

# Fenilcetonuria de diagnóstico tardío y mutaciones asociadas en una familia ecuatoriana.

Marisel De Lucca<sup>1</sup>, Carmen Barba-Guzmán<sup>1</sup>, Verónica Cobo-Sevilla<sup>2</sup> y María Augusta Latta<sup>2</sup>.

<sup>1</sup>Laboratorio de Biología Molecular y Celular, y <sup>2</sup> Aula de Simulación de Terapia Física. Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Técnica de Ambato (UTA). Ambato, Ecuador.

**Palabras clave:** fenilcetonuria; fenilalanina hidroxilasa; mutación R252W; fisioterapia.

**Resumen.** La fenilcetonuria es un error innato del metabolismo, producido por mutaciones en el gen de la fenilalanina hidroxilasa. Se describe el caso de un adolescente de 15 años con diagnóstico tardío de fenilcetonuria, quien presenta retardo mental severo, convulsiones e hipopigmentación. En este estudio se realizó el diagnóstico molecular de fenilcetonuria y se detectó la mutación p.R252W en homocigosis en el gen que codifica para la fenilalanina hidroxilasa. La presencia de esta variante nos permitió inferir la falta de respuesta a la terapia con sapropterina, medicamento que actúa como cofactor de la enzima, por la ausencia de actividad enzimática residual reportada para esta variante. Debido al retraso psicomotor del paciente, se decidió aplicar terapia lúdica y fortalecimiento muscular a través de la intervención fisioterapéutica; sin embargo, no se observó una mejoría permanente al aplicar este tratamiento, motivado por la falta de continuidad.

## Phenylketonuria of late diagnosis and associated mutations in an Ecuadorian family.

*Invest Clin 2017; 58(3): 274 - 283*

**Keywords:** phenylketonuria; phenylalanine hydroxylase; mutation R252W; physical therapy.

**Abstract.** Phenylketonuria is an inborn error of metabolism due to mutations on the phenylalanine hydroxylase gene. We described the case of a 15 years old-adolescent with late diagnosis of phenylketonuria, who presents severe mental retardation, convulsions and hypopigmentation. In this study, the molecular diagnosis of phenylketonuria was performed, detecting p.R252W mutation in homozygous state on the phenylalanine hydroxylase gene. The presence of this variant allowed us to infer the lack of response to drug therapy with sapropterina which works as an enzyme cofactor, due to the absence of residual enzymatic activity reported for the p.R252W variant. Physical therapy was applied through playful therapy and muscular strengthening, because of the psychomotor retardation present in the patient. The failing in continuing with the physical therapy program stopped the patient's improvement.

*Recibido: 21-10-2016 Aceptado: 22-06-2017*

### INTRODUCCIÓN

La fenilcetonuria (PKU) es un error innato del metabolismo de la fenilalanina (Phe), clasificado dentro de las hiperfenilalaninemias (HFA), caracterizadas por presentar concentraciones de Phe en plasma mayores a 2 mg/dL. Las HFA son diversos trastornos producidos por la deficiencia de la fenilalanina hidroxilasa (PAH) (PKU clásica, moderada y leve) o por alteraciones en la síntesis o regeneración del cofactor tetrahidrobiopterina (BH4) (1-3). La PAH cataliza la conversión de Phe en tirosina, precursor esencial para la producción de los neurotransmisores dopamina, norepinefrina y de la melanina.

La PKU es causada por una deficiencia total o parcial de la enzima PAH (OMIM 261600); es la forma más grave de HFA con niveles sanguíneos de Phe mayores de 20 mg/dL, deficiencia de tirosina y fenilcetona en orina(2). Esta patología se caracteriza por retraso mental progresivo cuando no es diagnosticada y tratada precoz-

mente. Asimismo, se describe hipopigmentación en piel, cabellos y ojos, incongruente con el fenotipo de los padres; eccema que no responde al tratamiento y/u olor corporal a humedad (1- 4). Durante los primeros meses de vida, el paciente presenta retraso psicomotor, falta de interés por el medio, microcefalia, trastornos de la conducta, automutilaciones y autismo (4). La epilepsia generalizada se presenta sólo en un 25% de los pacientes; sin embargo, el síndrome de West (espasmos infantiles, alteración del desarrollo psicomotor y E.E.G. hipsarrítmico) se observa en el 70 al 95% de los casos (5).

El gen que codifica para la enzima PAH se ubica en cromosoma 12 en la región 12q23.2. La PKU se hereda de forma autosómica recesiva, se han descrito en el mundo alrededor de 970 mutaciones (<http://www.biopku.org>). La mayoría de estas alteraciones están presentes en el exón 7 del gen que codifica para la PAH y el 60% de las mutaciones son *missense* produciendo el cambio de un aminoácido por otro. La pre-

valencia de la PKU es variable a nivel mundial, desde 1/90.000 en poblaciones africanas hasta 1/10.000 en caucásicos (6,7).

Actualmente, en muchos países se realiza la detección neonatal de la PKU, debido a las ventajas que ofrece el tratamiento precoz al evitar las secuelas graves como la discapacidad mental. Este tratamiento consiste en una dieta baja en el aminoácido esencial Phe de por vida, cuyos niveles variarán dependiendo de la tolerancia del paciente al aminoácido. Por otra parte, basados en el conocimiento de que las mutaciones missense inducen el mal plegamiento de las proteínas mutantes y conllevan la pérdida de la actividad enzimática por degradación temprana, aunado a la creciente asociación de este tipo de mecanismo molecular a los errores innatos del metabolismo (8), se han desarrollado una serie de tratamientos alternativos como la chaperona farmacológica sapropterina, que estabiliza o promueve el correcto plegamiento de las proteínas PKU mutantes, con un efecto similar al cofactor natural de la enzima (tetrahidrobiopterina o BH4) (9). La sapropterina estimula la actividad residual de la PAH, logrando en algunos pacientes con fenotipos leves o moderados, especialmente cuando la proteína mutada presenta actividad residual moderada, disminuir los niveles de Phe en sangre y aumentar su tolerancia en la dieta (7). En el Ecuador se inició el tamizaje neonatal a partir de 2011, el cual incluye 4 enfermedades: hipotiroidismo congénito, PKU, galactosemia e hiperplasia suprarrenal congénita, con el fin de aplicar tratamiento oportuno para evitar las secuelas de la enfermedad, establecer la incidencia de estas patologías, y en algunos casos implementar otras formas de terapia.

Hasta la fecha muchos estudios han tratado de buscar una correlación entre la tolerancia a la Phe, la respuesta al cofactor y las mutaciones presentes en el gen que codifica para la PAH (10,11). Sin embargo, no ha sido fácil establecer una relación directa entre el genotipo y el fenoti-

po, en gran medida debido a la alta heterogeneidad alélica que presenta este gen, con alrededor de 970 variantes reportadas en la base de datos BIOPKU (12).

En la literatura existen pocos datos sobre la intervención fisioterapéutica en PKU de diagnóstico tardío, sin embargo, Soyupek y col., en el año 2009 (13), reportaron el caso de un hombre de 19 años con PKU, quien presentó espasticidad grado 4 al abandonar la dieta, pero al retomarla junto a un programa de rehabilitación física, disminuyó a grado 1. Se observó que la combinación de dieta, medicamentos y rehabilitación física resultó ser efectiva en el tratamiento de adultos con PKU. Asimismo, se ha reportado que estas terapias combinadas, ayudan a mejorar la calidad de vida de individuos con otras enfermedades genéticas, como la distrofia muscular congénita, caracterizada por presentar debilidad e hipotonía muscular (14). En este sentido, Kang y col., en el año 2015 (14), realizaron una revisión sistemática en bases de datos, y concluyeron que estas poblaciones deben ser tratadas por un equipo multidisciplinario (especialistas en nutrición, respiración, crecimiento, terapia ocupacional y fisioterapia), con experiencia en alteraciones neuromusculares.

En el presente trabajo, se describe un caso de un paciente con PKU de diagnóstico tardío, con retardo mental severo, a quien se le realizó diagnóstico molecular, con la finalidad de detectar las mutaciones causantes del fenotipo del paciente y establecer su posible respuesta al tratamiento con el cofactor, así como evaluar los beneficios de la aplicación de una intervención fisioterapéutica personalizada.

## CASO CLÍNICO

Adolescente femenina de 15 años (FN: 13/12/1999) con diagnóstico tardío de PKU realizado a los 3 años y 11 meses, presentó retardo mental severo, convulsiones, olor a moho e hi-

popigmentación del cabello. Padres sanos quienes expresaron no poseer consanguinidad. Embarazo a término (41 semanas) por cesárea, sin complicaciones. Diagnosticada con autismo a los 22 meses por neuropediatría, hasta diagnosticarse PKU en hermana fallecida. Al diagnóstico se detectaron niveles elevados de Phe en sangre de 17,9 mg/dL (VN: 4,1 mg/dL); en orina se evidenció la presencia de alfacetoácidos (+++) y alfacetoácidos aromáticos (++) . En estudios de resonancia magnética realizados en el año 2001, se encontró discreto retraso en la mielinización de las circunvoluciones paracentral y occipital, con el resto de la mielinización de aspecto normal. En el año 2014, mediante tomografía axial computarizada y electroencefalografía, se observó adelgazamiento de la corteza cerebral, leucodistrofia y pobre actividad cortical. Actualmente se encuentra en tratamiento con: fórmula para PKU: 72g exentos de Phe/día, divalproato sódico 1000 mg/día, sertralina 25 mg/día, fumarato de quetiapina 50 mg/día, gluconato de zinc 25 mg/día y dieta baja en proteínas. En el último control realizado en el año 2014, se detectaron niveles muy elevados de Phe sérica de 1.134,9  $\mu$ M(VN: 20-139 $\mu$ M), con lo cual se evidenció la falta de cumplimiento de la dieta.

Para realizar el análisis molecular, se obtuvo el ADN genómico del paciente y sus progenitores, a partir de 5 mL de sangre total con EDTA, previa firma de consentimientos informados aprobados por un comité acreditado por el Ministerio de Salud Pública del Ecuador, utilizando el estuche PureLinkGenomic DNA de ThermoFisherScientificInc., (MA, USA). La búsqueda de las mutaciones causantes del fenotipo se realizó mediante las técnicas de PCR, electroforesis en geles con gradiente de desnaturalización (DGGE) (15) y secuenciación directa, esta última realizada en la empresa MacroGen, Inc.(Corea del Sur). Se analizaron los 13 exones y las regiones intrónicas próximas a los exones del gen PAH, en el paciente y posteriormente en los

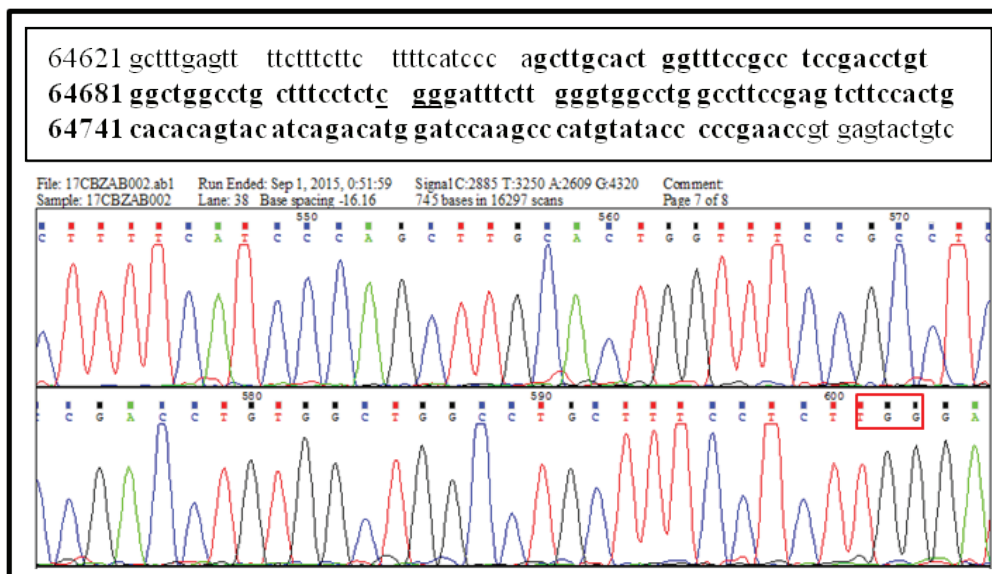
progenitores, mediante el uso de los cebadores descritos por Guldberg y col. (16).

En la paciente se detectó la presencia de la mutación p.R252W (c.754C>T) en homocigosis en el exón 7, para lo cual fue necesario crear heteroduplex mediante la mezcla de cada uno de los 13 amplicones del gen de la muestra de la paciente, con un control normal y posterior análisis mediante DGGE. Como resultado se obtuvo una migración aberrante en el exón 7, y se procedió a la secuenciación de este fragmento (Fig. 1).

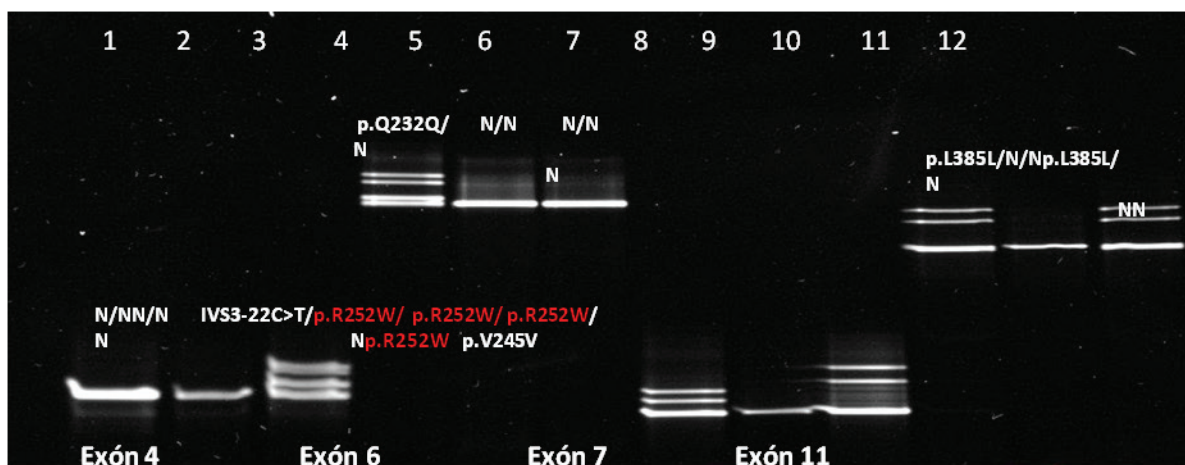
Posteriormente, se analizaron los progenitores quienes presentaron la mutación p.R252W en heterocigosis (Fig. 2), lo cual descartó la posible existencia de una delección grande en esta región. Por otra parte, se detectó en el padre la presencia de dos polimorfismos p.Q232Q (c.696A>G) en el exón 6 y p.L385L (c.1155G>C) en el exón 11 ambos en heterocigosis, y en la madre se detectaron en heterocigosis tres polimorfismos IVS3-22C>T (c.353-22C>T) en el intrón 3, p.V245V (c.735G>A) en el exón 7 y p.L385L (c.1155G>C) en el exón 11 (Fig. 2). Ninguno de estos polimorfismos fueron encontrados en el paciente.

Según los datos genealógicos recabados hasta la tercera generación, se evidenció la existencia de 3 tías maternas del paciente, que fallecieron a edades tempranas por causas diversas: problemas cardiacos (22 años), cáncer gástrico (30 años) y sin diagnóstico (2 días). Al contrario, por el lado paterno no se reportó nada resalante. Se halló que la línea materna es oriunda del cantón Quero (provincia Tungurahua) y la paterna del cantón Ambato (provincia Tungurahua), excepto la abuela quien proviene de Guayaquil (provincia Guayas).

Adicionalmente, la paciente fue evaluada e intervenida mediante fisioterapia. En la anamnesis inicial se observaron las siguientes características: paciente de contextura ancha, hombros redondeados, hipercifosis dorsal postural,



**Fig.1.** Electroferograma de un fragmento del exón 7 del gen PAH del ADN en la paciente. Arriba: en negrita secuencia normal del exón 7 (NCBI Reference Sequence: NG\_008690.1), dentro del cuadro el triplete donde se produce la mutación (CGG). Abajo: mutación p.R252W (c.754C>T) en HM, producida por el cambio del triplete CGG>TGG, lo cual se traduce en la sustitución de arginina por triptófano en la proteína.



**Fig.2.** Gel de DGGE con los exones analizados del gen PAH en la paciente (carriles: 2, 5, 8 y 11), el padre (carriles: 1, 4, 7 y 10) y la madre (carriles: 3, 6, 9 y 12). Se observan patrones de migración aberrante en la muestra de la madre exón 4, 7 (dos cambios en el mismo fragmento) y 11, en el padre exón 6, 7 y 11. En el exón 7 de la paciente se observa una banda que migra más arriba que la correspondiente en los progenitores, debido a la presencia de la mutación R252W en homocigosis (en rojo). En color rojo se indican las mutaciones detectadas en la familia y en blanco los polimorfismos. N: alelo normal.

con hiperflexión cervical que ocasiona mirada dirigida al suelo. Se muestra inquieta, con las manos recogidas sobre el pecho y dedos en constante movimiento, provocándose lesiones. Presenta ligera flexión de rodillas, hiperlaxitud con hiperextensión en las falanges de manos y pies, durante la marcha no cumple con todas las fases, existiendo un desbalance en la fase de despegue, lo que refleja una debilidad muscular en los miotomas L3-L4, que se relacionan con la extensión de rodilla y tobillo; y miotomas S1-S2 con la flexión plantar del pie. Según la escala de valoración muscular manual presenta grado 3+ del lado derecho y 4 en el izquierdo (17). Además, se aprecian cicatrices y equimosis en manos, signo de auto agresividad. La aplicación de las pruebas de Hoffman, Babinski (18, 19) y clonus de tobillo, permitieron descartar compromiso de la neurona motora superior (20). Por otra parte, basándonos en el Functional Independence Measure (FIM) se evidenció independencia en la realización de funciones básicas como vestirse, alimentarse y controlar esfínteres, sin embargo, en el componente cognitivo es dependiente (21), presentando alteraciones en la interacción con el entorno y actitud agresiva realizando movimientos bruscos y amplios con los brazos al acercarse personas desconocidas.

Tomando en cuenta la Clasificación Internacional del Funcionamiento, la Discapacidad y la Salud (CIF) (22), se aplicó un tratamiento individualizado e integral con la finalidad de mejorar su condición como individuo y su relación con la sociedad, iniciando por su entorno familiar (23). Esta intervención fisioterapéutica permitió complementar la atención multidisciplinaria que estaba recibiendo la adolescente, la cual consistía en tratamiento farmacológico, seguimiento psicológico, soporte nutricional y monitoreo neuropediátrico.

La intervención a corto plazo fue de forma lúdica, con el fin de potenciar y corregir los trastornos motores, se estableció tomando en

cuenta las siguientes fortalezas: cumplimiento de comandos básicos e imitación, gusto por la música, los olores, los colores y las formas, con una duración de un mes con tres sesiones de 60-90 minutos por semana, con apoyo de los padres a fin de darle continuidad en el hogar. En la Tabla I se muestran los resultados de la evaluación inicial y los logros alcanzados a corto plazo; merece destacar el cambio en la actitud de la paciente quien presentó al inicio desgano, aburrimiento y poca colaboración, sin embargo, su actitud cambió a la tercera semana cuando mostró cooperación, gusto al realizar los ejercicios y empatía por las actividades propuestas, asimismo, mejoró en la motricidad gruesa y fina; se apreció cuello, postura estática erguida y ausencia de marcas de auto agresividad. En la parte cognitiva, mejoró en la concentración, atención y cumplimiento de comandos verbales. En el trofismo avanzó limitadamente, al mantener el patrón de marcha con debilidad muscular en miotomas L4-L5, S1-S2 y durante el reposo no se observaron signos visibles de tensión muscular residual. Lamentablemente, la paciente no continuó con el tratamiento, ya que ingresó a un centro de cuidado infantil en donde permaneció sin atención adecuada y en aislamiento, desconociéndose su estado actual.

## DISCUSIÓN

La PKU es una enfermedad que se diagnostica y trata precozmente a partir de la implementación de los programas de tamizaje neonatal. En el Ecuador este programa se inició en el año 2011, por lo cual, la paciente descrita en el presente trabajo (FN: 1999) presentó los signos y síntomas característicos de esta patología, ya que fue diagnosticada tardíamente.

Del estudio molecular se puede concluir que la paciente, al presentar la mutación p.R252W en homocigosis, es muy poco probable que responda a la terapia con sapropterina, ya que esta

**TABLA I**  
**INTERVENCIÓN FISIOTERAPÉUTICA Y RESULTADOS OBTENIDOS**  
**A CORTO PLAZO**

Objetivos	Intervención	Evaluación Inicial	Evaluación a corto plazo
<b>Mejorar trofismo muscular</b>	Movilización activa-asistida de miembros superiores e inferiores Perfetti (20). Facilitación neuromuscular propioceptiva en miembros superiores e inferiores combinados con rotación, flexión, extensión en rodilla y codo.	40%	80%
<b>Corregir coordinación y motricidad</b>	Diadococinesia: prono-supinación; talón-rodilla; óculo-motriz; <i>get up and go</i> .	40%	80%
<b>Corregir actitud postural</b>	Bobath: posicionamientos (19). Imitación. Técnica de Alexander para control de cuello. Re-educación de patrones posturales.	Postura flexora y cuello de "tortuga"	Postura erguida
<b>Estimular cognición y motricidad fina</b>	Entrenamiento del lenguaje a través de identificación de olores, colores y formas.	Agresiva Ansiosa Impaciente Apática No habla No ejecuta órdenes	Disminución de la agresividad en un 80% Disminución de la ansiedad e impaciencia en un 60% Se relaciona y ejecuta órdenes en un 65%
<b>Mantener actividades básicas</b>	Entrenamiento para vestirse, comer y asearse de manera independiente.	60%	75%

variante se ha descrito que presenta ausencia total de actividad enzimática residual, reportada tanto en estudios de expresión realizados en procariotas, como en eucariotas (8, 24). Adicionalmente, en la base de datos BIOPKU ([www.biopku.org](http://www.biopku.org)), se reportó el desarrollo de un fenotipo severo correspondiente a PKU clásico, en 32 casos estudiados con dicha variante en ho-

mocigosis y solamente en 2 casos con un fenotipo leve; por otra parte, se observó ausencia de respuesta al tratamiento con sapropterina en los 4 casos reportados.

En cuanto al origen de la mutación detectada se presume la existencia de ancestros europeos previos a la tercera generación, basados en los apellidos originarios de España presentes

en ambas líneas materna y paterna, así como el hecho de que esta mutación está presente en poblaciones europeas. Esta alteración se ha detectado en poblaciones del este de Europa hasta en un 60% de los PKU, en el norte y Europa central alrededor del 3%, y en el sur 16%. En Latinoamérica sólo está reportado un caso (3%) en la base de datos BIOPKU (12, [www.biopku.org](http://www.biopku.org)), 3 alelos en Chile posiblemente de origen alemán (25) y 15 alelos en el sur de Brasil (26), lo cual puede deberse a que pocos países de esta región realizan la caracterización molecular de este gen, así como, la ausencia de reportes sobre las alteraciones detectadas en Latinoamérica.

Los hallazgos iniciales en cuanto a la hiperflexión cervical y retraso motriz, en conjunto con el comportamiento agresivo, se corresponden con el discreto retraso en la mielinización observado en las circunvoluciones paracentral y occipital presentes en la RMN. En concordancia con lo reportado por Lotan y Hanks (27), para el Síndrome de Rett (enfermedad genética caracterizada por presencia de disfunciones físicas e hipotonía muscular), la fisioterapia se enfocó en mantener las habilidades motoras y transitorias, prevenir deformidades, aliviar irritabilidad y mejorar la independencia, valiéndose de las fortalezas del paciente y la capacitación en dichas terapias a la familia, lo que contribuyó con las mejoras a corto plazo. El abordaje de manera lúdica fortaleció los lazos fisioterapeuta-paciente facilitando el avance, como se observó en el fortalecimiento muscular y en el cumplimiento de comandos verbales.

Se concluye, que la fisioterapia puede incluirse como parte de la atención integral de pacientes con PKU, basándonos en las mejoras observadas en las alteraciones motoras presentes en algunos trastornos genéticos. La aplicación de intervenciones individualizadas y multidisciplinarias permitirán mejorar la calidad de vida de estos pacientes, sobre todo en aquellos casos, como el presentado en este trabajo, con

mutaciones que no responden a la terapia con sapropterina y que no han sido tratados oportunamente.

## AGRADECIMIENTOS

A los padres, a la paciente y a los estudiantes de Terapia Física de la UTA: Italo De Oliveira, Grace Chilig y Joshua Ramos por su valiosa ayuda técnica. Este trabajo fue financiado por la Dirección de Investigación y Desarrollo de la UTA, a través de los proyectos #0805-CU-P-2015 y 0932-CU-P-2016; y la Secretaría Nacional de Educación Superior, Ciencia y Tecnología (SENESCYT), a través del programa PROMETEO.

## REFERENCIAS

1. **Scriver CR.** The PAH, gene, phenylketonuria, and a paradigm shift. *Hum Mutat* 2007; 28(9):831-845.
2. **Colombo M, Cornejo V, Raimann E.** Errores innatos en el metabolismo del niño. Santiago: Universitaria 2003; p. 71-138.
3. **Fernández-Carvajal I, Tellería JJ, Alonso M, Palencia-Luaces R, Durán M, López B, Navarro N, de Diego-Otero Y, Blanco A.** Enfermedades autosómicas recesivas con retraso mental. *Rev Neurol* 2006; 42(Supl 1): S39-S43.
4. **Ormazábal A, Vilaseca MA, García-Cazorla A, Campistol J.** Mecanismo de patogenia de fenilcetonuria: alteraciones del metabolismo de los neurotransmisores y del sistema antioxidante. *Rev Neurol* 2004; 39: 956-961.
5. **Mahfoud A, De Lucca M, Domínguez CL, Arias I, Casique L, Araujo K, Rodríguez T, Bottaro M, Colmenares AR, López ME, Giamporcaro R.** Hallazgos clínicos y espectro mutacional en pacientes venezolanos con diagnóstico tardío de fe-



- nilcetonuria. *Rev Neurol* 2008; 47(1):5-10.
6. **Hardelid P, Cortina-Borja M, Munro A, Jones H, Cleary M, Champion MP, Foo Y, Scriver CR, Dezateux C.** The birth prevalence of PKU in populations of European, South Asian and sub-Saharan African ancestry living in South East England. *Ann Hum Genet* 2008; 72(1):65-71.
  7. **Levy HL, Milanowski A, Chakrapani A, Cleary M, Lee P, Trefz FK, Whitley CB, Feillet F, Feigenbaum AS, Bebhuk JD, Christ-Schmidt H, Dorenbaum A.** Efficacy of sapropterin dihydrochloride (tetrahydrobiopterin, 6R-BH4) for reduction of phenylalanine concentration in patients with phenylketonuria: a phase III randomised placebo-controlled study. *Lancet* 2007; 370(9586):504-510.
  8. **Pey AL, Desviat LR, Gamez A, Ugarte M, Perez B.** Phenylketonuria: genotype-phenotype correlations based on expression analysis of structural and functional mutations in PAH. *Hum Mutat* 2003; 21(4):370-378.
  9. **Muntau, AC, Leandro, J, Staudigl, M, Mayer F, Gersting SW.** Innovative strategies to treat protein misfolding in inborn errors of metabolism: pharmacological chaperones and proteostasis regulators. *J Inher Metab Dis* 2014; 37(4):505-523.
  10. **Jeannesson-Thivisol E, Feillet F, Chéry C, Perrin P, Battaglia-Hsu SF, Herbeth B, Cano A, Barth M, Fouilhoux A, Mention K, Labarthe F, Arnoux JB, Maillot F, Lenaerts C, Dumesnil C, Wagner K, Terral D, Broué P, de Parscau L, Gay C, Kuster A, Bédu A, Besson G, Lamiereau D, Odent S, Masurel A, Guéant JL, Namour F.** 6R-tetrahydrobiopterin treated PKU patients below 4 years of age: Physical outcomes, nutrition and genotype. *Mol Genet Metab* 2015; 115(1):10-16.
  11. **Aldámiz-Echevarría L, Llarena M, Bueno MA, Dalmau J, Vitoria I, Fernández-Marmiesse A, Andrade F, Blasco J, Alcalde C, Gil D, García MC, González-Lamuño D, Ruiz M, Ruiz MA, Peña-Quintana L, González D, Sánchez-Valverde F, Desviat LR, Pérez B, Couce ML.** Molecular epidemiology, genotype-phenotype correlation and BH4 responsiveness in Spanish patients with phenylketonuria. *J Hum Genet* 2016; 61(8):731-744.
  12. **Blau N, Yue W, Perez B.** PAHvdb. <http://www.biopku.org/pah/>. [12/05/2016].
  13. **Soyupek F, Koyuncuoglu H, Cindas A, Ilgun E, Tak R.** The rehabilitation programme of an adult phenylketonuria with upper motor neuron involvement. *J Back Musculoskelet Rehabil* 2009; 22(1):49-53.
  14. **Kang PB, Morrison L, Iannaccone ST, Graham RJ, Bönnemann CG, Rutkowski A, Hornyak J, Wang CH, North k, Oskoui M, Getchius TSD, Cox JA, Hagen EE, Gronseth G, Griggs RC.** Evidence-based guideline summary: evaluation, diagnosis, and management of congenital muscular dystrophy: Report of the Guideline Development Subcommittee of the American Academy of Neurology and the Practice Issues Review Panel of the American Association of Neuromuscular & Electrodiagnostic Medicine. *Neurology* 2015; 84(13):1369-1378.
  15. **Guldberg P, Güttler F.** Broad-range<sup>2</sup> DGGE for single-step mutation scanning of entire genes: application to human phenylalanine hydroxylase gene. *Nucleic Acids Res* 1994; 22(5):880-881.
  16. **Guldberg P, Romano V, Ceratto N, Bosco P, Ciuna M, Indelicato A, Mollica F, Mell C, Giovannini M, Riva E, Biasucci G, Henriksen KF, Güttler F.** Mutational spectrum of phenylalanine hydroxylase deficiency in Sicily: implications for diagno-

- sis of hyperphenylalaninemia in southern Europe. *Hum Mol Genet* 1993; 2(10):1703-1707.
17. **Medical Research Council of the UK.** Aids to the investigation of Peripheral Nerve Injuries, Memorando No.45. London, Pendragon House 1976; 6-7.
  18. **Houten J, Noce L.** Clinical correlations of cervical myelopathy and the Hoffman sign. *J Neurosurg Spine* 2008; 9(3): 237-242.
  19. **Cochet H, Allamargot T, Bertin A, Jallard P, Lapierre S, Lassalle T.** Concepto Bobath y rehabilitación en Neurología. *EMC Kinesiterapia-Med Física* 2000;21(2):1-15.
  20. **García Díez E.** Fisioterapia de la espasticidad: técnicas y métodos. *Fisioterapia* 2004; 26(1): 25-35.
  21. **Paolinelli C, González P, Doniez ME, Donoso T, Salinas V.** Instrumento de evaluación funcional de la discapacidad en rehabilitación.: Estudio de confiabilidad y experiencia clínica con el uso del Functional Independence Measure. *Rev Méd Chile* 2001;129(1):23-31.
  22. **Ayuso-Mateos JL, Nieto-Moreno M, Sánchez-Moreno J, Vázquez-Barquero JL.** Clasificación Internacional del Funcionamiento, la Discapacidad y la Salud (CIF): aplicabilidad y utilidad en la práctica clínica. *Medicina Clínica* 2006; 126(12):461-466.
  23. **Céspedes GM.** La nueva cultura de la discapacidad y los modelos de rehabilitación. *Aquichán* 2005; 5(1):108-113.
  24. **Gjetting T, Petersen M, Guldberg P, Güttler F.** In vitro expression of 34 naturally occurring mutant variants of phenylalanine hydroxylase: correlation with metabolic phenotypes and susceptibility toward protein aggregation. *Mol Genet Metab* 2001; 72(2):132-143.
  25. **Pérez, B, Desviat, LR, De Lucca, M, Cornejo, V, Raimann, E, Ugarte, M.** Molecular characterization of phenylalanine hydroxylase deficiency in Chile. *Hum Mutat* 1999; 13:503.
  26. **Acosta, AX, Silva, WA, Carvalho, TM, Gomes, M, Zago, MA.** Mutations of the phenylalanine hydroxylase (PAH) gene in Brazilian patients with phenylketonuria. *Hum Mutat* 2001; 17:122-130.
  27. **Lotan M, Hanks S.** Physical therapy intervention for individuals with Rett syndrome. *Scientific World Journal* 2006; 10(6):1314-1338.