



**FACULTAD DE FARMACIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE**

TRABAJO FIN DE GRADO

Piridoxal-5'-fosfato

Mecanismo de acción y aplicaciones terapéuticas

Autor: Ángela González Muñoz

Fecha: Junio 2019

Tutor: María Fernández Fernández

1. Resumen

El piridoxal-5-fosfato participa como coenzima clave en el organismo, se adquiere a través de la vitamina B6 y se presenta como principal forma activa de ésta. **Gracias a su estructura piridínica propicia la deslocalización de la carga en un sistema π -electrón, posibilitando la ruptura de un enlace del sustrato. Es imprescindible en el metabolismo de aminoácidos, mediante reacciones de transaminación, descarboxilación, racemización y eliminación. Cobra especial importancia en los equilibrios de neurotransmisión y síntesis de pared bacteriana entre otros.**

Valiéndose de su **mecanismo de acción**, se han **desarrollado drogas capaces de modular la actividad de las enzimas implicadas, permitiendo la obtención de fármacos de considerable utilidad terapéutica como antiepilépticos o antiparkinsonianos.**

Entre las aplicaciones más innovadoras se puede encontrar el **uso en el tratamiento del trastorno del espectro autista** gracias a su intervención en múltiples mecanismos, en busca del restablecimiento del equilibrio de neurotransmisión. Otra aplicación en desarrollo es su uso como parte del tratamiento en la **meningitis pneumocócica**, en el que previene de la muerte celular al tejido nervioso afectado por la intensa inflamación. En este caso los beneficios se alcanzan al fomentar la generación de sustancias neuroprotectoras, la evasión de estrés oxidativo y la modulación en la actividad de mediadores inflamatorios.

Palabras clave: piridoxal fosfato, cofactor, autismo y meningitis.

2. Introducción

El **piridoxal-5-fosfato** es la principal molécula activa de la **vitamina B6**, una vitamina hidrosoluble que se debe incorporar con la dieta, en alimentos como las legumbres, aguacate, carne, maíz y pan entre otros. **La importancia de la dieta reside en que el cuerpo es incapaz de sintetizar la molécula por sí mismo**, también hay una **pequeña proporción que se deriva de las bacterias de la flora intestinal**¹. La absorción de la molécula ocurre en el intestino a través de un transportador carrier, únicamente se puede transportar la molécula no fosforilada; en el caso de la vitamina B6 vegetal, ésta se encuentra en el alimento sin fosforilar, mientras que en los alimentos de origen animal se encuentra fosforilada. Gracias a fosfatasas intestinales se retira el grupo fosfato para que pueda ser absorbida y una vez llega al torrente circulatorio se dirige al intestino, donde las moléculas son fosforiladas por la piridoxal quinasa².

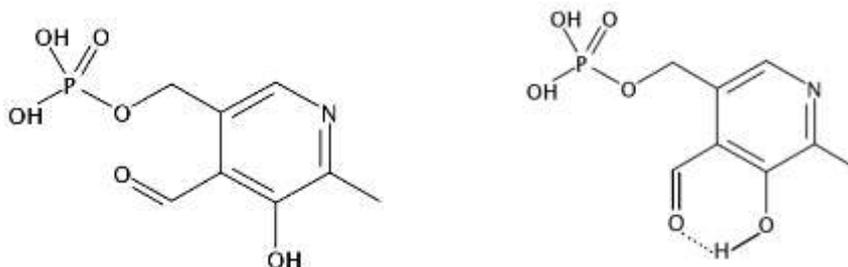


Figura 1: Estructura del piridoxal-5'-fosfato

La envergadura a nivel metabólico reside en su intervención en el funcionamiento de más de 140 enzimas³, siendo probablemente la molécula más versátil de la naturaleza. Algunas enzimas dependen para su reactividad solamente de sus estructuras proteicas como tal, mientras que otras necesitan además estructuras no proteicas o **cofactores** para desarrollar su actividad⁴. **Es éste papel como cofactor el desempeñado por el piridoxal-5-fosfato**, las enzimas que necesitan del piridoxal-5 fosfato, PLP o CoEnz B6 para poder llevar a cabo su acción son por lo tanto **las denominadas enzimas dependientes de PLP**.

Teniendo en cuenta la multitud de reacciones en las que interviene el PLP y la importancia biológica que supone, no es de extrañar que haya **atraído la atención del mundo farmacológico y químico en cuanto al diseño de inhibidores con potencial uso terapéutico, que pueden considerarse profármacos⁴**. Las principales reacciones en las que se va a ver envuelto el PLP son en la **transaminación, descarboxilación y racemización**. En cuanto a la estructura molecular, cabe destacar la **flexibilidad y estabilidad**, cuenta con un anillo de **piridina** con cierta actividad básica y dos grupos hidroxilo, uno de ellos permite la incorporación del grupo fosfato y el otro tiene una actividad levemente ácida. La parte diferencial del PLP con el resto de moléculas activas de la vitamina B6 es la presencia de un **aldehído** en la posición 4 del anillo. La formación de un puente de hidrógeno intramolecular entre el aldehído y el hidroxilo da lugar a una estructura similar a un naftaleno, que confiere una estabilidad mayor a la molécula. Según su estructura, encontrándose protonado el nitrógeno de la piridina, la molécula es un ácido tetraprótico⁵.

Los sistemas enzimáticos dependientes de PLP tienen en común una **transaminación**, a excepción de algunas enzimas como es la glucógeno fosforilasa. La transaminación es una reacción en la cual un grupo amino del sustrato ataca a la base de Schiff o aldimina interna formada por la enzima y el PLP, de tal modo que se libera la enzima y el sustrato queda unido al PLP a través de una nueva base de Schiff o aldimina externa. En global, se lleva a cabo la transferencia de una amina de una molécula a otra, mediante un mecanismo de ping-pong. Es a partir de esta aldimina externa desde la que van a partir las reacciones dependientes de PLP^{4,6}.

Por consiguiente, el primer paso en todas las enzimas dependientes de PLP es la formación de la **aldimina interna**, quedando unido el PLP con el centro activo de la enzima. El grupo amino de la Lys-258 del centro activo actúa como nucleófilo y ataca al aldehído del PLP, el resultado en una especie zwitteriónica que tautomeriza hasta la formación de una carbinolamina. Después se produce la deshidratación de la carbinolamina y da como resultado una imina, que es una base de Schiff⁷.

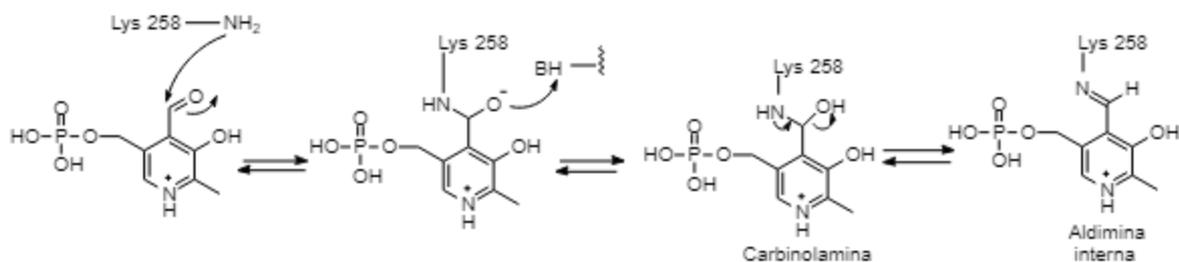


Figura 2: Formación de la aldimina interna

Esta unión con la enzima es covalente y permite asegurar el PLP al centro activo en una posición correcta y además activa el carbonilo del PLP para el ataque nucleofílico. El ataque de una amina a un carbonilo activado en forma de imina es más rápido que el ataque de la amina al carbonilo sin activar^{4,7}.

La unión covalente con la enzima es la más fuerte, aunque no es la única, tanto el grupo fosfato, como el nitrógeno piridínico y el hidroxilo forman puentes de hidrógeno e interacciones no covalentes con otros residuos del centro catalítico de la enzima. Dado el número de enzimas PLP dependientes, las interacciones que establecen el cofactor o el intermedio catalítico con el centro activo son muy diversas. El número de puentes de hidrógeno que forma el grupo fosfato varía de 4 a 9, así como el nitrógeno puede formar un enlace de hidrógeno o iónico. El grupo fosfato es el que más interacciones presenta y es aquí donde reside la importancia de la fosforilación de la molécula. Mediante el grupo fosfato se coloca correctamente el PLP en la enzima, previa formación de la aldimina interna⁸.

Una vez formada la aldimina interna, va a ser atacada por la amina del C α del sustrato aminoacídico, el resultado del ataque es la liberación de la Lys mediante la formación de una nueva imina, que es la **aldimina externa**. La formación de la aldimina externa transcurre a través de una diamina germinal, es un proceso ácido-base en el cual una base capta el protón del grupo amino del aminoácido entrante y el par de electrones libre del nitrógeno formará el doble enlace de la imina. Con la formación de la imina se provoca la eliminación del grupo amino de la Lys, esta eliminación se ve favorecida porque previamente éste grupo amino ha sido protonado por una segunda base implicada en el proceso^{7,8,9}.

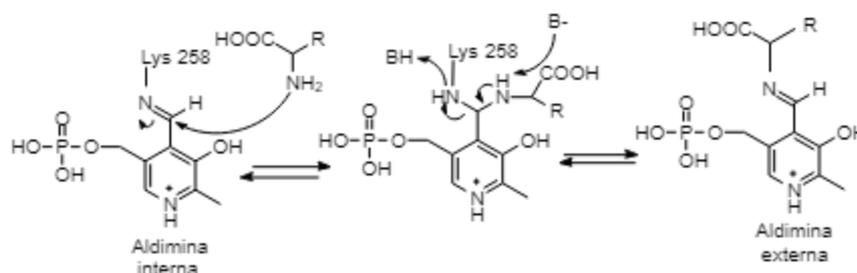


Figura 3: Formación aldimina externa

En la siguiente etapa, la formación de la aldimina externa permite la ruptura de un enlace de los átomos unidos al C α del aminoácido sustrato; se puede romper el enlace con el hidrógeno, con el ácido o con el radical. El único enlace que en ningún caso se rompería sería el del C α con el nitrógeno. Para que la ruptura sea posible, el enlace que se romperá debe mantenerse **ortogonalmente** al plano del anillo de piridina, la razón de esta disposición es que el anillo de piridina actúa como un **sumidero de electrones**⁴. Independientemente del enlace que se escinda, un par de electrones libre queda sobre el C α , dando lugar a un carbanión. El anillo π -deficiente permite la estabilización del carbanión mediante la deslocalización de la carga, dando lugar a la menor energía de estado de transición posible.

Las tres formas resonantes principales son las representadas en la figura 4, la que ocupa la posición central se conoce como quinonoide, por el parecido estructural con una quinona^{8,9}.

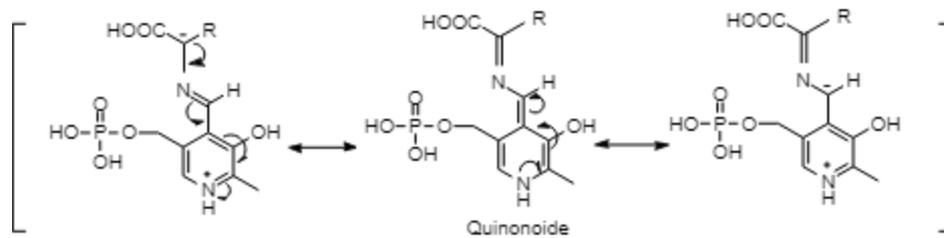


Figura 4: Principales formas resonantes

Gracias al sistema π -electrón del piridoxal fosfato es posible romper el enlace del C α de forma **no enzimática**. El único requisito es la disposición de éste enlace con respecto al anillo piridínico, es decir, se romperá el enlace σ que se encuentre en perpendicular al sistema π . Cuando el PLP forma una imina con un aminoácido, los enlaces σ que presenta el C α se vuelven deficitarios de electrones gracias a la acción como sumidero de electrones y es por esto que son susceptibles de romperse. Según Dunathan, la enzima es la que controla la disposición de los enlaces, de tal modo que según la interacción entre el centro activo, el PLP y el sustrato, un enlace se coloca estratégicamente en perpendicular al anillo⁸.

La protonación de una de las formas resonantes supone la obtención de un carbono Sp³ a partir de un carbono Sp², hecho que cobra relevancia al tratarse de un paso irreversible, es decir, de no retorno.

A partir de este punto en la reacción, se seguirán distintos caminos hacia la obtención de un producto u otro. Las reacciones catalizadas por el PLP se clasifican según la posición del aminoácido, de tal modo que si se encuentra en posición α se lleva a cabo una transaminación, descarboxilación o racemización y sin embargo, en posición β o γ se obtiene una eliminación o sustitución. Las reacciones de eliminación y sustitución prácticamente carecen de importancia farmacéutica.

El metabolismo del PLP llega a su fin en el hígado, en el cual se va a oxidar, permitiendo así su eliminación por vías urinarias. La concentración en orina se correlaciona con la concentración en plasma y se considera un nivel adecuado de eliminación 3 μ mol/día⁸.

3. Objetivos

El objetivo principal de este trabajo es el conocimiento acerca del Piridoxal-5-fosfato, en lo que se refiere a su mecanismo de acción, propiedades moleculares y las principales reacciones en las que se ve envuelto como cofactor, junto con las aplicaciones terapéuticas que se han desarrollado y se siguen utilizando a día de hoy.

Por otro lado se estudiarán nuevas alternativas terapéuticas en un plano más actual, han sido elegidas la terapia como coadyuvante en el tratamiento de la meningitis pneumocócica y el tratamiento del trastorno del espectro autista.

4. Metodología

Para el cumplimiento de los objetivos se ha realizado una revisión bibliográfica y se han seleccionado artículos científicos, pertenecientes a distintas bases de datos, así como páginas web y libros científicos. Las bases de datos empleadas fueron ScienceDirect, SciFinder, Pubmed y Google académico, las palabras clave utilizadas en la búsqueda fueron pyridoxal phosphate, Vitamin B6, descarboxilasas, transaminasas, racemasas, APE 1 y autisnm entre otras.

Además, se recopiló información de las diapositivas empleadas en la asignatura química farmacéutica I, impartida por Nieves cabezas Baudot. Los mecanismos descritos en el trabajo y las moléculas fueron realizados con Chemdraw. Para la bibliografía se siguió con el método Vancouver. En la composición del trabajo fueron necesarios los conocimientos adquiridos en las asignaturas de química farmacéutica, química orgánica, farmacología y bioquímica.

5. Discusión; principales enzimas con potencial médico y su inhibición. Nuevas aplicaciones terapéuticas.

5.1 Enzimas con potencial médico y su inhibición

5.1.1 Transaminasa

El grupo amino del aminoácido sustrato se transfiere a un α -cetoácido, dando lugar a un nuevo aminoácido y un nuevo α -cetoácido. En este caso la enzima favorece la forma protonada del PLP gracias a la formación de un enlace iónico entre el N piridínico y un residuo de aspartato del centro activo de la enzima. Una vez formada la aldimina externa, una base capta el hidrógeno del $C\alpha$ del sustrato, dando lugar a un intermedio carbaniónico. La carga negativa se estabiliza en formas resonantes, el enlace iónico del nitrógeno implica una forma resonante mayoritaria, que será protonada para dar lugar a una **cetimina**⁸. A continuación la hidrólisis de la cetimina da como resultado un cetoácido y fosfato de piridoxamina (PMP), finalmente se ha intercambiado el grupo amino del aminoácido sustrato inicial por el aldehído del piridoxal fosfato.

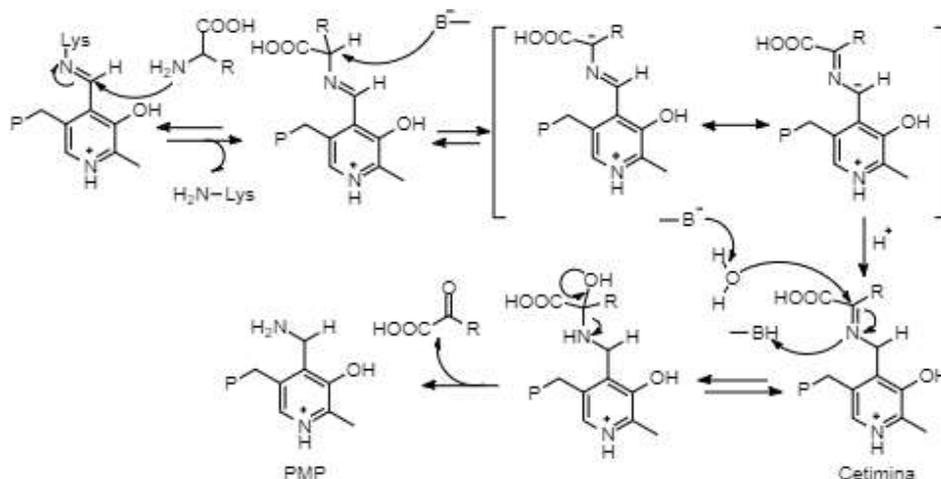


Figura 5: Primera parte del mecanismo de la transaminasa

La segunda parte de la reacción es la regeneración del PLP a partir del PMP para que vuelva a ser funcional, el proceso es el mecanismo inverso al descrito anteriormente. Un nuevo α -cetoácido accede al centro activo de la enzima, ahora es el grupo amino del PMP el que ataca al carbonilo del cetoácido y originan una cetoimina, que tautomeriza hacia una aldimina similar a las anteriores.

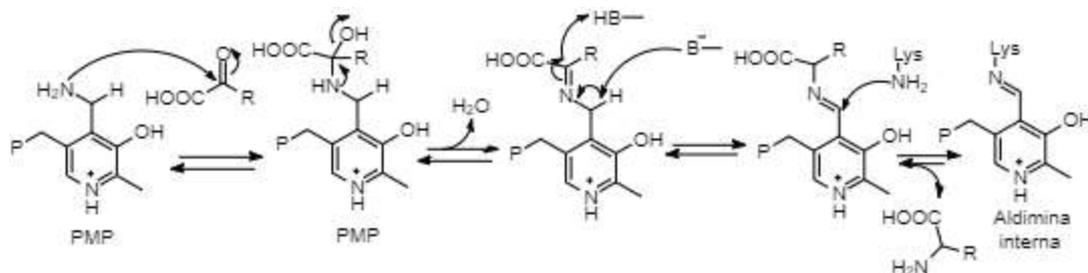


Figura 6: Segunda parte del mecanismo de la transaminasa

La aldimina final que forma el PMP con el α -cetoácido puede hidrolizarse, de tal modo que el grupo amino se transfiere al α -cetoácido y los productos finales son el PLP regenerado y un nuevo aminoácido. Otro posible camino que puede tomar la reacción de regeneración, es que sea directamente la Lys del centro activo de la transaminasa la que ataque a la aldimina, obteniendo la aldimina interna del punto de partida de nuevo⁸.

Inhibidores de γ -aminobutiratotransaminasa

Una de las implicaciones más importantes del PLP es en el metabolismo del ácido gamma-aminobutírico (GABA), participa en su síntesis como cofactor de la Glutamato descarboxilasa (GAD) y su degradación como cofactor de la GABA transaminasa (GABA-T)^{10,11}. El sistema gabaérgico es por excelencia el equilibrio inhibitorio y su disfunción conduce a desórdenes como es el Párkinson, enfermedad de Huntington o disquinesia tardía.

Concentraciones elevadas de GABA en el cerebro protegen de las convulsiones, de tal modo que en un ataque epiléptico si se induce un aumento en la concentración de GABA cesan las convulsiones. Sin embargo, la administración intravenosa de este neurotransmisor no resulta efectiva, ya que no es capaz de atravesar la barrera hematoencefálica por su forma zwitteriónica. En la búsqueda de moléculas capaces de llegar al sistema nervioso central y aumentar la concentración de GABA se diseñaron los inhibidores de GABA-T, que inducen un aumento en la concentración de GABA mediante la inhibición de su degradación. El primer fármaco diseñado fue la **vigabatrina**, un inhibidor suicida basado en el mecanismo de la enzima, se trata de una molécula muy similar al GABA, pero que cuenta con un vinil en α al grupo amino. El grupo vinílico cumple una doble función, por un lado permite el paso del fármaco a través de la barrera hematoencefálica y por otro lado supone la generación de una especie electrófila muy reactiva, que será atacada por la GABA-T, quedando inhibidor y enzima unidas covalentemente¹⁰.

El vinil aumenta la lipofilia de la molécula y gracias a su acción atractora de electrones ejerce un efecto inductivo que resulta en la disminución del pKa del grupo amino. La disminución del

pKa supone una menor proporción de forma zwitteriónica, la forma no zwitteriónica carece de la doble carga característica del GABA y le permite atravesar más fácilmente la barrera hematoencefálica⁴.

La inhibición se inicia una vez formada la aldimina interna, el grupo amino de la vigabatrina ataca a la base de Schiff y resulta el mismo mecanismo que con el sustrato endógeno, la resonancia es similar y el producto es la cetimina. En este momento el grupo vinílico lleva a cabo su función y genera una **imina $\alpha\beta$ -insaturada**, este potente electrófilo es inevitablemente atacado por un residuo nucleofílico del centro activo de la enzima. El producto de esta reacción es un complejo estable PLP-inhibidor-enzima, unidos mediante enlaces covalentes, es decir, unidos de forma irreversible. La formación del complejo irreversible supone la pérdida funcional de la enzima^{4,10}. Es eficaz en el tratamiento de espasmos infantiles, pero su uso ha disminuido porque afecta al campo visual concéntrico¹¹.

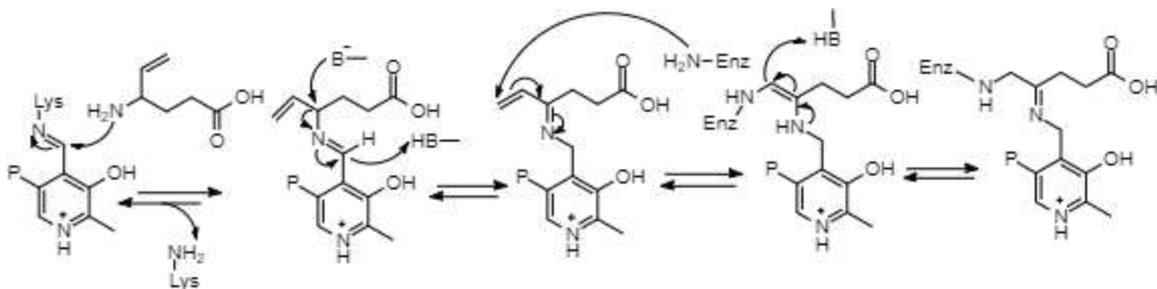


Figura 7: Mecanismo inhibición de la vigabatrina

5.1.2 Descarboxilasas

Las descarboxilasas catalizan la reacción de conversión de un aminoácido en una amina mediante la pérdida de CO_2 , la importancia biológica de estas enzimas reside en la formación de dopamina, GABA, histamina o putrescina. En este caso, el enlace que se rompe del aminoácido sustrato es el C-COOH a partir de la aldimina externa. El mecanismo se inicia con una base del centro activo que atrapa el H del grupo ácido, generando un par de electrones libre que pasará a formar parte de uno de los dobles enlaces característicos del CO_2 . Con la formación de este nuevo doble enlace se produce el desprendimiento de la molécula, dejando un par de electrones libre en el $\text{C}\alpha$ del sustrato. La carga negativa se estabiliza gracias al sistema π -electrón y mediante resonancia se obtiene el intermediario quinoide de la misma forma que ocurría en las transaminasas, en este caso se produce la protonación del $\text{C}\alpha$ y el resultado es un aminoacrilato, que es la aldimina externa. La etapa final es la vuelta al inicio de la reacción, el residuo de Lys del centro activo de la enzima ataca a la aldimina externa, el grupo amino del residuo provoca la salida del producto formado mediante la formación del complejo PLP-enzima o aldimina interna^{4,8}.

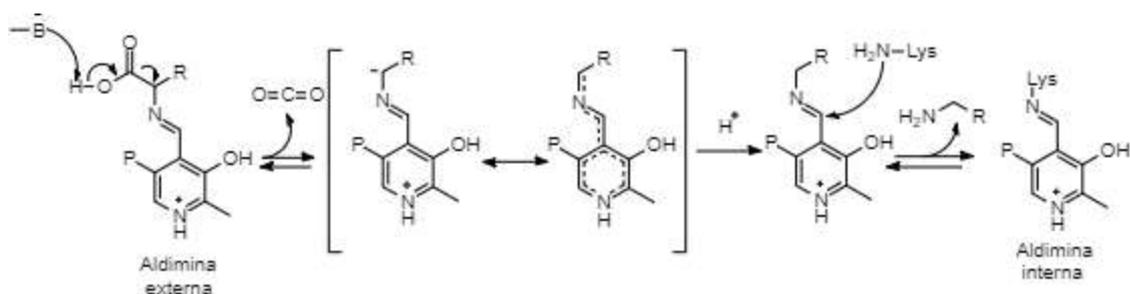


Figura 8: Mecanismo de la descarboxilasa

Inhibidores de la ornitina descarboxilasa

Las **poliaminas** son compuestos nitrogenados de bajo peso molecular presentes en la gran mayoría de células de todos los seres vivos, gracias a la carga positiva con la que cuentan se unen a moléculas con carga negativa como es el ADN o el ARN entre otras. Cumplen funciones esenciales en la célula como reguladoras de la división y diferenciación celular, los requerimientos de poliaminas son más elevados en células de crecimiento rápido según su papel en la síntesis del ADN y que no se conoce del todo. Una de las poliaminas más destacadas es la **putrescina**, a partir de la cual se pueden sintetizar otras poliaminas y que se obtiene de la **ornitina** mediante la ornitina descarboxilasa, siendo éste el paso limitante en la síntesis de poliaminas ^{13,14}.

La **eflornitina** inhibe ornitina descarboxilasa y dada su relación con células con alta tasa de crecimiento, se estudió en el desarrollo de antitumorales y antimicrobianos, dando resultados poco satisfactorios. Este inhibidor si demostró ser de utilidad en infecciones como la enfermedad del sueño, ocasionada por *Trypanosoma brucei* o neumonía en pacientes con SIDA provocada por *Pneumocystis carini* ¹⁴. Más tarde se encontró una nueva aplicación en el hirsutismo facial femenino, en la reducción del vello facial a través de una forma farmacéutica tópica.

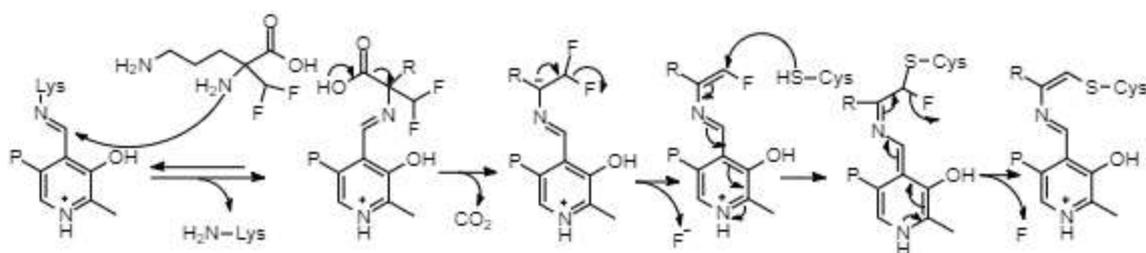


Figura 9: Mecanismo de la eflornitida

El mecanismo de la eflornitida es la inhibición suicida, la molécula es similar a la ornitina y cuenta además con un grupo difluorometil en el C_α. La reacción se desarrolla igual a la endógena hasta que se produce la pérdida de CO₂ y se genera la carga negativa que se distribuye por todo el PLP originando las formas resonantes. En este caso, el par de electrones libre se sitúa en el C_α y se encuentra con un **excelente grupo saliente** en el carbono contiguo, que es el anión fluoruro. Esta situación precipita la eliminación del fluoruro para formar una

imina conjugada, que se comporta como un potente electrófilo y es atacado por el grupo tiol de la Cys-360 de la enzima. Este último ataque resulta en la eliminación del segundo fluoruro y la formación de un enlace covalente que deja unido el PLP con la enzima y con el inhibidor de forma irreversible^{4,8}.

Inhibidores de dopa-descarboxilasa

La dopamina es otro neurotransmisor inhibitorio que normalmente se encuentra en equilibrio con los niveles colinérgicos, quedando ambos regulados. La síntesis es a nivel de sistema nervioso central y periférico a partir de **L-Dopa** gracias a la aminoácido aromático descarboxilasa (AADC). La enfermedad más destacada relacionada con el déficit de dopamina es el **Párkinson**, para solventar esta enfermedad se requiere un aumento en los niveles de dopamina en el sistema nervioso central. La administración directa de dopamina no resulta eficaz por su incapacidad de atravesar la barrera hematoencefálica, es decir, aumenta el tono dopaminérgico únicamente a nivel periférico. La administración de L-Dopa sí resulta beneficiosa, siendo capaz de llegar al sistema nervioso central mediante la utilización de un transportador de α - aminoácidos. La L-Dopa actúa por lo tanto como precursor de la dopamina, sin embargo, como ya se ha mencionado antes, la dopa-descarboxilasa se encuentra tanto en sistema nervioso central como periférico, de tal modo que ofrece efectos beneficiosos a nivel central pero efectos adversos a nivel periférico^{8,15}.

Para solventar estos efectos no deseados se desarrollaron los inhibidores de la dopa-descarboxilasa periférica, el más utilizado es la **carbidopa**, capaz de inhibir de forma reversible a la enzima gracias a que en su estructura cuenta con una hidrazina. Se trata de una molécula similar al sustrato que le permite inhibir de forma competitiva a la enzima; la hidracina reacciona con la aldimina interna para dar lugar a una hidrazona, un producto más estable que la aldimina endógena^{4,8,15}.

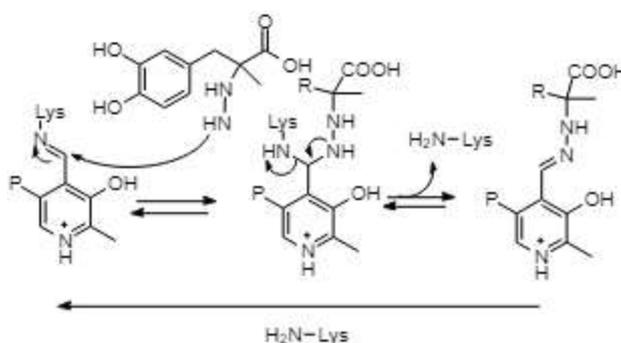


Figura 10: mecanismo de inhibición de la carbidopa

Otro inhibidor, menos importante es la **α -difluorometil dopa**, que presenta un mecanismo de acción prácticamente igual al de la eflornitida. Presenta un buen grupo saliente (fluoruro) que permite la formación de un electrófilo que será atacado por un residuo del centro activo de la enzima, resultando en una inhibición irreversible por la formación de un enlace covalente⁴.

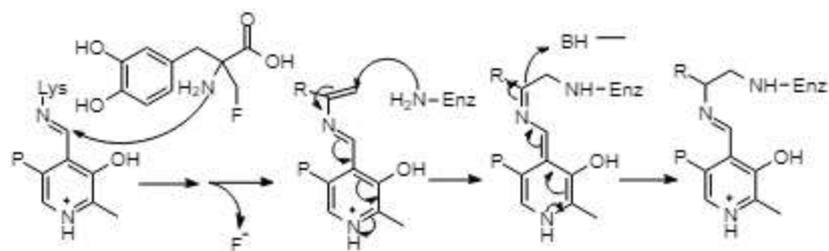


Figura 11: Mecanismo de inhibición de la α -difluorometil dopa

Inhibidores de histidina-descarboxilasa

Muy similar a la Dopa-descarboxilasa, la histidina-descarboxilasa cataliza la síntesis de histamina a partir de histidina. La histamina modula numerosos procesos en mamíferos, como es la inducción de la contracción de músculo liso intestinal y pulmonar, vasodilatación, efecto inotrópico positivo o la secreción gástrica ácida¹⁶.

Los inhibidores de la histidina descarboxilasa se utilizan por sus efectos sobre la secreción ácida como agentes **antiúlceras**. Ejemplos de estos inhibidores son la α -fluorometil histidina o la α -trifluorometil histamina, que presentan un mecanismo de acción similar la eflornitida.

5.1.3 Racemasa

En las reacciones catalizadas por racemasas se lleva a cabo la interconversión de un L-aminoácido en un D-aminoácido y viceversa, de tal modo que independientemente de cual sea el enantiómero sustrato, la reacción se lleva a cabo. El enlace roto en la aldimina externa es el C-H gracias a la actuación de un resto básico de la enzima, tras deslocalizarse la carga por toda la molécula, el $C\alpha$ vuelve a protonarse por la cara opuesta, originando el enantiómero opuesto al de partida⁸. La razón por la cual siempre se obtiene el enantiómero opuesto es que las caras son diastereotópicas, no enantiotópicas, es decir, la disposición de la enzima permite la entrada del H por la cara **menos impedida**, que es la contraria a la cara en la que se ha captado el H del sustrato para dar lugar al carbanión⁴.

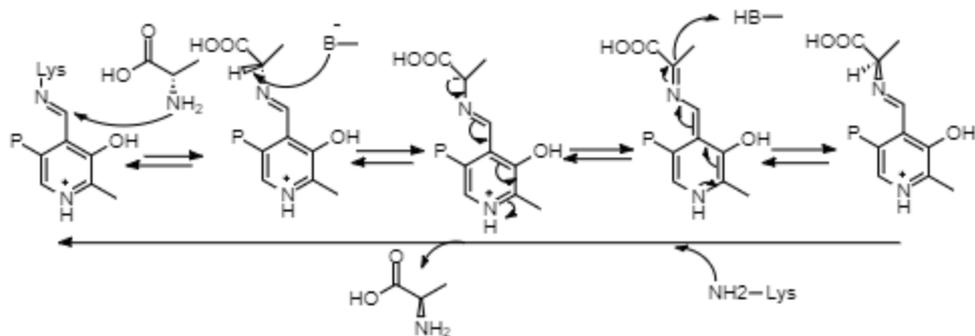


Figura 12: Mecanismo de la racemasa

Inhibidores de racemasa

En la composición de la pared bacteriana, en concreto del peptidoglicano, cobra especial relevancia la alanina racemasa, una enzima capaz de transformar la D-alanina en L-alanina y viceversa. La alanina racemasa no es una enzima propia de los seres humanos, siendo por lo tanto una excelente diana terapéutica en infecciones bacterianas.

La **D-cicloserina** es un análogo cíclico de la alanina, el grupo amino del fármaco ataca a la aldimina interna y se elimina el hidrógeno del C α del aminoácido. La carga negativa se deslocaliza por toda la molécula y cuando se sitúa en el C'4 y gracias a un equilibrio ácido-base se origina un enlace covalente entre el inhibidor y el cofactor. Actualmente la cicloserina se utiliza como tratamiento de segunda línea en infecciones de tuberculosis, no se considera fármaco de primera línea por sus efectos secundarios hepatotóxicos y neurotóxicos.

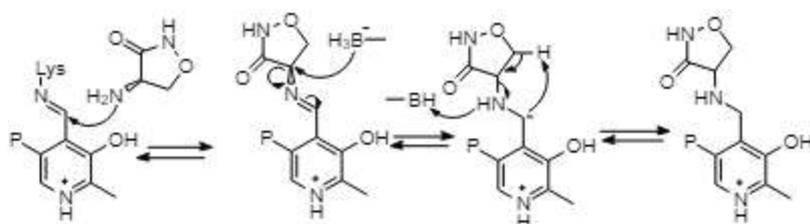


Figura 13: Mecanismo inhibición de la D-cicloserina

5.2 Nuevas alternativas terapéuticas

5.2.1 Coadyuvante en el tratamiento del espectro autista

El autismo es un trastorno generalizado del desarrollo que se caracteriza por determinados **rasgos conductuales**, incluye alteración de la cognición y comunicación social, hipersensibilidad auditiva y comportamientos repetitivos y/u obsesivos. Se trata de un desorden muy heterogéneo, influyen muchos factores etiológicos, genéticos, neurológicos, metabólicos e inmunológicos, comprende una **fisiopatología compleja** que supone una amplia variedad en las manifestaciones ¹⁷.

El tratamiento empleado en personas con trastorno del espectro autista es muy variado y controvertido. Normalmente se llevan a cabo terapias no farmacológicas como es la terapia psicomotora, integración social y auditiva, educación especial e individualizada o psicoterapias expresivas. En cuanto al tratamiento farmacológico existe una amplia gama de posibilidades, los tratamientos para los que existen más evidencias son la utilización de risperidona o antagonista de receptores de serotonina y dopamina. También se utilizan otras terapias con menor evidencia clínica pero aun así recomendadas, como son los inhibidores de la recaptación de serotonina o estimulantes, en este tipo de terapias se encuentran los suplementos vitamínicos y dietéticos ¹⁸. La vitamina B6 es ampliamente utilizada, ha demostrado ser beneficiosa para alrededor de la mitad de enfermos, documentando mejoras

en el comportamiento y normalización de la función cerebral, no presenta efectos adversos y el mecanismo de acción es muy variado ¹⁷.

Una de las principales complicaciones de esta enfermedad son los impedimentos para clasificar los diferentes tipos y subtipos, la dificultad reside en que no se conoce de forma exacta la patogénesis. Está demostrado que la **neurotransmisión** se encuentra afectada, de tal modo que dependiendo de qué neurotransmisor sea el involucrado, se va a encontrar diferente sintomatología. Sin embargo, el mecanismo de neurotransmisión afectado no se puede detectar con exactitud, es decir, hay un equilibrio afectado pero no se sabe cuál. Esta imposibilidad en el diagnóstico es debida a que no se puede calcular con los niveles séricos u otra muestra fácil de obtener, solo se podría llegar a conocer los niveles concretos de neurotransmisores con muestras del tejido cerebral en ensayos postmortem¹⁹.

Se han distinguido desequilibrios en la neurotransmisión excitatoria (serotonina, dopamina y noradrenalina) e inhibitoria (GABA y glicina), así pues un tratamiento adecuado en las condiciones actuales, sería aquel que interviniese en más de un sistema de neurotransmisión. El piridoxal fosfato es un buen candidato gracias a su mecanismo de acción, en el cual actúa como coenzima de multitud de reacciones a nivel de sistema nervioso central, siendo capaz de interferir en varios equilibrios, sin necesidad de saber cuál es el afectado. Se ha estudiado la mejora en la expresión del habla, hipersensibilidad auditiva y torpeza mediante altas dosis de vitamina B6¹⁹.

Las neuronas **gabaérgicas** juegan un papel clave en la modulación de la excitabilidad e integración neuronal, envuelven numerosas funciones, incluyendo la percepción, la iniciación de movimiento y memoria. En análisis post mortem se ha encontrado significativamente reducida la enzima sintetizadora del GABA, este hallazgo indica un balance inhibición/excitación desplazado hacia la actividad excitatoria. El desequilibrio da lugar a una sintomatología característica entre la que destaca la epilepsia, esta patología la padecen alrededor del 30% de personas autistas¹⁹.

El PLP es promotor de la síntesis de GABA mediante su actuación como cofactor de la GABA descarboxilasa, al potenciar la acción de esta enzima, aumentan las concentraciones de GABA y por consiguiente el balance excitación/inhibición ayuda a reestablecer¹⁹.

La alteración en el sistema **serotoninérgico** es uno de los hallazgos más consistentes y reproducibles en la fisiopatología del autismo, encontrándose los niveles de serotonina por debajo de los normales. En este caso la alteración es debida a más de un factor, se encuentra alterada la síntesis del neurotransmisor, de transportadores y de receptores. El tratamiento con vitamina B6 permite la elevación en los niveles de serotonina, gracias a su acción como cofactor de la aminoácido aromático descarboxilasa (AADC), enzima que cataliza la síntesis de serotonina a partir del L-5-hidroxitriptófano. Esta enzima también está implicada en el **sistema dopaminérgico**, catalizando la síntesis de dopamina a partir de L-dopa, el equilibrio de este neurotransmisor se encuentra alterado en pacientes autistas, en el que se encuentra inhibido. La dopamina es un neurotransmisor implicado en la actividad motora, motivación, atención y recompensa. El mecanismo por el cual se desencadena el desequilibrio es la alteración del transportador celular de dopamina hacia el interior de la célula, la sobreexcitación de este

transportador provoca una menor concentración extracelular de dopamina y la consiguiente disfunción dopaminérgica.

La utilización de vitamina B6 favorece la acción de la AADC y por lo tanto potencia el aumento de la concentración tanto de dopamina como de serotonina, en busca del restablecimiento de los niveles fisiológicos.

Las **neuronas noradrenérgicas** por su parte se concentran en el núcleo del locus coeruleus y están implicadas en procesos de atención, excitación y respuesta física. La actividad noradrenérgica atípica en este locus se ha identificado en niños con autismo que presentan trastorno de atención, gracias a experimentos diagnósticos sobre la pupila en los que se demostró un mayor periodo de latencia de constricción pupilar en pacientes autistas. Este signo sugiere impedimentos en el sistema noradrenérgico que perturban el reflejo pupilar, de tal modo que los niveles de noradrenalina se encuentran nuevamente por debajo de los valores normales. En este caso el PLP es capaz de aumentar la síntesis de noradrenalina, pero no de forma directa sobre las enzimas sintetizadoras de este neurotransmisor. La noradrenalina se puede sintetizar a partir de dopamina gracias a la dopamina-Beta-hidroxiilasa, esta enzima no utiliza como cofactor el piridoxal fosfato, pero como ya se ha mencionado antes, la suplementación con esta vitamina aumenta los niveles de dopamina, induciendo la síntesis de noradrenalina a partir de dopamina¹⁹.

El **sistema histaminérgico** regula varios comportamientos y funciones fisiológicas, su deficiencia se asocia con trastornos neuropsiquiátricos como es el caso del autismo. En pacientes autistas se llevaron a cabo estudios postmortem en los que se detectaron alteraciones en la expresión de receptores de histamina y otros genes histaminérgicos en la corteza prefrontal dorsolateral. En este caso el receptor implicado es el receptor de histamina 3 que regula la liberación de histamina, la utilización de agonistas inversos como el ciproxifan demostró mejoría en la sociabilidad debido al aumento en la actividad de histamina. La suplementación con vitamina B6 también presenta efectos beneficiosos en este equilibrio, la histidina descarboxilasa HDC cataliza la conversión de L-histidina a histamina y utiliza como cofactor el piridoxal fosfato, favoreciendo por lo tanto la suplementación la síntesis de histidina¹⁹.

La **glicina** es un neurotransmisor inhibitor del sistema nervioso central, los receptores postsinápticos de glicina presentan una estructura pentamérica compuesta por 3 subunidades alfa y 2 subunidades beta. Unida fuertemente a las subunidades beta se encuentran un grupo de proteínas encargadas de aglutinar las moléculas de receptor a la membrana plasmática. Estas proteínas también se asocian al receptor de GABA_A y tienen por lo tanto un importante papel en el andamiaje del receptor a la membrana plasmática²⁰. Una de estas proteínas aglutinantes es la colibistina, la mutación de esta proteína es una alteración que se puede encontrar en pacientes autistas y que supone la pérdida de parte de la función del receptor, además también se han encontrado mutaciones en las subunidades alfa en pacientes autistas que propician esta pérdida funcional. Las irregularidades en el receptor postsináptico de la glicina conllevan la hipofunción de todo el sistema de este neurotransmisor inhibitor. La síntesis de glicina se inicia con la fosfoserina aminotransferasa PSAT, una enzima encargada

de la transformación de la glucosa a L-serina, después la serina hidroximetiltransferasa SHMT cataliza la síntesis de glicina a partir de la L-serina. La vitamina b6 es capaz de aumentar la síntesis de glicina por su actuación como cofactor de la fosfoserina aminotransferasa PSAT. Gracias al aumento en las concentraciones de glicina se puede contrarrestar parte de la hipofunción de los receptores¹⁹.

Por otro lado, la L-serina puede transformarse en D-serina, y tanto la D-serina como la glicina son moduladores del receptor NMDA, receptor del neurotransmisor **glutamato**, que está implicado en procesos de desarrollo del sistema nervioso, plasticidad cerebral y neurodegeneración. La disminución en los niveles de serina provoca desórdenes en el paciente asociados al retraso psicomotor, crisis convulsivas, cataratas y nistagmus²¹. Además, en adultos con autismo se han detectado altos niveles de anticuerpos anti-NMDA, que pueden llegar a desembocar en encefalitis anti-NMDA. La suplementación con vitamina b6 puede ayudar a reestablecer los niveles de serina gracias a su acción como cofactor en la serina racemasa, que cataliza la conversión de la L-serina a D-serina¹⁹.

5.2.2 Meningitis pneumocócica

La meningitis pneumocócica es una de las enfermedades más destacadas del sistema nervioso central, asociada a una alta mortalidad y morbilidad, se trata de una infección de las meninges originada por la bacteria gram+ *Streptococcus pneumoniae*^{22,23,24}. A pesar de los tratamientos antimicrobianos y de los intensos cuidados, alrededor del 50% de los supervivientes presentan **secuelas** como es la pérdida de audición, alteraciones en la memoria y en el aprendizaje, déficits senso-motores y convulsiones entre otros²⁴. Las alteraciones son debidas primordialmente a la **apoptosis neuronal** en hipocampo y corteza cerebral, que es desencadenada por la intensa inflamación en el tejido nervioso central²⁵. El PLP interviene en un amplio rango de mecanismos que van a proteger del daño neuronal al paciente, participando en procesos de reparación del ADN y de señalización en la cadena inflamatoria principalmente.

Reparación del ADN

Las alteraciones en la cadena de ADN se desencadenan a partir de diferentes mecanismos, como son los fallos de la polimerasa, la radiación o el estrés oxidativo, en el caso de la meningitis pneumocócica el daño en el ADN es debido a éste último factor, las **especies reactivas de oxígeno** (ROS)²². El aumento de los niveles de ROS es debido a la elevada concentración de glutamato desarrollada durante la infección en el tejido nervioso, que supone la activación de los **receptores NMDA**. Existen muchas enzimas implicadas en la reparación del ADN, dada la multitud de fallos en la cadena que pueden surgir, una de ellas es la endonucleasa, capaz de escindir enlaces fosfodiéster del interior de la cadena nucleotídica. Mediante la escisión de la cadena, se puede reemplazar el tramo afectado por una secuencia correcta, de este modo se restauran principalmente distorsiones de la cadena como es por ejemplo la formación del dímero de timina²⁶. Un tipo de endonucleasa es la **APE1**, que además de ser una endonucleasa, forma parte de los mecanismos de regulación de

la expresión génica, siendo considerada un factor destacado en la respuesta inmunitaria e inflamatoria. La expresión de la APE1 es desigual en el sistema nervioso central y se ve reducida en determinadas situaciones como es la hipoxia o isquemia en el hipocampo y medula espinal, o en una lesión por compresión en la corteza cerebral ²².

En cualquier caso, los cambios en la expresión de esta enzima suponen situaciones de riesgo a las que el organismo se encuentra expuesto; la disminución en la expresión de esta proteína compromete la reparación del ADN celular, que puede conducir a la muerte celular. Por esta razón, un aumento notorio en los niveles de expresión de APE1 se considera un marcador de daño celular.

En definitiva, La APE1 promueve la supervivencia neuronal, en el contexto de la infección por meningitis pneumocócica se relaciona también con otros factores; el factor de inducción de apoptosis (AIF) y la caspasa 3, vinculados con procesos de muerte celular. La transcripción de APE1 está relacionada con los patrones de transcripción de estos dos factores, de tal modo que durante la infección, los niveles de APE1 aumentan, al igual que ocurre con el AIF y la caspasa 3, estos niveles van a desencadenar la muerte celular²².

Durante el desarrollo de la enfermedad se ha descrito un importante mecanismo de degradación de la APE1, la enzima se escinde en una proteína menor, de 33-34 kDa, la cual no ejerce su función reparadora del ADN. La aparición de la APE1 truncada es debida a una modificación postraduccional, que se activa en presencia de altos niveles de caspasa 3. Por su parte, el AIF se libera como consecuencia de los cambios de permeabilidad en la membrana mitocondrial en presencia de altas concentraciones de ROS ²². Así pues, el estrés oxidativo celular provoca daños en el ADN que la célula trata de solventar a través del aumento en la síntesis de APE1, sin embargo la acción es frustrada por la degradación de la APE1 como consecuencia de los altos niveles de caspasa 3. Junto con el factor de inducción de apoptosis, esta serie de mecanismos van a propiciar la muerte celular.

El aporte de vitamina B6 ha demostrado una disminución en los niveles de APE1 junto con la desaparición de la APE1 truncada, sin embargo, esta relación no es directa, pues no existe un mecanismo directo de modulación de la síntesis de APE1 por parte de la vitamina B6. El mecanismo por el que el piridoxal fosfato ejerce esta acción protectora, es la participación como coenzima de enzimas **precursoras de GABA a partir de glutamato**, de tal modo que los elevados niveles de glutamato descienden a través de la formación de GABA.

Las células de la microglía se activan por cambios en el microambiente o daño celular, estas células liberan ROS, como es el NO, el H₂O₂, proteínas como la catepsina o glutamato. A su vez, la actuación conjunta de NO y los ROS inhibe la respiración mitocondrial en las neuronas colindantes, provocando la liberación de más glutamato²⁷.

El glutamato se une a receptores NMDA posinápticos asociados a canales de calcio, de tal modo que su activación conlleva un aumento intracelular en la concentración de calcio. Las altas concentraciones de calcio suponen la activación de fosfolipasas, proteasas y endonucleasas, así como la óxido nítrico sintasa. La consiguiente síntesis de NO junto con el aumento en los niveles de calcio hacen que disminuya la producción de ATP, de tal modo que

las bombas ATP dependientes no pueden llevar a cabo su acción y se produce la entrada masiva de agua y sodio, al contrario que ocurre con el potasio, que sale de la célula. Esta cadena de acontecimientos desemboca en un edema celular y muerte por necrosis, debido al daño mitocondrial y los daños en el DNA, que provocan la activación de genes involucrados en la muerte por apoptosis²⁷.

La activación del receptor de glutamato NMDA causa **muerte por excitotoxicidad** mediada por ROS²⁷. El mecanismo por el que el piridoxal fosfato ejerce la acción protectora, es la participación como coenzima de enzimas precursoras de GABA a partir de glutamato, de tal modo que los elevados niveles de glutamato descienden a través de la formación de GABA. La menor elevación en los niveles de glutamato evita la unión con los receptores NMDA y por consiguiente actúa disminuyendo la toxicidad asociada al glutamato, existe menor daño en el ADN²².

Vía de la quinurenina

La fisiopatología de la meningitis pneumocócica se inicia con la activación del sistema inmune del paciente, que da lugar a reacciones inflamatorias en el tejido cerebral. Una de las reacciones provocadas por el ambiente inflamatorio es la **degradación del triptófano** según la vía de la quinurenina²².

Por un lado, esta vía permite la formación de un metabolito neuroprotector, el **ácido quinureico**, el cual es capaz a altas concentraciones de actuar como antagonista de los receptores NMDA. Nuevamente se promueve la menor activación de los receptores NMDA para así evitar la toxicidad vinculada a estos receptores asociada al estrés oxidativo e inflamación^{28,22}.

Por otro lado, esta vía permite la síntesis de nicotinamida, a partir de la cual se sintetiza el **NAD⁺**²⁹. Se trata de un conocido cofactor que interviene en numerosas enzimas y es además una molécula clave en el metabolismo energético de la célula. Una de las enzimas que utiliza el NAD⁺ es la ADN polimerasa, que durante enfermedades neuroinflamatorias puede llegar a acabar con las reservas de NAD⁺ de la células y precipitar la muerte celular²².

El PLP interviene a este nivel optimizando el flujo de sustrato en la vía de la quinureina, gracias a su actuación como cofactor en dos enzimas clave: la quinurenina aminotransferasa y la quinureasa. La mejora en el funcionamiento de esta vía es capaz de atenuar la muerte celular mediante el mantenimiento de los niveles de NAD⁺, permitiendo que la célula no agote sus reservas energéticas en situaciones límite como es la infección pneumocócica y gracias a la acción neuroprotectora del ácido quinureico²².

Piridoxal fosfato y el ritmo circadiano

La vitamina B6 interviene en el ritmo circadiano, que estaría relacionado con procesos de apoptosis, gracias a la acción **neuroprotectora de la melatonina**. En el cerebro, la degradación del triptófano puede llevarse a cabo mediante la vía de la quinurenina anteriormente descrita, o la vía metoxindólica, en ésta segunda vía se obtiene como metabolito principal la melatonina. La melatonina ejerce su efecto neuroprotector por su acción antagónica en los

receptores NMDA, al igual que el metabolito principal de la vía de la quinurenina, el ácido quinureico²².

La síntesis de melatonina está condicionada por el ritmo circadiano y el eje de la regulación es la glándula pineal, encargada de secretar melatonina ante distintos estímulos como es la oscuridad. Otro de los factores que regulan la secreción de melatonina en la glándula pineal es el nivel de NAD⁺, relacionando el ritmo circadiano con el balance energético celular. Así pues, normalmente existe un equilibrio en el cual por el día se degrada el triptófano a través de la vía de la quinurenina y en la noche a través de la vía metoxindólica. Sin embargo este equilibrio se pierde en situaciones de estrés como fiebre, convulsiones epilépticas y patologías, es el caso de una infección por *Pneumococo meningitidis*. El estrés crónico, la privación del sueño y la disminución en los niveles de melatonina son algunos de los efectos debidos a un desequilibrio en el ritmo circadiano, la melatonina tiene un efecto antioxidante y neuroprotector, por lo que su disminución va a contribuir al daño celular.

El PLP ayuda en la restauración del equilibrio gracias a su acción como cofactor de diferentes encimas de la vía de la quinurenina y mediante la actuación sobre la glándula pineal para aumentar la secreción de melatonina²².

Relación con los mediadores de la inflamación

El proceso inflamatorio se caracteriza por presentar un escenario en el que intervienen un importante número de estructuras, células y mediadores. La multitud de procesos e intermediarios supone una compleja sucesión de acontecimientos, que en casos como la infección pneumocócica desemboca en la mayoría de los casos en un intenso panorama inflamatorio. Son muchos los estudios que demuestran la **acción antiinflamatoria** de la vitamina B6, los mecanismos mediante los cuales lleva a cabo su acción son muy variados, involucrando la modulación en la expresión de genes o la activación/inhibición de receptores entre otros. No se conoce con exactitud todos los puntos en los que participa el PLP como componente antiinflamatorio, así como tampoco se conoce en muchos casos el mecanismo por el cual lleva a cabo su acción²².

La **activina A** es un mediador liberado por las células de la microglía, que participa en procesos de diferenciación y crecimiento celular, evitando la destrucción de tejido nervioso. En la suplementación con vitamina B6 se encuentra una actividad anormalmente superior en los receptores de activina A, promoviendo la protección celular. Por el contrario, para otros mediadores como la **interleucina 8**, se ha descrito una actividad en sus receptores menor. En este caso se trata de una quimioquina proinflamatoria encargada del reclutamiento de neutrófilos, por lo que la inhibición de su actividad sugiere un efecto antiinflamatorio. En ambos casos, los receptores están acoplados a proteínas G y están modulados por el PLP.

El factor de activación plaquetaria (PAF) es un potente activador de las células inflamatorias, es hidrolizado por la **PAF hidrolasa**. Esta enzima también hidroliza fosfolípidos de cadena corta, que son sustratos proapoptóticos, se trata por lo tanto de una enzima con una acción doblemente antiapoptótica. La expresión de esta enzima está modulada por la presencia de

PLP, al favorecer la expresión de la PAF hidrolasa se ejerce un efecto protector contra la muerte celular y antiinflamatorio²².

Estos son algunos de los ejemplos que se han descrito en la acción antiinflamatoria de la vitamina B6, todavía siguen en estudio todos los procesos involucrados.

6. Conclusiones

La actuación del piridoxal fosfato como coenzima supone una pieza imprescindible del complejo mecanismo que es un organismo animal. Interviene como coenzima en numerosas reacciones de destacable importancia biológica; las aplicaciones terapéuticas de esta molécula se conocen desde hace décadas y todavía hoy en día se siguen buscando nuevas alternativas terapéuticas basadas en el PLP.

La utilización del piridoxal fosfato en el trastorno autista ha demostrado efectos beneficiosos gracias a su mecanismo polivalente para aumentar la concentración de neurotransmisores. De este modo es posible cubrir la deficiencia en la neurotransmisión propia de esta patología, sin ser necesario saber cuál es el neurotransmisor afectado. No se trata del tratamiento específico ideal, que sería aquel que cubriese el equilibrio afectado únicamente. Sin embargo, ante la imposibilidad de determinar de forma específica el neurotransmisor que se encuentra en menor proporción, este tratamiento se plantea como una alternativa.

La infección de las meninges a causa de *Streptococcus pneumoniae* supone en un considerable porcentaje de los enfermos, la aparición de secuelas y trastornos de por vida. La instauración de estos desórdenes es provocada por la intensa inflamación durante la enfermedad, que conlleva la muerte de parte del tejido cerebral. La actuación de la vitamina B6 como neuroprotector es la razón por la cual el tratamiento combinado con el antibiótico previene de la aparición de secuelas de por vida en enfermos. La actividad neuroprotectora es posible gracias al efecto antagónico sobre receptores NMDA y de la acción antiinflamatoria que resulta de la suplementación con PLP, así como la producción de neuroprotectores como la melatonina y el mantenimiento del metabolismo energético celular.

7. Bibliografía

1. Parra M, Stahl S, Hellmann H. Vitamin B₆ and Its Role in Cell Metabolism and Physiology. *Cells*. 2018; 7(7):84.
2. Gung C. Vitamin B6 related epilepsy during childhood. *Forum*. 2007; 30(5):396-401.
3. Pyridoxal phosphate (PLP) - Toney Lab [website]. Sites.google.com. 2019 [cited 19 May 2019]. Available from: <https://sites.google.com/site/mdtoneylab/research/pyridoxal-phosphate-enzymes>
4. Fernandez Fernandez M. Inactivadores basados en el mecanismo de piridoxal-5'-fosfato. Madrid; 2001 p. 1-12.
5. Plaza del pino I. Cinética y equilibrio de formación de bases de schiff del fosfato de piridoxal en mezclas agua-dioxano [Doctorada]. Universidad de Granada; 1990.
6. Braunstein A, Goryachenkova E. The pyridoxal-phosphate-dependent enzymes exclusively catalyzing reactions of β -replacement. *Biochimie*. 1976; 58(1-2):5-17.
7. Fersht, A. Estructura y mecanismo de los enzimas. Reverté.1980; 6: 54-57
8. Salvá A. Estudio teórico de la reaccionabilidad de compuestos modelo de la vitamian B6 con aminas [Doctorado]. Universidad de las Islas Baleares; 2005.
9. Mark Berh J, Stryer L, Tymoczko J. Bioquímica. 6th ed. Reverte; 2007: 658-659.
10. Rodríguez C, Guevara B, Lobo G. Mecanismo de acción de fármacos antiepilépticos. Informe médico. 2010; 12(6):321-326.
11. Richard B. Silverman. The Organic Chemistry of drug Design and Drug Action. Londres: Academic Press Limited; 1992,190-196
12. López-Hernandez E, Bravo J, Solís H. Mecanismo de acción de los antiepilépticos y nuevos antiepilépticos. *Revista de neurología*. 2006; 43(1):17-41.
13. Mendoza C, Rocha P, J. Poliaminas: reguladores del crecimiento con múltiples efectos en las plantas. *Revista Palmas*. 2002; 23(4): 39-46.
14. Algranati, I. D., Serra, M. P., Carrillo, C., & González, N. S. Biología molecular del metabolismo de poliaminas en parásitos tripanosomátidos. Expresión de genes heterólogos de ornitina y arginina decarboxilasa en *Trypanosoma cruzi*. *Química Viva*, 2006; 5(2): 78-94.
15. Bastide M, Meissner W, Fasano S, Alcacer C. Pathophysiology of L-dopa-induced motor and non-motor complications in Parkinson's disease. *Elsevier*. 2015; 132(1):96-168.
16. Ramos-Jiménez, J., Garduño-Torres, B., & Arias-Montaño, J. A. Histamina y comunicación intercelular: 99 años de historia. *Revista Biomédica*. 2009; 20(2): 100-126.

17. Obara, T., Ishikuro, M., Tamiya, G., Ueki, M., Yamanaka, C., Mizuno, S., Kobayashi, T. Potential identification of vitamin B6 responsiveness in autism spectrum disorder utilizing phenotype variables and machine learning methods. *Scientific reports*. 2018; 8(1): 14840.
18. Fuentes-Biggi, J., Ferrari-Arroyo, M. J., Boada-Muñoz, L., Touriño-Aguilera, E., Artigas-Pallarés, J., Belinchón-Carmona, M., Díez-Cuervo, A. (2006). Guía de buena práctica para el tratamiento de los trastornos del espectro autista. *Rev neurol*. 2006; 43(7), 425-38.
19. Sato, K. (2018). Why is vitamin B6 effective in alleviating the symptoms of autism? *Medical hypotheses*. 2018; 115, 103-106.
20. Rueda, C. A., & López-Corcuera, B. *Fisiopatología de la neurotransmisión glicinérgica inhibidora*. Monografías de la Real Academia Nacional de Farmacia. 2009
21. Hospital sant Joan. Deficiencia de serina. *Metabolicas.sjdhospitalbarcelona.org*. [website]. 2019 [cited 30 April 2019]. Available from: https://metabolicas.sjdhospitalbarcelona.org/sites/default/files/def_serina_2009_ca_st.pdf
22. Coutinho L, de Oliveira A, Witwer M, Leib S, Agnez-Lima L. DNA repair protein APE1 is involved in host response during pneumococcal meningitis and its expression can be modulated by vitamin B6. *Journal of Neuroinflammation*. 2017; 14(1).
23. Yang J, El Qaidi S, Bai G. The Vitamin B6 Biosynthesis Pathway in *Streptococcus pneumoniae* Is Controlled by Pyridoxal 5'-Phosphate and the Transcription Factor PdxR and Has an Impact on Ear Infection. *Journal of Bacteriology*. 2013; 195(10):2187-2196.
24. Zysset-Burri, D. C., Bellac, C. L., Leib, S. L., & Wittwer, M. Vitamin B6 reduces hippocampal apoptosis in experimental pneumococcal meningitis. *BMC infectious diseases*, 2013; 13(1), 393.
25. Xu, G., Liu, X., & Wang, Y. (2018). The cerebral protective effect and mechanism of action of vitamin B6 adjuvant ceftriaxone in experimental pneumococcal meningitis. *Brain research*, 2018; 1695: 53-64.
26. Revisión y reparación del AND- Khan Academy. [website]. 2019 [cited 19 May 2019]. Available from: <https://es.khanacademy.org/science/biology/dna-as-the-genetic-material/dna-replication/a/dna-proofreading-and-repair>
27. Dorado, C., Rugerio C., Selva A. Estrés oxidativo y neurodegeneración. *Revista de la Facultad de Medicina*, 2003; 46(6).
28. Bryleva, E. Y., & Brundin, L. Kynurenine pathway metabolites and suicidality. *Neuropharmacology*, 2017; 112: 324-330.