



FACULDADE DE MEDICINA  
UNIVERSIDADE D  
**COIMBRA**

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA – TRABALHO FINAL

FRANCISCO MIGUEL PINTO LEMOS

***FENILCETONÚRIA E CÉREBRO EM IDADE PEDIÁTRICA***

ARTIGO DE REVISÃO

ÁREA CIENTÍFICA DE PEDIATRIA

Trabalho realizado sob a orientação de:

DR. FILIPE PALAVRA

PROF. DOUTORA LUÍSA DIOGO

MARÇO DE 2021

# Fenilcetonúria e Cérebro em Idade Pediátrica

Francisco Miguel Pinto Lemos <sup>(1)</sup>,  
Luísa Maria Abreu Freire Diogo Matos <sup>(2)</sup>,  
Filipe Manuel Farto Palavra <sup>(3)</sup>

---

<sup>(1)</sup> Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra (FMUC), 3000-548 Coimbra, Portugal.  
Endereço eletrónico: [franciscomplemos@gmail.com](mailto:franciscomplemos@gmail.com)

<sup>(2)</sup> Assistente Graduada Sénior de Pediatria; Professora Auxiliar Convidada de Bioquímica;  
Hospital Pediátrico – Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra, 3000-602 Coimbra,  
Portugal. Endereço eletrónico: [ld@chuc.min-saude.pt](mailto:ld@chuc.min-saude.pt)

<sup>(3)</sup> Assistente Hospitalar de Neurologia e Assistente Convidado da Faculdade de Medicina da  
Universidade de Coimbra; Hospital Pediátrico – Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra,  
3000-602 Coimbra, Portugal. Endereço eletrónico: [filipepalavra@gmail.com](mailto:filipepalavra@gmail.com)

# ÍNDICE

RESUMO .....	5
INTRODUÇÃO .....	7
METODOLOGIA.....	8
RESULTADOS .....	11
1. Fisiopatologia da PKU .....	11
1.1 Distúrbios da Neurotransmissão .....	13
1.1.1 Diminuição da produção de Dopamina .....	15
1.1.2 Diminuição da produção de Serotonina .....	16
1.1.3 Afetação da transmissão glutamatérgica .....	17
1.2 Stress oxidativo .....	18
1.3 Distúrbios da mielinização .....	19
1.4 Diminuição da produção de energia.....	20
2. Manifestações neurológicas e psiquiátricas da PKU .....	21
2.1 Doença difusa da substância branca .....	22
2.2 Doença da substância cinzenta .....	26
2.3 Impacto da PKU na cognição .....	28
2.3.1 Défice das funções executivas.....	28
2.3.2 Défice das funções não-executivas .....	30
2.3.3 Défice intelectual.....	32
2.4 PHDA.....	33
2.5 PEA.....	34
2.6 Epilepsia .....	35
2.7 Tremor.....	37
2.8 Manifestações psiquiátricas.....	37
3. Impacto do tratamento nas manifestações de PKU .....	39
3.1 Tratamento dietético .....	40
3.1.1 Restrição dietética de fontes proteicas naturais .....	40
3.1.2 Suplementação com L-aminoácidos .....	44
3.1.3 Alimentos com baixo teor proteico.....	45
3.2 Suplementação com tirosina .....	45
3.3 Suplementação com ácidos gordos polinsaturados de cadeia longa (LC-PUFA) .....	46
3.4 Tratamento com BH4.....	47
3.5 Perspetivas futuras .....	51
CONCLUSÃO .....	52
AGRADECIMENTOS .....	53
BIBLIOGRAFIA .....	54

## LISTA DE ABREVIATURAS

- AA** – Ácido araquidónico
- AF** – Anisotropia fracionada
- ALA** – Ácido alfa-linoleico
- AMPA** –  $\alpha$ -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazolepropionato
- BH4** – Tetraidrobiopterina
- CAAS** – *Children's attention and adjustment survey*
- CARS** – *Childhood autism rating scale*
- DHA** – Ácido docosahexanóico
- DM** – Difusão média
- DMN** – *Default mode network*
- DR** – Difusão radial
- DTI** – *Diffusion tensor imaging*
- EEG** – Eletroencefalografia
- GMP** – Glicomacropéptídeo
- GSHPx** – Glutathiona peroxidase
- HMG-CoA** – 3-hidroxi-3-metil-glutaril-co-enzima A redutase
- LAT1** – *Large neutral aminoacid carrier L-aminoacid transporter 1*
- LC-PUFA** – Ácidos gordos polinsaturados de longa cadeia
- LNAAs** – Aminoácidos neutros de cadeia longa
- NGS** – *Next generation sequencing* / Sequenciação de nova geração
- NMDA** – N-metil-D-aspartato
- NO** – Óxido nítrico
- NOS** – Óxido nítrico sintetase
- PAH** – Fenilalanina Hidroxilase
- PAL** – Fenilalanina amónia liase
- PAL-PEG** – Fenilalanina amónia liase peguilhada
- PEA** – Perturbação do espectro do autismo
- PEV** – Potenciais evocados visuais
- PHDA** – Perturbação de hiperatividade e défice de atenção
- PKU** – Fenilcetonúria
- QI** – Quociente de inteligência
- RM** – Ressonância magnética
- SNC** – Sistema Nervoso Central
- TH** – Tirosina hidroxilase
- TPH** – Triptofano hidroxilase

## RESUMO

A fenilcetonúria (PKU) é a patologia hereditária do metabolismo dos aminoácidos mundialmente mais prevalente, tendo uma transmissão autossômica recessiva. A PKU consiste no déficit relativo ou total da enzima fenilalanina hidroxilase (PAH), responsável pela reação de síntese de tirosina a partir de fenilalanina, cujo cofator é a tetraidrobiopterina (BH4). O déficit do aminoácido tirosina (importante precursor de neurotransmissores monoaminérgicos), assim como a acumulação de fenilalanina e dos seus metabolitos tóxicos têm graves consequências no desenvolvimento neurológico das crianças e adolescentes que padecem de PKU.

Apesar dos mecanismos fisiopatológicos por detrás das manifestações neurológicas e psiquiátricas da PKU não serem totalmente conhecidos, existem cada vez mais evidências da etiologia multifatorial do dano neurológico associado a esta patologia. Distúrbios da neurotransmissão (decorrentes da diminuição do transporte de aminoácidos neutros de cadeia longa [LNAA] e da diminuição da síntese de neurotransmissores), aumento do stress oxidativo cerebral, distúrbios da mielinização e diminuição da produção de energia nas células do sistema nervoso central (SNC) parecem ser prováveis mecanismos fisiopatológicos associados aos défices neurológicos que surgem nesta doença.

O leque de possíveis manifestações neurológicas e psiquiátricas tem-se revelado vasto, verificando-se uma elevada incidência de doença difusa da substância branca e de défices cognitivos (nomeadamente envolvendo as funções executivas) nestas crianças e adolescentes. Para além disto, incidência superior de distúrbios comportamentais e psiquiátricos (como perturbações do espectro do autismo [PEA] e perturbação de hiperatividade e déficit de atenção [PHDA]) é igualmente identificada, o que conduz a uma diminuição importante da qualidade de vida destes doentes.

O rastreio neonatal, através do teste de Guthrie, levando à introdução precoce da dieta pobre em fenilalanina, representou uma revolução na abordagem adequada de doentes com PKU em idade pediátrica, uma vez que permitiu um atempado controlo metabólico da fenilalaninémia e, conseqüentemente, uma acentuada atenuação dos efeitos neurológicos nocivos desta doença metabólica. Não obstante, e para frustração tanto dos próprios doentes como dos profissionais responsáveis pelo seguimento destes casos, défices neurológicos continuam a identificar-se em doentes com adequada adesão terapêutica e bom controlo metabólico, o que levanta questões adicionais sobre a possível existência de outras vias que conduzem à acumulação de dano neurológico. Por outro lado, estes dados revelam a relativa insuficiência dos tratamentos existentes na abordagem terapêutica destas crianças e adolescentes.

Para além do tratamento dietético convencional, com diminuição da ingestão de alimentos ricos em fenilalanina (adaptado à capacidade de tolerância individual diária desta mesma ingestão), associado à suplementação com L-aminoácidos, o tratamento farmacológico com dicloridrato de sapropterina (um sal sintético proveniente do 6R-diastereoisómero da BH4 encontrado na natureza) tem-se provado eficaz na diminuição dos níveis de fenilalaninemia em doentes com fenótipos mais ligeiros de PKU.

A ausência de uma resposta total aos tratamentos convencionais incentivou a procura de terapêuticas inovadoras focadas na melhoria da qualidade de vida de doentes com PKU. Estes tratamentos, que incluem a terapia de substituição enzimática com fenilalanina amónia liase (PAL), a terapia genética e até mesmo a repovoação hepática estão atualmente sob investigação e poderão ser alternativas viáveis na abordagem terapêutica de crianças e adolescentes com PKU.

**Palavras-chave:**

Fenilcetonúria; cérebro; crianças; adolescentes

## INTRODUÇÃO

A fenilcetonúria (PKU) é uma doença autossômica recessiva que, por déficit da enzima fenilalanina hidroxilase (PAH), resulta na intolerância do aporte dietético do aminoácido essencial fenilalanina [1]. É o distúrbio do metabolismo dos aminoácidos mais frequente, com uma prevalência mundial de 1:23.930 nados-vivos. Em Portugal, a prevalência é consideravelmente superior, contando com valores de 1:12.500 nados-vivos [2]. Devido a este déficit enzimático, os doentes com PKU, se não intervencionados precocemente com tratamento médico, desenvolverão distúrbios neurológicos ou neuropsiquiátricos que poderão incluir epilepsia, doença difusa da substância branca (havendo mesmo diminuição da síntese de mielina), défices motores focais, afetação das funções executivas, perturbação de déficit cognitivo, perturbação de hiperatividade e déficit de atenção (PHDA) e distúrbios do foro psiquiátrico, como depressão, ansiedade, fobias e perturbações do espectro do autismo [1,3].

Na década de 60 do século XX, Guthrie [4] criou o primeiro método bioquímico de diagnóstico de base populacional de PKU, o que possibilitou o diagnóstico e consequente tratamento adequado. A introdução precoce da dieta pobre em fenilalanina permitiu a mitigação do impacto neurológico causado pela elevada fenilalaninémia, o que alterou por completo a qualidade de vida destes doentes, até então quase sempre institucionalizados [3]. Atualmente, apesar da iniciação precoce do tratamento dietético e da presença de novos tratamentos (como a suplementação com BH4 em certos fenótipos da doença), o impacto neurocognitivo, psicossocial e na própria qualidade de vida [1] desta patologia em crianças e adolescentes não deve ser negligenciado.

Com o presente trabalho pretende-se fazer uma revisão bibliográfica sobre o tema, focando os processos fisiopatológicos acima citados, assim como as implicações que todas estas manifestações poderão ter no desenvolvimento cerebral, em idade pediátrica.

## METODOLOGIA

Na elaboração da pesquisa bibliográfica que permitiu a realização deste trabalho utilizou-se o modelo PRISMA para revisão sistemática. A pesquisa de informação de materiais e conteúdos bibliográficos foi realizada através da plataforma bibliográfica PubMed no dia 25/10/2020. Nesta plataforma, utilizaram-se 2 equações de pesquisa para obtenção dos artigos usados, sendo a primeira “Phenylketonuria + Brain + Children” e a segunda “Phenylketonuria + Brain + Adolescents”. Em ambas as equações foram considerados 2 filtros de pesquisa: a linguagem de escrita dos artigos (somente artigos em português, inglês, francês e espanhol foram incluídos na pesquisa) e a data de publicação dos artigos (apenas foram considerados artigos publicados nos últimos 10 anos, em relação à data da pesquisa).

Da primeira equação obtiveram-se 130 artigos e da segunda 62 artigos, perfazendo um total de 192 artigos. Após exclusão dos artigos duplicados na segunda equação (50 artigos), obteve-se um total de 142 artigos (130 da primeira equação e 12 da segunda equação). Prosseguiu-se com a seleção de artigos relevantes, tendo em conta o título de cada um dos 142 artigos iniciais. Dos artigos obtidos na primeira equação (130) excluíram-se 34 artigos com base na relevância dos seus títulos, perfazendo um total de 96 artigos. Os critérios de exclusão dos referidos artigos foram: artigos cujas conclusões alcançadas foram baseadas em resultados obtidos através da testagem em modelos animais (11 artigos); artigos cuja população em investigação não envolvia doentes em idade pediátrica (13 artigos); artigos cujo tema principal era a fenilcetonúria na sua vertente obstétrica (4 artigos de fenilcetonúria materna); artigos cujo tema principal era hiperfenilalaninémia não-PKU (3 artigos sobre outras causas de hiperfenilalaninémia não causada por fenilcetonúria, como a hiperfenilalaninémia por défice de tetraidrobiopterina); artigos cujo tema principal era a correlação entre microbioma intestinal e PKU (2 artigos) e, por fim, artigos dedicados apenas a uma reflexão sobre PKU, na perspetiva de problema de saúde pública (1 artigo).

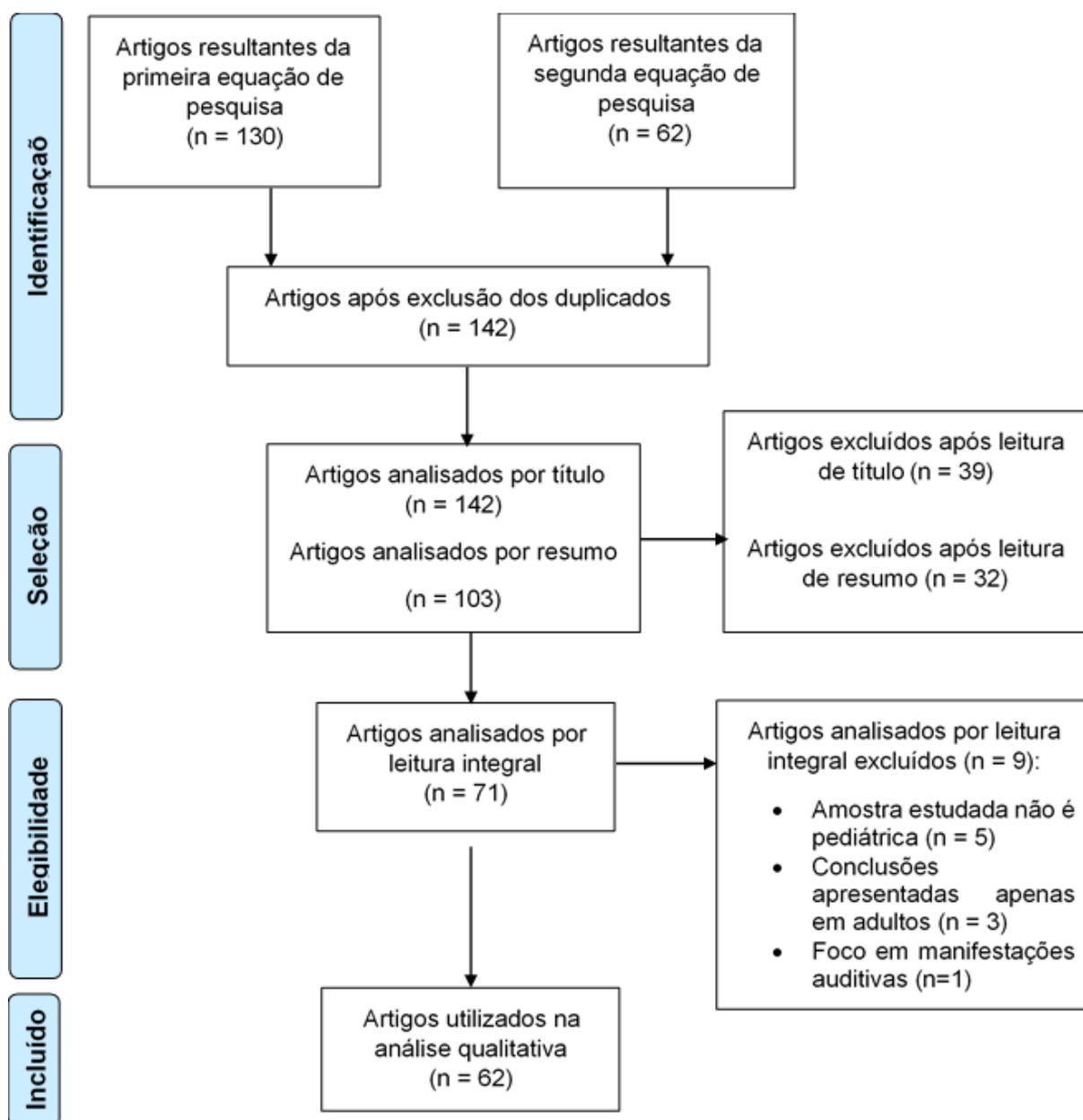
Dos artigos obtidos na segunda equação (12) excluíram-se 5 com base na relevância dos seus títulos. Os critérios de exclusão foram: artigos cuja população em investigação não envolvia doentes em idade pediátrica (4 artigos de adultos) e artigos cujas conclusões alcançadas foram baseadas em resultados obtidos através da testagem em modelos animais (1 artigo). No total, da seleção baseada nos títulos dos artigos obtidos, excluíram-se 39 (34 da primeira equação e 5 da segunda equação), ficando disponíveis 103 artigos (96 da primeira equação e 7 da segunda) para a continuidade do estudo.

Seguidamente, prosseguiu-se com a seleção dos artigos restantes através da leitura dos seus *abstracts/resumos*. Dos artigos obtidos na primeira equação (96) excluíram-se 31 com base na relevância dos seus resumos. Os critérios de exclusão foram: artigos cuja população em investigação não envolvia doentes em idade pediátrica (9 artigos de adultos);

artigos que abordavam a incidência de determinados genótipos de PKU em regiões geográficas específicas (4 artigos); artigos cujo foco principal era a abordagem de novos métodos bioquímicos de diagnóstico de PKU ou de marcadores de lesão (4 artigos); artigos cujo tema não era a PKU (3 artigos); artigos cujas conclusões alcançadas foram baseadas em resultados obtidos através da testagem em modelos animais (2 artigos), artigos cuja informação tivesse sido baseada em recomendações desatualizadas (2 artigos) e artigos cujo tema principal era a PKU na sua vertente obstétrica (2 artigos). A exclusão dos restantes temas (contando com um artigo cada) abordavam áreas como: crescimento, repercussões nefrológicas, repercussões dermatológicas, hiperfenilalaninémia não-PKU e métodos para a elaboração de questionários de avaliação da qualidade de vida em doentes com PKU. Dos artigos obtidos na segunda equação (7) excluiu-se 1, devido às conclusões alcançadas terem sido baseadas em resultados obtidos através da testagem em modelos *in vitro*. No total, da seleção dos artigos restantes através da leitura dos seus *abstracts/resumos*, excluíram-se 32 artigos (31 da primeira equação e 1 da segunda equação), ficando um total de 71 artigos para análise subsequente.

Por último, procedeu-se à seleção de artigos tendo por base a sua leitura integral. Dos artigos obtidos na primeira equação (65 artigos) excluíram-se 8, ficando 57. Os critérios de exclusão dos referidos 8 artigos foram: artigos com foco em doentes adultos (5), artigos que, embora incluíssem doentes em idade pediátrica na sua amostra de estudo, obtiveram apenas conclusões para doentes em idade adulta (2) e 1 artigo cujo tema principal eram exclusivamente as manifestações auditivas da PKU. Dos artigos obtidos na segunda equação (6) excluiu-se 1 com base na sua leitura integral, ficando 5 disponíveis. Este artigo foi excluído, pois embora incluísse doentes em idade pediátrica na sua amostra, obteve apenas conclusões para doentes em idade adulta.

Em suma, o processo de seleção culminou na integração de 62 artigos na revisão, 57 provenientes dos artigos obtidos na primeira equação de pesquisa e 5 provenientes dos artigos obtidos na segunda equação. O diagrama PRISMA seguinte (Figura 1) sintetiza o processo de seleção supracitado.

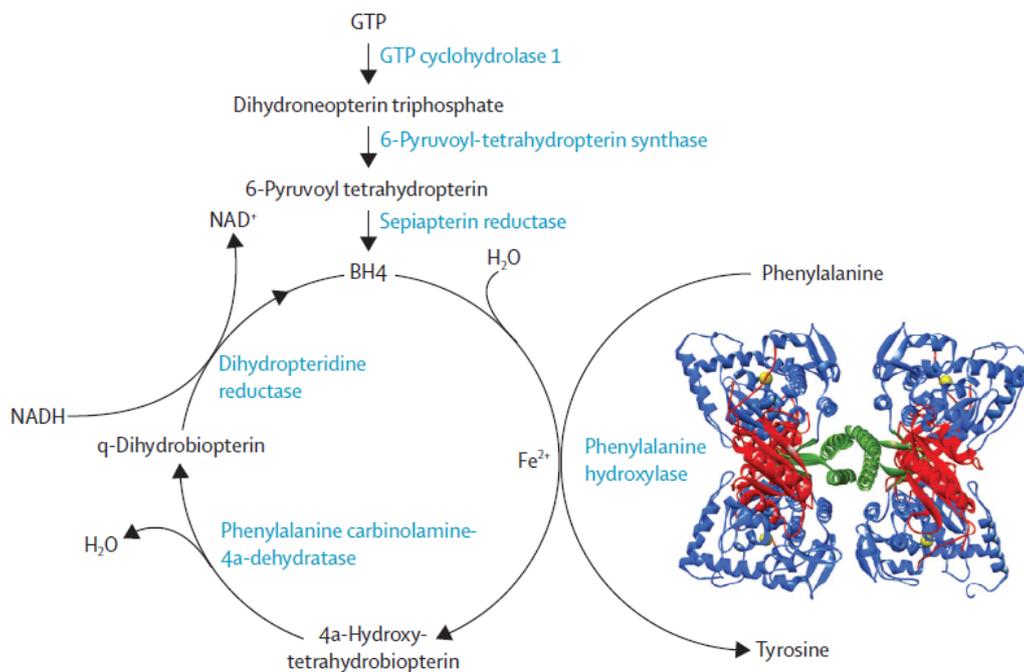


**Figura 1** – Diagrama PRISMA sintetizando o fluxo dos artigos incluídos na revisão.

## RESULTADOS

### 1. Fisiopatologia da PKU

Tal como explicitado anteriormente, a PKU é o distúrbio dos aminoácidos mais prevalente a nível mundial e resulta do défice da enzima PAH. Esta é uma enzima hepática responsável pela conversão de fenilalanina em tirosina. Esta reação, para além do seu substrato e enzima, requer tetraidrobiopterina (BH4), oxigénio molecular ( $O_2$ ) e ferro no estado ferroso ( $Fe^{2+}$ ) como cofatores [5] (Figura 2). O défice desta enzima resulta de uma mutação (frequentemente *missense*) do gene da PAH, localizado no cromossoma 22 (região q22-24.1) [5].



**Figura 2** – Reação de síntese de tirosina e os seus cofatores [5].

Várias classificações fenotípicas foram já utilizadas na PKU, estando cada variante associada a diferentes graus de gravidade. Blaskovics *et al.* sugeriu, na década de 70 do século XX, a classificação baseada na utilização de um teste de sobrecarga com fenilalanina, com o objetivo de determinar a tolerância dietética a este aminoácido em cada doente. No entanto, devido às questões éticas levantadas por este processo de seleção, este teste é hoje em dia altamente contestado [5]. Na década de 80, Guttler propôs um método de classificação destes doentes baseado na fenilalaninémia ao diagnóstico. Assim, estes doentes seriam divididos nos seguintes grupos: PKU clássica (se ao diagnóstico tivessem

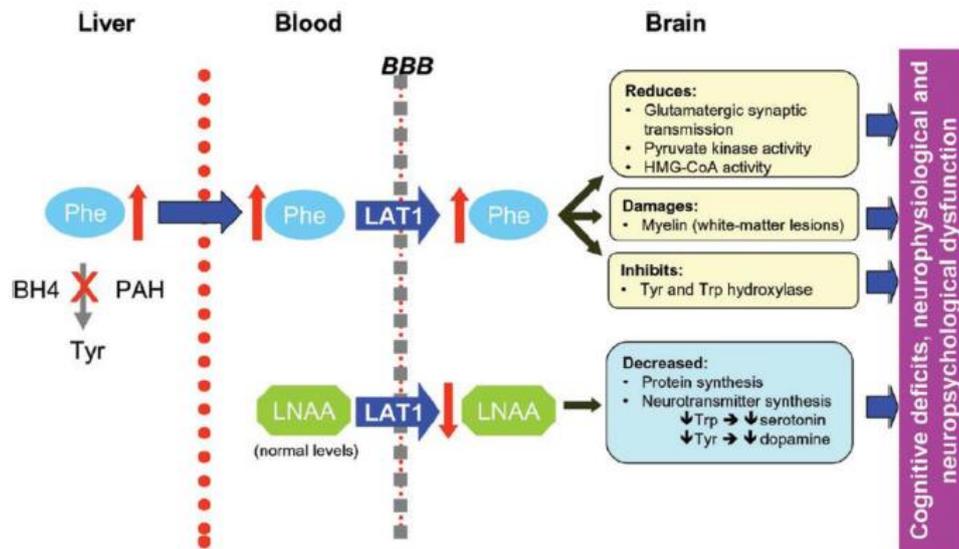
fenilalaninémias > 1200 µmol/L); PKU moderada (se tivessem níveis compreendidos entre 900-1200 µmol/L); PKU ligeira (se tivessem níveis compreendidos entre 600-900 µmol/L) e, por fim, doentes com hiperfenilalaninémia ligeira (com níveis compreendidos entre 120-600 µmol/L). No entanto, este método de classificação não poderá ser entendido como totalmente preciso, uma vez que o tratamento destes doentes é atualmente iniciado antes destes terem possibilidade de atingir o nível máximo de fenilalaninémia que o seu potencial genético confere [5,6]. Um outro tipo de classificação fenotípica de PKU baseia-se nos níveis de tolerância diária do consumo de fenilalanina proveniente da dieta [5]. Esta classificação apresenta a vantagem de auxiliar o terapeuta e o doente nas escolhas alimentares diárias.

Atualmente, as *guidelines* europeias para o diagnóstico e tratamento de PKU (2017) utilizam uma classificação fenotípica de PKU derivada da proposta de Blau *et al.* Esta classificação divide os doentes com PKU tendo como base as suas necessidades de tratamento. É unânime na comunidade científica que todos os doentes com níveis de fenilalaninémia >600 µmol/L requerem tratamento. Pelo contrário, considera-se que não existe essa necessidade em indivíduos cujos valores de fenilalaninémia sejam <360 µmol/L. No entanto, a vigilância destes casos é aconselhada, especialmente no primeiro ano de vida, visto que a fenilalaninémia pode oscilar com a idade. Por fim, em doentes com concentrações séricas de fenilalanina compreendidos entre 360-600 µmol/L é aconselhada a realização de tratamento, especialmente até aos 12 anos de idade, para prevenção de potenciais distúrbios neurocognitivos. A partir desta idade e após reavaliação, estes doentes poderão passar a um regime de seguimento, sem necessidade de tratamento [5]. A Tabela 1 resume as características principais das classificações aqui apresentadas.

Fenótipo	Classificação	
	Guttler	Adapt. Blau <i>et al.</i>
PKU clássica	> 1200 µmol/L	Tratar
PKU intermédia	900-1200 µmol/L	
PKU ligeira	600-900 µmol/L	
Hiperfenilalaninémia ligeira	120-600 µmol/L	<b>360-600 µmol/L:</b> < 12 anos: Tratar ≥ 12 anos: Vigiar
		<b>&lt; 360 µmol/L:</b> Vigiar 1º ano de vida

**Tabela 1** – Classificações fenotípica de PKU [5].

Os elevados valores séricos de fenilalanina (hiperfenilalaninémia), decorrentes do défice de PAH, constituem o aspeto mais relevante dos mecanismos fisiopatológicos implicados nas manifestações neurológicas e neuropsiquiátricas da PKU.



**Figura 3** – Mecanismos de dano neurológico na PKU [5].

Apesar dos mecanismos fisiopatológicos da PKU não serem totalmente compreendidos, julga-se que distúrbios da neurotransmissão, aumento do stress oxidativo cerebral, distúrbios da mielinização axonal do sistema nervoso central (SNC) e diminuição da produção de energia celular poderão estar na origem das manifestações neurológicas constatadas nestes doentes [5,7] (Figura 3), sendo abordados especificamente de seguida.

### 1.1 Distúrbios da Neurotransmissão

Pensa-se que os níveis elevados de fenilalanina sérica dificultam a neurotransmissão, através da redução da síntese proteica cerebral. Este aspeto, essencial na produção de neurotransmissores, como a dopamina ou a noradrenalina, poderá estar afetada na PKU através de dois mecanismos fundamentais: redução do transporte cerebral de aminoácidos pela barreira hematoencefálica e inibição enzimática [8,9].

A barreira hematoencefálica resulta de “tight-junctions” entre células endoteliais dos capilares cerebrais e de vários transportadores que regulam a passagem de moléculas específicas, tendo como objetivo a proteção do cérebro a variações séricas de hormonas, nutrientes e outros metabolitos, providenciando um ambiente estável propício à realização

das complexas funções deste órgão [10]. Em condições normais, o transporte de aminoácidos neutros de cadeia longa (LNAA) (como fenilalanina, tirosina, triptofano, valina, isoleucina, leucina, treonina, histidina e metionina) através da barreira hematoencefálica é principalmente assegurado pelo *large neutral aminoacid carrier L-aminoacid transporter 1* (LAT1). No entanto, também pode haver contribuição, em menor magnitude, de outros transportadores como a SLCA19 e a SLCA15 [6,8,10]. Alguns destes aminoácidos (dos quais se destacam a tirosina e o triptofano) são precursores de neurotransmissores, tais como a dopamina e a noradrenalina (ambos produtos da metabolização da tirosina) e a serotonina (proveniente da metabolização do triptofano). Estes neurotransmissores estão muito relacionados, para além de outras funções, com a regulação do humor, das emoções e da cognição [11], parâmetros estes frequentemente desregulados em doentes com PKU.

Apesar da LAT1 ser responsável pelo transporte de todos estes aminoácidos através da barreira hematoencefálica, esta apresenta maior afinidade para a fenilalanina [8]. Isto faz com que, no caso específico da PKU, a elevação dos níveis séricos de fenilalanina faça com que esta compita com os restantes aminoácidos pelo transporte cerebral via LAT1, o que, por um lado, vai conduzir a concentrações elevadas de fenilalanina cerebrais, mas também vai diminuir as concentrações dos restantes aminoácidos no cérebro [8-10]. Por sua vez, baixas concentrações destes aminoácidos (especialmente tirosina e triptofano) têm como consequência menor síntese de neurotransmissores, tal como os supracitados. Foram já descritos outros mecanismos através dos quais a hiperfenilalaninémia contribui para a diminuição da síntese proteica cerebral, nomeadamente a inibição de enzimas cerebrais cruciais para o metabolismo dos aminoácidos, tais como as enzimas tirosina hidroxilase e triptofano hidroxilase, resultando novamente na diminuição da síntese de neurotransmissores [9].

Apesar de vários estudos indicarem a hiperfenilalaninémia como principal fator etiológico da diminuição da síntese proteica cerebral, Groot *et al.* consideram que apenas uma percentagem (57%) da variação dos valores cerebrais esperados de tirosina na PKU pode ser explicada inteiramente pela hiperfenilalaninémia característica desta patologia, o que faz com 43% da variação seja devida a outros fatores, ainda não perfeitamente identificados [8]. A diminuição da síntese proteica cerebral, por carência de todos os restantes aminoácidos mencionados (excluindo a fenilalanina) terá graves repercussões no desenvolvimento neurológico das crianças com PKU, afetando especialmente processos como a diferenciação neuronal, a maturação, migração e plasticidade sináptica e a formação de redes neuronais funcionais. A afetação destes processos pela diminuição da síntese proteica cerebral poderá ser um dos mecanismos por detrás do frequente atraso do desenvolvimento apresentado por crianças com PKU [8], quando não se verifica o cumprimento do regime terapêutico estipulado ou quando este não foi instituído atempadamente.

### 1.1.1 Diminuição da produção de Dopamina

A perturbação da via dopaminérgica é talvez o distúrbio da neurotransmissão mais frequentemente verificado em doentes com PKU [12]. Apesar de formalmente se utilizar o doseamento de fenilalanina para inferir o estado de controlo metabólico de doentes com PKU (e conseqüentemente do estado de dopamina cerebral), alguns estudos revelam a possível utilidade da utilização do rácio fenilalanina:tirosina para explicar certas manifestações neurológicas observadas nestes doentes, das quais se destacam os défices nas funções executivas [12]. Doentes com PKU que apresentem uma diminuição deste rácio presumivelmente demonstram menor controlo metabólico e sintomatologia de maior gravidade. No entanto, a possibilidade da integração médica deste marcador continua a ser alvo de investigação, uma vez que os níveis de tirosina séricos variam conforme a hora de recolha das amostras, sendo estes valores mais fiáveis após jejum noturno [5].

Para além do rácio fenilalanina:tirosina, refere-se a possível utilidade do doseamento de prolactina, de modo a inferir a homeostasia dopaminérgica dos doentes com PKU. A produção e libertação de prolactina para a corrente sanguínea por parte da hipófise anterior é regulada através de um mecanismo de feedback negativo, que envolve a dopamina hipotalâmica. Seria, assim, lógico que os baixos níveis de dopamina cerebrais decorrentes da PKU tivessem como consequência um aumento reflexo da prolactinémia. No entanto, estudos que investigaram a possibilidade de existência de uma relação entre os níveis da prolactinémia e adesão à terapêutica dietética (constituídos por doentes com boa e má adesão à terapêutica) têm demonstrado resultados bastante heterogêneos e até discordantes na relação entre estes dois parâmetros [13].

Em termos de estruturas cerebrais mais afetadas por esta carência de dopamina característica da PKU, destacam-se o córtex pré-frontal e o corpo estriado [7,14,15]. A dopamina é um neurotransmissor essencial dos neurónios piramidais do córtex pré-frontal, envolvidos em funções executivas, tais como a memória, a atualização cognitiva e o controlo inibitório [16]. O córtex pré-frontal é a região do SNC mais danificada com o estado hipodopaminérgico da PKU. Isto deriva da sensibilidade desta região a variações da concentração cerebral de tirosina (precursor da dopamina). Esta grande sensibilidade deve-se à maior taxa de geração de potenciais de ação e do maior *turnover* de dopamina por parte dos neurónios dopaminérgicos que se projetam no córtex pré-frontal [15]. A relevância desta alta sensibilidade poderá estar relacionada com alguns défices cognitivos manifestados por crianças e adolescentes com PKU [9,15].

Para além do córtex pré-frontal, outras estruturas envolvidas em funções executivas e que, em condições normais, têm elevada concentração de dopamina, podem ser afetadas pelo estado hipodopaminérgico verificado na PKU, nomeadamente o corpo estriado dorsal (constituído pelo putamen e pelo núcleo caudado). Para além de receber aferências

glutamatérgicas do córtex pré-frontal, o corpo estriado dorsal recebe aferências dopaminérgicas provenientes da substância *nigra* compacta mesencefálica (via nigroestriada) e emite projeções dopaminérgicas eferentes para o *globus pallidus* e para a substância *nigra* reticulada [14]. Num estudo realizado por Bodner *et al.* demonstrou-se que, tal como em algumas patologias psiquiátricas, como a esquizofrenia (em que se recorre frequentemente ao uso de neurolépticos e bloqueadores dos recetores de dopamina), doentes com PKU apresentaram ingurgitamento do putamen. Pondera-se que o mecanismo por detrás deste achado é o aumento das projeções neuronais que envolvem esta estrutura, secundárias à depleção dopaminérgica. Para além do mais, verificou-se que este aumento de volume se correlaciona positivamente com os níveis de fenilalaninémia apresentados pelos doentes e, conseqüentemente, relaciona-se inversamente com os níveis de dopamina. Também se demonstrou que este aumento de volume se encontra inversamente relacionado com o quociente de inteligência (QI) dos doentes com PKU [14].

Apesar de alterações estruturais do corpo estriado terem sido relatadas, é importante referir de igual forma as alterações da via nigroestriada (e não isoladamente do putamen) decorrentes da PKU. Esta via dopaminérgica contribui para o controlo motor, como também para a aprendizagem de novas capacidades motoras. Devido a lesões desta via, decorrentes da carência de dopamina, doentes com PKU podem apresentar uma diminuição da performance visuo-motora. Estes défices podem-se manifestar de diversas formas, tais como: baixa capacidade de aprendizagem (ou de automatização) de ações motoras específicas através da prática, assim como por bradicinésia e tremor. Os níveis de fenilalaninémia parecem relacionar-se com a gravidade destas manifestações, tendo-se descrito que qualquer variação tem um impacto relativo a curto prazo nestas funções cerebrais [17]. No entanto, estes mecanismos ainda não são todos bem compreendidos, ponderando-se ainda que lesões de outros gânglios da base possam estar potencialmente envolvidas na fisiopatologia dos défices neurológicos e cognitivos da PKU. Adicionalmente, considera-se que muitos destes distúrbios podem resultar da conjugação simultânea de vários fatores (como a associação entre dano da via nigroestriada e doença difusa da substância branca na perturbação de hiperatividade e défice de atenção secundária à PKU) [7,17].

### **1.1.2 Diminuição da produção de Serotonina**

A neurotransmissão serotoninérgica também se verifica perturbada em doentes com PKU, tanto pela diminuição do transporte cerebral de triptofano (precursor da serotonina) na barreira hematoencefálica, como também por inibição da enzima triptofano hidroxilase [9].

A serotonina é um neurotransmissor essencial para o adequado funcionamento do córtex órbito-frontal, responsável tanto pela execução de processos cognitivos, como também na regulação do humor, das emoções e do comportamento [9,11]. Por este motivo, crianças e adolescentes com início tardio do esquema terapêutico recomendado, ou que demonstrem uma baixa adesão terapêutica, apresentam perturbações vincadas destes processos.

### **1.1.3 Afetação da transmissão glutamatérgica**

Apesar da via glutamatérgica não estar afetada pela PKU pelos mesmos processos fisiopatológicos que as vias dopaminérgica e serotoninérgica, acaba por se encontrar igualmente implicada. O glutamato é o aminoácido/neurotransmissor mais abundante, assim como é o principal neurotransmissor excitatório do SNC, nomeadamente em zonas como os gânglios da base, o hipocampo, a amígdala e o córtex cerebral [18].

Níveis elevados de fenilalanina cerebrais, secundários à PKU, têm como consequência uma maior competição da fenilalanina pelos recetores pós-sinápticos de glutamato, dos quais se destacam os recetores ionotrópicos, nomeadamente os recetores N-metil-D-aspartato (NMDA) e  $\alpha$ -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazolepropionato (AMPA). A fenilalanina antagoniza estes receptores, ao competir com a glicina e com o glutamato pelas suas zonas de ligação aos recetores NMDA e AMPA, respetivamente [18,19]. Esta antagonização induz alterações na transmissão sináptica glutamatérgica, ao aumentar a expressão de subunidades específicas destes recetores (GluN1, GluA1 e GluA2/3), assim como através do aumento da libertação pré-sináptica de glutamato [18-20]. Estas alterações diminuem o limiar convulsivo de doentes com PKU, constatando-se frequentemente a ocorrência de fenómenos paroxísticos, especialmente se a fenilalaninémia estiver transitoriamente diminuída [19]. A afetação da neurotransmissão glutamatérgica no cérebro imaturo também tem um importante papel nos défices de aprendizagem e memória destas crianças [18].

A excitotoxicidade do glutamato, que tem demonstrado ser um processo mediador comum de dano celular em várias patologias, aparenta estar também presente na PKU. O aumento da ligação do glutamato aos recetores NMDA, reflexo ao efeito antagonista da fenilalanina, permite um conseqüente aumento do influxo de cálcio no neurónio pós-sináptico, o que poderá conduzir a um aumento da morte celular programada (apoptose). Por outro lado, o aumento da ligação de glutamato aos recetores AMPA provocará um aumento do influxo de sódio nos neurónios pós-sinápticos, com conseqüente edema citotóxico. Como agravante, as células da glia (como os astrócitos) portadoras deste recetor não conseguirão proteger os neurónios deste mecanismo de dano celular [20]. Apesar de não estar relacionado com a via

glutamatérgica, mas sim com as principais vias de dano neuronal na PKU, tem-se relatado o possível papel da fenilalanina na inibição dos transportadores  $\text{Na}^+\text{-K}^+$  ATPase nos sinaptossomas, o que poderá acarretar edema intracelular crónico em algumas estruturas cerebrais [20].

## 1.2 Stress oxidativo

Recentemente, o stress oxidativo tem provado ser um dos mecanismos mais relevantes na fisiopatologia do dano neurológico na PKU. Este pode ser causado através de dois mecanismos: inibição dos mecanismos de defesa (enzimáticos e não-enzimáticos) contra o stress oxidativo devido a défices em macro e micronutrientes decorrentes da restrição dietética (com posterior dano oxidativo em lípidos, proteínas e DNA) e, em menor grau, aumento da quantidade de espécies reativas de oxigénio. A fenilalanina reduz os mecanismos de defesa antioxidantes dos tecidos, plasma e eritrócitos, promovendo o aumento da produção de espécies reativas de oxigénio e de azoto [21].

A enzima glutathione peroxidase (GSHPx) é uma enzima antioxidante dependente de selénio, essencial na proteção contra o dano celular causado pelas espécies reativas de oxigénio. Num estudo realizado por Kumru *et al.* demonstrou-se que doentes com PKU com má adesão à terapêutica dietética tinham níveis baixos desta enzima, relativamente a indivíduos saudáveis [21]. Estes resultados poderão ser explicados pelo défice de selénio proveniente da dieta nestes doentes. Um estudo realizado por Sitta *et al.*, em que se recorreu à suplementação com selénio em doentes com PKU, demonstrou que os níveis de GSHPx aumentaram consideravelmente, culminando numa melhor defesa antioxidante. Estes resultados motivaram a adição de selénio, vitaminas, minerais e de outros oligoelementos às fórmulas de L-aminoácidos comercializadas para a suplementação de doentes com PKU, de maneira a reforçar o estado antioxidante destes doentes. No entanto, estas misturas falharam na correção dos níveis eritrocitários de GSHPx [21], algo que ainda permanece controverso e que carece de investigação.

A coenzima Q10 é um antioxidante lipofílico que, para além de prevenir a peroxidação de lípidos no sangue e tecidos, está envolvida no transporte de eletrões na cadeia respiratória mitocondrial. O défice desta coenzima, observado igualmente em doentes com baixa adesão à terapêutica dietética, está implicado na falência deste processo e consequente aumento do stress oxidativo [21,22]. São relatados dois mecanismos através dos quais a PKU poderá causar a diminuição dos níveis de coenzima Q10: por um lado, a diminuição do aporte de alimentos ricos nesta coenzima (como carnes, soja e nozes) poderá explicar este défice, mas o aspeto principal aparenta ser a inibição (por parte da fenilalanina) das enzimas 3-

hidroxi-3-metil-glutaril-co-enzima A redutase (HMG-CoA) e mevalonato-5-pirofosfato descarboxilase, ambas envolvidas na síntese de coenzima Q10 e de colesterol [21,22].

Alguns estudos têm demonstrado a importância antioxidante da carnitina, que exerce esse efeito através da *clearance* de radicais hidroxilo, de iões superóxido e de peróxido de hidrogénio, assim como pela inibição da produção de radicais hidroxilo através da reação de Fenton. No estudo realizado por Kumru *et al.*, os níveis de carnitina eram consideravelmente inferiores em doentes com PKU com boa adesão à terapêutica, em relação a doentes com fraca adesão [21]. Tentando clarificar qual o mecanismo que diminuía os níveis séricos de carnitina, foi realizado um estudo por Fischer *et al.*, em que se comparava estes níveis em dois grupos distintos de doentes com PKU: doentes sob terapia dietética (sem fenilalanina) e doentes sem terapia dietética. Os níveis séricos de carnitina eram consideravelmente inferiores nos doentes sem restrições dietéticas (e que, por isso, tinham um aporte exógeno adequado de carnitina), em relação a controlos saudáveis. Estes níveis inferiores de carnitina decorrem possivelmente da inibição da sua biossíntese pelo ácido fenilacético (um dos metabolitos da fenilalanina). No entanto, não está recomendada por rotina a monitorização dos níveis de carnitina ou de qualquer marcador de stress oxidativo em doentes com PKU [5,21].

### **1.3 Distúrbios da mielinização**

A hiperfenilalaninémia tem sido relacionada com a inibição da biossíntese de mielina a nível dos oligodendrócitos, assim como com distúrbios da sua estabilidade estrutural. A doença difusa da substância branca está relacionada com hipomielinização e gliose, provavelmente causadas pelo efeito tóxico da hiperfenilalaninémia nos oligodendrócitos. Sendo a mielina uma substância que influencia a maturação axonal, o compromisso deste processo em doentes com PKU poderá afetar igualmente a produção de neurotransmissores. Estes distúrbios da substância branca, presentes igualmente em doentes com diagnóstico e tratamento precoces, poderão estar envolvidos na baixa velocidade de processamento em doentes com PKU [9,23].

Tem-se constatado que a hipomielinização ocorre preferencialmente em estruturas de mielinização pós-natal (como o trato óptico, o corpo caloso e a substância branca subcortical e peri-ventricular), enquanto que áreas de mielinização pré-natal (como o tronco cerebral e a cápsula interna) tendem a escapar ao efeito tóxico da hiperfenilalaninémia [23].

#### 1.4 Diminuição da produção de energia

Distúrbios da produção de energia através do catabolismo da glicose (glicólise) por inibição da enzima piruvato cinase têm sido frequentemente relacionados com os níveis de fenilalaninemia constatados em doentes com PKU. A inibição desta enzima em doentes com PKU tem como derradeira consequência a diminuição da produção de energia tecidual, sendo que o cérebro não é exceção. Curiosamente, num estudo realizado por Liang *et al.*, os níveis do aminoácido alanina (um aminoácido muito relacionado com o metabolismo da glicose, nomeadamente no processo de neoglicogénese e de fornecimento de energia) mostraram-se diminuídos em doentes com diagnóstico tardio de PKU (entre o 1º mês e os 5 anos de vida). Este aminoácido é um competidor da fenilalanina pela atividade da piruvato cinase, prevenindo o efeito inibitório da fenilalanina na atividade desta enzima. Suspeita-se, por essa razão, que baixos níveis deste aminoácido estejam na origem do aumento da ação inibitória da fenilalanina na enzima piruvato cinase. No entanto, o processo por detrás deste achado ainda não foi totalmente esclarecido, carecendo da realização de mais estudos dirigidos [6].

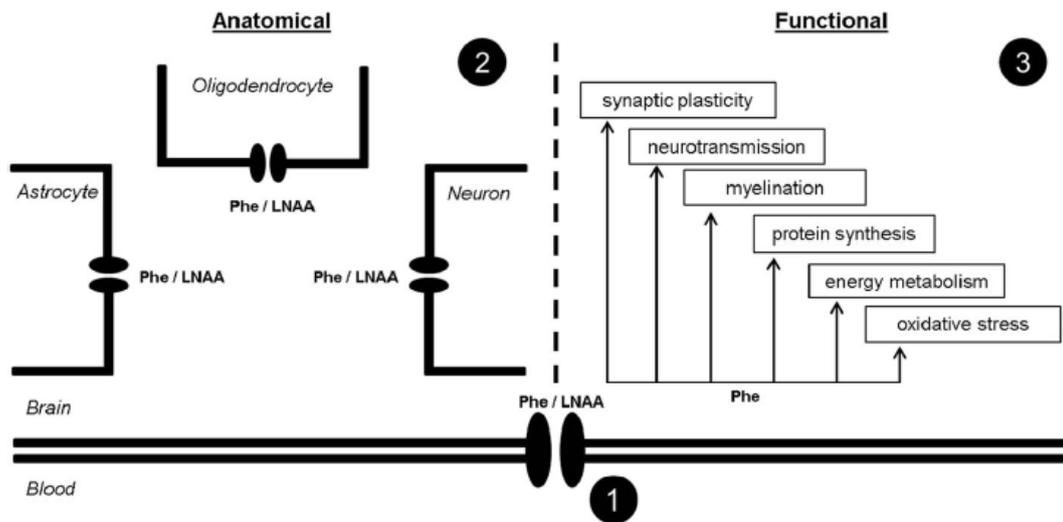
## 2. Manifestações neurológicas e psiquiátricas da PKU

Em termos físicos, as crianças e adolescentes com PKU são frequentemente descritas como portadoras de tons mais claros de cabelo, olhos e pele que os restantes membros da sua família, possivelmente relacionados com a diminuição da síntese de melanina decorrente da hiperfenilalaninémia [24,25]. Por outro lado, devido à excreção de ácido fenilpirúvico (um dos metabolitos resultantes da acumulação de fenilalanina) através da pele, é relatada por vezes a presença de um “odor a rato” nestes doentes [24]. Embora a introdução do teste de Guthrie tenha já sido realizada no século passado em muitos países, esta realidade ainda não é verificada em outras tantas regiões, por vezes carenciadas, como o Egito (em que o programa de rastreio neonatal foi apenas introduzido em 2015) e a Tunísia, onde este teste ainda não é realizado por rotina (últimos dados obtidos referentes a 2010) [24,26]. Estes dados, apesar de serem desmotivadores, permitem-nos obter informações relevantes acerca das possíveis manifestações de PKU em crianças diagnosticadas tardiamente com esta patologia. Manifestações neurológicas (como microcefalia, epilepsia, défices motores de carácter focal e disfunção executiva), assim como distúrbios psiquiátricos e comportamentais são frequentemente observados nestes doentes [11,20,24-27].

Estudos realizados na segunda metade do século passado revelaram que os sintomas supramencionados não estão apenas presentes em doentes não tratados, sendo também frequentes em casos de iniciação tardia do tratamento, havendo uma relação direta entre gravidade destes sintomas e idade de iniciação do esquema terapêutico. Marholin *et al.* demonstraram que a iniciação da dieta a partir dos 2 anos não consegue prevenir totalmente a ocorrência de graves défices neurológicos decorrentes de lesões estruturais irreversíveis no SNC [24]. As recomendações de tratamento e diagnóstico de PKU indicam que, nestes casos, o benefício da iniciação de tratamento deverá ser avaliado individualmente [5].

Apesar da frequência das repercussões de maior gravidade ter diminuído consideravelmente após a introdução do rastreio neonatal (e conseqüente início precoce da intervenção dietética), ainda são perceptíveis diferenças na funcionalidade de crianças com PKU, comparativamente a crianças saudáveis. Um desses aspetos é a comparação de *scores* de QI entre estas populações: apesar das crianças com PKU tratadas precocemente apresentarem valores em intervalos normais, estes são, em média, meio desvio-padrão mais baixos do que os valores constatados em controlos. Para além disso, o QI destas crianças tende a ser ligeiramente menor que o dos seus pais e irmãos saudáveis [11]. A presença de lesões na substância branca, assim como de défices das funções executivas podem ser detetados em todos os doentes, independentemente da idade de início do tratamento dietético [26].

Estes doentes podem ter fenótipos cognitivos muito diferentes, mesmo quando os seus fenótipos metabólicos (níveis de fenilalaninemia) são semelhantes. Esta variabilidade interindividual parece ser explicada por diferenças entre o transporte de fenilalanina e outros LNAA a nível da barreira hematoencefálica e das células do SNC, assim como por diferentes graus de vulnerabilidade celular aos efeitos nocivos da hiperfenilalaninemia (Figura 4) [24,27].



**Figura 4** – Causas da variabilidade fenotípica na PKU. (1) Transporte na BHE; (2) Transporte nas células do SNC; (3) Diferenças na vulnerabilidade celular [27].

Neste capítulo serão abordadas as manifestações neurológicas e psiquiátricas mais comumente encontradas em crianças e adolescentes com PKU.

## 2.1 Doença difusa da substância branca

Os danos decorrentes da PKU que comprometem a integridade da substância branca do SNC há muito que têm sido relatados, ainda que os resultados dos estudos realizados na tentativa de relacionar estes danos com os potenciais défices cognitivos identificados sejam incoerentes. Exames de imagem como a ressonância magnética (RM) têm sido uma mais-valia no diagnóstico desta situação. No entanto, devido ao facto das alterações mais grosseiras serem mais frequentemente notadas em doentes com fraca adesão terapêutica ou com mau controlo metabólico, a RM provou-se insuficiente na deteção de anomalias microestruturais da substância branca, mais características de doentes tratados

precocemente e com relativo controlo metabólico [9,28,29]. Por esta razão, aos resultados qualitativos obtidos através de técnicas convencionais de RM, associa-se frequentemente a utilização de algumas técnicas avançadas, como o tensor de difusão (*diffusion tensor imaging, DTI*) no estudo da integridade da substância branca, nestes doentes. A técnica de DTI realiza uma análise não-invasiva da estrutura axonal e do estado da mielina, ao quantificar a difusão de moléculas de água no cérebro através de alguns índices. Destes índices, é importante destacar a difusão média (DM), a anisotropia fracionada (AF) e a difusão radial (DR). A DM reflete a taxa geral de difusão axonal de moléculas de água e está relacionada com celularidade, edema e necrose. A AF quantifica a direção preferencial de difusão dessas mesmas moléculas de água e está relacionada com o diâmetro axonal, densidade e orientação das fibras. A DR correlaciona-se com o grau de mielinização e diâmetro axonal [9,28]. A utilização de DTI poderá abrir caminho ao estabelecimento da relação entre doença difusa da substância branca e perturbação cognitiva em doentes com PKU. De facto, a utilização isolada da RM em muitos estudos que tentaram provar a relação entre estas duas variáveis fez com que algumas das conclusões obtidas não tivessem correspondido à realidade observada, visto que a técnica de DTI permite detetar lesões de menor extensão (microestruturais), que não são detetáveis por RM estrutural convencional. Por outro lado, a utilização do QI como único indicador de dano cognitivo também pode ter contribuído para a dificuldade na interpretação dos resultados, visto que algumas funções executivas afetadas na PKU não são testadas através das mesmas provas que permitem o cálculo deste quociente. Por fim, o facto de muitos dos estudos executados utilizarem amostras mistas ou maioritariamente compostas por indivíduos em idade adulta, quando na realidade se considera a hipótese da ocorrência desta relação em fases mais precoces da vida dos doentes, também poderá ter contribuído para as incongruências identificadas [29].

Os estudos realizados até à data com utilização isolada de RM na avaliação do dano estrutural da substância branca indicaram que esse dano é demonstrado mais frequentemente por hiperintensidades de sinal em ponderações T2 e hipointensidades em T1, localizadas na substância branca profunda ou peri-ventricular (circundantes aos ventrículos laterais), nomeadamente em segmentos mais posteriores, como nos lobos occipitais e parietais. No entanto, o aumento da gravidade fenotípica da doença com o menor controlo metabólico, poderá culminar na observação de lesões com características semelhantes na substância branca subcortical, nomeadamente no lobo frontal [9,14,20,23,30-32].

Já nos estudos que utilizaram a técnica de DTI como método de imagem preferencial, para além de terem obtido os mesmos resultados dos estudos previamente referidos, relatam outras alterações imagiológicas de relevo, como a diminuição do volume cerebral total de doentes com PKU precocemente tratada [14,29]. Para além disto, as imagens obtidas nestes estudos revelam alterações particulares em estruturas cerebrais concretas,

como na radiação óptica, no hipocampo, no corpo caloso, no centro semioval, na coroa radiada, no fascículo longitudinal superior, na cápsula interna e na substância branca subcortical (nomeadamente do lobo pré-frontal e na região parietal posterior). No entanto, para que este último conjunto de zonas fosse afetado, seria expectável que a doença se encontrasse num estágio mais avançado [9,20,29,30,32-34]. Nestes estudos, os níveis de DM e DR eram consideravelmente inferiores nas zonas referidas, comparativamente com controlos saudáveis, o que revela alterações estruturais da bainha de mielina (com consequente dano axonal) em doentes com PKU.

Consegue-se estabelecer uma relação entre os valores de DM, DR e a idade, tanto em indivíduos saudáveis, como em doentes com PKU. Estes marcadores da estrutura mielínica estão usualmente diminuídos em indivíduos saudáveis, especialmente ao longo da infância (quando ocorre maior mielinização do SNC), enquanto que estes índices tendem a aumentar na idade adulta (com a degenerescência da substância branca). No entanto, e curiosamente, os níveis de DM e DR em doentes com PKU apresentam-se de igual forma diminuídos. Pensa-se que, apesar de, em indivíduos saudáveis, níveis baixos de DM e DR serem marcadores de mielinização, o contrário se verifica em doentes com PKU, onde os elevados níveis de fenilalanina sérica inibem a biossíntese de mielina pelos oligodendrócitos a nível do SNC, com consequente dano cumulativo da substância branca cerebral [9].

A maioria dos estudos realizados demonstraram níveis de AF semelhantes em doentes com PKU e controlos saudáveis, julgando-se que esta anisotropia mantida se deve à acumulação intracelular de metabolitos hidrofílicos decorrentes da hiperfenilalaninémia da PKU. No entanto, a explicação para este achado ainda não é de todo compreendida, carecendo da realização de estudos que a elucidem [9,34].

Para além da obtenção dos valores destes indicadores, devido ao carácter longitudinal de alguns destes estudos, conseguiu-se estabelecer uma correlação entre os níveis de fenilalaninémia dos doentes (assim como das respetivas idades) e os valores de DM e DR obtidos. Parece que os valores de DM e DR variam inversamente tanto com a idade como com os níveis de fenilalaninémia dos doentes com PKU. É compreensível que estes valores diminuam quanto maiores forem os níveis de fenilalaninémia médios e a exposição média à fenilalanina por estes doentes, visto que quanto maior a acumulação deste aminoácido, maior rebate será infligido nas estruturas neurológicas supramencionadas (através dos processos fisiopatológicos explicitados anteriormente). Por outro lado, verificou-se que, com o crescimento destes doentes, nomeadamente a partir da segunda década de vida, a adesão à terapêutica dietética e o controlo metabólico dos valores de fenilalanina tendem a diminuir, o que poderá explicar esta correlação [9,20,23,28,29,31,32,34-36].

Um dos temas também abordados em algumas destas investigações foi a questão da reversibilidade destas lesões. De facto, Nardecchia *et al.*, através da realização de um

estudo longitudinal com duração de 14 anos, acompanhando doentes com PKU precocemente tratada, demonstraram que algumas destas lesões são parcialmente reversíveis, na condição de que estes doentes consigam manter os seus níveis de fenilalaninémia inferiores a 600  $\mu\text{mol/L}$  por, pelo menos, 3-6 meses [31].

Como já mencionado, em muitos estudos previamente realizados não se conseguiu estabelecer totalmente a relação entre os danos estruturais da substância branca e os défices cognitivos manifestados por doentes em idade pediátrica com PKU. No entanto, parece perceptível que, se a substância branca é essencial na conexão entre as várias estruturas cerebrais, a sua afetação vai ter como consequência o prejuízo desses mesmos processos integrativos. Um exemplo que poderá corroborar esta dedução é que, embora as zonas cerebrais posteriores sejam as mais frequentemente afetadas, a presença de imagens reveladoras de dano da substância branca frontal e subcortical implica frequentemente a presença concomitante de défices cognitivos mais graves [20]. Por outro lado, Mazlum *et al.* referem a presença de lesões na substância branca pré-frontal (preditoras de défices cognitivos de alta gravidade) em doentes tardiamente diagnosticados, cujas únicas manifestações foram perturbações do espectro do autismo (PEA) ou perturbações de hiperatividade e défice de atenção (PHDA) [20].

Um estudo elaborado por Christ *et al.* observou a presença de lesões da *default mode network* (DMN) em doentes com PKU. A DMN consiste numa rede interligada de regiões cerebrais (como o córtex pré-frontal medial, o córtex cingulado posterior e o córtex parietal lateral) que estão geralmente mais ativas “em repouso”, comparativamente com o estado de desempenho de uma determinada tarefa cognitiva. As funções exatas desta rede ainda não são totalmente compreendidas. No entanto, pensa-se que poderá estar relacionada com: 1) a representação e monitorização contínua do ambiente externo e dos estados internos (sejam eles cognitivos, emocionais ou físicos); 2) a experiência do pensamento irrestrito e independente de estímulos; 3) o pensamento introspetivo, autobiográfico e consciente da relação entre passado, presente e futuro; 4) a transição da consciência desde a realidade externa para a simulação interna de cenários (autoprojeção); 5) o entendimento dos estados emocionais e/ou crenças de terceiros (teoria da mente). Este estudo demonstrou uma diminuição da conexão destas zonas, agravada com o aumento progressivo dos níveis de fenilalaninémia em doentes com PKU precocemente tratada [37].

A realização de estudos com foco nas traduções clínicas das lesões da substância branca em estruturas específicas é fundamental. Dentro deste tipo de lesões podem-se destacar as lesões do corpo caloso, que sendo uma estrutura crucial na transferência de informação inter-hemisférica, pode a sua lesão resultar no compromisso de faculdades que requerem esta mesma transferência, como a leitura, o cálculo e a memória de trabalho. Outro exemplo de potencial interesse são as lesões do fascículo longitudinal superior, que, ao ser

uma estrutura que conecta os lobos frontal, temporal e parietal, é importante na troca de informação entre as áreas de Broca e Wernicke (áreas estas envolvidas em aspectos relacionados com a linguagem). Havendo lesões neste fascículo, é expectável que haja também uma afetação da linguagem em doentes com PKU [34]. No entanto, nos artigos identificados, nenhuma das capacidades sob responsabilidade destas estruturas foi testada especificamente, em conjunto com ferramentas de neuroimagem.

## 2.2 Doença da substância cinzenta

Relatos de dano da substância cinzenta em doentes com PKU são muito menos comuns do que os de substância branca. Aliás, os estudos realizados até à data ainda são incongruentes nos seus achados e conclusões. Um desses exemplos foi o estudo realizado por Hawks *et al.*, que, embora descrevesse a diminuição dos volumes da substância cinzenta dos córtices parietais e occipitais, da ponte, do hipocampo, do tálamo e do núcleo *accumbens* em estudos passados, falhou na demonstração de quaisquer destas alterações no próprio estudo executado. No entanto, os próprios autores não excluem a possibilidade da existência de doença da substância cinzenta. Isto, porque, por um lado, nem todas as estruturas constituídas por substância cinzenta foram testadas e, por outro, as idades dos doentes que compuseram a amostra eram relativamente inferiores, comparativamente aos doentes incluídos em estudos prévios, assim como apresentavam melhor controlo metabólico [29]. Não obstante, a ocorrência de alterações da substância cinzenta em fases de vida mais avançadas de doentes com PKU não pode ser negada, tendo apenas em consideração os resultados deste estudo [29].

Num estudo conduzido com doentes com PKU precocemente tratada, Christ *et al.* relataram a diminuição do volume de substância cinzenta dos córtices parietal (essencialmente no pré-cúneo esquerdo, no sulco colateral posterior direito) e occipital [38]. Segundo estes investigadores, esta diminuição de substância cinzenta em doentes com PKU resulta de diversos mecanismos, tais como: 1) crescimento dendrítico atrofiado; 2) diminuição das ramificações dendríticas; 3) diminuição das dimensões das células nervosas e de lâminas corticais menos distintas, comparativamente com indivíduos saudáveis. Um achado curioso em estudos histológicos de algumas amostras revelou a presença de fibrilhas de fenilalanina em células nervosas do córtex parietal com estrutura semelhante às de substância amilóide encontradas na doença de Alzheimer. Estes autores consideram também que o dano cortical observado em doentes com PKU precocemente tratada poderá estar dependente dos níveis de fenilalaninémia. Para além disto, a idade dos doentes parece ser um fator de igual modo influente, visto que regiões específicas, como o córtex occipital, aparentam estar sob uma

maior quantidade de processos maturativos em fases precoces da infância. Por outro lado, outras regiões, como o córtex pré-frontal, estão sob processos de maturação mais prolongados, estendendo-se estes para além da segunda década de vida [38].

Tal como na doença difusa da substância branca, o cálculo do QI como único índice de quantificação de défice cognitivo demonstrou-se insuficiente, visto que nem sempre se constata a correlação entre estas lesões e o QI destes doentes. Em alternativa, estes autores propõem a realização de estudos cujo objetivo seja a testagem de funções específicas das áreas mais frequentemente lesadas. Alguns desses exemplos incluem a avaliação da memória episódica e autoconsciência (no caso de lesões pré-cuneais) ou a testagem do reconhecimento de estímulos visuais complexos (no caso de lesões do córtex occipital) [38]. Para além das alterações dos córtices parietais e occipitais descritos por Christ *et al.*, Pérez-Dueñas *et al.* descreveram diminuição do volume talâmico e da substância cinzenta do córtex motor e pré-motor numa amostra mista de doentes precocemente e tardiamente tratados [38].

Os gânglios da base são estruturas que, pelas suas conexões com o córtex pré-frontal, estão altamente relacionadas com as funções executivas. O aumento do volume do estriado dorsal, nomeadamente do putamen, decorrente do estado hipodopaminérgico da PKU já foi abordado ao longo deste trabalho. Bodner *et al.* relataram um aumento em 10% do tamanho do putamen em doentes com PKU, aumento esse que parece estar relacionado com os níveis de fenilalaninémia e com a presença de défices cognitivos (avaliados neste caso através do cálculo do QI). Apesar de tudo, a hipótese de reversibilidade deste aumento volumétrico com melhor controlo metabólico ou em que fase de vida dos doentes é que o mesmo ocorre são desconhecidos, visto que a maioria das amostras dos estudos realizados até à data são constituídas tanto por adultos como por crianças/adolescentes [14]. A investigação das variações de volume do estriado ventral é fruto de resultados heterogéneos e, até ver, inexplicáveis. Isto advém do facto dos estudos que descrevem um aumento de volume desta estrutura revelarem, de igual forma, uma trajetória de crescimento contrária do núcleo *accumbens*, que, apesar de ser um dos constituintes do estriado ventral, aparenta estar diminuído em doentes com PKU [29,38].

O cerebelo está tipicamente ligado à coordenação motora, através das suas projeções ao córtex motor primário. No entanto, este também apresenta projeções para o córtex pré-frontal não-motor, uma área relacionada com as funções executivas e que está afetada na PKU. Existem relatos acerca da diminuição volumétrica da substância cinzenta cerebelosa, apesar de ser um achado pouco comum nestes doentes. Esta diminuição de volume parece ser secundária à diminuição das arborizações dendríticas das células de Purkinje e à diminuição das fibras paralelas cerebelosas. Não obstante, estes achados carecem de resultados robustos, obtidos de estudos com amostras de maiores dimensões e que incluam idades cruciais do desenvolvimento cerebeloso (dos zero aos dois anos), com o

objetivo de evidenciar a existência de relação entre estes danos e os níveis de fenilalaninemia destes doentes. Para além disso, também não existem estudos que relacionem danos da substância cinzenta cerebelosa e cognição, com especial foco na aprendizagem e controlo motor [23,39].

## **2.3 Impacto da PKU na cognição**

Doentes com PKU, mesmo que precocemente tratados, apresentam danos neurológicos estruturais e funcionais, que se refletem em pontuações inferiores em escalas de inteligência, distúrbios psiquiátricos/psicossociais e défices cognitivos [31]. Entre estes défices cognitivos é de salientar a diminuição das capacidades visuo-espaciais, das capacidades de motricidade fina, da memória não verbal, da capacidade de aprendizagem, da velocidade de processamento e, mais frequentemente, das funções executivas [17,40]. Apesar de apresentarem QI's compreendidos nos intervalos da normalidade (ainda que ligeiramente diminuídos em relação a indivíduos saudáveis), os doentes com PKU precocemente tratada demonstram défices significativos das funções executivas [11,28,29,31]. A avaliação neurocognitiva dos doentes com PKU deverá ser executada, idealmente, aos 12 e aos 18 anos de idade; no entanto, estas avaliações poderão ser realizadas mais frequentemente, caso seja constatado um desadequado controlo metabólico num período superior a 6-12 meses [5].

### **2.3.1 Défice das funções executivas**

As funções executivas são processos de ordem superior dependentes de circuitos neurológicos nos quais o córtex pré-frontal desempenha um importante papel. Existem essencialmente 3 funções executivas nucleares, das quais as restantes derivam, sendo elas: a) o controlo inibitório, ou seja, a resistência à forte inclinação para fazer algo menos próprio ou socialmente pouco admissível; b) a memória de trabalho, que nada mais é do que a capacidade de armazenamento de informação e utilização desta, sempre que exigido; c) a flexibilidade cognitiva, que é a capacidade de mudar de perspetiva ou de foco de atenção, assim como de “pensar fora da caixa” para chegar a novas formas de resolução de um determinado problema [15]. Estas funções, para além da sua importância no raciocínio e resolução de problemas, têm um papel essencial no controlo da atenção, do planeamento estratégico, na formação de conceitos, na abstração, na integração de informação no tempo e espaço, assim como no processamento de informação e cognição social [12,15,40,41].

Usualmente, crianças saudáveis apresentam um adequado desenvolvimento destas capacidades ao longo do seu crescimento, algo que não se verifica em crianças com PKU, em que se constata um atraso relativo e progressivo nestas funções. De facto, ao longo do crescimento há um agravamento da *performance* destes doentes em provas que avaliam funções executivas, como o planeamento, a flexibilidade cognitiva e a atenção sustentada, comparativamente com controlos [31]. No entanto, é de realçar que as próprias funções executivas são por vezes difíceis de testar isoladamente, visto que vários testes avaliam várias funções executivas (assim como não executivas), simultaneamente [31,40], o que dificulta a distinção de quais as funções mais acometidas no contexto da PKU.

Hawks *et al.* tentaram comparar o desempenho verbal e executivo destes doentes, através da aplicação de um teste de fluência verbal. Neste teste, as crianças que compuseram a amostra tinham 1 minuto para nomear o maior número de palavras possíveis pertencentes a uma determinada categoria, fosse ela semântica ou fonética, sendo que quanto maior fosse a quantidade de palavras nomeadas, maior seria a pontuação obtida [41]. Para além de uma graduação puramente quantitativa, estas crianças também teriam a sua pontuação valorizada conforme a quantidade de *clusters* formados (por exemplo, a nomeação das palavras “gaivota” e “pardal” seria valorizada, visto que ambas representam aves na categoria semântica “animais”) e de *switches* na mesma categoria (por exemplo, a nomeação das palavras “tigre” e “alforreca” na categoria semântica “animais”). O tamanho dos *clusters* parece refletir as capacidades de memória verbal e de armazenamento de palavras (mais ligados ao lobo temporal), enquanto que a quantidade de *switches* parece refletir as capacidades de elaboração de processos estratégicos e de flexibilidade cognitiva (processos mais executivos e, conseqüentemente, mais da responsabilidade do lobo frontal) [41]. Constatou-se que as crianças que compuseram o grupo controlo desta avaliação apresentaram não só uma maior quantidade de palavras nomeadas, como também melhores capacidades executivas (maior número de *switches* semânticos), comparativamente com as crianças com PKU precocemente tratada [41]. Curiosamente, as crianças com PKU demonstraram uma maior percentagem de *clustering*, o que revela preferência por processos verbais (não executivos), em comparação às crianças saudáveis (que preferiram processos executivos), o que revela uma estratégia compensatória, por parte das crianças com PKU. Este achado tem uma relevância clínica considerável, visto que evidencia a possibilidade de compensação de alguns défices em funções executivas através da estimulação das capacidades verbais das crianças com PKU, de forma a atenuar o impacto desta patologia nas suas capacidades cognitivas [41]. Para além das provas de fluência verbal, foram testadas outras funções executivas frequentemente afetadas na PKU, tais como os processamentos executivos verbais/não-verbais e a memória de trabalho, estando ambas funções afetadas nos doentes avaliados [29,33].

Na maioria dos estudos analisados constatou-se que a gravidade dos défices executivos seria tanto superior quanto mais elevados fossem os valores de fenilalaninémia médios dos doentes estudados [12,15,31,33,40,41]. Esta relação parece estar na dependência do acometimento da neurotransmissão dopaminérgica, assim como da doença difusa da substância branca (que culmina na diminuição da interconexão entre estruturas cerebrais) [12,29,33,41]. Para além disso, alguns destes estudos verificaram piores *performances* executivas em doentes com pior controlo metabólico nos primeiros 10-12 anos de vida, comparativamente a doentes que demonstravam níveis mais baixos de fenilalaninémia. Uma vez que as funções executivas continuam a desenvolver-se até à terceira década de vida, a importância do controlo metabólico e da contínua adesão terapêutica na adolescência têm-se revelado essenciais, não sendo frequentemente constatadas, para frustração das equipas terapêuticas [15,31,40]. Esta hipótese foi corroborada por Diamond, que constatou, em 2011, que o desempenho executivo apenas se apresentava próximo da normalidade em doentes que mantivessem níveis de fenilalaninémia inferiores a 360  $\mu\text{mol/L}$  (valor concordante com o alvo recomendado pelas atuais recomendações de diagnóstico e terapêutica da PKU para doentes com idades inferiores a 12 anos) [5,15].

Huijbregts *et al.* introduziram a discussão sobre o acometimento distinto das funções executivas “frias” e das funções executivas “quentes” em doentes com PKU. As funções executivas “frias” (mais dependentes da porção inferior do lobo frontal, do estriado, das regiões parietotemporais e do cerebelo) envolvem operações executivas em contextos abstratos ou neutros, enquanto que as funções executivas “quentes” (mais dependentes do sistema paralímbico, que envolve os córtices pré-frontais, a porção superior dos lobos temporais e estruturas límbicas, como a amígdala) têm uma conotação mais emocional, afetiva e motivacional. Teoriza-se que danos em estruturas responsáveis por funções executivas “frias” estão relacionados com patologias como a PHDA, enquanto que lesões em estruturas responsáveis por funções executivas “quentes” podem estar relacionadas com distúrbios do humor (como a depressão e ansiedade) [40].

### **2.3.2 Défice das funções não-executivas**

Apesar dos défices das funções executivas serem os atrasos cognitivos mais frequentemente abordados pelos estudos realizados até à data, os défices das funções não-executivas não deverão ser menosprezados. De acordo com Nardecchia *et al.*, as funções não-executivas incluem capacidades como a velocidade de processamento, o controlo da motricidade fina e as capacidades percetivas e visuo-espaciais, todas elas afetadas no contexto da PKU [31]. A avaliação das funções não-executivas é, por vezes, difícil, visto que

muitos dos testes utilizados em contexto clínico avaliam simultaneamente funções executivas e não-executivas.

No contexto das funções não-executivas, a velocidade de processamento toma um lugar de destaque, sendo a faculdade que se encontra mais comprometida na PKU [9,11,12,28,33,40]. Teoriza-se que, devido à doença difusa da substância branca constatada em muitos casos, quanto maior for a necessidade de intercomunicação entre as estruturas cerebrais para o processamento de um dado estímulo, mais comprometida estará a velocidade de processamento [9,40]. Por outro lado, tal como noutras manifestações supramencionadas, os níveis de fenilalaninémia parecem influenciar a velocidade de processamento, constatando-se usualmente que esta é tanto menor quanto maiores forem os níveis séricos de fenilalanina [11]. Esta diminuição da velocidade de processamento em crianças e adolescentes com PKU poderá ter um impacto significativo, tanto ao nível do desempenho escolar, como também do ambiente familiar e da capacidade de socialização, em geral.

A lentificação geral dos doentes com PKU também tem sido relatada. Caprile *et al.* descreveram, através da aplicação de um teste de resposta correta entre duas opções possíveis, que o tempo requerido de resposta era superior em doentes com PKU precocemente tratada, comparativamente com indivíduos saudáveis [17]. Concluíram, por isso, que doentes com PKU tinham um tempo de reação superior na resolução de tarefas complexas (tarefas que envolvem coordenação visuo-motora e controlo de ação na tomada de decisão), assim como em tarefas que requerem atenção seletiva para executar as ações/movimentos apropriados, desempenhando o controlo metabólico um importante papel nos resultados obtidos. A afetação da neurotransmissão dopaminérgica, da via nigroestriada, assim como do córtex pré-motor parecem ser algumas das explicações possíveis para estas observações [17]. Apesar disso, verifica-se uma escassez de estudos com foco no processamento de estímulos visuais e auditivos em doentes com PKU. De Sonnevile *et al.* testaram estas capacidades através da utilização dos potenciais evocados visuais (PEV) e dos potenciais de disparidade (*auditory mismatch-negativity*) dos potenciais de eventos relacionados. Os PEV estão relacionados com a integridade da via visual, enquanto que os potenciais de disparidade têm sido associados tanto à atenção como à memória [42]. Apesar de as diferenças obtidas nos PEV e nos potenciais de disparidade entre doentes com PKU e controlos não serem significativas, este estudo revelou que crianças com PKU com altos níveis de fenilalaninémia apresentavam PEV com tempos de latência superiores, assim como amplitudes inferiores nos potenciais de disparidade [42]. Esta última alteração revela uma diminuição da capacidade de deteção da mudança de estímulos, assim como da troca de foco de atenção (atributo da responsabilidade do lobo frontal) [42].

### 2.3.3 Défice intelectual

A combinação da introdução do diagnóstico neonatal e o início precoce da dieta pobre em fenilalanina nos países desenvolvidos permitiu que doentes com PKU nestes países exibam presentemente um QI próximo da normalidade [27]. Este panorama ainda não é observado em vários países em que o programa de rastreio neonatal tenha sido introduzido recentemente ou que ainda não seja realizado, de todo. Num estudo egípcio realizado por Sadek *et al.*, 97.3% dos diagnósticos de PKU foram efetuados muito após o período neonatal, sendo a idade média de diagnóstico da amostra aproximadamente 44 meses [26]. Na avaliação cognitiva, estes doentes apresentavam uma diminuição moderada dos valores de QI geral e verbal [26]. Baseando-se ainda na idade de diagnóstico, estes autores apresentaram o resultado de um outro estudo, em que se concluiu que por cada 4 semanas de atraso do diagnóstico de PKU, constatava-se uma descida média de 4 pontos no QI [26]. Devido a esta e outras repercussões neurológicas da PKU, cuja gravidade depende da idade de início da terapêutica, as recomendações europeias de tratamento e diagnóstico sugerem o início do tratamento antes dos 10 dias de vida, algo que por vezes pode ser dificultado pela organização do serviço nacional de saúde de cada país [5].

Na realidade dos países desenvolvidos, em que a grande maioria dos doentes com PKU se inserem no grupo precoce e continuamente tratado, os valores de QI destas crianças e adolescentes tendem a estar incluídos no intervalo de normalidade. Por outro lado, existem relatos de que estas mesmas crianças e adolescentes apresentam valores de QI meio desvio-padrão mais baixos do que os seus homólogos saudáveis, assim como pontuações inferiores relativamente aos seus pais e irmãos (saudáveis) [11].

Estas pontuações consideravelmente inferiores parecem estar na dependência tanto do controlo metabólico como dos danos neurológicos estruturais supramencionados. Como já explicitado, um dos exemplos de estruturas neurológicas que podem apresentar alterações com repercussões cognitivas nestes doentes são os gânglios da base. Bodner *et al.* constataram que doentes com PKU com níveis aumentados de fenilalaninémia apresentavam não só um aumento do volume do putamen, como também possuíam pontuações relativamente inferiores de QI, estando estas três variáveis interrelacionadas [14].

O controlo metabólico parece influenciar bastante os valores de QI dos doentes com PKU, tendo esta relação sido alvo de vários estudos. Num deles observou-se que dos 0 aos 12 anos (uma fase crítica do desenvolvimento) cada aumento de 100  $\mu\text{mol/L}$  dos níveis de fenilalaninémia tem como consequência uma diminuição das pontuações de QI que pode variar entre os 1.3 e 3.1 pontos em crianças com PKU [11]. Outro estudo com crianças com PKU precocemente tratada constatou que cada subida de 300  $\mu\text{mol/L}$  dos níveis de fenilalaninémia era acompanhada por um decréscimo médio de 7 pontos de QI [26]. Estes

estudos verificaram, portanto, que o tratamento tem um maior impacto em idades precoces, no que ao desenvolvimento intelectual diz respeito [5].

Apesar de alguns estudos verificarem que o QI tende a estabilizar a partir da segunda década de vida [11], Sadek *et al.* constataram a elevação ou diminuição deste valor em alguns dos adolescentes da sua amostra e que estas variações não poderiam ser explicadas apenas pela qualidade do controlo metabólico, levantando a questão da existência de outros fatores que possam influenciar o QI [26]. De facto, a existência de fatores de variabilidade interindividual está cada vez mais a ser discutida no âmbito da PKU [26,27,31]. Esta hipótese foi reforçada na revisão sistemática realizada por Vliet *et al.*, em que se verificou que indivíduos com níveis de fenilalaninémia moderadamente elevados (600-1200  $\mu\text{mol/L}$ ) apresentavam, por vezes, um défice cognitivo superior a doentes com níveis de fenilalaninémia superiores a 1200  $\mu\text{mol/L}$  [27]. A Figura 4 contém informação que pode ajudar a compreender esta variabilidade fenotípica.

Uma avaliação da qualidade de vida em doentes com PKU constatou que doentes entre os 12 e os 15 anos referem qualidade de vida inferior relativamente aos seus homólogos saudáveis, concretamente no domínio do funcionamento cognitivo [43]. Por outro lado, um estudo previamente realizado com doentes com PKU precocemente tratada em idade escolar constatou que a incidência de problemas escolares em doentes era duas vezes superior em relação a indivíduos saudáveis (50% vs. 25%) e que, para além disso, apresentavam maiores necessidades especiais de educação, de reprovações, assim como taxas de abandono escolar [11]. Estes dados aliam-se ao fraco *insight* destes doentes para os seus próprios défices cognitivos, o que impõe dificuldades na abordagem de profissionais especializados (psicólogos, psiquiatras, pediatras, assistentes sociais e professores do ensino especial) a estas crianças e adolescentes [11].

## 2.4 PHDA

A PHDA é um distúrbio do desenvolvimento que é definido por níveis inapropriadamente baixos de atenção, hiperatividade e/ou impulsividade [7]. Tem sido evidenciado que crianças e adolescentes com PKU têm uma maior incidência de PHDA em relação à população geral, quer em casos tardiamente tratados, como em doentes tratados desde o período neonatal [7,26]. O estudo realizado por Sadek *et al.* com casos de PKU tardiamente diagnosticados expôs, através da aplicação do *Children's Attention and Adjustment Survey* (CAAS), que aproximadamente metade das crianças que compuseram a amostra tinham uma probabilidade superior à média de desenvolver PHDA [26]. Estes dados vão de encontro aos resultados obtidos por Arnold *et al.* que, para além de revelarem que

cerca de 50% dos doentes com PKU poderão vir a desenvolver défices de atenção, também demonstraram que esses mesmos défices estão relacionados com os níveis de fenilalaninémia e com os fracos desempenhos académicos característicos em muitas destas crianças e adolescentes [11].

De facto, os sintomas de PHDA podem ser atribuídos, por um lado, aos défices em funções executivas, assim como ao dano neurológico e estado hipodopaminérgico causado pelos níveis tóxicos de hiperfenilalaninémia [7,15,26]. A hipótese da existência desta correlação foi reforçada por DiDycz *et al.*, ao constatarem a presença de uma forte relação inversa entre os níveis de fenilalaninémia e as pontuações obtidas por doentes com PKU no teste atenção d2 [44]. Este fraco desempenho, que se traduz em falta de concentração e comportamento hiperativo, culmina numa elevada taxa de insucesso escolar, algo frequentemente reportado pelos professores responsáveis pelo ensino destas crianças [45].

Tal como na PKU, teoriza-se que um dos mecanismos fisiopatológicos por detrás da PHDA é o estado hipodopaminérgico que aflige estruturas cerebrais, particularmente o córtex pré-frontal e o estriado [11,15]. Considera-se a existência de 3 subtipos de PHDA: 1) subtipo predominantemente desatento (25-30% dos doentes com PHDA); 2) subtipo predominantemente hiperativo (menos de 5% dos doentes com PHDA); 3) subtipo combinado ou misto (65-70% dos doentes com PHDA) [7,15]. Apesar do dano estrutural do córtex pré-frontal ser o mecanismo fisiopatológico primário dos défices cognitivos da PHDA, lesões no estriado (nomeadamente em circuitos frontoestriatais) parecem ter um papel fulcral na fisiopatologia dos subtipos de doentes com PHDA que apresentam hiperatividade, ou seja, nos subtipos misto e predominantemente hiperativo [15]. Estas descrições são de uma elevada relevância para o tema em questão, visto que lesões do estriado também são frequentemente descritas na PKU, tal como discutido anteriormente.

Para além da PHDA, o dano estrutural do córtex pré-frontal está relacionado com perturbações do espectro do autismo (PEA), outra patologia cuja incidência é relativamente superior em crianças e adolescentes com PKU [20].

## **2.5 PEA**

A perturbação do espectro do autismo (PEA) é uma síndrome comportamental que é caracterizada por défices da interação social, alterações da comunicação verbal e não-verbal e por padrões estereotipados de interesses e/ou atividades que geralmente se manifesta antes dos 36 meses de idade [7,20]. Constata-se uma incidência superior de PEA em crianças e adolescentes com PKU, julgando-se que esta ronda os 2.7-5.7% [7]. No

entanto, a sua verdadeira incidência nestes doentes é desconhecida, provavelmente devido ao diagnóstico neonatal e à introdução atempada da dieta pobre em fenilalanina [20].

O facto das PEA poderem ser a única manifestação em doentes com PKU tardiamente diagnosticada [20,26] pode mascarar o próprio diagnóstico de PKU, visto que estes doentes não apresentam outras manifestações características desta doença metabólica. No estudo de Sadek *et al.*, envolvendo crianças egípcias diagnosticadas tardiamente, mais de metade dos doentes apresentavam particularidades próprias de PEA, sendo o valor médio da *Childhood Autism Rating Scale* (CARS) da amostra de  $30.74 \pm 7,002$  [26]. Por outro lado, num estudo com crianças precocemente tratadas realizado por Saad *et al.*, 8.8% dos doentes eram portadores de PEA, obtendo valores de CARS compreendidos entre os 33-36 (autismo ligeiro a moderado) [7]. Considera-se que esta heterogeneidade de resultados nos vários estudos realizados poderá ser explicada pelas diferentes constituições das amostras, nomeadamente das diferentes proporções de doentes tardia e precocemente tratados incluídos em cada estudo, podendo o controlo metabólico ser um importante determinante do aparecimento deste tipo de manifestações. Outro dado que parece corroborar esta hipótese é a melhoria franca da trajetória de desenvolvimento após a introdução da dieta pobre em fenilalanina no plano terapêutico de alguns doentes tardiamente diagnosticados, tal como descrito por Mazlum *et al.* [20].

Os processos fisiopatológicos subjacentes à PEA na PKU aparentam ser, tal como na PHDA, o défice em aminos biogénicas e o dano neurológico estrutural precipitado pela acumulação tóxica de fenilalanina no SNC, nomeadamente em estruturas como o lobo pré-frontal, o hipocampo, a amígdala e o córtex cerebral [7,20]. Curiosamente, tal como em doentes com PKU, regista-se que indivíduos com PEA têm incidências superiores de epilepsia. Esta patologia poderá ser desencadeada por alterações da excitabilidade neuronal, como é o caso dos distúrbios da neurotransmissão glutamatérgica já explicitados anteriormente [19]. Esta via fisiopatológica comum poderá reforçar ainda mais a hipótese da existência de interrelação entre estas entidades.

## **2.6 Epilepsia**

Crianças com PKU, especialmente as que sofrem de défices cognitivos acentuados apresentam frequentemente crises epiléticas. No estudo mencionado previamente por Sadek *et al.* constatou-se que 21.2% dos doentes em idade pediátrica tardiamente diagnosticados com PKU padeciam igualmente de epilepsia, sendo um terço destes casos refratários à terapêutica farmacológica convencional [26]. No entanto, outros estudos obtiveram taxas inferiores de incidência de epilepsia em doentes com PKU [7]. Estes

diferentes resultados podem ser explicados pelas distintas constituições das amostras de cada estudo, visto que a amostra do estudo efetuado por Sadek *et al.* era maioritariamente constituída por doentes com diagnóstico tardio de PKU e, conseqüentemente, com danos neurológicos estruturais significativos já instalados. Tal como explicitado anteriormente, os distúrbios da neurotransmissão (nomeadamente da neurotransmissão glutamatérgica), assim como o dano estrutural do SNC são as bases fisiopatológicas da epilepsia em doentes com PKU.

Alguns dos padrões eletroencefalográficos descritos nestes casos variam desde descargas epiléticas generalizadas e focais a padrões hipsarrítmicos, sendo estes últimos descritos mesmo em doentes que nunca sofreram crises [26]. Karimzadeh *et al.* descreveram também que, embora a atividade alfa registada nos doentes avaliados por eletroencefalografia (EEG) fosse normal, contactava-se frequentemente um incremento da atividade beta no traçado destes doentes [46]. Verifica-se a existência de uma relação direta entre a fenilalaninémia e as alterações eletroencefalográficas apresentadas por doentes com PKU. Por outro lado, constata-se uma relação inversa entre as alterações encefalográficas e os quocientes de desenvolvimento obtidos por estas crianças [46].

As alterações eletroencefalográficas em doentes sem manifestações paroxísticas (crises) parecem ser frequentes e com uma crescente relevância clínica, uma vez que parecem ter uma relação de causalidade com os atrasos cognitivos e com as perturbações comportamentais características da PKU. Doentes que apresentavam estas descargas subclínicas tinham geralmente um compromisso de parâmetros como o tempo de reação e a capacidade de comunicação verbal e não-verbal [26,46].

A associação entre a síndrome de West e a PKU é bem conhecida, no entanto, graças ao rastreio neonatal e à implementação atempada da dieta pobre em fenilalanina, a incidência de síndrome de West nestes doentes tem vindo a diminuir. Pensa-se que sejam os danos na substância branca encefálica, muitas vezes irreversíveis, que justificam a associação do síndrome de West à PKU, assim como a habitual refractariedade ao tratamento médico desta encefalopatia epilética, neste contexto. A idade de diagnóstico e, conseqüentemente, de iniciação do tratamento parecem ser fulcrais no desenvolvimento desta síndrome. De facto, constata-se que quando a dieta pobre em fenilalanina é iniciada entre os 4 e os 12 meses de idade, aproximadamente 11% dos doentes com PKU desenvolvem clínica compatível com a síndrome de West, não havendo descrições de casos desta situação em doentes com PKU diagnosticados previamente a este período.

A idade de diagnóstico e de início de tratamento parecem ser, assim, de extrema importância para o prognóstico destas crianças e adolescentes. Embora o diagnóstico tardio não seja algo frequentemente observado no mundo desenvolvido, a confrontação com realidades em que o diagnóstico tardio é a regra parece-se tornar-se mais comum do que o

esperado. Este paradigma é constatado em crianças refugiadas e nas suas famílias, que procuram auxílio em países europeus. Nestes casos, a observação de danos neurológicos estruturais irreversíveis, resultando na apresentação de síndromes epiléticas resistentes aos tratamentos convencionais é algo frequentemente verificado [47]. Estes dados revelam a necessidade urgente da criação de sistemas de rastreio deste subgrupo populacional, talvez o mais vulnerável neste contexto de crise humanitária.

## **2.7 Tremor**

Sinais e sintomas neurológicos como hiperreflexia miotática, diminuição da coordenação motora e tremor são frequentemente descritos em doentes com PKU precocemente tratada, podendo perdurar mesmo após a introdução do tratamento [7]. Num estudo realizado por Nardecchia *et al.* com doentes precocemente tratados, 32% apresentaram tremor postural de alta frequência, assim como tremor de ação distal, predominantemente localizados nos membros superiores e de manifestação simétrica. Estas características são semelhantes à descrição de tremor essencial, embora com instalação em idades inferiores relativamente aos doentes que são acometidos com mais frequência por este tipo de tremor. De facto, neste mesmo estudo, 47% dos doentes que apresentaram tremor com este tipo de características, tiveram instalação deste sintoma antes dos 10 anos de idade [48]. Não obstante, constata-se, de uma maneira geral, uma maior gravidade deste sintoma em doentes tardiamente tratados [5]. A gravidade do tremor apresentado por estes doentes neste estudo não se correlacionou com a fenilalaninémia, mas sim com os valores séricos de prolactina, uma hormona que (como já discutido previamente) poderá ser um marcador de défice de dopamina em doentes com PKU [48].

## **2.8 Manifestações psiquiátricas**

Doentes com PKU não tratada têm demonstrado frequentemente manifestações características de transtornos comportamentais graves, dos quais se destacam a agressividade e a psicose [5,11]. Folling caracterizou estes doentes nos seus trabalhos como ansiosos, tímidos, zangados, suscetíveis a birras, irritáveis, antissociais e até como catatónicos [11,49,50]. Felizmente, a introdução do rastreio neonatal e do tratamento neste mesmo período permitiu a atenuação desta sintomatologia, constatando-se praticamente a extinção das variantes de maior gravidade. De facto, a introdução tardia do tratamento pode

ser nefasta nestes doentes, tal como verificado por Sadek *et al.* no Egito, registando-se uma elevada incidência de PEA e/ou de PHDA nesta população [26].

No entanto, manifestações do foro psiquiátrico continuam a ser observadas em doentes com PKU precocemente diagnosticada e tratada, especialmente nos que revelam baixa adesão à terapêutica, com conseqüente fraco controlo metabólico. Cerca de metade das crianças que interrompem a dieta exibem diminuição da atenção, transtornos adaptativos, encoprese, perturbação de oposição e desafio, assim como fobias várias. Para além disso, os doentes adolescentes autodescrevem-se como menos autónomos e independentes, com menor autoestima e com baixos limiares de frustração. Todas estas manifestações enquadram-se particularmente nas áreas de competência social, autonomia, autoestima e ansiedade, traduzindo-se num grande impacto na qualidade de vida destes doentes [11,25].

Jahja *et al.* verificaram no seu estudo que, devido ao relaxamento terapêutico, os doentes adolescentes (entre os 12 e os 17 anos) que compuseram a sua amostra e que conseqüentemente atingiram níveis médios de fenilalaninémia próximos de 600  $\mu\text{mol/L}$ , apresentavam uma maior incidência de défices da cognição social, comparativamente a controlos [51]. Em contraste, no mesmo estudo, doentes com idades inferiores a 12 anos e que mantiveram os seus níveis médios inferiores a 360  $\mu\text{mol/L}$ , não apresentaram praticamente diferenças na sua funcionalidade social. Estes dados reiteram, uma vez mais, o pressuposto que níveis baixos de fenilalaninémia na infância e adolescência parecem determinar uma melhor funcionalidade social na vida adulta [51].

Para além destas manifestações, constatam-se também em doentes com PKU alterações repentinas do humor, sintomas depressivos e défices da cognição social. A cognição social envolve todos os processos mentais responsáveis pela interação social, englobando faculdades como o reconhecimento facial e das emoções, assim como da teoria da mente (a capacidade de entender os pensamentos, sentimentos e intenções de outras pessoas). Visto que a cognição social e as funções executivas partilham a mesma origem neuroanatômica para o seu funcionamento, não é surpreendente que as lesões que determinam défices das funções executivas na PKU estejam igualmente na origem de défices da cognição social. Em paralelo com outras manifestações já referidas, verifica-se a existência de uma relação inversa entre os níveis de fenilalaninémia e a trajetória cognitiva social em doentes com PKU [51]. Para além da cognição social, vários estudos sugerem que um controlo mais apertado da fenilalaninémia traduz-se numa melhor gestão dos sintomas de ansiedade, particularmente em adolescentes com PKU [25].

Apesar dos mecanismos fisiopatológicos ainda não serem totalmente compreendidos, teoriza-se que estas manifestações do foro psiquiátrico poderão ser causadas por dano da substância branca cerebral (desencadeado por distúrbios da mielinização), por distúrbios da neurotransmissão (envolvendo neurotransmissores como a

dopamina e a serotonina), assim como pela diminuição da síntese proteica cerebral secundária à diminuição do transporte de aminoácidos a nível da barreira hematoencefálica, como anteriormente apresentado [11,13,25,26,51].

Embora os dados supramencionados sejam bastante informativos, existe uma premente necessidade de estudos que abordem a funcionalidade social dos doentes com PKU e que tenham em conta outros fatores, tais como: a dinâmica/funcionalidade familiar, a educação destes doentes (com avaliação do protecionismo parental) e a capacidade de *coping* destas crianças, não só em relação à própria doença, mas também em relação a outros acontecimentos potencialmente indutores de stress (como o divórcio dos pais ou a morte de um familiar) [51].

Em termos formais, os distúrbios adaptativos devem ser discutidos em consulta anual, devendo ser rastreados em todos os doentes aos 12 e 18 anos de idade (juntamente com a avaliação do desempenho cognitivo). Se tais distúrbios forem detetados, dever-se-á referenciar o doente para uma consulta de saúde mental [5]. No entanto, a grande maioria dos profissionais especializados em saúde mental tem pouca ou nenhuma experiência no tratamento destes doentes [11,25], o que revela lacunas na gestão multidisciplinar destas crianças e adolescentes. Dada a alta frequência relativa desta patologia no âmbito das doenças metabólicas, a eminente correção deste défice enzimático deve ser almejada, com vista à otimização terapêutica destes doentes.

### **3. Impacto do tratamento nas manifestações de PKU**

De acordo com as recomendações europeias de diagnóstico e tratamento da PKU, todos os doentes com níveis de fenilalaninémia superiores a 360  $\mu\text{mol/L}$  deverão ser tratados, com o objetivo de atenuar a toxicidade associada a essas concentrações elevadas. Crianças diagnosticadas com fenilalaninémia inferior a 360  $\mu\text{mol/L}$  apresentam pontuações em testes de avaliação neuropsicológica semelhantes a indivíduos saudáveis. No entanto, deverão ser vigiados pelo menos ao longo do primeiro ano de vida. Doentes com níveis compreendidos entre 360 e 600  $\mu\text{mol/L}$  poderão ser tratados apenas nos primeiros 12 anos de vida, sendo este um período fulcral no desenvolvimento apropriado das funções cognitivas. No entanto, os dados acerca das vantagens da continuação ou interrupção do tratamento nesta faixa etária ainda são inconsistentes [5].

A adaptação terapêutica individual destas crianças e adolescentes depende dos valores alvo de fenilalaninémia. De acordo com a evidência científica atual, crianças com idades inferiores a 12 anos não deverão ter níveis que superem os 360  $\mu\text{mol/L}$ . Por outro lado,

a partir desta idade, é possível um aumento destes valores-alvo, permitindo-se valores séricos até um máximo de 600  $\mu\text{mol/L}$  [5,52].

A firme adesão às estratégias terapêuticas escolhidas individualmente, assim como a vigilância frequente da fenilalaninemia destes doentes permitem, naturalmente, o alcance destas metas. No primeiro ano de vida, estas colheitas deverão ser preferencialmente realizadas a cada semana, passando a ser a cada 2 semanas a partir do segundo ano. Com a passagem do período crítico do desenvolvimento (primeiros 12 anos de vida), a periodicidade destes doseamentos vai diminuindo, passando a ser realizado numa base mensal. No entanto, outros fatores deverão ser continuamente considerados na abordagem terapêutica destes doentes, tais como eventos potencialmente indutores de stress (como a mudança de escola) ou a própria constatação da diminuição da adesão ao plano terapêutico, os quais devem culminar no aumento da frequência destes doseamentos [5]. Neste capítulo abordaremos os principais tratamentos utilizados na prática clínica atual em crianças e adolescentes com PKU, assim como dos seus efeitos em algumas das manifestações expostas no capítulo anterior.

### **3.1 Tratamento dietético**

A base terapêutica da PKU, desde a identificação desta patologia, é o tratamento dietético. Este deve ser introduzido o mais precocemente possível, logo após o diagnóstico neonatal, preferencialmente nos primeiros 10 dias de vida, de maneira a evitar potenciais repercussões neurológicas de maior gravidade. Este tratamento consiste em 3 modalidades: 1) restrição dietética de fontes naturais de proteínas; 2) administração de suplementos de L-aminoácidos (sem fenilalanina); 3) ingestão de alimentos com baixo teor proteico [5,52]. Apesar de ter havido um período em que este regime dietético era apenas recomendado até ao início da adolescência, investigadores constataram que doentes que interrompiam este tratamento apresentavam diminuição do rendimento escolar, assim como desenvolviam mais frequentemente distúrbios comportamentais. Devido a este facto, a dieta contínua (“*diet for life*”) é hoje recomendada na maioria dos doentes [11].

#### **3.1.1 Restrição dietética de fontes proteicas naturais**

A fenilalanina é um L-aminoácido aromático fundamental na síntese proteica. Este facto faz com que o tratamento instituído deva, por um lado, não comprometer o exercício das funções de crescimento e de reparação tecidual desempenhadas por este aminoácido, ao mesmo tempo que previne as consequências neurológicas resultantes da sua acumulação

[5]. De facto, a ingestão de quantidades diárias recomendadas de fenilalanina, de outras proteínas, assim como de calorias é de extrema importância na prevenção da falência dos tecidos [52]. Este consumo proteico total deverá ser adaptado conforme a tolerância individual de fenilalanina, expressa pela quantidade de fenilalanina por quilograma de peso do doente (ou por miligramas de consumo por dia), que permite manter os níveis de fenilalaninemia dentro do alvo terapêutico [5]. A importância da tolerância diária individual ao consumo de fenilalanina faz com que este seja o método de classificação fenotípica preferido pelas recomendações americanas de gestão terapêutica de doentes com PKU [52]. O resumo desta classificação encontra-se na Tabela 2.

O controlo metabólico através da restrição dietética implica a redução da ingestão de vários alimentos, uma vez que a fenilalanina representa, em média, 4-6% de cada alimento composto por proteínas. Neste tipo de dieta restritiva, alimentos como carnes, peixes, laticínios, ovos, nozes, pães de confeção normal, massas e bebidas que contenham aspartame deverão ter o seu consumo drasticamente reduzido ou até serem totalmente excluídos da dieta destes doentes [11,52].

<b>Fenótipo</b>	<b>Valores de tolerância diários (mg/dia)</b>
PKU clássica	< 250-350 mg/dia
PKU intermédia	350-400 mg/dia
PKU ligeira	400-600 mg/dia
Hiperfenilalaninemia Ligeira	Não aplicável

Tabela 2 – Classificação fenotípica da PKU baseada na tolerância diária ao consumo de fenilalanina.

Os doentes devem preferir, então, o consumo de alimentos com baixo teor proteico. Dentro destes exemplos encontram-se as frutas e vegetais, que contêm menos de 75 mg de fenilalanina por 100g de peso seco [5,52]. A exceção a esta regra são as batatas, visto que têm quantidades de fenilalanina variáveis, devendo a possibilidade da sua inclusão “livre” na dieta ser melhor averiguada [5]. Dado que o diagnóstico é estabelecido preferencialmente no período neonatal e que a iniciação da dieta específica para esta patologia deverá ocorrer no mesmo período, a questão da amamentação colocou sempre algumas dúvidas acerca dos seus prováveis malefícios no controlo metabólico e desenvolvimento destes recém-nascidos. No entanto, constatou-se que a amamentação não só contribui para o crescimento adequado destas crianças, como também está associada a níveis de fenilalaninemia apropriados, sendo a sua prática aconselhada (auxiliada pela suplementação concomitante com fórmulas de L-aminoácidos sem fenilalanina) [5].

Ainda no período neonatal, a alimentação de recém-nascidos prematuros com PKU é ainda problemática, não existindo orientações formais na gestão terapêutica destes doentes, que frequentemente requerem alimentação por via parentérica. A inexistência de suplementos proteicos adaptados a recém-nascidos prematuros com esta patologia resulta na aparente impossibilidade de coexistência de estimulação anabólica e de controlo dos níveis de fenilalaninémia. No entanto, Ballhausen *et al.* constataram que a alimentação parentérica destes recém-nascidos com preparações ricas em aminoácidos de cadeia ramificada (utilizadas frequentemente em doentes com insuficiência hepática) parecem permitir a obtenção de níveis de fenilalaninémia próximos dos intervalos recomendados (mas sem os atingir) e simultaneamente garantir o aporte proteico necessário para uma progressão ponderal adequada. Embora exista a possibilidade de ocorrência de danos neurológicos decorrentes de fenilalaninémias elevadas neste período, estes parecem ser evitados graças à alta plasticidade cerebral característica do período neonatal. Não obstante, esta aparente inexistência de danos neurológicos *major* também poderá ser explicada pela suplementação por via parentérica de tirosina e de outros aminoácidos neutros de cadeia longa, assim como de ácidos gordos polinsaturados de cadeia longa (que parecem estar envolvidos no adequado desenvolvimento neurológico e cognitivo destes recém-nascidos) [5,53].

Os benefícios de uma adequada adesão terapêutica são evidentes, tal como demonstrado por alguns estudos realizados. O controlo metabólico nos primeiros anos de vida tem uma grande influência na prevenção do aparecimento de lesões da substância branca observadas por RM em doentes mais velhos, assim como se constata regularmente o efeito reversivo que a dieta tem sob algumas destas lesões pré-existentes. Funcionalmente, doentes que apresentam níveis de fenilalaninémia compreendidos nos intervalos terapêuticos recomendados demonstram franca melhoria em áreas como o humor, cognição e rendimento escolar [54], entre outros aspetos. Apesar disso, os possíveis efeitos deletérios decorrentes do mau controlo metabólico por parte de doentes com PKU não deverão ser igualmente menosprezados. De facto, um controlo metabólico insuficiente em idade pediátrica poderá estar na origem do aparecimento ou agravamento de manifestações como: défices de atenção, diminuição da velocidade de processamento, menor controlo da motricidade fina, perturbações do comportamento, cefaleias, défices cognitivos (expressos frequentemente por défices das funções executivas) e baixa *performance* escolar [32,54,55].

Curiosamente, pensa-se que a elevação dos níveis de fenilalaninémia para lá dos níveis recomendados não é a única explicação para o aparecimento ou agravamento de manifestações pré-existentes. Cleary *et al.* constataram que estas flutuações podem ser influenciadas não só pela diminuição da adesão à dieta com o crescimento, mas também por outras situações agudas (como vómitos, diarreia e infeção), pelo próprio crescimento e pela menor adesão a outros métodos terapêuticos (como os suplementos proteicos e o tratamento

com sapropterina). Várias publicações demonstraram a existência de uma correlação entre a flutuação dos níveis de fenilalaninémia e o *outcome* intelectual e cognitivo (especificamente nas funções executivas) destes doentes. No entanto, o facto dos resultados obtidos por outros autores contradizerem estes achados, assim como a impossibilidade de discernir entre os efeitos da hiperfenilalaninémia e das próprias flutuações destes valores (muitas vezes coexistentes) revelam uma evidente necessidade de mais estudos prospetivos com foco nestes aspetos [55].

Ao longo da infância, visto que os doentes não têm “poder de decisão” das suas opções alimentares, o controlo metabólico obtido através da adesão à terapia dietética tende a ser favorável. Com o crescimento, esta adesão vai diminuindo e a resistência à ingestão de alimentos impróprios para a patologia torna-se cada vez menor, especialmente em contextos específicos, como no meio escolar. Este facto traduz-se na diminuição da adesão à dieta constatada frequentemente na adolescência, período este em que se observa que aproximadamente 75% dos doentes têm níveis de fenilalaninémia superiores aos valores alvo [11,32]. Apesar dos adolescentes que permanecem com uma adequada adesão terapêutica apresentarem um menor número de lesões cerebrais, é de referir que mesmo estes doentes possuem algum grau de doença difusa da substância branca, o que revela a possibilidade da existência de outros mecanismos fisiopatológicos desconhecidos ou ainda da insuficiência da utilização isolada do regime dietético no tratamento de doentes com PKU [32].

Embora seja um tópico com resultados ainda considerados controversos, parecem existir fatores que influenciam a adesão terapêutica em doentes com PKU, em idade pediátrica. Estes fatores aparentam ter naturezas diferentes, sejam elas cognitivas, emocionais, psicológicas e até mesmo culturais [11]. Walkowiak *et al.* não encontraram qualquer grau de influência do nível de literacia parental ou do nível socioeconómico do agregado familiar no controlo metabólico [56]. Por outro lado, a qualidade da prestação dos serviços de saúde (muitas vezes marcadamente insuficientes, tanto a nível da frequência dos doseamentos séricos como das consultas, em relação ao recomendado) parece ser indispensável na adequada adesão terapêutica destes doentes [56]. De maneria a ultrapassar a barreira da baixa adesão terapêutica, recomenda-se que os níveis de fenilalaninémia, assim como as frequentes repercussões clínicas da PKU, sejam regularmente monitorizados. A instrução dos doentes e cuidadores para a importância e benefícios do adequado controlo metabólico, assim como o aumento da acessibilidade a suplementos proteicos e a alimentos de baixo teor proteico adequados ao tratamento da PKU são cruciais no prognóstico destes doentes [11,56].

### 3.1.2 Suplementação com L-aminoácidos

A suplementação com fórmulas ricas em L-aminoácidos é uma das principais opções terapêuticas em doentes com PKU, utilizada conjuntamente com a restrição em alimentos ricos em fenilalanina. Na maioria dos doentes, é provável que a suplementação com L-aminoácidos forneça cerca de 52-80% do aporte proteico diário total [5]. Estes aminoácidos têm um papel essencial no crescimento adequado destas crianças e adolescentes. Para além do mais, a suplementação com L-aminoácidos (nos quais se incluem aminoácidos neutros de cadeia longa) contribui também para a diminuição dos níveis de fenilalaninémia através de três mecanismos: 1) aumento do anabolismo por aumento de disponibilidade de L-aminoácidos; 2) diminuição do transporte de fenilalanina a nível do epitélio intestinal; 3) aumento de aminoácidos neutros de cadeia longa circulantes, o que potencia a anulação do efeito inibidor competitivo da fenilalanina nos transportadores LAT1, a nível da barreira hematoencefálica [5,10,11,52,57]. Por outro lado, a junção destes fatores com o aumento da síntese de neurotransmissores (como a dopamina e a serotonina, neurotransmissores habitualmente carenciados em doentes com PKU) parece estar associada a melhores funções cognitivas e neuropsicológicas [52,57].

Apesar de não estar estabelecida uma dose de suplementação diária definitiva recomendada, está preconizada em muitos centros europeus a administração de 2-3 g/Kg/dia ao longo do primeiro ano de vida, seguidos por 1.5-2 g/Kg/dia até aos 10 anos e 1 g/kg/dia daí em diante. A suplementação total calculada deverá ser distribuída equitativamente por 3 tomas ao longo do dia [5]. No entanto, a diminuição da adesão a este tratamento também se verifica em crianças e adolescentes com PKU, à medida que a idade aumenta. Esta diminuição aparenta ser justificada, tanto pelo sabor desagradável destes suplementos, como pelos efeitos gastrointestinais indesejáveis (como dor abdominal, diarreia e vômitos) provocados pela hiperosmolaridade destes produtos [5,52].

Foi descoberta recentemente uma fonte proteica inovadora no tratamento de doentes com PKU, o glicomacropéptido (GMP). O GMP é um peptídeo composto por 64 aminoácidos fosforilados provenientes do processo de fabrico do queijo. Apesar da sua forma pura não conter fenilalanina, a extração e processamento do GMP resulta na inclusão de vestígios deste aminoácido na sua composição, o que representa uma grande desvantagem na sua utilização terapêutica. Por outro lado, a sua riqueza em certos aminoácidos neutros de cadeia longa, a sua boa tolerabilidade gastrointestinal, paladar agradável e melhor valor nutritivo fazem com que o GMP represente uma mais-valia no tratamento destes doentes [5,52]. No entanto, a carência em outros aminoácidos essenciais como a histidina, o triptofano e a tirosina (que no contexto da PKU pode ser considerado um aminoácido essencial), fazem com que a utilização deste peptídeo não exclua completamente a necessidade de suplementação com fórmulas de L-aminoácidos [5,10]. Até ao momento da publicação das

recomendações europeias de diagnóstico e tratamento da PKU (2017), o facto de não terem sido demonstrados resultados a longo prazo do estado nutricional e da segurança da suplementação com GMP em crianças com idades inferiores a 11 anos, fez com que a sua administração não seja, no presente momento, recomendada [5].

Independentemente do suplemento proteico utilizado, é de notar que a restrição de alimentos ricos em proteínas (e outros nutrientes) fazem com que doentes com PKU estejam constantemente em risco de desenvolvimento de défices nutricionais. Exemplos destes desequilíbrios são os défices em fatores envolvidos na defesa antioxidante, como o selénio, o zinco e a carnitina. Por outro lado, os défices de ferro e vitamina B12 podem estar na origem do desenvolvimento de anemias nestes doentes [32].

### **3.1.3 Alimentos com baixo teor proteico**

Com o objetivo de melhorar a adesão terapêutica de doentes com PKU, foram desenvolvidos alimentos com baixo teor proteico que, por um lado, conseguem criar uma maior sensação de saciedade e que, por outro, fornecem uma maior variedade alimentar a estes doentes [5]. Para além destes benefícios, estes alimentos providenciam uma boa quantidade do aporte energético total requerido no quotidiano destas crianças e adolescentes, contribuindo com cerca de 50% das necessidades calóricas totais de doentes com formas clássicas de PKU. Paralelamente, doentes com fenótipos mais ligeiros e, por isso, com uma tolerância proteica superior, são menos dependentes destes alimentos. As gamas comercializadas incluem alimentos como cereais, pães, misturas para a elaboração de bolos, chocolates, bolachas, farinhas, gelados, substitutos do leite, massas, arroz e comidas salgadas [52].

## **3.2 Suplementação com tirosina**

O défice de tirosina decorrente da ausente ou reduzida atividade da PAH é uma das bases fisiopatológicas da PKU. Há muito que a suplementação alimentar com tirosina tem sido estudada como uma alternativa terapêutica. Posner *et al.* constataram que doentes com PHDA secundária a PKU apresentaram uma melhoria franca da sintomatologia após suplementação alimentar com tirosina [12]. Este aminoácido é adicionado a todos os suplementos de L-aminoácidos administrados na PKU, constituindo cerca de 9-11% da sua composição (uma quantidade muito superior ao que é usualmente encontrado na alimentação) [5]. No entanto, o papel da suplementação alimentar com tirosina ainda permanece discutível, constatando-se que esta não corrige suficientemente os distúrbios

bioquímicos e neuropsicológicos característicos desta patologia [12,52,57]. Por este motivo, concluiu-se que a suplementação adicional de tirosina (acima da quantidade já providenciada nos suplementos proteicos) não se provou benéfica no tratamento destas crianças e adolescentes, não estando, assim, recomendada [5].

### **3.3 Suplementação com ácidos gordos polinsaturados de cadeia longa (LC-PUFA)**

Os ácidos gordos polinsaturados de cadeia longa (LC-PUFA) são um grupo de lípidos, dos quais se destacam o ácido docosahexanóico (DHA) e o ácido araquidónico (AA) [58]. Apesar da síntese endógena de DHA ser possível, a partir do ácido alfa-linoleico (ALA) [59], este processo revela-se insuficiente, sendo exógena a fonte principal de DHA, nomeadamente produtos de origem animal (como a carne e peixe) [58]. Os LC-PUFA são componentes essenciais das membranas neuronais, com importantes funções biológicas, sejam elas enzimáticas, de transporte (via canais iónicos) ou de transdução de sinais, particularmente no SNC e na retina [22,58-60]. O DHA é o LC-PUFA primário do cérebro, constituindo cerca de 10-13.5% dos lípidos totais no córtex cerebral [59].

Tem-se constatado que doentes com PKU precocemente tratada apresentam com frequência níveis séricos e membranares de LC-PUFAs inferiores, em relação a indivíduos saudáveis [5,22,59]. Esta carência nutricional, devido às funções desempenhadas pelos LC-PUFA, aparenta estar relacionada com alguns défices neurológicos e cognitivos *minor* observados em doentes com PKU [58,59]. A dieta hipoproteica praticada em doentes com PKU, assim como a inibição (por parte dos metabolitos tóxicos provenientes da acumulação de fenilalanina) das enzimas responsáveis pela síntese de DHA e de AA aparentam estar na origem deste défice em LC-PUFA [5,58,60].

Vários investigadores tentaram explorar os benefícios da suplementação com LC-PUFA nas manifestações neurocognitivas de doentes com PKU. Surpreendentemente, constatou-se um benefício associado à suplementação com DHA na velocidade de processamento de informação entre a retina e o córtex visual (representada pela diminuição das latências da onda P100 nos PEV) [58,60]. No entanto, em termos neurocognitivos, os resultados obtidos foram inconclusivos quanto aos benefícios desta suplementação [58-60]. Devido à importância destes ácidos gordos no adequado funcionamento neurológico e à sua carência na alimentação habitual de doentes com PKU, estes são presentemente adicionados aos suplementos de L-aminoácidos comercializados, em doses diárias que variam entre os 180 e os 500mg em crianças com idades compreendidas entre os 2-16 anos [5,22].

### 3.4 Tratamento com BH4

O papel da tetraidrobiopterina (BH4) como cofator da reação (mediada pela PAH) de conversão de fenilalanina em tirosina é bem conhecido. Para além desta reação, a BH4 também é cofator das enzimas tirosina hidroxilase (TH), triptofano hidroxilase (TPH) e óxido nítrico sintetase (NOS), estando, por isso, envolvida em múltiplos passos da síntese de neurotransmissores e até mesmo na proteção antioxidante [13,36,52].

A introdução do tratamento com BH4 teve como objetivo o aumento da atividade da PAH, potenciando os efeitos da dieta no controlo da fenilalaninémia. O dicloridrato de sapropterina é um sal sintético proveniente do 6R-diaistereoisómero da BH4 encontrado na natureza [5,52]. Este fármaco está habitualmente disponível em comprimidos de 100 mg e pós (de 100 e 500 mg) para soluções orais [61], representando uma revolução no tratamento farmacológico da PKU. É considerado um tratamento seguro, com boa tolerabilidade e poucos efeitos secundários [5], tendo a sua utilização em crianças com idades inferiores a 4 anos sido aprovada recentemente [52,62].

Apesar da aparente eficácia deste tratamento no controlo metabólico de doentes com PKU, nem todos são elegíveis para o receber. De facto, estima-se que apenas 20-60% dos doentes respondam a este fármaco, correspondendo frequentemente a fenótipos de doença mais ligeiros [36,52,63], ou seja, com atividades residuais de PAH. No entanto, uma pequena percentagem de indivíduos com formas clássicas de PKU poderá apresentar benefícios com este tratamento [5]. Apesar da função residual da PAH ser uma condição útil na predição da resposta terapêutica, é cada vez mais evidente a existência de outros fatores (moleculares) potencialmente envolvidos nesta resposta [63]. Devido a este facto, crianças e adolescentes com PKU (se ainda não o tiverem realizado) são submetidos a um conjunto de provas com o objetivo de demonstrar qual o grau de resposta de cada indivíduo ao tratamento. Existem atualmente 3 provas que podem auxiliar na decisão terapêutica da administração de dicloridrato de sapropterina: a genotipagem, o teste de sobrecarga com sapropterina e o ensaio terapêutico com sapropterina, sendo este último cada vez mais assumido como o teste com maior assertividade na identificação de uma potencial resposta terapêutica, devido à sua longa duração [62].

Embora a genotipagem seja considerada um teste útil como primeira abordagem à potencial resposta a este tratamento, a sua utilização isolada não consegue determinar se o doente alcançará os objetivos desejados. Caso o indivíduo seja portador de duas variantes genéticas do gene da PAH consideradas responsivas ao tratamento com BH4, o doente poderá iniciar de imediato um ensaio terapêutico com dicloridrato de sapropterina. Caso seja portador de duas variantes nulas (sem atividade residual de PAH), o doente é automaticamente classificado como não-responsivo ao tratamento com BH4, não se

realizando qualquer tipo de teste adicional. Por fim, se o doente for portador de uma variante do gene da PAH classificada como responsiva ao tratamento com BH4, juntamente com uma variante nula, o doente deverá ser encaminhado para a realização de um teste de sobrecarga com BH4 [5,61,62]. Este consiste na administração de BH4 numa dose de 20 mg/Kg de peso do doente, com monitorização simultânea da fenilalaninémia. Pode ter durações diferentes, podendo mesmo chegar às 48 horas de prova. No entanto, devido às repercussões neurológicas decorrentes da iniciação tardia da dieta pobre em fenilalanina em recém-nascidos, recomenda-se que a duração máxima deste teste não exceda as 24 horas. Classifica-se como positivo, caso ocorra uma diminuição da fenilalaninémia igual ou superior a 30% [5,61].

Apesar de um resultado positivo do teste de sobrecarga com BH4 ser um preditor de resposta ao tratamento com dicloridrato de sapropterina, a resposta efetiva a este tratamento apenas é comprovada após um ensaio terapêutico com este fármaco, devido a potenciais fatores confundidores dos testes supramencionados (como a regulação pós-transcricional da PAH ou a ausência de enzimas envolvidas na oxidação e aporte celular de sapropterina) [61]. Este ensaio poderá ter uma duração de semanas a meses com uma dose inicial de dicloridrato de sapropterina compreendida entre 10-20 mg/Kg de peso do doente, sendo possível a adaptação destas mesmas doses ao longo do ensaio [5,52,61]. Neste período, a ingestão de proteínas de proveniência alimentar deverá ser superior ao usualmente recomendado, enquanto que a quantidade da suplementação com L-aminoácidos deverá ser inferior. Estas condições devem ser implementadas de maneira a evitar a influência destes tratamentos nos resultados obtidos neste ensaio, assim como para averiguar a evolução da tolerância à ingestão de alimentos ricos em fenilalanina ao longo do ensaio [5,52].

As mais recentes recomendações europeias de diagnóstico e tratamento de PKU (2017) indicam que a resposta ao tratamento com BH4 deverá ser estabelecida a título individual, definindo-se como o aumento igual ou superior a 100% da tolerância da ingestão de fontes naturais de fenilalanina, acompanhadas por valores de fenilalaninémia consistentemente compreendidos nos intervalos alvo. Por outro lado, esta resposta também pode ser definida por um aumento superior a 75% do controlo metabólico da fenilalaninémia, sem qualquer diminuição do aporte proteico ao longo do tratamento com BH4. Caso os valores de fenilalaninémia se mantenham consistentemente elevados, mesmo com aumentos sucessivos da dose de sapropterina, este tratamento deverá ser imediatamente descontinuado. Esta situação deverá ser também considerada caso o doente sofra de obesidade ou de outros défices nutricionais [5].

O tratamento com dicloridrato de sapropterina demonstrou ser eficaz na diminuição da fenilalaninémia, com aumento da tolerância a alimentos ricos em fenilalanina, mesmo a longo prazo [5,36,61,62,64]. Em doentes com bom controlo metabólico, o tratamento

com BH4 culmina na possibilidade de inclusão de maiores quantidades de alimentos ricos em proteínas na dieta, garantindo-se simultaneamente um adequado equilíbrio nutricional [61]. Embora o mecanismo de ação da BH4 não seja totalmente compreendido, pensa-se que a diminuição da fenilalaninemia através da sua administração seja causada pela alteração da conformação de certas variantes mutadas da PAH, resultando no aumento da metabolização da fenilalanina [65]. A nível estritamente neurológico, considera-se que certos mecanismos possam eventualmente estar envolvidos nos efeitos observados após tratamento com sapropterina, nomeadamente: 1) aumento da síntese de neurotransmissores monoaminérgicos, nomeadamente dopamina e triptofano, por aumento da função das enzimas TH e TPH, das quais a BH4 é cofator; 2) aumento da libertação de neurotransmissores monoaminérgicos, por estimulação da síntese de óxido nítrico (NO) (secundária ao aumento da função da NOS, enzima responsável pela conversão de arginina em NO e citrulina); 3) aumento dos mecanismos de defesa antioxidantes, através do emparelhamento da BH4 com a NOS, impedindo a formação do radical superóxido; 4) aumento da produção energética cerebral, por vasodilatação causada pelo aumento da síntese de NO e de dopamina; 5) aumento da mielinização, diminuindo a possibilidade de aparecimento de possíveis lesões difusas da substância branca. No entanto, estes potenciais impactos ainda não foram completamente provados, sendo necessária mais investigação, a este nível [66].

O aumento da síntese de neurotransmissores monoaminérgicos, dos quais se destaca a dopamina, tem sido frequentemente estudado no âmbito do tratamento com BH4. Vliet *et al.* investigaram indiretamente este efeito através de determinações da prolactinemia (cuja síntese é inibida pela dopamina) em doentes com PKU submetidos a tratamento com BH4. Os resultados obtidos demonstraram que os níveis de prolactinemia são significativamente inferiores em doentes sob tratamento com BH4 comparativamente com doentes com PKU não submetidos a este tratamento. Para além disso, foi evidenciada a possível presença de uma resposta dose-dependente ao tratamento com BH4, uma vez que a prolactinemia se demonstrou tendencialmente inferior com doses crescentes de BH4 [13]. Apesar de se ter conhecimento que a BH4 tem o potencial de ser transportada para o SNC via barreira hematoencefálica, a quantidade exata transportada, assim como as doses ideais de administração de sapropterina, de maneira a garantir a otimização terapêutica, são desconhecidas [13,66].

Os efeitos do tratamento com dicloridrato de sapropterina nas manifestações neurológicas da PKU têm sido frequentemente investigados. A nível das lesões neurológicas estruturais, White *et al.* constataram que doentes com PKU, após 6 meses de tratamento com BH4, demonstravam atenuação de lesões estruturais em regiões como o centro semioval, o córtex parieto-occipital posterior e o corpo caloso, tendo-se observado nesta última estrutura

uma normalização dos valores de DM em DTI-RM (demonstrando uma melhoria da difusão de moléculas de água ao longo dos axónios desta região) [36]. Por outro lado, Christ *et al.* demonstram a melhoria de lesões estruturais em áreas relacionadas com a memória de trabalho (como o córtex cingulado anterior), assim como de estruturas relacionadas com a DMN, nomeadamente o lobo parietal inferior esquerdo e o córtex temporal lateral direito. Neste mesmo estudo, verificou-se igualmente que doentes mais jovens demonstraram melhorias mais rápidas da memória de trabalho em relação a doentes mais velhos, provavelmente devido à maior neuroplasticidade que caracteriza crianças e adolescentes [65].

Tal como explicitado anteriormente, os défices em funções executivas são uma manifestação muito frequente em doentes com PKU. O tratamento com BH4 tem-se demonstrado eficaz na melhoria das *performances* executivas destes doentes [61]. Apesar de, em alguns estudos, não se ter comprovado esta potencial melhoria [36], o facto é que para quase todos eles a duração se revelou demasiado curta, para inferir a ausência deste efeito. No geral, verifica-se uma melhoria dos *outcomes* neuropsicológicos e neurocognitivos de doentes sob a associação de tratamento dietético com sapropterina, particularmente em sintomas de PHDA [61,64] e de PEA, nomeadamente na diminuição de maneirismos, de hiperatividade e discurso socialmente inapropriado, culminando no aumento dos níveis de consciência social [66]. No entanto, a interpretação destes resultados poderá ser, de certo modo, enviesada pela hipotética existência de um efeito placebo [64].

A nível do impacto do tratamento com dicloridrato de sapropterina na qualidade de vida de doentes em idade pediátrica, num estudo realizado por Huijbregts *et al.* não foram encontradas diferenças entre a qualidade de vida de crianças com idades inferiores a 12 anos sob tratamento com BH4, em comparação com as que realizavam apenas o tratamento dietético clássico [43]. Esta observação pode ser devida à boa adesão à terapêutica dietética constatada nestas faixas etárias, conferindo igualmente a estes doentes um adequado controlo metabólico. Por outro lado, em doentes com 16 ou mais anos de idade, a melhoria da qualidade de vida no grupo sob tratamento com BH4 foi evidente, particularmente no aumento da funcionalidade social e na melhor regulação do humor por parte destes adolescentes. Estes achados reforçam, portanto, os potenciais efeitos benéficos a longo prazo do tratamento com BH4 na qualidade de vida de crianças e adolescentes com PKU [43].

Apesar destes resultados nos vários estudos analisados, os benefícios do tratamento com dicloridrato de sapropterina (especialmente a relação custo-eficácia deste tratamento) ainda são alvo de investigação, uma vez que a indicação para a iniciação deste tratamento não exclui a necessidade da realização concomitante da terapêutica dietética convencional [5]. Para além disto, os benefícios da inclusão de doentes com fenótipos mais graves neste esquema terapêutico carecem de suporte robusto [13].

### 3.5 Perspetivas futuras

Um tratamento que tem vindo a somar referências como possível hipótese terapêutica, no futuro, em doentes com PKU é a terapia enzimática com fenilalanina amónia liase (PAL). A PAL é uma enzima procariótica responsável pela conversão de fenilalanina em amónia e ácido cinâmico, sendo os seus produtos de metabolização excretados posteriormente na urina. Os ensaios efetuados testaram os efeitos da administração oral e/ou endovenosa de PAL em doentes com PKU. Na administração por via oral, verificou-se uma diminuição das quantidades de fenilalanina no trato gastrointestinal, enquanto que a administração endovenosa teve como consequência a diminuição a curto prazo dos níveis de fenilalaninémia dos indivíduos testados. O aparecimento de reações imunomediadas (assim como de outros efeitos indesejáveis) revelou ser um fator desfavorável à praticabilidade desta terapia. No entanto, a produção recombinante desta enzima, conjugada posteriormente com polietilenoglicol (PAL-PEG) permitiu a diminuição dessa imunogenicidade, mantendo-se a diminuição dos níveis de fenilalaninémia dos sujeitos tratados [5,52]. Apesar de tudo, visto que os estudos realizados até à data são maioritariamente conduzidos em modelos animais ou, menos frequentemente, resultam do recrutamento de doentes adultos, o potencial impacto deste fármaco em crianças e adolescentes não é facilmente extrapolável.

Por fim, outras terapias, como a terapia genética ou o repovoamento hepático têm mostrado ser tratamentos promissores para a PKU. Todavia, os resultados obtidos até ao momento resultam fundamentalmente de ensaios realizados em modelos animais [5].

## CONCLUSÃO

A PKU é uma doença metabólica hereditária cujas manifestações neurológicas têm um impacto considerável na qualidade de vida dos doentes por ela afetados. Apesar da introdução do rastreio neonatal com o teste de Guthrie (e, conseqüentemente, do início atempado do tratamento dietético) ter revolucionado o panorama geral das crianças e adolescentes com esta patologia, a presença de défices neurológicos nesta população não foi totalmente erradicada. A acumulação de fenilalanina e dos seus metabolitos, com concomitantes alterações moleculares, resulta em sérias implicações neurológicas, caso o tratamento não seja instituído o mais rapidamente possível. Danos neurológicos estruturais evidenciados por DTI-RM ou outros métodos de imagem, acompanhados por défices cognitivos (como baixos QIs ou défice de funções executivas) e até mesmo perturbações do comportamento são frequentemente observados nestas faixas etárias.

O apropriado controlo da fenilalaninémia através de uma adesão adequada ao esquema terapêutico proposto (quer seja o tratamento dietético convencional isolado, ou associado à administração de BH4) é essencial na atenuação dos potenciais efeitos nocivos da hiperfenilalaninémia. No entanto, a presença de défices neurológicos em doentes que demonstram um bom controlo metabólico expõe a possibilidade de existência de outros mecanismos de dano desconhecidos até ao momento e que carecem de investigação.

A insuficiente adesão à terapêutica convencional (especialmente por parte de doentes adolescentes), associada à relativa ineficácia dos existentes esquemas terapêuticos na prevenção das manifestações da PKU, revelam o quão essencial é o desenvolvimento de novos métodos terapêuticos, na melhoria da qualidade de vida de crianças e adolescentes com esta doença. Apesar dos marcos importantes atingidos ao longo do século passado por investigadores como Guthrie terem ainda um impacto positivo nas capacidades funcionais destes doentes, e sendo a Medicina uma área do saber em constante mutação, as expectativas de desenvolvimento de novas formas de tratamento para esta patologia e para as suas complicações são legítimas e ansiadas.

## **AGRADECIMENTOS**

Em primeiro lugar, agradeço ao Dr. Filipe Palavra pela constante disponibilidade e orientação, sem as quais este trabalho nunca teria sido completado. Para além do mais, agradeço-lhe por ser um modelo de profissional que tenho esperança de poder um dia ser, como futuro médico.

Agradeço também à Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Luísa Diogo pela inspiração para o tema deste trabalho, que tanto me apaixonou explorar.

Agradeço aos meus pais, Ana Pinto e Carlos Campos de Lemos por todo o apoio, coragem e valores que me transmitiram ao longo da minha vida e que contribuíram sem dúvida para a conclusão desta fase da minha vida académica.

Agradeço à minha irmã, Fábria Mota, por ter sido, ao longo de toda a minha vida, um modelo que tentei sempre seguir.

Agradeço à minha avó, Madalena Soares, por todo o amparo e carinho que me dá e pela constante preocupação que tem comigo.

Agradeço ao meu tio, Basílio Pinto, por todo o apoio que me deu ao longo destes anos e confiança que deposita em mim.

Agradeço à família Patrão por todo o carinho que me deram e por ter sempre um lugar em casa deles.

Agradeço aos meus amigos do 49 da Antero de Quental por me terem acolhido ao longo destes anos. Um agradecimento especial à Ana Seabra por toda a ajuda que me providenciou na realização deste trabalho.

Agradeço aos meus amigos de Coimbra e dos Salesianos do Porto por todos os momentos felizes e de descontração que me proporcionam.

Agradeço à Dr<sup>a</sup>. Maria Conceição Viterbo por me ter ajudado a descobrir uma faceta mais resiliente de mim mesmo.

Por fim, e mais importante, agradeço ao meu avô, Francisco Pinto, por todo o amor incondicional que me deu ao longo da sua vida e cuja maior mágoa nos meses que antecederam a sua partida foi não poder presenciar este momento. A ele dedico-lhe este trabalho.

## BIBLIOGRAFIA

1. Mitchell JJ, Trakadis YJ, Scriver CR. Phenylalanine hydroxylase deficiency. *Genet Med.* 2011;13(8):697-707.
2. Hillert A, Anikster Y, Belanger-Quintana A, Burlina A, Burton BK, Carducci C, et al. The Genetic Landscape and Epidemiology of Phenylketonuria. *Am J Hum Genet.* 2020;107(2):234-50.
3. Blau N, Van Spronsen FJ, Levy HL. Phenylketonuria. *Lancet.* 2010;376(9750):1417–27.
4. Guthrie R, Susi A. A Simple Phenylalanine Method for Detecting Phenylketonuria in Large Populations of Newborn Infants. *Pediatrics.* 1963;32(September):338-43.
5. Van Wegberg AMJ, MacDonald A, Ahring K, Bélanger-Quintana A, Blau N, Bosch AM, et al. The complete European guidelines on phenylketonuria: Diagnosis and treatment. Vol. 12, *Orphanet Journal of Rare Diseases.* 2017. p. 1-56.
6. Liang L, Ye J, Han L, Qiu W, Zhang H, Yu Y, et al. Examining the blood amino acid status in pretherapeutic patients with hyperphenylalaninemia. *J Clin Lab Anal.* 2020;34(3):1-10.
7. Saad K, Elserogy Y, Abdel rahman AA, Al-Atram AA, Mohamad IL, EIMelegy TTH, et al. ADHD, autism and neuroradiological complications among phenylketonuric children in Upper Egypt. *Acta Neurol Belg.* 2015;115(4):657-63.
8. De Groot MJ, Hoeksma M, Reijngoud DJ, De Valk HW, Paans AMJ, Sauer PJJ, et al. Phenylketonuria: Reduced tyrosine brain influx relates to reduced cerebral protein synthesis. *Orphanet J Rare Dis.* 2013;8(1):1-9.
9. González MJ, Polo MR, Ripollés P, Gassió R, Ormazabal A, Sierra C, et al. White matter microstructural damage in early treated phenylketonuric patients. *Orphanet J Rare Dis.* 2018;13(1):1-12.
10. Macdonald A, Singh RH, Rocha JC, Van Spronsen FJ. Optimising amino acid absorption: essential to improve nitrogen balance and metabolic control in phenylketonuria. *Nutr Res Rev.* 2019;32(1):70-8.
11. Bone A, Kuehl AK, Angelino AF. A neuropsychiatric perspective of phenylketonuria I: Overview of phenylketonuria and its neuropsychiatric sequelae. *Psychosomatics.* 2012;53(6):517-23.
12. Sharman R, Sullivan KA, Young RM, McGill JJ. Tyrosine monitoring in children with early and continuously treated phenylketonuria: Results of an international practice survey. *J Inherit Metab Dis.* 2010;33(SUPPL. 3):417-20.
13. van Vliet D, Anjema K, Jahja R, de Groot MJ, Liemburg GB, Heiner-Fokkema MR, et al. BH4 treatment in BH4-responsive PKU patients: Preliminary data on blood prolactin

- concentrations suggest increased cerebral dopamine concentrations. *Mol Genet Metab.* 2015;114(1):29-33.
14. Bodner KE, Aldridge K, Moffitt AJ, Peck D, White DA, Christ SE. A volumetric study of basal ganglia structures in individuals with early-treated phenylketonuria. *Mol Genet Metab.* 2012;107(3):302-7.
  15. Diamond A. Biological and social influences on cognitive control processes dependent on prefrontal cortex. *Prog Brain Res.* 2011;189:319-29.
  16. Gropman AL. Patterns of Brain Injury in Inborn Errors of Metabolism Andrea. *Semin Pediatr Neurol.* 2012;19(4):203-10.
  17. Caprile C, Campistol J, Puigcerver L, Gutiérrez-Mata AP, Alonso-Colmenero I, Colomé R, et al. Subtle visuomotor deficits and reduced benefit from practice in early treated phenylketonuria. *J Clin Exp Neuropsychol.* 2017;39(10):931-40.
  18. Kölker S. Metabolism of amino acid neurotransmitters: the synaptic disorder underlying inherited metabolic diseases. *J Inherit Metab Dis.* 2018;41(6):1055-63.
  19. Frye RE, Casanova MF, Fatemi SH, Folsom TD, Reutiman TJ, Brown GL, et al. Neuropathological mechanisms of seizures in autism spectrum disorder. *Front Neurosci.* 2016;10:1-9.
  20. Mazlum B, Anlar B, Kalkanoğlu-Sivri HS, Karlı-Oğuz K, Özusta Ş, Ünal F. A late-diagnosed phenylketonuria case presenting with autism spectrum disorder in early childhood. *Turk J Pediatr.* 2016;58(3):318-22.
  21. Kumru B, Kaplan DS, Oztürk Hismi B, Celik H. Effect of Blood Phenylalanine Levels on Oxidative Stress in Classical Phenylketonuric Patients. *Cell Mol Neurobiol.* 2018;38(5):1033-8.
  22. Montoya Parra GA, Singh RH, Cetinyurek-Yavuz A, Kuhn M, MacDonald A. Status of nutrients important in brain function in phenylketonuria: A systematic review and meta-analysis. *Orphanet J Rare Dis.* 2018;13(1):1-16.
  23. Medici C, Varacchi C, Gonzalez G, Lemes A, Cerisola A, Pedemonte V, et al. Unusual case of phenylketonuria with atypical brain magnetic resonance imaging findings. *J Child Neurol.* 2013;28(11):1496-9.
  24. Khemir S, El Asmi M, Sanhaji H, Feki M, Jemaa R, Tebib N, et al. Phenylketonuria is still a major cause of mental retardation in Tunisia despite the possibility of treatment. *Clin Neurol Neurosurg.* 2011;113(9):727-30.
  25. Erlich KJ. Case Report: Neuropsychiatric Symptoms in PKU Disease. *J Pediatr Heal Care.* 2019;33(6):718-21.
  26. Sadek AA, Hassan MH, Mohammed NA. Clinical and neuropsychological outcomes for children with phenylketonuria in upper Egypt; A single-center study over 5 years. *Neuropsychiatr Dis Treat.* 2018;14:2551-61.

27. Van Vliet D, Van Wegberg AMJ, Ahring K, Bik-Multanowski M, Blau N, Bulut FD, et al. Can untreated PKU patients escape from intellectual disability? A systematic review. *Orphanet J Rare Dis.* 2018;13(1):1-6.
28. Wesonga E, Shimony JS, Rutlin J, Grange DK, White DA. Relationship between age and white matter integrity in children with phenylketonuria. *Mol Genet Metab Rep.* 2016;7:45-9.
29. Hawks Z, Hood AM, Lerman-Sinkoff DB, Shimony JS, Rutlin J, Lagoni D, et al. White and gray matter brain development in children and young adults with phenylketonuria. *NeuroImage Clin.* 2019;23:101916.
30. Karimzadeh P, Ahmadabadi F, Jafari N, Shariatmadari F, Nemati H, Ahadi A, et al. Study on MRI changes in phenylketonuria in patients referred to Mofid Hospital / Iran. *Iran J Child Neurol.* 2014;8(2):53-6.
31. Nardecchia F, Manti F, Chiarotti F, Carducci C, Carducci C, Leuzzi V. Neurocognitive and neuroimaging outcome of early treated young adult PKU patients: A longitudinal study. *Mol Genet Metab.* 2015;115(2-3):84-90.
32. Beckhauser MT, Peruchi MM, De Luca GR, Lin K, Esteves S, Vilarinho L, et al. Neuroradiological findings of an adolescent with early treated phenylketonuria: is phenylalanine restriction enough? *Clin Pract.* 2011;1(2):25.
33. Hood AM, Rutlin J, Shimony JS, Grange DK, White DA. Brain White Matter Integrity Mediates the Relationship Between Phenylalanine Control and Executive Abilities in Children with Phenylketonuria. *JIMD Rep.* 2017;33:41-7.
34. Peng H, Peck D, White DA, Christ SE. Tract-based evaluation of white matter damage in individuals with early-treated phenylketonuria. *J Inherit Metab Dis.* 2014;37(2):237-43.
35. Hood AM, Antenor-Dorsey JA, Rutlin J, Hershey T, Shimony JS, Mckinstry R, et al. Prolonged Exposure to High and Variable Phenylalanine Levels over the Lifetime Predicts Brain White Matter Integrity in Children with Phenylketonuria Anna. *Mol Genet Metab.* 2015;114(1):19-24.
36. White DA, Antenor-Dorsey JA, Grange DK, Hershey T, Rutlin J, Shimony JS, et al. White Matter Integrity and Executive Abilities Following Treatment with Tetrahydrobiopterin (BH<sub>4</sub>) in Individuals with Phenylketonuria. *Mol Genet Metab.* 2013;110(3):1-7.
37. Christ SE, Moffitt AJ, Peck D, White DA, Hilgard J. Decreased functional brain connectivity in individuals with early-treated phenylketonuria: Evidence from resting state fMRI. *J Inherit Metab Dis.* 2012;35(5):807-16.
38. Christ SE, Price MH, Bodner KE, Saville C, Moffitt AJ, Peck D. Morphometric analysis of gray matter integrity in individuals with early-treated phenylketonuria. *Mol Genet*

- Metab. 2016;118(1):3-8.
39. Aldridge K, Cole KK, Moffitt Gunn AJ, Peck D, White DA, Christ SE. The effects of early-treated phenylketonuria on volumetric measures of the cerebellum. *Mol Genet Metab Reports*. 2020;25:100647.
  40. Huijbregts SCJ, Gassió R, Campistol J. Executive functioning in context: Relevance for treatment and monitoring of phenylketonuria. *Mol Genet Metab*. 2013;110(SUPPL.):S25–30.
  41. Hawks ZW, Strube MJ, Johnson NX, Grange DK, White DA. Developmental Trajectories of Executive and Verbal Processes in Children with Phenylketonuria. *Dev Neuropsychol*. 2018;43(3):207-18.
  42. De Sonnevile LMJ, Huijbregts SCJ, Licht R, Sergeant JA, Van Spronsen FJ. Pre-attentive processing in children with early and continuously-treated PKU. Effects of concurrent Phe level and lifetime dietary control. *J Inherit Metab Dis*. 2011;34(4):953-62.
  43. Huijbregts SCJ, Bosch AM, Simons QA, Jahja R, Brouwers MCGJ, De Sonnevile LMJ, et al. The impact of metabolic control and tetrahydrobiopterin treatment on health related quality of life of patients with early-treated phenylketonuria: A PKU-COBESO study. *Mol Genet Metab*. 2018;125(1-2):96-103.
  44. Didycz B, Nitecka M, Bik-Multanowski M. The Use of d2 and Benton Tests for Assessment of Attention Deficits and Visual Memory in Teenagers with Phenylketonuria. *JIMD Rep*. 2018;40:23-9.
  45. Yıldız Y, Dursun A, Tokatlı A, Coşkun T, Sivri HS. Late-diagnosed phenylketonuria in an eight-year-old boy with dyslexia and attention-deficit hyperactivity disorder. *Turk J Pediatr*. 2016;58(1):94-6.
  46. Karimzadeh P, Alaaee MR, Zarafshan H. The Association between EEG Abnormality and Behavioral Disorder: Developmental Delay in Phenylketonuria. *ISRN Pediatr*. 2012;2012:1-4.
  47. Schiergens KA, Staudigl M, Borggraefe I, Maier EM. Neurological Sequelae due to Inborn Metabolic Diseases in Pediatric Refugees: Challenges in Treating the Untreated. *Neuropediatrics*. 2018;49(6):363-8.
  48. Nardecchia F, Manti F, De Leo S, Carducci C, Leuzzi V. Clinical characterization of tremor in patients with phenylketonuria. *Mol Genet Metab*. 2019;128(1-2):53-6.
  49. Narbona J. Fenomenología depresiva al inicio de enfermedades neuropediátricas. *Rev Neurol*. 2014;58(SUPPL. 1):17-20.
  50. Liu X, Guo H, Dahal M, Shi B. Unusual presentation of two Chinese phenylketonuria sisters who were misdiagnosed for years. *BMJ Case Rep*. 2013;2013:bcr2013010270.

51. Jahja R, van Spronsen FJ, de Sonnevile LMJ, van der Meere JJ, Bosch AM, Hollak CEM, et al. Social-cognitive functioning and social skills in patients with early treated phenylketonuria: a PKU-COBESO study. *J Inherit Metab Dis*. 2016;39(3):355-62.
52. Manta-Vogli PD, Dotsikas Y, Loukas YL, Schulpis KH. The phenylketonuria patient: A recent dietetic therapeutic approach. *Nutr Neurosci*. 2020;23(8):628-39.
53. Ballhausen D, Egli D, Bickle-Graz M, Bianchi N, Bonafé L. Born at 27 weeks of gestation with classical PKU: Challenges of dietetic management in a very preterm infant. *Pediatr Rep*. 2011;3(4):103-7.
54. Das A, Goedecke K, Meyer U, Kanzelmeyer N, Koch S, Illsinger S, et al. Dietary Habits and Metabolic Control in Adolescents and Young Adults with Phenylketonuria: Self-Imposed Protein Restriction May Be Harmful. *JIMD Rep*. 2014;13:149-58.
55. Cleary M, Trefz F, Muntau AC, Feillet F, van Spronsen FJ, Burlina A, et al. Fluctuations in phenylalanine concentrations in phenylketonuria: A review of possible relationships with outcomes. *Mol Genet Metab*. 2013;110(4):418-23.
56. Walkowiak D, Bukowska-Posadzy A, Kałuzny Ł, Ołtarzewski M, Staszewski R, Musielak M, et al. Therapy compliance in children with phenylketonuria younger than 5 years: A cohort study. *Adv Clin Exp Med*. 2019;28(10):1385-91.
57. Van Spronsen FJ, De Groot MJ, Hoeksma M, Reijngoud DJ, Van Rijn M. Large neutral amino acids in the treatment of PKU: From theory to practice. *J Inherit Metab Dis*. 2010;33(6):671-6.
58. Couce M, de Castro M, de Lamas C, Leis R. Effects of LC-PUFA Supplementation in Patients with Phenylketonuria : A Systematic Review of Controlled Trials. *Nutrients*. 2019;11(7):1537.
59. Yi SHL, Kable JA, Evatt ML, Singh RH. A cross-sectional study of docosahexaenoic acid status and cognitive outcomes in females of reproductive age with phenylketonuria. *J Inherit Metab Dis*. 2011;34(2):455-63.
60. Gutiérrez Mata AP, Vilaseca Buscà MA, Capdevila Cirera A, Vidal Santacana M, Alonso Colmenero I, Colomé Roura R, et al. Evolución neurológica, neuropsicológica y oftalmológica tras un año de suplementación con ácido docosahexaenoico en pacientes fenilcetonúricos. *Rev Neurol*. 2012;55(04):200.
61. Muntau AC, Adams DJ, Bélanger-Quintana A, Bushueva T V., Cerone R, Chien YH, et al. International best practice for the evaluation of responsiveness to sapropterin dihydrochloride in patients with phenylketonuria. *Mol Genet Metab*. 2019;127(1):1-11.
62. Ünal Ö, Gökmen-Özel H, Coşkun T, Özgül RK, Yücel D, Hişmi B, et al. Sapropterin dihydrochloride treatment in Turkish hyperphenylalaninemic patients under age four. *Turk J Pediatr*. 2015;57(3):213-8.
63. Elsas LJ, Greto J, Wierenga A. The effect of blood phenylalanine concentration on

- Kuvan™ response in phenylketonuria. *Mol Genet Metab.* 2011;102(4):407-12.
64. Ottawa (ON): Canadian Agency for Drugs and Technologies in Health. Clinical Review Report: Sapropterin dihydrochloride (Kuvan). 2017.
  65. Christ SE, Moffitt AJ, Peck D, White DA. The effects of tetrahydrobiopterin (BH4) treatment on brain function in individuals with phenylketonuria. *NeuroImage Clin.* 2013;3:539-47.
  66. Evers RAF, van Vliet D, van Spronsen FJ. Tetrahydrobiopterin treatment in phenylketonuria: A repurposing approach. *J Inherit Metab Dis.* 2020;43(2):189-99.