



UMBERTO I
POLICLINICO DI ROMA

Policlinico "Umberto I"

Centro di Riferimento Regionale per la Diagnosi e Terapia delle

Malattie Rare disturbi del metabolismo e del trasporto degli aminoacidi

Medico responsabile: Dott. Vincenzo Leuzzi - tel. 06/ 44712282 - vincenzo.leuzzi@uniroma1.it

Via dei Sabelli, 108 - Roma (Istituto Neuropsichiatria Infantile, piano 1)



Ospedale Pediatrico Bambino Gesù

Centro di Riferimento Regionale per la Diagnosi e Terapia

delle Malattie Rare disturbi del metabolismo e del trasporto degli aminoacidi

Medico responsabile: Dott. Andrea Bartuli - tel. 06/ 68592227 - andrea.bartuli@opbg.net

Piazza S. Onofrio, 4 - Roma (Padiglione S.Giovanni Paolo II, piano -1)

IPERFENILALANINEMIE

(elaborato nel mese di agosto 2013)

1. Inquadramento della malattia	2
1.1 Definizione.....	2
1.2 Classificazione.....	2
1.3 Epidemiologia.....	2
2. Diagnosi	3
3. Terapia	4
4. Implementazione del PDTA	4
4.1 Percorso in sede di screening neonatale	4
4.2 Percorso clinico	4
4.3 Percorsi terapeutico-assistenziali.....	6
Bibliografia	8

1. Inquadramento della malattia

1.1 Definizione

La fenilalanina (Phe) è un aminoacido aromatico essenziale che viene convertito dall'enzima epatico fenilalanina idrossilasi (PAH) in tirosina (Tyr), aminoacido non essenziale e precursore indispensabile per la sintesi di ormoni tiroidei, melanina ed importanti neurotrasmettitori cerebrali (le amine biogene dopamina, serotonina, noradrenalina). L'enzima PAH richiede la presenza del cofattore tetraidrobiopterina (BH4), indispensabile anche per altre due importanti idrossilasi, la tirosina idrossilasi e la triptofano idrossilasi, enzimi limitanti rispettivamente la sintesi della dopamina e della serotonina.

Il deficit primitivo o secondario (al deficit di sintesi del cofattore) della PAH causa accumulo di Phe nei liquidi biologici e nei tessuti, in particolare nel sistema nervoso centrale ove, oltre un certo livello, esercita effetto patogeno, soprattutto nella più precoce fase di sviluppo postnatale. Il gene che codifica per l'enzima PAH è sito sul braccio lungo del cromosoma 12 (locus 12q24.1); ad oggi sono note oltre 650 diverse mutazioni su tale gene (soprattutto microdelezioni e mutazioni puntiformi).

Le iperfenilalaninemie da deficit della PAH sono condizioni eterogenee sia a livello di fenotipo biochimico che clinico in relazione alla variabile combinazione allelica delle numerose mutazioni genetiche che interessano il gene che codifica per l'enzima. Esiste in linea di massima una correlazione tra fenotipo, livelli plasmatici di Phe, tolleranza dietetica alla Phe e attività enzimatica residua, espressione quest'ultima del genotipo.

La Legge quadro n°104 art. 6 del 5 Febbraio 1992 ha sancito l'obbligatorietà per tutte le Regioni Italiane di eseguire i test di screening neonatale per fenilchetonuria.

1.2 Classificazione

Deficit di fenilalanina idrossilasi - PAH (98% dei casi nei paesi occidentali) (OMIM#261600)

L'iperfenilalaninemia è la più diffusa malattia metabolica congenita del metabolismo proteico ed in passato una delle cause più frequenti di disabilità intellettiva di origine genetica).

La malattia, autosomica recessiva, è causata dal deficit dell'enzima epatico PAH, cui segue l'accumulo nei liquidi biologici e nei tessuti dell'aminoacido essenziale fenilalanina.

La malattia è rilevabile biochimicamente alla nascita quando, a causa del deficit enzimatico, il fegato del neonato non è in grado di catabolizzare la Phe assunta con il cibo (circa il 5% delle proteine). In seguito, dopo una variabile latenza di settimane o più spesso mesi la malattia diventa clinicamente manifesta. Il fenotipo clinico classico, quello della fenilchetonuria (PKU), è caratterizzato (quasi costantemente) da ritardo psicomotorio e disabilità intellettiva permanente. Un trattamento precoce con limitazione dietetica dell'apporto di Phe, è in grado di prevenirne l'emergenza e la PKU è stata la prima forma di disabilità intellettiva trattabile preventivamente con una terapia etiologica, cioè basata sul riconoscimento della cascata di eventi metabolici secondari al deficit ed in grado di modificarne le conseguenze.

Deficit del metabolismo della tetraidrobiopterina - BH4 (circa 2% dei casi nei paesi occidentali).

Questi derivano da alterazioni dei geni codificanti gli enzimi coinvolti nella sintesi o nella rigenerazione della BH4, cofattore dell'enzima PAH. Sono malattie più gravi e complesse del deficit di PAH. Si dividono in forme associate o meno ad iperfenilalaninemia:

- Forme con iperfenilalaninemia.
 - o deficit di GTP-cicloidrolasi I (GTPCH), autosomica recessiva (OMIM #233910);
 - o deficit di 6-Piruvil-tetraidropterina sintasi (PTPS) (OMIM #261640);
 - o deficit di Diidropteridina reductasi (DHPR) (OMIM #261630);
 - o deficit di Pterin-4a-carbinolamina deidratasi (PCD) ; "Primapterinuria" (OMIM #264070);
- Forme senza iperfenilalaninemia.
 - o distonia Dopa-responsiva (DRD) dovuta a deficit al deficit autosomico dominante di GTPCH (OMIM #600225);
 - o deficit di Sepiapterina reductasi (SR) (OMIM #182125).

1.3 Epidemiologia

L'introduzione dello screening neonatale ha permesso di diagnosticare precocemente tutte le forme di iperfenilalaninemia, consentendo di valutare con maggior accuratezza l'incidenza complessiva di questa patologia, attualmente pari a circa 1:4.000 nati vivi (maggiore nelle isole) [dati SISN-Società Italiana Screening Neonatali - periodo

2004-2008], e dei portatori sani (eterozigoti), che nella popolazione generale è stimata essere pari a circa 1:50. Questa incidenza include anche le forme clinicamente asintomatiche che non richiedono un trattamento.

I cinque deficit enzimatici del metabolismo del BH4 quali GTPCH, PTPS, SR, DHPR, PCD (quest'ultimo benigno ed associato ad iperfenilalaninemia transitoria) sono trasmessi con modalità autosomica recessiva, con un'incidenza complessiva di 1:1.000.000 (eccetto nella popolazione di Taiwan, dove è maggiore che nei giapponesi e nei caucasici).

2. Diagnosi

Se il protocollo diagnostico allo screening neonatale viene applicato correttamente (includendo ovviamente lo studio delle pterine urinarie ed il dosaggio del DHPR su spot di sangue secco) le forme di deficit del metabolismo del BH4 associate ad iperfenilalaninemia possono essere precocemente diagnosticate e trattate.

Nel caso di soggetti che non abbiano seguito il protocollo completo in fase di screening, o di bambini provenienti da aree geografiche ove questo non sia stato ancora implementato, sintomi di allarme suggestivi sono:

- dati anamnestici di prematurità e scarso peso alla nascita
- suzione ipovalida alla nascita
- ritardo delle acquisizioni psicomotorie/disabilità intellettiva
- epilessia
- discinesie o sindromi rigido/ o ipotonico/ipocinetiche
- note dismorfiche
- alterazioni della sostanza bianca alla risonanza magnetica (MRI) encefalo

Fenilchetonuria materna

Valori di Phe plasmatica superiori a 4 mg/dl (240 microM) hanno effetto teratogeno e si possono associare ai seguenti sintomi:

- poliabortività (24%)
- ritardo di crescita intrauterino (IUGR) (30%)
- ritardo mentale (88%)
- microcefalia (75%)
- malformazioni cardiache (tetralogia di Fallot), dell'apparato digerente (atresia dell'esofago), oculari, maxillofacciali (labio-palatoschisi, micrognazia).

Dal punto di vista fisiopatologico, l'azione teratogena della fenilalanina si esplicherebbe con meccanismi patogenetici sovrapponibili a quelli alla base del danno mentale nei soggetti affetti da PKU severa non trattati: la placenta infatti non protegge il feto dall'iperfenilalaninemia materna.

Tutte le pazienti affette da HPA persistente, di qualsiasi entità devono essere informate in modo esaustivo e ripetuto circa i rischi di una gravidanza con valori materni di Phe elevati.

Tendenzialmente le pazienti con HPA in trattamento dietetico non dovrebbero mai sospendere la dieta.

Le donne affette da iperfenilalaninemia che programmano una gravidanza devono pertanto entrare in un programma specifico di prevenzione e follow-up clinico che prevede:

- valutazione dietetica ogni mese per i 6 mesi antecedenti al concepimento e fino alla 24 settimana di gestazione, poi dopo 2 mesi fino al parto;
- valutazione dei valori di Phe plasmatici su spot di sangue essiccato (a giorni alterni sino al raggiungimento dei valori di Phe consigliati e poi settimanalmente)
- target terapeutici (qualità del controllo biochimico): Phe plasmatica < 240 microM da circa sei mesi prima del concepimento al parto

In caso di gravidanza non programmata, è importante che la paziente raggiunga un buon controllo metabolico il più rapidamente possibile.

3. Terapia

Piano riabilitativo

Per alcuni tipi di iperfenilalaninemia da deficit di PAH con ritardo psicomotorio associato (esempio: diagnosticate tardivamente) ed alcune forme di iperfenilalaninemia da deficit di BH4 con sintomatologia neurologica evidente, si potrebbero rendere necessari alcuni presidi e/o ausili così come una psicomotricità/fisioterapia riabilitativa (è previsto anche il piano terapeutico riabilitativo per malattia rara analogo al piano terapeutico per i farmaci), a seconda delle specifiche necessità del paziente. Il centro clinico formulerà un piano terapeutico che verrà periodicamente aggiornato.

4. Implementazione del PDTA

4.1 Percorso in sede di screening neonatale (Dipartimento di Medicina Sperimentale, Policlinico Umberto I°)

Categorizzazione dell'esito dell'esame di screening:

- RICHIAMI A BASSO RISCHIO:
 - campioni con valori di Phe ematica 121-242 microM ed età del neonato a termine > 72 ore.
- RICHIAMI AD ALTO RISCHIO:
 - Campioni con valori tra 121 e 242 M ed età del neonato a termine < 72 ore
 - campioni con valori >242 M

La conferma di un valore al disopra di 121 M consente la definizione del paziente come "sospetta iperfenilalaninemia". Si procede quindi all'invio immediato per posta prioritaria alla famiglia ed alla nursery di un modulo informativo differenziato in funzione dell'esito dell'esame. Nel caso di richiami ad alto rischio, il nominativo del paziente ed i risultati sono immediatamente comunicati per fax all'equipe clinica.

- Se il valore ottenuto al richiamo è <121M si procede all'invio per posta ordinaria di un modulo di chiusura del caso.
- Se il valore ottenuto conferma la diagnosi si invia il modulo di conferma. Sed il paziente viene definitivamente preso in carico dal centro clinico.

4.2 Percorso clinico

Centri di riferimento regionale per la PKU: Istituto di Neuropsichiatria Infantile – Dipartimento di Pediatria Generale e Specialistica e Neuropsichiatria Infantile - Policlinico Umberto I; Ospedale Bambino Gesù, Servizio Malattie Metaboliche.

Presso il Centro Clinico per le Iperfenilalaninemie verranno eseguiti in prima istanza i seguenti esami ed accertamenti:

- apertura cartella clinica
- visita neurologica e valutazione di sviluppo
- prelievo ematico per dosaggio aminoacidi
- dosaggio delle pterine urinarie e attività enzimatica della DHPR su spot di sangue essiccato
- analisi genetica per ricerca delle mutazioni (prelievo del paziente e dei genitori)

In base alle indagini di laboratorio, il cui esito dovrà essere disponibile entro i primi 15 gg di vita del bambino, il paziente verrà classificato in una delle diverse entità nosografiche con iperfenilalaninemia. In particolare sul piano biochimico verrà classificato come affetto da Iperfenilalaninemia Transitoria, Iperfenilalaninemia Persistente (Phe 120-600 microM), Mild Fenilchetonuria (PKU) (Phe 600-1200 microM), PKU classica (Phe > 1200 microM).

In alternativa ci si orienterà verso un deficit del metabolismo del BH4.

Pazienti con deficit di PAH

I pazienti con Phe persistente \geq 360 microM (6 mg/dl) verranno immediatamente sottoposti ad un trattamento dietetico individualizzato in base alla valutazione della loro tolleranza minima e massima alla Phe.

Procedura:

verrà sottratta la Phe dalla dieta del bambino con monitoraggio quotidiano dei valori di Phe e Tyr (su spot di sangue essiccato) sino ad ottenere azzeramento dei valori di Phe plasmatici, quindi verrà progressivamente reintrodotta la Phe con valutazione dell'apporto compatibile con valori normali di Phe (< 120 microM) (*tolleranza minima*), quindi si

procederà ad un ulteriore incremento dell'introito di Phe sino a valutare l'apporto compatibile con il mantenimento dei valori plasmatici di Phe al di sotto del target terapeutico (360 microM) (*tolleranza massima*).

Target terapeutico (qualità del controllo biochimico) nei pazienti trattati:

Phe plasmatica < 360 microM il più a lungo possibile, ma almeno sino all'età di 10 anni; in seguito comunque Phe < di 600 microM.

followup clinico

- valutazione neurologica e di sviluppo ogni 3 mesi per il primo anno di vita, ed ogni 6 in seguito sino all'età di 5 anni; dopo i 5 anni di età, valutazione ogni anno (in condizioni di buona compliance terapeutica);
- valutazione del QI ogni anno oltre i 5 anni;
- valutazione delle funzioni adattive ogni anno oltre i 5 anni;
- valutazione dietetica in occasione di ogni controllo clinico;
- valutazione neuroradiologica (MRI) solo in presenza di alterazioni neurologiche clinicamente evidenti;
- valutazione neurofisiopatologica (EEG, VEP, SEP, MEP) solo in presenza di alterazioni neurologiche clinicamente evidenti;
- valutazione parametri ematologici (emocromo e formula, GOT, GTP, CPK, LDH, protidogramma, azotemia, glicemia, dosaggio vit. B12, dosaggio omocisteina) con frequenza annuale;
- valutazione densità ossea ogni anno a partire dai 7 anni (in funzione dell'obiettività clinica e dello stato nutrizionale);
- periodica valutazione dei valori di Phe plasmatici su spot di sangue essiccato: a giorni alterni sino alla definizione di tolleranza massima e minima; settimanalmente in seguito sino ai 3 anni; a settimane alterne in seguito (in condizioni di buona compliance terapeutica);
- > 4 aa: valutazione della responsività alla somministrazione di Sapropterina (20 mg/kg/die) secondo un protocollo che prevede nelle 24 ore precedenti il carico prelievi spot alle ore 8, 12, 16, 20 ed identici prelievi nei due giorni successivi dopo somministrazione alle ore 8,00 della Sapropterina.
 - I soggetti responsivi alla Sapropterina in modo significativo (incremento > 50% della tolleranza alla Phe) verranno trattati con questo cofattore con posologia individualizzata da 10 a 20 mg/kg/die) se di età superiore a 4 anni. La somministrazione del farmaco è sottoposta a sorveglianza AIFA.

I pazienti con valori persistentemente < a 360 microM (6 mg/dl) verranno monitorati sino allo svezzamento e quindi dimessi con diagnosi di HPA persistente. Le bambine saranno rivalutate in età adolescenziale ed oltre nell'ambito del programma per la prevenzione della fetopatia da HPA (vedi oltre).

Deficit del metabolismo del cofattore BH4

In caso di deficit del metabolismo del cofattore BH4 verranno attivati i seguenti ulteriori steps diagnostici e terapeutici:

- determinazione della concentrazione dei metaboliti delle amine biogene nel liquido cefalorachidiano;
- definizione diagnostica del disturbo metabolico in accordo con tabella 1 (questa include anche forme non caratterizzate da incremento della Phe che tuttavia entrano in diagnosi differenziale con queste);
- conferma genetica tramite analisi del gene specificamente suggerito dal pattern di alterazione delle amine biogene liquorali ed urinarie;

Terapia farmacologica specifica

Si basa su precursori delle amine biogene (posologie indicative in assenza di linee guida specifiche)

- L-DOPA/Carbidopa o L-DOPA/Benserazide da 1/0,25 a 5/1,25 mg/kg/die;
- Tript-OH da 1 a 5 mg/kg/die
- in base alla risposta clinica: inibitori delle COMT (Entacapone, Tolcapone) e/o delle MAO (Selegilina)
- in caso di deficit autosomico recessivo di GTP-CH e PTPS: Sapropterina (Kuvan, 5-10 mg/kg/die).

follow-up clinico

- valutazione neurologica e di sviluppo ogni mese per il primo anno di vita, ed ogni 3 mesi in seguito sino all'età di 5 anni; ogni 6 mesi in seguito (in relazione alle condizioni cliniche);
- valutazione del QI ogni anno oltre i 5 anni;
- valutazione delle funzioni adattive ogni anno oltre i 5 anni;
- valutazione farmacologica e dietetica (ove necessario) in occasione di ogni controllo clinico;
- valutazione neuroradiologica seriata (MRI) in presenza di alterazioni neurologiche clinicamente evidenti e comunque fra i 6 e 10 anni di vita anche nei soggetti asintomatici;
- valutazione neurofisiopatologica (EEG, VEP, SEP, MEP) in presenza di alterazioni neurologiche clinicamente evidenti;

- valutazione densità ossea ogni anno a partire dai 7 anni (in funzione dell'obiettività clinica e dello stato nutrizionale);
- periodica valutazione dei valori di Phe plasmatici su spot di sangue essiccato a giorni alterni sino alla normalizzazione dei valori, settimanale in seguito;
- periodica (in funzione dell'evoluzione cliniche) valutazione del grado di reintegrazione delle amine biogene nel liquido cefalorachidiano.

Target del trattamento: valori di Phe tra 60 e 240 microM;

Tabella 1. Diagnosi differenziale biochimica dei deficit delle amine biogene tramite analisi del liquido cefalo-rachidiano.

Defect	CSF metabolites					
	Bio	BH2	Neo	Sep	HVA	5HIAA
AD GTP-CH	↓	N	↓	N	±↓	±↓
AR GTP-CH	↓↓	N	↓↓	N	↓	↓
PTPS	↓	N	↑	N	↓	↓
SR	↑	↑	N	↑	↓	↓↓
DHPR	↓	↑↑	N	N	↓↓	↓↓
TH	N	N	N	N	↓	N
AADC	N	N	N	N	↓↓	↓↓
DAT	N	N	N	N	↑↑	N
SERT	N	N	N	N	N	↑

4.3 Percorsi terapeutico-assistenziali

Vaccinazioni e collegamenti con strutture del territorio

Nelle iperfenilalaninemia da deficit di PAH o di BH4 il calendario vaccinale è il medesimo di ogni altro cittadino, senza controindicazioni diverse rispetto alle usuali; in maniera analoga restano da intendersi le vaccinazioni "consigliate", ad esempio la vaccinazione anti-influenzale, etc. In particolare, pur non essendo prevista l'assunzione di uovo nello schema alimentare dei pazienti in trattamento dietetico, ciò non risulta una controindicazione per patologia all'esecuzione della vaccinazione antimorbillo/parotite/rosolia.

Le *vaccinazioni* possono essere effettuate anche in strutture diverse dal Presidio di rete.

Diagnosi prenatale

Il centro clinico deve informare le coppie interessate circa la possibilità della diagnosi prenatale ed indirizzarle presso il genetista del centro per il counselling genetico.

Aspetti assistenziali

Il paziente riceve dal Presidio di rete il certificato di esenzione per malattia rara, l'eventuale piano terapeutico e l'eventuale prescrizione dietetica, che devono essere consegnati alla ASL di appartenenza del soggetto. In tal modo verranno forniti al paziente la tessera di esenzione per malattia rara, i farmaci, i prodotti dietetici, i presidi/ausili prescritti dal medico responsabile.

Codice di esenzione da utilizzare nel processo diagnostico: R99

In caso vi fosse un sospetto diagnostico di iperfenilalaninemia primitiva, sulla base dei criteri esposti nel presente documento, le indagini diagnostiche potranno essere effettuate utilizzando il codice di esenzione R99 che corrisponde al codice di sospetta malattia rara.

Esenzione dopo l'accertamento della diagnosi: RCG040 da utilizzare per il certificato di malattia rara e per il piano terapeutico annuale. Tale codice serve al malato per avere gratuitamente esami utili nel follow-up clinico, biochimico, strumentale, e per i farmaci relativi alla patologia di base elencati nel piano terapeutico di ogni paziente.

Fornitura gratuita prodotti dietetici

La fornitura di prodotti dietetici deve essere gratuita in base alla prescrizione dietetica annuale.

Legge 104/1992

Sulla base dell'impegno assistenziale richiesto alla famiglia potrà altresì essere richiesta la possibilità di usufruire dei diritti previsti dalla Legge 104 per il paziente o per suoi i genitori (se paziente minorenni).

Invalidità ed indennità integrativa

Sulla base della gravità della patologia, comprendenti i casi di diagnosi tardiva, potrà altresì essere valutata la possibilità di attribuzione di invalidità del paziente e di eventuale indennità integrativa per i genitori le cui cure parentali sono indispensabili per garantire al figlio una buona prognosi ed evitare il più possibile una futura invalidità per le complicanze di una malattia trascurata.

Ausili

I cartoncini di Guthrie (o "Guthrie card") per il test di monitoraggio domiciliare della fenilalanina ematica vengono forniti, tramite il centro clinico di riferimento che ha in cura il paziente, direttamente dal Laboratorio di riferimento regionale per lo screening neonatale.

Bibliografia

1. Blau N, Bélanger-Quintana A, Demirkol M, Feillet F, Giovannini M, MacDonald A, et al. contributing. European PKU centers. Management of phenylketonuria in Europe: Survey results from 19 countries. *Mol Genet Metab* 2009 Sep 13. [Epub ahead of print]
2. Scriver, CR. The PAH gene, phenylketonuria, and a paradigm shift. *Hum Mutat* 2007; 28(9): 831-845.
3. Thöny B, Auerbach G, Blau N. Tetrahydrobiopterin biosynthesis, regeneration, and functions. *Biochem J* 2000; 347: 1-26.
4. Kure S, Hou DC, Ohura T, Iwamoto H, Sugiyama N, Sakamoto O, et al. Tetrahydrobiopterin-responsive phenylalanine hydroxylase deficiency. *J Pediatr* 1999; 135(3): 375-378.
5. Blau N, Thöny B, Cotton RGH, Hyland K. Disorders of tetrahydrobiopterin and related biogenic amines. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, Childs B, Vogelstein B. *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease*. 8th ed. New York: McGraw-Hill; 2001: 1275-1776.
6. Blau N, Hoffmann GF, Leonard J, Clarke JTR. *Physician's Guide to the Treatment and Follow-Up of Metabolic Diseases*. Springer; 2006.
7. Scriver CR, Kaufman S, Eisensmith RC, Woo SLC. The hyperphenylalaninemias. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D. *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease*, 7th ed. New York: McGraw-Hill. 2005: 1015-1075.