 2 casos de hiperfenilalaninemia fenilcetonúrica, lo que rinde una incidencia de 1/26.000, cifra inferior a la de los países de nuestro entorno[3,25]. Ambos niños presentaron en el momento del diagnóstico concentraciones de Phe en suero de 345,05 µmol/L (5,7 mg/dL) y 2348,81 µmol/L (38,8 mg/dL) (Fig. 5) respectivamente, por lo que inmediatamente se inició una dieta con bajo contenido en Phe[26] para evitar la aparición de la clínica característica de la hiperfenilalaninemia. La dieta consiste únicamente en limitar la ingesta de Phe, aunque respetando las necesidades mínimas y los requerimientos nutricionales y calóricos. La dieta se ha ido ajustando de acuerdo a la edad del niño, a los requerimientos dietéticos y a las concentraciones circulantes de Phe. Desde el momento del diagnóstico hasta la actualidad los niños han estado y están sometidos a un control permanente. La evolución de la concentración de Phe se muestra en la figura 5. Tal y como se aprecia después del tratamiento dietético la concentración sanguínea de Phe disminuye rápidamente y aumenta tras dieta de provocación. Ambos niños, llevan en la actualidad una vida normal con la única peculiaridad de la dieta.

Actualmente las recomendaciones dietéticas implican para pacientes menores de 2 años una ingesta de 2,8 g prot/kg/día mientras que esta disminuye a 1,7 g/kg/día en pacientes mayores de 2 años[26,27]. La ingesta de Phe varía con la edad pudiéndose suplementar con otro tipo de alimentos (frutas, harinas, pan, galletas y arroz especiales.....). La ingesta dietética debe ser monitorizada frecuentemente, así los alimentos con alta concentración de Phe como pescado, leche, huevos, queso, carne y legumbres no son incluidos en la dieta. Los niveles de Phe en sangre deberían ser monitorizados 2 veces por semana inicialmente, semanalmente hasta los 6 meses de edad, quincenalmente hasta los

24 meses de edad y mensualmente en niños de más de 2 años. En el pasado la dieta baja en Phe era interrumpida a los 6 años de edad en la cual el crecimiento cerebral ya se ha completado. Sin embargo, actualmente se recomienda mantener la dieta de por vida, ya que por ejemplo, la interrupción de la misma parece disminuir el éxito académico[28,29] y/o alterar el comportamiento de los niños[30,31].

En conclusión, los resultados del Programa son a nuestro juicio positivos por el elevado porcentaje de niños estudiados y debido al buen estado clínico de los casos diagnosticados.

Agradecimientos

A Dña. Pilar Asurmendi y Dña. Lola Viguria, ATS del Servicio Navarro de Salud.

BIBLIOGRAFÍA

1. Fölling A. Uber Ausscheidung von Phenylbrenztraubensaure in den Harn als Stoffwechselanomalie in Vebindung mit imbezzillitat. Hoppe-Seyle´r Z. Physiol Chem 1934, 227: 169-176.
2. Guttler F. Hyperphenylalaninemia: diagnosis and classification of the various types of phenylalanine hydroxylase deficiency in childhood. Acta Paediatr Scand 1980; 280 (suppl):1-80.
3. Tourian A, Sidbury JB. Phenylketonuria and hyperphenylalaninemia. En: Stanbury JB, Wyngaarden JB, Frederickson DS, Goldstein JL, Brown MS, editores. The metabolic basis of inherited disease. McGraw-Hill, New York ,1983: 270-286.
4. Jervis G. Phenylpyruvic oligophrenia deficiency of phenylalanine oxidizing system. Proc Soc Exp Biol Med 1953; 82: 514-515.
5. Kaufman S. The structure of the phenylalanine-hidroxylation cofactor. Proc Natl Acad Sci USA 1963; 50: 1085-1092.
6. Bartholomé K. A new molecular defect in phenylketonuria. Lancet 1974; 2:1580.
7. Blau N. Inborn errors of pteridin metabolism. Ann Rev Nutr 1988; 8: 185-209.
8. Matalon R, Michals K, Blau N, Rouse B. Hyperphenylalaninemia due to inherited deficiencies of tetrahydrobiopterin. Adv Pediatr 1989; 36: 67-82.
9. Arai N, Nariwasa K, Hayakawa H, Tada K. Hyperphenylalaninemia due to dihydropteridine reductase deficiency: diagnosis by enzyme assay on dried blood spots. Pediatrics 1982; 70: 426-430.
10. Dhondt JL. Mesure de l'activité dihydroptéridine réductase sur éluat de sang séché: implications physiologiques et pathologies. Ann Biol Clin 1992; 50: 653-658.
11. Hausen A, Fusch D, Konig K, Wachter H. Determination of neopterin in human urine by reversed-phase high performance liquid chromatography. J Chromatogr 1982; 227: 61-70.
12. Hsia DYY. Phenylketonuria and its variants. Prog Med Genet 1970; 7: 29-68.
13. Matalon R, Michals K. Phenylketonuria: Screening, treatment and maternal PKU. Clin Biochem 1991; 24: 337-342.
14. Bickel H, Gerrard J, Hickman E. Influence of phenylalanine intake on phenylketonuria. Lancet 1953; 2: 812-813.
15. Dhondt JL. Strategy for the screening of tetrahydrobiopterin deficiency among hyperphenylalaninaemic patients: 15 years experiencce. J Inher Metab Dis 1991; 14: 117-127.
16. Alström T, Dahl M, Gräsbeck R, Hertz H, Hjelm M. Recommendation for collection of skin puncture blood from children with special reference to production of reference values. Scand J Clin Lab Invest 1987; 47: 199-205.
17. Blumenfeld TA, Turi GK, Blanc WA. Recommended site and depth of newborn heel punctures based on anatomical measurements and histopathology. Lancet 1979; i: 230-232.
18. McCamans MW, Robins E. Fluorometric method for determination of phenylalanine in serum. J Lab Clin Med. 1962; 9: 885-890.
19. Expert Panel on Theory of Reference Values. The Theory of Reference Values. Part 5. Statistical treatment of reference limits. J Clin Chem Clin Biochem 1983; 21: 749-760.
20. Dixon WJ. Processing data for outliers. Biometrics 1953; 9: 74-89.
21. Elveback LR, Taylor WF. Statistical methods of estimating percentiles. Ann NY Acad Sci 1969; 161: 538-548.
22. Morris AF, Holton JB, Burman D, Coley JRT. Phenylalanine and tyrosine levels in newborn screening blood samples. Arch Dis Child 1983; 58: 271-275.
23. Wong P, O'Flynn, Inouye T. Micromethods for measuring phenylalanine and tyrosine in serum. Clin Chem 1964;10:1098-1104.
24. Scriver CR, Kaufman S, Woo SL. The hyperphenylalaninemias. En: Scriver et al.,

editores. The metabolic basis of Inherited Disease. McGraw-Hill: New York, 1989: 495-546.

25. SMITH Y, COOK B, BEASLEY M. Review of neonatal screening programme for phenylketonuria. B Med J 1991; 303: 333-335.

26. Report of medical Research Council Working party on Phenylketonuria. Arch Dis Child 1993; 68: 426-427.

27. BUIST NRM, PRINCE AP, HUNTINGTON L et al. Approaches to the dietary management of hyperphenylalaninemia. En: Desnick RJ, editores. Treatment of genetic diseases. Churchill Livingstone Inc., 1991: 23-44.

28. KOCH R, FISHLER K, AZEN C, GULDBERG P, GUTTLER F. The relationship of genotype to phenotype in phenylalanine hydroxylase deficiency. Biochem Mol Med 1997; 60: 92-101.

29. KOCH R, AZEN C, FRIEDMAN EG, FISCHLER K, BAUMANN-FRISCHLING C, LIN T. Care of the adult with phenylketonuria. Eur J Pediatr 1996; 155: S90-2.

30. KOCH R, YUSIN M, FISHLER K. Successful adjustment to society by adults with phenylketonuria. J Inher Metab Dis 1985; 8: 209-211.

31. SMITH Y, BEASLEY M. Intelligence and behaviour in children with early treated phenylketonuria. Eur J Clin Nutr 1989; 43: 4-5.