



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ

Τμήμα Διαιτολογίας και Διατροφολογίας



ΤΜΗΜΑ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑΣ
ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΟΛΟΓΙΑΣ

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**Χορήγηση Large Neutral Amino Acids σε ασθενείς που πάσχουν
από Φαινυλκετονουρία.**

**Administration of Large Neutral Amino Acids to patients with
Phenylketonuria.**

Γούλα Ιωάννα (3520139)

Μικελοπούλου Χριστίνα (3520063)

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ

Μιγδάνης Αθανάσιος, Ακαδημαϊκός υπότροφος

Τρίκαλα, 2024

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ

- 2.1:** Βασική δομή ανθρώπινου γονιδίου υδροξυλάσης της φαινυλαλανίνης (PAH).
- 2.2:** Μεταβολισμός φαινυλαλανίνης σε ασθενείς με PKU.
- 2.3:** Ο επιπολασμός της ανεπάρκειας υδροξυλάσης φαινυλαλανίνης (HPA) και οι διαφορετικές κατηγορίες της ανά τον κόσμο, το 2020.
- 3.1:** Φυσιολογία Αιματοεγκεφαλικού Φραγμού.
- 5.1:** Οι συγκεντρώσεις των μονοαμινών του εγκεφάλου και των σχετικών μεταβολιτών σε ποντίκια PKU στις διάφορες πειραματικές δίαιτες καθώς και σε ποντίκια ελέγχου PKU και WT σε δίαιτα AIN-93 M.
- 5.2:** Συγκεντρώσεις μονοαμινεργικών νευροδιαβιβαστών.
- 5.3:** Αναλογίες εγκεφαλικών μονοαμινεργικών νευροδιαβιβαστών προς πρόδρομες ουσίες.
- 5.4:** Οι συγκεντρώσεις στον εγκέφαλο μεμονωμένων LNAA σε ποντίκια PKU στις διάφορες πειραματικές δίαιτες καθώς και σε ποντίκια ελέγχου PKU και WT σε δίαιτα AIN-93 M.
- 5.5:** Συγκεντρώσεις LNAA στον εγκέφαλο.
- 5.6:** Συγκεντρώσεις phe πλάσματος έναντι εγκεφάλου σε ποντίκια με PKU σε διαφορετικές διατροφικές θεραπείες.
- 5.7:** Οι συγκεντρώσεις πλάσματος μεμονωμένων LNAA σε ποντικούς PKU στις διάφορες πειραματικές δίαιτες καθώς και σε ποντίκια ελέγχου PKU και WT σε δίαιτα AIN-93 M.
- 5.8:** Συγκεντρώσεις LNAA στο πλάσμα.
- 5.9:** Μέση τιμή phe αίματος ποντικών πριν και μετά την χορήγηση NeoPhe.
- 5.10:** Τιμές phe αίματος ανάμεσα στα 2 γκρουπ πριν και μετά τη χορήγηση συμπληρώματος LNAAs.
- 5.11:** Μέση αναλογία phe/tyr πριν και μετά τη χορήγηση συμπληρωμάτων LNAAs.
- 5.12:** Boxplots για το λόγο phe/tyr πλάσματος που μετρήθηκε σε κάθε φάση.
- 5.13:** Μέσα επίπεδα phe 12 μήνες πριν και μετά τη χορήγηση συμπληρωμάτων LNAAs.

- 5.14:** Boxplots για phe πλάσματος ($\mu\text{mol/L}$) που μετρήθηκαν σε κάθε φάση.
- 5.15:** Μείωση phe αίματος μετά τη χορήγηση 0,5 g/kg NeoPhe
- 5.16:** Μείωση phe αίματος μετά τη χορήγηση 1,0 g/kg NeoPhe
- 5.17:** Ανταπόκριση του σκευάσματος NeoPhe στη phe αίματος των ασθενών μετά από 1 εβδομάδα λήψης του σκευάσματος.
- 5.18:** Ανταπόκριση του σκευάσματος NeoPhe στη phe αίματος των ασθενών μετά από 1 εβδομάδα λήψης του σκευάσματος
- 5.19 :** Μέσα επίπεδα tyr 12 μήνες πριν και μετά τη χορήγηση συμπληρωμάτων LNAAs.
- 5.20:** Μέση αναλογία φαινυλαλανίνης, τυροσίνης και phe/tyr.
- 5.21:** Psychological General Well Being Index (PGWBI). **(A)** Δείκτης συνολικής βαθμολογίας για κάθε ασθενή στο T0 και μετά από 3 και 12 μήνες συμπλήρωσης LNAAs (T3, T12). **(B)** Μέσες τιμές των υποκλιμάκων PGWBI σε T0, T3 και T12.
- 5.22:** Αναλογία 6- σουλφατοξυμελατονίνης και Trp/LNAA ούρων.
- 5.23:** Αναλογία ντοπαμίνης και Tyr/LNAA ούρων.

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας 5.1: Μελέτες και αποτελέσματα δράσης χορήγησης συμπληρωμάτων Large Neutral Amino Acids (LNNAs) σε ζώα.

Πίνακας 5.2: Μελέτες και αποτελέσματα δράσης χορήγησης συμπληρωμάτων Large Neutral Amino Acids (LNNAs) σε ανθρώπους.

Πίνακας 5.3: Σύγκριση μεταξύ των μέσων τιμών του λόγου Phe, Tyr και Phe/Tyr όλων των ασθενών στους δώδεκα μήνες πριν από την έναρξη της θεραπείας με LNAA και κατά τη διάρκεια της θεραπείας με LNAA.

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Με την ολοκλήρωση της πτυχιακής μας εργασίας νιώθουμε την ανάγκη να ευχαριστήσουμε τον κ. Αθανάσιο Μιγδάνη για τις επιστημονικές του γνώσεις, τη συμβολή και τη βοήθεια που μας προσέφερε κατά την εκπόνηση της εργασίας μας. Τέλος, θα θέλαμε να ευχαριστήσουμε όλους του καθηγητές του τμήματος Διαιτολογίας και Διατροφολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας για το αέναο ενδιαφέρον, την αφοσίωση και την άρτια διδασκαλία τους.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ	10
ABSTRACT	11
ΕΙΣΑΓΩΓΗ	14
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1	15
ΜΕΤΑΒΟΛΙΚΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ	15
1.1 Έννοια:	15
1.2 Κατηγορίες μεταβολικών νοσημάτων:	15
1.3 Συμπτώματα:	16
1.4 Διάγνωση:	16
1.4.1 Κλινική Αξιολόγηση:	17
1.4.2 Εργαστηριακές εξετάσεις:	17
1.4.3 Γενετικές εξετάσεις:	17
1.4.4 Προγεννητική Διάγνωση:	17
1.5 Θεραπεία:	18
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2	18
ΦΑΙΝΥΛΚΕΤΟΝΟΥΡΙΑ	18
2.1 Έννοια :	18
2.2 Παθοφυσιολογία της νόσου:	19
2.3 PKU σε γενετικό επίπεδο:	19
2.4 Μεταβολισμός της Φαινυλαλανίνης:	20
2.4.1 Σε άτομα που δεν πάσχουν από PKU:	20
2.4.2 Σε ασθενείς που πάσχουν από PKU:	20
2.4.3 Επίπεδα τυροσίνης (tyr) σε άτομα που πάσχουν από Φαινυλκετονουρία(PKU):	21
2.5 Διάγνωση Φαινυλκετονουρίας:	21
2.6 Κατηγοριοποίηση Φαινυλκετονουρίας (PKU):	22
2.7 Μητρική Φαινυλκετονουρία:	23

2.8 Επιπτώσεις και συμπτωματολογία που προκαλούνται λόγω των αυξημένων επιπέδων φαινυλαλανίνης στον ανθρώπινο οργανισμό:	23
2.8.1 Επιπτώσεις:	23
2.8.2 Συμπτώματα:	24
2.8.3 Ελλείψεις σε μικροθρεπτικά και μακροθρεπτικά συστατικά σε ασθενείς με PKU:	24
2.9 Επιπολασμός Φαινυλκετονουρίας (PKU):	25
2.10 Ιστορία της Φαινυλκετονουρίας (PKU):	26
2.11 Τρόπος Αντιμετώπισης:	27
2.12 Διαθέσιμες Διαιτητικές θεραπείες:	27
2.12.1 Θεραπεία βασισμένη στη δίαιτα:	27
2.12.2 Μεγάλα Ουδέτερα Αμινοξέα (LNAAs):	27
2.12.3 Γλυκομακροπεπίδια (GMP):	28
2.12.4 Μίγματα αμινοξέων:	28
2.12.5 Τετραυδροβιοπτερίνη (BH4):	29
2.12.6 Δίαιτα βασισμένη σε ολιγοπεπίδια:	29
2.12.7 Πεγκαβαλιάση:	29
2.13 Παράγοντες που επηρεάζουν τη συμμόρφωση στη θεραπεία:	29
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3	30
Μεγάλα ουδέτερα αμινοξέα(Large Neutral Amino Acids, LNAAs)	30
3.1 Τι είναι τα LNAAs:	30
3.2 Αιματοεγκεφαλικός Φραγμός(Blood Brain Barrier,BBB):	31
3.3 Φαινυλκετονουρία και Μεγάλα ουδέτερα αμινοξέα (LNAAs):	31
3.4 Τρόπος μεταφοράς Μεγάλων ουδέτερων αμινοξέων (LNAAs):	32
ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	33
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4	33
ΣΚΟΠΟΣ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ	33
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5	34

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	34
5.1 Μελέτες σε ζώα	34
5.1.1 Χορήγηση Large Neutral Amino Acids (LNAAs) και επίπεδα μονοαμινών στον εγκέφαλο των ποντικών:	37
5.1.2 Χορήγηση Large Neutral Amino Acids (LNAAs) και επίπεδα LNAAs στον εγκέφαλο των ποντικών:	39
5.1.3 Χορήγηση Large Neutral Amino Acids (LNAAs) και επίπεδα LNAAs στο πλάσμα του αίματος των ποντικών:	41
5.1.4 Large Neutral Amino Acids (LNAAs) και μητρική φαινυλκετονουρία:	43
5.2 Μελέτες σε ανθρώπους:	45
5.2.1 Επίδραση των LNAAs στα επίπεδα φαινυλαλανίνης, τυροσίνης και του λόγου αυτών:	48
5.2.2 SR LNAAs και επίπεδα LNAAs στο πλάσμα των ασθενών με PKU:	53
5.2.3 Large Neutral Amino Acids (LNAAs) και νευροψυχολογικές επιδράσεις:	55
5.2.4 Συμπληρώματα LNAAs και επίδραση στα επίπεδα των μονοαμινών του εγκεφάλου σε ασθενείς με PKU.	56
ΣΥΖΗΤΗΣΗ	58
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	60
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	61

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η φαινυλκετονουρία (PKU) αποτελεί ένα σημαντικό πρόβλημα δημόσιας υγείας παγκοσμίως. Οι τρέχουσες κατευθυντήριες γραμμές για τη διαχείριση της PKU προτείνουν την αυστηρή αποφυγή τροφίμων πλούσιων σε φαινυλαλανίνη. Η διατροφή βασισμένη σε χαμηλή περιεκτικότητα ή αυστηρά περιορισμένη σε φαινυλαλανίνη συμπληρωμένη με LNAAs αποτελούν δύο χαρακτηριστικά σχήματα που έχουν κεντρίσει το επιστημονικό ενδιαφέρον τα τελευταία χρόνια. Σκοπός της τρέχουσας εργασίας είναι η διερεύνηση της επίδρασης της συμπληρωματικής χορήγησης Large Neutral Amino Acids (LNAAs) σε ασθενείς που πάσχουν από φαινυλκετονουρία. Στο πλαίσιο της εργασίας πραγματοποιήθηκε μελέτη ανασκόπησης τυχαιοποιημένων κλινικών δοκιμών και παρεμβατικών μελετών (RCTs και Interventional Studies/ Clinical Trials) μέσω των διεθνών βάσεων δεδομένων “PubMed”, “Google scholar”, “Cochrane Library” και “Scopus”. Από τη βιβλιογραφική ανασκόπηση επιλέχθηκαν 8 μελέτες σε ανθρώπους (4 RCTs και 4 κλινικές δοκιμές), οι οποίες πληρούσαν τα κριτήρια που τέθηκαν και 4 μελέτες σε ζώα (2 RCTs και 2 preclinical experimental intervention studies). Τα αποτελέσματα της πλειάδας των μελετών που πραγματοποιήθηκαν σε ποντίκια, έδειξαν σημαντική αύξηση των επιπέδων των μονοαμινών του εγκεφάλου, αύξηση ενός συνόλου νευροδιαβιβαστών, καθώς και μείωση των επιπέδων φαινυλαλανίνης τόσο στον εγκέφαλο, όσο και στο πλάσμα των ποντικών, όταν τους χορηγήθηκε δίαιτα συμπληρωμένη με LNAAs. Όσον αφορά την επίδραση των LNAAs σε ανθρώπους, η πλειονότητα των μελετών έδειξαν σημαντική μείωση των επιπέδων phe μόνο σε όσους δυσκολεύονταν να συμμορφωθούν με τη δίαιτα, αύξηση της τυροσίνης (tyr), μείωση του λόγου phe/tyr, βελτίωση της σύνθεσης της μελατονίνης, καθώς και βελτίωση των νευροψυχολογικών, γνωστικών και κινητικών επιδόσεων των ατόμων. Συμπερασματικά, η συμπληρωματική χορήγηση LNAAs σε ασθενείς με PKU μπορεί να συμβάλλει στη βελτίωση της βιοχημικής και νευροψυχολογικής κατάστασης των ασθενών. Η αύξηση των επιπέδων τυροσίνης και η μείωση του λόγου phe/tyr αποτελούν δύο από τους πιο σημαντικούς παράγοντες στους οποίους φαίνεται να επιδρά η χορήγηση των LNAAs. Ωστόσο, περαιτέρω έρευνες απαιτούνται προκειμένου να εξεταστεί η αποτελεσματικότητα της συνδυαστικής χρήσης LNAAs με άλλες θεραπευτικές προσεγγίσεις.

Λέξεις-κλειδιά: PKU, LNAAs, phe blood levels, low protein diet, neuropsychological performances.

ABSTRACT

Phenylketonuria (PKU) is a severe public health issue, globally. The current guidelines for the management of PKU suggest strict avoidance of foods high in phenylalanine. A low in phenylalanine diet or a phenylalanine restricted diet with a supplementation of LNAAs are two dietary regimens for the treatment of PKU. The purpose of this study is to assess the effect of the supplementary administration of Large Neutral Amino Acids in patients with PKU. In the context of study carried out a literature review of randomized clinical trials and interventional studies (RCTs and Interventional Studies/Clinical Trials) from international databases such as "PubMed", "Google scholar", "Cochrane Library" and "Scopus". The results from the literature review, 8 studies in humans (4 RCTs and 4 clinical trials) that met the criteria and 4 animal studies (2 RCTs and 2 preclinical experimental intervention studies) were selected. The results of the majority of studies performed in mice showed a significant increase in brain monoamine levels, an increase in a number of neurotransmitters and a decrease in both plasma and blood phenylalanine levels in mice when given a diet supplemented with LNAAs. Regarding the effect of LNAAs in humans, the majority of studies showed a significant decrease in phenylalanine levels only in those who had difficulty complying with the diet, an increase in tyrosine (tyr), a decrease in the phe/tyr ratio, an improvement in melatonin synthesis as well as an improvement in neuropsychological, cognitive and kinetic performance. To sum up, the supplementary administration of LNAAs in patients with PKU may contribute to the improvement of the biochemical and neuropsychological status of patients.. The increase in tyrosine levels and the decrease in the phe/tyr ratio are two of the most important factors that appear to be affected by the administration of LNAAs. However, further research is needed to examine the efficacy of the use of LNAAs in combination with other therapeutic approaches.

Keywords: PKU, LNAAs, phe blood levels, low protein diet, neuropsychological performances.

ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ

PKU	Φαινυλκετονουρία
HPA	Υπερφαινυλαλανιναιμία
Phe	Φαινυλαλανίνη
Tyr	Τυροσίνη
PAH	Υδροξυλάση της φαινυλαλανίνης
BH4	Τετραϋδοπτερίνη
GMP	Γλυκομακροπεπτίδια
BBB	Αιματοεγκεφαλικός Φραγμός
LNAAS	Large Neutral Amino Acids

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η φαινυλκετονουρία (PKU) αποτελεί μια σοβαρή ενδογενή διαταραχή του μεταβολισμού, με σοβαρές επιπτώσεις στον οργανισμό των ασθενών που πάσχουν από PKU. Ο επιπολασμός της νόσου ανέρχεται στις 1:200.000 γεννήσεις στις αφρικανικές περιοχές, με το ποσοστό αυτό να αυξάνεται στους λευκούς πληθυσμούς, όπου 1:15.000 άτομα πάσχουν από PKU (Hillert et al,2020)^[14]. Η PKU αν παραμείνει αθεράπευτη μπορεί να προκαλέσει ένα πλήθος νευρολογικών, κινητικών, συμπεριφορικών και ψυχιατρικών προβλημάτων, όπως καθυστέρηση της ανάπτυξης, νοητική υστέρηση, υπερκινητικότητα, διαταραχές συντονισμού και ισορροπίας κ.ά (De Giorgi et al,2023)^[9], (Van Spronsen et al,2010)^[33]. Οι ασθενείς που πάσχουν από PKU, πέρα από τον προσωπικό χρόνο που δαπανούν τόσο στις κλινικές όσο και στην προετοιμασία των ειδικών για την ασθένεια γευμάτων τους, συχνά έρχονται αντιμέτωποι και με το υψηλό κόστος των σκευασμάτων. Οι στρατηγικές για τη βελτίωση της έκβασης της νόσου κρίνονται απαραίτητες, προκειμένου να μειωθεί ο αυξανόμενος αριθμός παιδιών που γεννιούνται με PKU.

Η επίπτωση και ο επιπολασμός της νόσου ποικίλλει σημαντικά μεταξύ των διαφορετικών γεωγραφικών περιοχών. Σύμφωνα με δημογραφικά στοιχεία, ο επιπολασμός στην Ευρώπη κυμαίνεται περίπου από 1:2.700 γεννήσεις στο πιο νότιο τμήμα της (π.χ. Ιταλία) έως και >1:100.000 γεννήσεις στο βορειότερο τμήμα της (π.χ. Φινλανδία) (Hillert et al,2020)^[14]. Παράλληλα, η ισχυρή ετερογένεια που παρατηρείται στα μεταβολικά κέντρα παγκοσμίως αναφορικά με τη διαχείριση των ασθενών, έχει ως αποτέλεσμα η φροντίδα των ασθενών να χαρακτηρίζεται ως ελλιπής, παρά τις ευρωπαϊκές κατευθυντήριες οδηγίες. Το γεγονός αυτό οφείλεται εν μέρει και στη διαθεσιμότητα ή μη της χορηγούμενης θεραπείας από την κυβέρνηση της κάθε χώρας.

Ο κύριος σκοπός της θεραπείας της PKU αποτελεί τόσο η χαμηλή πρόσληψη φαινυλαλανίνης, όσο και η επαρκής πρόσληψη τυροσίνης (Stone et al,2023)^[31]. Οι τρέχουσες κατευθυντήριες γραμμές για τη διαχείριση της PKU προτείνουν την αυστηρή αποφυγή τροφίμων πλούσιων σε φαινυλαλανίνη, η οποία έχει αποδειχθεί αποτελεσματική στο παρελθόν. Ποικίλες έρευνες έχουν υπογραμμίσει την αποτελεσματικότητα της διατροφικής θεραπείας στη διατήρηση των επιπέδων φαινυλαλανίνης στο αίμα σε ασφαλή επίπεδα, καθώς και στη βελτίωση των μέσων επιπέδων νοημοσύνης σε παιδιά και σε ενήλικες (Dalei et al,2022)^[8]. Διάφορα διατροφικά σχήματα ως προς την περιεκτικότητα σε φαινυλαλανίνη έχουν δοκιμαστεί. Η διατροφή βασισμένη σε χαμηλή περιεκτικότητα ή αυστηρά περιορισμένη σε φαινυλαλανίνη συμπληρωμένη με LNAA's αποτελούν δύο χαρακτηριστικά σχήματα, τα οποία

κερδίζουν έδαφος με την αύξηση της επιστημονικής γνώσης. Τα LNAAs αποτελούν μια ομάδα αμινοξέων με μη-πολικές αλυσίδες, η οποία περιλαμβάνει τη φαινυλαλανίνη (phe), την τρυπτοφάνη (trp), την τυροσίνη (tyr), τη θρεονίνη (thr), τη μεθειονίνη (met), τη βαλίνη(val), τη λευκίνη(leu), την ισολευκίνη(ile) και την ιστιδίνη(his) (Fernstrom et al,1972)^[11]. Η συμπληρωματική χορήγησή τους, σύμφωνα με τα τωρινά δεδομένα, φαίνεται να αποτελεί μέρος των κλινικών συστάσεων για τη μεταβολική αντιμετώπιση της PKU. Ωστόσο, περαιτέρω έρευνες απαιτούνται, προκειμένου να εξεταστεί ενδελεχώς η ασφάλεια και η αποτελεσματικότητα των LNAAs.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1

ΜΕΤΑΒΟΛΙΚΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ

1.1 Έννοια:

Τα μεταβολικά νοσήματα αποτελούν μια ομάδα ασθενειών που προκαλούνται από διαταραχές στις καθοριστικές για τη ζωή και τη λειτουργία των ανθρώπινων κυττάρων χημικές αντιδράσεις. Αυτές οι ασθένειες συχνά συνδέονται με ανωμαλίες στα ένζυμα ή τις ορμόνες που ρυθμίζουν το μεταβολισμό. Μπορεί να είναι κληρονομικές, όπου γενετικές μεταλλάξεις επηρεάζουν το μεταβολισμό του ατόμου από τη στιγμή της γέννησής του ή επίκτητες, οι οποίες αναπτύσσονται λόγω περιβαλλοντικών παραγόντων ή άλλων ασθενειών. Οι κληρονομικές μεταβολικές διαταραχές συχνά περιλαμβάνουν την αδυναμία διάσπασης ή αποθήκευσης ορισμένων θρεπτικών συστατικών, με αποτέλεσμα τη συσσώρευση τοξικών προϊόντων ή την έλλειψη βασικών μορίων στο σώμα (DeBerardinis & Thompson, 2012)^[10].

1.2 Κατηγορίες μεταβολικών νοσημάτων:

Τα μεταβολικά νοσήματα κατηγοριοποιούνται ανάλογα με το «σημείο» που εντοπίζεται η διαταραχή. Κάποιες από τις κύριες κατηγορίες μεταβολικών νοσημάτων είναι οι εξής:

- **Διαταραχές λιπιδίων:** Οι διαταραχές αυτές επηρεάζουν τον τρόπο με τον οποίο το σώμα μεταβολίζει τα λίπη (π.χ. υπερχοληστερολαιμία και υπερτριγλυκεριδαιμία) (Grundy et al.,2019) ^[13].
- **Διαταραχές υδατανθράκων:** Ο οργανισμός αδυνατεί να παράγει ή να αξιοποιήσει την ινσουλίνη αποτελεσματικά, έχοντας ως αποτέλεσμα την εμφάνιση Σακχαρώδη Διαβήτη (ΣΔ) (American Diabetes Association,2018)^[6].

- **Διαταραχές αμινοξέων:** Ο οργανισμός δεν είναι ικανός να μεταβολίσει τα αμινοξέα, όπως για παράδειγμα στην περίπτωση της Φαινυλκετονουρίας (PKU), όπου παρατηρείται η αδυναμία του μεταβολισμού του αμινοξέος της φαινυλαλανίνης (phe) σε τυροσίνη (tyr) (Williams et al.,2008)^[39].
- **Διαταραχές συσσώρευσης:** Αυτή η κατηγορία διαταραχών οφείλεται στην ανικανότητα του οργανισμού να διασπάσει ή να αποβάλει ορισμένα μόρια, οδηγώντας στη συσσώρευση τοξικών ουσιών (π.χ. η νόσος του Gaucher) (Bohra& Nair,2011)^[2]

1.3 Συμπτώματα:

Τα συμπτώματα των μεταβολικών νοσημάτων μπορεί να διαφέρουν ανάλογα με τη διαταραχή, όμως υπάρχουν ορισμένα τα οποία είναι κοινά για κάθε είδους διαταραχή. Κάποια από αυτά είναι τα εξής:

- **Ανεξήγητη αύξηση ή απώλεια βάρους:** Συναντάται κυρίως σε διαταραχές που επηρεάζουν το μεταβολισμό των λιπιδίων ή των υδατανθράκων (Grundy et al.,2019)^[13].
- **Κόπωση και αδυναμία:** Κύρια αιτία αυτών των συμπτωμάτων είναι η ανεπαρκής ενεργειακή παραγωγή, η οποία είναι ικανή να οδηγήσει σε γενικευμένη κόπωση και μυϊκή αδυναμία (DeBerardinis & Thompson et al., 2012)^[10].
- **Απώλεια όρεξης:** Μερικές μεταβολικές διαταραχές επηρεάζουν την όρεξη και την πρόσληψη τροφής (Williams et al.2008)^[39].
- **Αναπτυξιακά προβλήματα κατά την παιδική ηλικία:** Μερικές κληρονομικές μεταβολικές διαταραχές μπορούν να επηρεάσουν τη σωματική και την πνευματική ανάπτυξη των παιδιών (“The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease,8th Edition 2001)^[32].
- **Επεισόδια υπεργλυκαιμίας ή υπογλυκαιμίας:** Αυτά τα επεισόδια συναντώνται συχνά σε διαταραχές του μεταβολισμού των υδατανθράκων, όπως ο διαβήτης (American Diabetes Association,2018)^[6].

1.4 Διάγνωση:

Η διάγνωση των μεταβολικών διαταραχών απαιτεί μια ολοκληρωμένη προσέγγιση που περιλαμβάνει κλινική αξιολόγηση, εργαστηριακές εξετάσεις και γενετική ανάλυση. Στόχος της είναι ο προσδιορισμός της διαταραχής, καθώς και ο καθορισμός της κατάλληλης φαρμακευτικής αγωγής.

1.4.1 Κλινική Αξιολόγηση:

Η κλινική αξιολόγηση περιλαμβάνει λεπτομερές ιατρικό ιστορικό και φυσική εξέταση. Μέσω αυτής ουσιαστικά πραγματοποιείται η ανίχνευση συμπτωμάτων όπως κόπωση, μυϊκή αδυναμία, προβλήματα ανάπτυξης στα παιδιά και άλλων ενδείξεων που μπορεί να υποδηλώνουν μεταβολική διαταραχή (DeBerardinis & Thompson, 2012) [\[10\]](#).

1.4.2 Εργαστηριακές εξετάσεις:

- **Αιματολογικές εξετάσεις:** Περιλαμβάνουν μέτρηση των επιπέδων γλυκόζης, λιπιδίων, αμινοξέων και άλλων μεταβολιτών στο αίμα. Αυτές οι εξετάσεις βοηθούν στον εντοπισμό ανωμαλιών που σχετίζονται με συγκεκριμένες διαταραχές (Grundy et al., 2019) [\[13\]](#).
- **Ανάλυση ούρων:** Η ανάλυση των ούρων μπορεί να ανιχνεύσει την παρουσία ανεπιθύμητων μεταβολιτών, όπως κετόνες και οργανικά οξέα, υποδηλώνοντας έτσι τυχόν διαταραχές στο μεταβολισμό των υδατανθράκων ή των λιπών (“The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease, 8th Edition 2001) [\[32\]](#).
- **Δοκιμασίες ανοχής γλυκόζης:** Χρησιμοποιούνται κυρίως για τη διάγνωση του διαβήτη και άλλων διαταραχών του μεταβολισμού της γλυκόζης. Αυτές οι εξετάσεις μετρούν την ανταπόκριση του οργανισμού στη γλυκόζη (American Diabetes Association, 2018) [\[6\]](#).

1.4.3 Γενετικές εξετάσεις:

Οι γενετικές εξετάσεις θεωρούνται υψίστης σημασίας για τη διάγνωση πολλών κληρονομικών μεταβολικών διαταραχών. Αυτές οι εξετάσεις περιλαμβάνουν:

- **Γονιδιακή Ανάλυση:** Η ανάλυση του DNA χρησιμοποιείται για τον εντοπισμό μεταλλάξεων που προκαλούν μεταβολικές διαταραχές. Αυτό μπορεί να βοηθήσει στην ταυτοποίηση συγκεκριμένων γενετικών σφαλμάτων (Williams et al., 2008) [\[39\]](#).
- **Ανάλυση Ενζυμικής Δραστηριότητας:** Οι εξετάσεις αυτές μετρούν τη δραστηριότητα των ενζύμων στο αίμα ή στους ιστούς. Οι ανεπάρκειες ή οι ανωμαλίες στην ενζυμική δραστηριότητα μπορεί να υποδεικνύουν συγκεκριμένες μεταβολικές διαταραχές (Beutler, 2006) [\[1\]](#).

1.4.4 Προγεννητική Διάγνωση:

Σε οικογένειες με ιστορικό μεταβολικών διαταραχών, η προγεννητική διάγνωση μπορεί να πραγματοποιηθεί μέσω ανάλυσης αμνιακού υγρού ή χοριακών λαχνών για την ανίχνευση γενετικών ανωμαλιών στο έμβρυο (“The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease, 8th Edition 2001) [\[32\]](#).

1.5 Θεραπεία:

Η θεραπεία των μεταβολικών νοσημάτων είναι εξειδικευμένη και ποικίλλει ανάλογα με την εκάστοτε διαταραχή:

- **Διατροφικές αλλαγές:** Σε πολλές περιπτώσεις, η ρύθμιση της διατροφικής πρόσληψης είναι ζωτικής σημασίας. Για παράδειγμα, οι ασθενείς με φαινυλκετονουρία (PKU) πρέπει να αποφεύγουν τα τρόφιμα που περιέχουν φαινυλαλανίνη (Williams et al., 2008) [\[39\]](#).
- **Φαρμακευτική αγωγή:** Μπορεί να περιλαμβάνει φάρμακα που βοηθούν στον έλεγχο των συμπτωμάτων ή στην αντικατάσταση των ελλείψεων σε ένζυμα ή ορμόνες. Για παράδειγμα, στο Σακχαρώδη Διαβήτη (ΣΔ), η ινσουλίνη είναι απαραίτητη (American Diabetes Association, 2018) [\[6\]](#).
- **Ενζυμική θεραπεία:** Σε ορισμένες περιπτώσεις, η ενζυμική θεραπεία μπορεί να βοηθήσει στην αντικατάσταση των ελλειπόντων ενζύμων. Η θεραπεία αυτή χρησιμοποιείται για ασθενείς που πάσχουν από ασθένειες, όπως η νόσος του Gaucher (Beutler et al., 2006) [\[1\]](#).
- **Γονιδιακή θεραπεία:** Εξελίσσεται ως μια πολλά υποσχόμενη θεραπευτική προσέγγιση για ορισμένες κληρονομικές μεταβολικές διαταραχές, αν και βρίσκεται ακόμη σε πειραματικό στάδιο (DeBerardinis & Thompson et al., 2012) [\[10\]](#).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2

ΦΑΙΝΥΛΚΕΤΟΝΟΥΡΙΑ

2.1 Έννοια :

Με τον όρο φαινυλκετονουρία (PKU) , αναφερόμαστε σε μια ενδογενή διαταραχή του μεταβολισμού, η οποία κληρονομείται με αυτοσωμικό υπολειπόμενο τρόπο. Συγκεκριμένα, η

PKU οφείλεται στην ανεπάρκεια ή και στην έλλειψη του ηπατικού ενζύμου υδροξυλάση της φαινυλαλανίνης (PAH), τα μειωμένα επίπεδα ή η απουσία αυτού δεν επιτρέπουν την μετατροπή του αμινοξέος της φαινυλαλανίνης (Phe) σε τυροσίνη (Tyr). (Organization of Teratology Informantions Specialists (OTIS),2022)^[24].

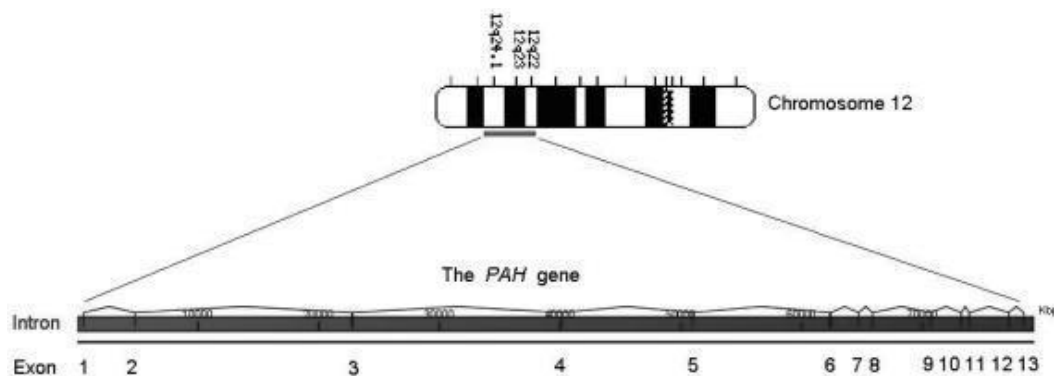
2.2 Παθοφυσιολογία της νόσου:

Η υδροξυλάση της φαινυλαλανίνης (PAH) είναι ένα ένζυμο που περιέχει σίδηρο και αποτελείται από τέσσερα υπομονάδες. Αυτό το ένζυμο καταλύει τη μετατροπή της φαινυλαλανίνης (Phe) σε τυροσίνη (Tyr) μέσω μιας διαδικασίας υδροξυλίωσης. Για την αντίδραση αυτή απαιτείται μοριακό οξυγόνο ως συμπράγοντας και η ανηγμένη πτερίνη της τετραϋδοπτερίνης (BH4) ως συν-υπόστρωμα. Ο ρυθμός με τον οποίο πραγματοποιείται η υδροξυλίωση από την υδροξυλάση της φαινυλαλανίνης (PAH) καθορίζει το μεταβολισμό της φαινυλαλανίνης (Phe). Παρά τα σύγχρονα ερευνητικά μέσα, η ακριβής ποσότητα φαινυλαλανίνης (Phe) που χρησιμοποιείται για τον καθαρό μεταβολισμό των πρωτεϊνών δεν είναι γνωστή. Υπολογίζεται ότι περίπου το 10-20% της τυπικής διατροφικής πρόσληψης Phe χρησιμοποιείται στην ανακύκλωση πρωτεϊνών, ενώ το υπόλοιπο μετατρέπεται σε τυροσίνη (Tyr) μέσω της προαναφερόμενης δράσης της υδροξυλάσης της φαινυλαλανίνης (PAH). Η τυροσίνη (Tyr) συμμετέχει σε πολλές μεταβολικές διεργασίες, όπως η παραγωγή των νευροδιαβιβαστών ντοπαμίνης, αδρεναλίνης και νορεπινεφρίνης, η σύνθεση θυροξίνης στο θυρεοειδή αδένα και η παραγωγή μελανίνης στα μελανοκύτταρα. Επιπλέον, η τυροσίνη (Tyr) μπορεί να καταβολιστεί πλήρως σε ακετοξικό και φουμαρικό οξύ, τα οποία χρησιμοποιούνται ως καύσιμα στον κύκλο του Krebs. Η κληρονομική ή η λειτουργική ανεπάρκεια της υδροξυλάσης της φαινυλαλανίνης (PAH) οδηγεί σε υπερφαινυλαλανιναιμία (HPA), ήπια ανεπάρκεια Tyr και, σε σοβαρές περιπτώσεις, απέκκριση φαινυλοπυρουβικού στα ούρα, που είναι το προϊόν της αυθόρμητης απαμίνωσης της Phe, καθώς και άλλων φαινοκελτονικών σωμάτων (Van Spronsen et. al.,2021) ^[34].

2.3 PKU σε γενετικό επίπεδο:

Το γονίδιο της υδροξυλάσης της φαινυλαλανίνης (PAH) βρίσκεται στο χρωμόσωμα 12 (12q23.2), το οποίο έχει έκταση ίση περίπου με 171kb και περιέχει συνολικά 13 (δεκατρία) εξώνια. Από την κωδικοποιούσα περιοχή (cDNA), η οποία έχει έκταση περίπου με 2,4kb, προκύπτει ένα πολυπεπτίδιο, που αποτελείται από 452 αμινοξέα. Κατά συνέπεια, η υπερφαινυλαλανιναιμία (HPA) είναι αποτέλεσμα είτε μεταλλάξεων που προκαλούνται στο γενετικό τόπο της υδροξυλάσης της φαινυλαλανίνης (PAH), είτε οφείλεται σε μεταλλάξεις που

έχουν λάβει χώρα σε ένα σύνολό γενετικών τόπων, που επηρεάζουν της σύνθεση της τετραϋδοπτερίνης (BH₄), η οποία διαδραματίζει πολύ σημαντικό ρόλο για τη διεξαγωγή της αντίδρασης υδροξυλίωσης της Phe σε Tyr, καθώς και την «αναγέννηση» της, οδηγώντας έτσι σε μη-PKU HPA (Van Spronsen et. al.,2021) [34]. Τα πιο συχνά είδη μεταλλάξεων φαίνεται να οφείλονται σε αντικαταστάσεις βάσεων (62% των αλληλόμορφων PAH) και σε μικρότερο ποσοστό σε αφαιρέσεις νουκλεοτιδίων ή ακόμα και γονιδίων, σε σφάλματα ματίσματος, σε σιωπηλούς πολυμορφισμούς, σε αλλαγές αλληλουχίας που οδηγούν σε κωδικόνιο λήξης και σπανιότερα σε προσθήκη βάσεων (Williams et al.,2008) [39].



Εικόνα 2.1: Βασική δομή ανθρώπινου γονιδίου υδροξυλάσης της φαινυλαλανίνης (PAH). Πηγή: [39]

2.4 Μεταβολισμός της Φαινυλαλανίνης:

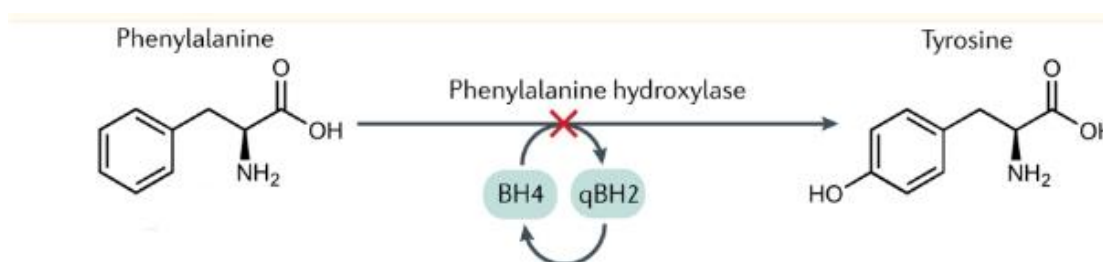
2.4.1 Σε άτομα που δεν πάσχουν από PKU:

Η αντίδραση της υδροξυλίωσης της L-phe σε L-tyr, η οποία καταλύεται από την υδροξυλάση της φαινυλαλανίνης (PAH), λαμβάνει χώρα κυρίως στο ήπαρ και στα εγγύς σωληνάρια των νεφρών. Για την πραγματοποίηση της αντίδρασης είναι απαραίτητη η παρουσία της ανηγμένης πτερίνης της τετραϋδοπτερίνης (BH₄), μαζί με σιδηρούχο σίδηρο και μοριακό οξυγόνο, τα οποία δρουν ως συμπαραγόντες. Κατά τη διάρκεια της υδροξυλίωσης της φαινυλαλανίνης (phe), η τετραϋδοπτερίνη (BH₄) οξειδώνεται σε κινोειδή διυδροβιοπτερίνη (qBH₂) και στη συνέχεια η κινοειδή διυδροβιοπτερίνη (qBH₂), ακολουθώντας το πρότυπο της ανακύκλωσης, μετατρέπεται με τη συμβολή των ενζύμων ξανά σε τετραϋδοπτερίνη (BH₄), προκειμένου να υποστηριχθεί η συνεχόμενη υδροξυλίωση της φαινυλαλανίνης (Williams et al.,2008) [39].

2.4.2 Σε ασθενείς που πάσχουν από PKU:

Σε ασθενείς που πάσχουν από φαινυλκετονουρία (PKU), δηλαδή άτομα που εμφανίζουν παθογενετικές αλλαγές στο γονίδιο της υδροξυλάσης της φαινυλαλανίνης (PAH) και οι οποίες

μπορεί να οδηγήσουν στη σημαντικά μειωμένη ενζυμική της δράση ή ακόμη και στην παντελή έλλειψη αυτής, φαίνεται να μην ισχύουν όσα έχουν προαναφερθεί σχετικά με το μεταβολισμό της φαινυλαλανίνης (phe) σε τυροσίνη (tyr). Αναλυτικότερα, η αντίδραση σε περίπτωση παντελούς έλλειψης του ενζύμου δεν πραγματοποιείται στον οργανισμό του ατόμου, ενώ στην περίπτωση της μειωμένης παρουσίας του ενζύμου στον ανθρώπινο οργανισμό πραγματοποιείται σε πολύ χαμηλά επίπεδα. Αποτέλεσμα όλων αυτών είναι η συσσώρευση φαινυλαλανίνης (phe) στο σώμα. Οι πολύ υψηλές τιμές στις συγκεντρώσεις φαινυλαλανίνης (phe) στο αίμα χαρακτηρίζονται ως υπερφαινυλαλανιναιμίες (HPA) (Williams et al.,2008) ^[39].



Εικόνα 2.2: Μεταβολισμός φαινυλαλανίνης σε ασθενείς με PKU. Πηγή: ^[34]

2.4.3 Επίπεδα τυροσίνης (tyr) σε άτομα που πάσχουν από

Φαινυλκετονουρία (PKU):

Σύμφωνα με όσα προαναφέρθηκαν, ο μεταβολισμός του αμινοξέος της φαινυλαλανίνης σε ασθενείς με φαινυλκετονουρία φαίνεται να πραγματοποιείται από ελάχιστα έως και καθόλου. Αποτέλεσμα αυτού του γεγονότος είναι η υπερβολική αύξηση των επιπέδων φαινυλαλανίνης στον ορό του αίματος και η επακόλουθη μείωση των επιπέδων τυροσίνης (tyr). Πιο αναλυτικά, έχει φανεί ότι η συγκέντρωση του αμινοξέος της τυροσίνης (tyr) είναι πιο χαμηλή σε άτομα που πάσχουν από φαινυλκετονουρία (PKU), συγκριτικά με μη πάσχοντες. Τα περισσότερα περιστατικά υποτυροσιναιμίας, όπως ονομάζεται η χαμηλή συγκέντρωση τυροσίνης στο αίμα, μοιάζουν να μην είναι τόσο σοβαρά, αφού η διατροφική πρόσληψη του συγκεκριμένου αμινοξέος μπορεί να καλύψει τις ανάγκες του ατόμου σε αυτό (Van Spronsen et. al.,2021) ^[34].

2.5 Διάγνωση Φαινυλκετονουρίας:

Η διάγνωση της φαινυλκετονουρίας (PKU) γίνεται κυρίως μέσω νεογνικού ελέγχου, ο οποίος περιλαμβάνει τη συλλογή δείγματος αίματος από τη φτέρνα του βρέφους εντός των πρώτων 24 έως 48 ωρών από τη γέννηση (Van Wegberg et. al, 2017) ^[37]. Το δείγμα αυτό αναλύεται για την ανίχνευση αυξημένων επιπέδων φαινυλαλανίνης (Wilcken & Wiley, 2008) ^[38]. Εάν τα αποτελέσματα είναι θετικά, διεξάγονται περαιτέρω αιματολογικές και

γενετικές εξετάσεις για να επιβεβαιωθεί η διάγνωση και να προσδιοριστεί η σοβαρότητα της διαταραχής. Οι εξετάσεις αυτές μετρούν εκ νέου τα επίπεδα φαινυλαλανίνης και αξιολογούν τη δραστηριότητα του ενζύμου της υδροξυλάσης της φαινυλαλανίνης (PAH), προσδιορίζοντας το βαθμό της εναπομείνουσας δραστηριότητάς του. Τα επίπεδα της φαινυλαλανίνης στο αίμα χρησιμοποιούνται για την κατηγοριοποίηση της PKU, καθορίζοντας παράλληλα την κατάλληλη θεραπευτική προσέγγιση (Van Wegberg et. al, 2017) [\[37\]](#).

2.6 Κατηγοριοποίηση Φαινυλκετονουρίας (PKU):

Η κατηγοριοποίηση της φαινυλκετονουρίας (PKU) εξαρτάται τόσο από τα επίπεδα της φαινυλαλανίνης αίματος που ανιχνεύονται μέσω των διαγνωστικών δειγματοληψιών αίματος, όσο και από την περαιτέρω ανάλυση για τον εντοπισμό του είδους του ενζύμου που εμφανίζει ανεπάρκεια ή παντελή έλλειψη.

Οι κατηγορίες είναι οι εξής:

➤ **Απλή παροδική Υπερφαινυλαλανιναιμία:**

Οφείλεται στην περιγενετική ανωριμότητα που εμφανίζει η υδροξυλάση της φαινυλαλανίνης (PAH), η οποία με την πάροδο του χρόνου (συνήθως τον 1^ο μήνα ζωής του βρέφους) αποκαθίστανται.

➤ **Απλή επίμονη Υπερφαινυλαλανιναιμία:**

Ήπια ανεπάρκεια της υδροξυλάσης της φαινυλαλανίνης (PAH).

Τιμές φαινυλαλανίνης αίματος: 4-10 mg/dl.

➤ **Κλασική Φαινυλκετονουρία (Σοβαρή επιμονή):**

Χωρίζεται σε τρεις υποκατηγορίες, ανάλογα με την ανεπάρκεια της υδροξυλάσης της φαινυλαλανίνης (PAH) και τη δραστηριότητα της:

I. **Ελαφριά PKU:** Τιμές φαινυλαλανίνης αίματος: 11-15 mg/dl.

II. **Μέτριας βαρύτητας PKU:** Τιμές φαινυλαλανίνης αίματος: 16-20 mg/dl.

III. **Βαριά PKU:** Τιμές φαινυλαλανίνης αίματος: >20 mg/dl.

➤ **Άτυπη ή Κακοήθης Φαινυλκετονουρία**

I. Ανεπάρκεια του ενζύμου ρεδοουκτάση της διυδροπεριδίνης (DHPR)

Τιμές φαινυλαλανίνης αίματος: 6-10 mg/dl.

II. Ανεπάρκεια του ενζύμου τετραϋδοπεριδίνης (BH4)

Τιμές φαινυλαλανίνης αίματος: 2-35 mg/dl.

➤ **Μητρική Φαινυλκετονουρία**

Όλες οι παραπάνω τιμές φαινυλαλανίνης αίματος, προκύπτουν από μετρήσεις σε ασθενείς οι οποίοι δεν βρίσκονται σε κάποιο ειδικό για τη νόσο διαιτητικό πλαίσιο (Ζαμπέλας,2020)^[42].

2.7 Μητρική Φαινυλκετονουρία:

Δεδομένου ότι η φαινυλαλανίνη αποτελεί απαραίτητο L-αμινοξύ, κρίνεται ιδιαίτερα σημαντική ή αύξηση της πρόσληψής της μέσω της διατροφής κατά 50 έως 100 mg/ημέρα χωρίς καθυστέρηση, στην περίπτωση που οι συγκεντρώσεις της φαινυλαλανίνης στο αίμα είναι κάτω από 120 $\mu\text{mol/l}$, καθώς έχει φανεί ότι όσο μικρότερο είναι το χρονικό διάστημα που τα επίπεδα φαινυλαλανίνης παραμένουν κάτω από 120 $\mu\text{mol/L}$, τόσο μικρότερος είναι ο κίνδυνος για IUGR. Αργή αύξηση στη λήψη φυσικής πρωτεΐνης μπορεί να συμβάλλει στην επιβράδυνση του χρόνου που οι συγκεντρώσεις φαινυλαλανίνης στο αίμα είναι κάτω από 120 $\mu\text{mol/l}$. Οι κατευθυντήριες οδηγίες για την αύξηση βάρους στη μητρική φαινυλκετονουρία αναφέρουν ότι πρέπει να μην αποκλίνουν από τις συστάσεις για τον υγιή πληθυσμό, δίνοντας ιδιαίτερη σημασία στην αποφυγή απώλειας βάρους κατά το πρώτο τρίμηνο της εγκυμοσύνης, δεδομένου ότι οι πρώτες 8-10 εβδομάδες της κύησης αποτελούν τις πιο κρίσιμες για το έμβρυο. Επιπρόσθετα, οι γυναίκες που πάσχουν από φαινυλκετονουρία και βρίσκονται σε αναπαραγωγική ηλικία, πρέπει να ξεκινάνε αυστηρή δίαιτα τουλάχιστον 3-6 μήνες πριν τη σύλληψη, προκειμένου να αποφευχθούν πολλές από τις συνέπειες της μητρικής φαινυλκετονουρίας. Ακόμα και σε αυτές τις περιπτώσεις, η γέννηση συμπτωματικού παιδιού είναι εφικτή, γεγονός που καθιστά την αποφυγή της εγκυμοσύνης ως τη μοναδική λύση απέναντι στη γέννηση ενός μη φυσιολογικού παιδιού (Ζαμπέλας,2020)^[42].

2.8 Επιπτώσεις και συμπτωματολογία που προκαλούνται λόγω των αυξημένων επιπέδων φαινυλαλανίνης στον ανθρώπινο οργανισμό:

2.8.1 Επιπτώσεις:

Η συσσώρευση της φαινυλαλανίνης στον ανθρώπινο οργανισμό και στους διάφορους ιστούς του σώματος και κυρίως στο αίμα και στον εγκέφαλο, του οποίου η ανάπτυξη επηρεάζεται άμεσα, έχει ως αποτέλεσμα την εμφάνιση νευρολογικών, κινητικών, συμπεριφορικών και ψυχιατρικών προβλημάτων, καθώς και κάποιες ιδιαιτερότητες στην εξωτερική εμφάνιση του ατόμου. Αν και στις περισσότερες περιπτώσεις τόσο φαινοτυπικά, όσο και λειτουργικά τα βρέφη φαίνεται να είναι φυσιολογικά, είναι πιθανή η εμφάνιση ορισμένων από τα προαναφερθέντα χαρακτηριστικά, τα οποία μπορεί να αποτελέσουν και την

αφορμή για την περαιτέρω διερεύνηση και ανίχνευση της νόσου (Van Spronsen et. al.,2021) ^[33], (De Giorgi et al.,2023)^[9].

2.8.2 Συμπτώματα:

Τα αυξημένα επίπεδα φαινυλαλανίνης στον ανθρώπινο οργανισμό προκαλούν ένα σύνολο συμπτωμάτων, όπως:

➤ **Βρεφική- Παιδική ηλικία:**

- I. Καθυστέρηση ανάπτυξης
- II. Μειωμένος μυϊκός τόνος
- III. Διαταραχές σίτισης
- IV. Υπερκινητικότητα
- V. Σπασμοί (Mitchell et al.,2011)^[22]

➤ **Νευρολογικά Συμπτώματα:**

- I. Νοητική υστέρηση
- II. Συμπεριφορικές διαταραχές
- III. Επιληπτικές κρίσεις
- IV. Διαταραχές συντονισμού και ισορροπίας
- V. Τρόμος (Van Spronsen & Enns et al.,2010)^[33]

➤ **Άλλα συμπτώματα (σπανιότερα)**

- I. Μικροκεφαλία
- II. Δυσοσμία ιδρώτα και ούρων, λόγω παραγωγής φαινυλκετονικών σωμάτων
- III. Ήπια χρώση οφθαλμών, δέρματος και μαλλιών, λόγω μειωμένης παραγωγής μελανίνης (Van Spronsen et. al.,2021). ^[34]

2.8.3 Ελλείψεις σε μικροθρεπτικά και μακροθρεπτικά συστατικά σε ασθενείς με PKU:

Ένα φαινόμενο που παρατηρείται στους ασθενείς με PKU αποτελεί η ανεπάρκεια σε διάφορα συστατικά, όπως η καρνιτίνη, το σελήνιο και ο ψευδάργυρος, γεγονός που οφείλεται στις συχνά αυστηρές δίαιτες που ακολουθούν. Συγκεκριμένα, στη διατροφή τους δεν περιλαμβάνεται το κρέας, τα πουλερικά, τα ψάρια, οι ξηροί καρποί και τα γαλακτοκομικά προϊόντα, τα οποία αποτελούν τις κύριες πηγές πολυακόρεστων λιπαρών οξέων μακράς αλυσού (LC-PUFAs). Μάλιστα, τα στοιχεία δείχνουν ότι η διαίτα για ασθενείς με PKU ενδέχεται να είναι περιορισμένη σε λινολενικό οξύ, πρόδρομο μόριο του DHA που συμβάλλει στην

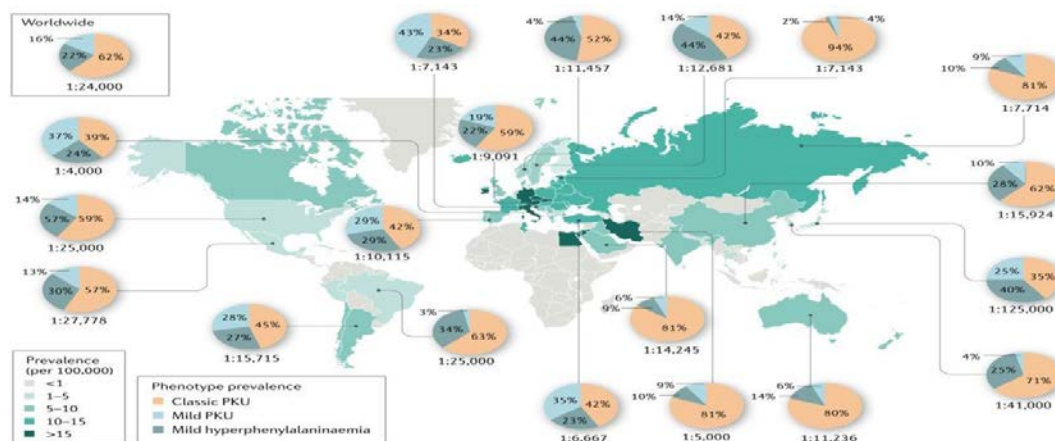
ανάπτυξη του εγκεφάλου και της όρασης. Προκειμένου λοιπόν να διατηρούνται σταθερά τα επίπεδα των LC-PUFAs απαιτείται ένα ισορροπημένο διαιτητικό συμπλήρωμα ω-3 και ω-6 LC-PUFAs, το οποίο θα έχει εμπλουτιστεί με DHA. Επιπρόσθετα, θα πρέπει να ενθαρρύνεται η πρόσληψη φυτικών ελαίων πλούσιων σε λινολενικό οξύ, όπως το έλαιο κανόλα ή το σογιέλαιο.

Αν και τα τελευταία χρόνια, έχουν γίνει συνεχείς προσπάθειες για βελτιώσεις στη διατροφική σύνθεση των σκευασμάτων που χρησιμοποιούνται, υπάρχει η περίπτωση τα σκευάσματα αυτά ή/και συμπληρώματα βιταμινών και μετάλλων να μην καταναλώνονται καθημερινά, με αποτέλεσμα να παρατηρούνται ελλείψεις σε βασικά θρεπτικά συστατικά όπως η βιταμίνη B6, B12, το ασβέστιο, το φυλλικό οξύ και ο σίδηρος (MacLeod & Ney, 2010)^[19]. Ωστόσο, ορισμένες μελέτες δείχνουν ότι τα υποκατάστατα αυτά ενδέχεται να περιέχουν υπερβολικά επίπεδα βιταμίνης B12 και φυλλικού οξέος, με αποτέλεσμα να παρατηρούνται αυξημένες συγκεντρώσεις τους στο αίμα. Σε αντίθεση με τα υψηλά επίπεδα της βιταμίνης B12, η τοξικότητα που μπορεί να προκληθεί από το φυλλικό οξύ στο αίμα προκαλεί ανησυχία στην επιστημονική κοινότητα (Rocha and MacDonald, 2016)^[27].

Τέλος, η διαίτα των ασθενών με PKU διαθέτει συνήθως υψηλότερη περιεκτικότητα σε υδατάνθρακες και χαμηλότερη περιεκτικότητα σε ολικά λιπαρά (20-25%), συγκριτικά με το 30-35% της ενέργειας που προέρχεται από λιπαρά σε μια τυπική διαίτα χωρίς περιορισμούς, με αποτέλεσμα τα άτομα αυτά να υπερκαταναλώνουν υδατάνθρακες, πράγμα που μπορεί να οδηγήσει αργότερα σε παχυσαρκία (MacLeod & Ney, 2010)^[19].

2.9 Επιπολασμός Φαινυλκετονουρίας (PKU):

Ο επιπολασμός της φαινυλκετονουρίας (PKU) διαφέρει σημαντικά μεταξύ των διάφορων εθνοτήτων και κατ' επέκταση των διαφορετικών γεωγραφικών περιοχών. Φαίνεται ότι η συχνότητα εμφάνισης της νόσου είναι αρκετά υψηλότερη σε πληθυσμούς της Ανατολικής Ασίας και στους λευκούς πληθυσμούς ($\approx 1:10.000 - 1:15.000$ γεννήσεις), σε σχέση με τις αφρικανικές και νοτιοασιατικές περιοχές ($\approx 1:200.000$ γεννήσεις). Στην Ευρώπη κυμαίνεται περίπου από $1:27.000$ γεννήσεις στο πιο νότιο τμήμα (π.χ. Ιταλία) έως και $> 1:100.000$ γεννήσεις στο βορειότερο τμήμα της (π.χ. Φινλανδία). Σημαντικά αυξημένα επιδημιολογικά δεδομένα καταγράφονται και σε χώρες όπως η Τουρκία, το Ιράν και η Ρωσική Δημοκρατία Καρατσάι-Τσερκεσσία, γεγονός το οποίο οφείλεται συχνά στους συγγενικούς γάμους που πραγματοποιούνται στις παραπάνω περιοχές (Hillert et al., 2020)^[14].



Εικόνα 2.3: Ο επιπολασμός της ανεπάρκειας υδροξυλάσης φαινυλαλανίνης (HPA) και οι διαφορετικές κατηγορίες της ανά τον κόσμο, το 2020. Πηγή: [34]

2.10 Ιστορία της Φαινυλκετονουρίας (PKU):

Η ιστορία της φαινυλκετονουρίας (PKU) ξεκινά το 1934, όταν ένας Νορβηγός παιδίατρος, ο Asbjørn Følling, αποφάσισε να εξετάσει δυο αδέρφια που εμφάνιζαν νοητική υστέρηση. Συγκεκριμένα, όταν εξέτασε τα ούρα τους για κετονικά σώματα χρησιμοποιώντας χλωριούχο σίδηρο, το δείγμα απέκτησε μια πράσινη χρώση αντί για μωβ. Ο Følling αναγνώρισε το άγνωστο χρωμογόνο ως φαινυλοπυρουβικό οξύ, μια ουσία που δεν είχε εντοπιστεί νωρίτερα στη φύση. Το τελικό συμπέρασμα του ήταν ότι προερχόταν από τη διατροφική φαινυλαλανίνη (phe) και ονόμασε την πάθηση ως Φαινυλοπυρουβική Ολιγοφρενία. Η ανακάλυψη αυτή αποτέλεσε το υπόβαθρο για την περαιτέρω μελέτη της νόσου και από άλλους επιστήμονες, οι οποίοι μετονόμασαν τελικά την πάθηση στη γνωστή έως και σήμερα Φαινυλκετονουρία (PKU). Στα τέλη της δεκαετίας του 1940 φάνηκε ότι η νοητική υστέρηση οφείλεται στην «τοξικότητα» που προκάλεσε η αυξημένη συγκέντρωση της φαινυλαλανίνης (phe) στον εγκέφαλο. Βασιζόμενοι στα αποτελέσματα του Følling σχετικά με τον καθοριστικό ρόλο τον οποίο διαδραματίζει η φαινυλαλανίνη (phe) που βρίσκεται στα τρόφιμα, προτάθηκε να ακολουθηθεί από τους ασθενείς ένα είδος διατροφικού περιορισμού. Το 1952, εφαρμόστηκε επιτυχώς αυτή η νέα οδηγία, η οποία φάνηκε να έχει θετικά αποτελέσματα αναφορικά με τη συμπεριφορά των ατόμων που έπασχαν από τη νόσο και είχαν συμμορφωθεί διατροφικά, συγκριτικά με αυτά που ακολουθούσαν ένα ελεύθερο, χωρίς περιορισμούς, διαιτολόγιο. Στα τέλη της δεκαετίας του 1950, ήταν πλέον αποδεκτό από όλη την επιστημονική κοινότητα πως οι πάσχοντες από τη νόσο που ακολούθησαν δίαιτα περιορισμένη σε φαινυλαλανίνη (phe), όχι απλά σημείωσαν βελτίωση στη συμπεριφορά τους, αλλά αισθητή ήταν και η βελτίωση του IQ τους, δηλαδή υπήρχε μείωση των συμπτωμάτων της νοητικής υστέρησης των ασθενών. Τέλος, το 1958

εφαρμόστηκε ο πρώτος προγεννητικός έλεγχος, μια μέθοδος ανίχνευσης της πάθησης που χρησιμοποιείται μέχρι και σήμερα (Woolf& Adams,2020)^[10].

2.11 Τρόπος Αντιμετώπισης:

Το πρώτο στάδιο για την αντιμετώπιση της PKU είναι η διατροφική θεραπεία, κατά την οποία συνίσταται μείωση της πρόσληψης των πρωτεϊνικών τροφών, δεδομένου ότι οι πρωτεΐνες περιέχουν φαινυλαλανίνη. Ωστόσο, η διατροφική αυτή θεραπεία δεν στοχεύει αποκλειστικά στη χαμηλή πρόσληψη φαινυλαλανίνης, αλλά και στην επαρκή πρόσληψη τυροσίνης. Ακόμα, αξίζει να αναφερθεί ότι η αποτελεσματικότητα της εκάστοτε διαιτητικής θεραπείας εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό και από τον τύπο της νόσου . Για το λόγο αυτό και προκειμένου η θεραπεία να ανταποκριθεί στις ανάγκες του κάθε ατόμου, ακολουθείται συχνά μια διαφορετική προσέγγιση, η οποία περιλαμβάνει τη διατροφική θεραπεία σε συνδυασμό με κάποια φαρμακευτική αγωγή ή τη λήψη κάποιας διατροφικής “φόρμουλας”/ υποκατάστατο συμπλήρωμα πρωτεΐνης (Stone et al.2023)^[31].

2.12 Διαθέσιμες Διαιτητικές Θεραπείες:

2.12.1 Θεραπεία βασισμένη στη δίαιτα:

Η διαιτητική θεραπεία αποτελεί την κύρια, μη επεμβατική μορφή θεραπείας για τη φαινυλκετονουρία, η οποία έχει αποδειχθεί αποτελεσματική τόσο στη διατήρηση των επιπέδων φαινυλαλανίνης στο αίμα σε ασφαλή επίπεδα, όσο και στη βελτίωση των μέσων επιπέδων νοημοσύνης σε παιδιά και σε ενήλικες. Περιλαμβάνει την αυστηρή αποφυγή τροφίμων πλούσιων σε φαινυλαλανίνη, καθώς η εκτροπή από το πρόγραμμα μπορεί να αποβεί επιζήμια για τη καλή ψυχοσωματική κατάσταση του ασθενούς. Μοναδικό μειονέκτημα αυτής της θεραπευτικής προσέγγισης αποτελεί το γεγονός ότι η πλήρης αποχή από τις τροφές που είναι πλούσιες σε πρωτεΐνη αποτελεί μπορεί να προκαλέσει ψυχολογικά και νευρολογικά προβλήματα. Για το λόγο αυτό, η διαιτητική θεραπεία διασφαλίζει την ελάχιστη κατανάλωση φαινυλαλανίνης, με τους περισσότερους ασθενείς να επωφελούνται από μια δίαιτα χαμηλή σε φαινυλαλανίνη (Dalei & Adlakha,2022)^[8].

2.12.2 Μεγάλα Ουδέτερα Αμινοξέα (LNAAs):

Τα μεγάλα ουδέτερα αμινοξέα (LNAAs) αποτελούν μια μορφή συμπληρώματος πρωτεΐνης που κυκλοφορεί στην αγορά για τους ασθενείς που πάσχουν από PKU. Δεδομένα υποστηρίζουν ότι η χρήση των αμινοξέων διακλαδισμένης αλυσίδας δρα ανασταλτικά στην είσοδο της φαινυλαλανίνης στον εγκέφαλο. Η θεραπεία με μεγάλα ουδέτερα αμινοξέα

(LNAAs) συνίσταται κυρίως σε ενήλικες που δυσκολεύονται να συμμορφωθούν με τη διαίτη (Dalei & Adlakha,2022) ^[8].

2.12.3 Γλυκομακροπεπτίδια (GMP):

Τα γλυκομακροπεπτίδια, τα οποία αποτελούν μια πρωτεΐνη ορού γάλακτος τυριού, συνιστούν μια πηγή πρωτεΐνης εξαιρετικά πλούσιας σε μεγάλα ουδέτερα αμινοξέα (LNAAs) και πολύ χαμηλής σε φαινυλαλανίνη με την εξής σύνθεση: 20,5% α-λακταλβουμίνη, 56% β-λακτοσφαιρίνη, 18% GMP και 5,5% άλλες πρωτεΐνες ορού γάλακτος. Συχνά είναι εμπλουτισμένα με αμινοξέα διακλαδισμένης αλυσού, ενώ έχει φανεί ότι συμβάλλουν στην ομαλή ανάπτυξη του οργανισμού καθ' όλη τη διάρκεια της ζωής. Η παροχή συμπληρώματος GMP συνδυαστικά με δίαιτα περιορισμένη σε φαινυλαλανίνη είναι αρκετή για να μειώσει τα υπερβολικά επίπεδα φαινυλαλανίνης τόσο στο πλάσμα, όσο και στον εγκέφαλο.

Επιπρόσθετα, η προσθήκη GMP βελτιώνει τη γεύση της διαίτας, ενώ παρουσιάζει και ενισχυμένη απορρόφηση στον οργανισμό. Ωστόσο, τα GMP που είναι διαθέσιμα στο εμπόριο είναι συνήθως νοθευμένα με φαινυλαλανίνη λόγω των πρωτεϊνών ορού γάλακτος που έχουν απομείνει, οι οποίες μπορούν να αποβούν ιδιαίτερα επιβλαβείς για τα άτομα με κλασική PKU. Οι πολυάριθμες διαδικασίες για την παραγωγή GMP σε μεγάλη κλίμακα, καθώς και οι περίπλοκες διαδικασίες καθαρισμού και επεξεργασίας που απαιτούνται, συμβάλλουν στο υψηλό τελικό κόστος του προϊόντος. Οι δόσεις γλυκομακροπεπτιδίων που πρέπει να λαμβάνονται εξαρτώνται από παράγοντες όπως η ηλικία, η υγεία, αλλά και αρκετές άλλες συνθήκες, με τα μέχρι στιγμής επιστημονικά δεδομένα για τον καθορισμό των κατάλληλων δόσεων να είναι ανεπαρκή (Dalei & Adlakha,2022) ^[8].

2.12.4. Μίγματα αμινοξέων:

Τα μίγματα αμινοξέων είναι διαθέσιμα τόσο στην Ευρώπη, όσο και σε μεσογειακές χώρες όπως η Τουρκία, προκειμένου οι ασθενείς με PKU να λαμβάνουν όλα τα απαραίτητα θρεπτικά συστατικά, παρά το περιοριστικό πρόγραμμα διατροφής που ακολουθούν. Ήδη από τη δεκαετία του 1960, χρησιμοποιούνται συνθετικά αμινοξέα για τη θεραπεία της φαινυλκετονουρίας, καλύπτοντας έως και το 80% των πρωτεϊνικών αναγκών των ασθενών (Dalei & Adlakha,2022) ^[8]. Στην περίπτωση που η πρόσληψη υποκατάστατων πρωτεϊνών δεν κατανέμεται ομοιόμορφα κατά τη διάρκεια της ημέρας, τα επίπεδα αμινοξέων στο πλάσμα αυξάνονται ταχύτερα, με αποτέλεσμα τα αμινοξέα να χρησιμοποιούνται για οξείδωση αντί για σύνθεση πρωτεϊνών (Hoeksma et al.,2005) ^[15].

2.12.5 Τετραυδροβιοπτερίνη (BH4):

Η θεραπεία με BH4 έχει φανεί ότι μειώνει τις συγκεντρώσεις φαινυλαλανίνης στο αίμα, διαδραματίζει καθοριστικό ρόλο στο μεταβολισμό των κατεχολαμινών και της σεροτονίνης, ενώ είναι υπεύθυνη και για την παραγωγή τυροσίνης από φαινυλαλανίνη. Ωστόσο, είναι ωφέλιμη μόνο σε ήπιες και μέτριες περιπτώσεις φαινυλκετονουρίας, γεγονός που την καθιστά αναποτελεσματική για την πλειονότητα των ασθενών που πάσχουν από κλασική PKU (Dalei & Adlakha,2022) ^[8].

2.12.6 Δίαιτα βασισμένη σε ολιγοπεπτίδια:

Η κατανάλωση ολιγοπεπτιδίων χωρίς φαινυλαλανίνη μπορεί να είναι αποτελεσματική για τους ασθενείς που πάσχουν από PKU. Άλλα πλεονεκτήματα των ολιγοπεπτιδίων αποτελούν η θερμοσταθερότητα, η ανθεκτικότητα στην αποικοδόμηση από όξινα και αλκαλικά περιβάλλοντα και την καθίζηση, καθώς και η ταχύτερη απορρόφηση του αζώτου των αμινοξέων από τα ολιγοπεπτίδια (Dalei & Adlakha,2022) ^[8].

2.12.7 Πεγβαλιάση:

Η πεγβαλιάση (Pegvaliase), αποτελεί μια νέα θεραπευτική προσέγγιση για την αντιμετώπιση της PKU. Αυτό το είδος θεραπείας επιλέγεται κυρίως σε περιπτώσεις ενηλίκων ασθενών, οι οποίοι αδυνατούν να ελέγξουν αποτελεσματικά τα επίπεδα φαινυλαλανίνης στο αίμα τους μέσω της διατροφής ή και άλλων θεραπευτικών προσεγγίσεων.

Η πεγβαλιάση αποτελείται από μια σύνθετη μορφή της αμμωνιακής λυάσης της φαινυλαλανίνης (PAL), ενός ενζύμου που συμβάλλει στη μετατροπή της phe σε ουσίες που μπορούν να αποβληθούν από το σώμα, μειώνοντας με αυτό τον τρόπο τα επίπεδα phe στο αίμα. Υποστηρίζεται πως μπορεί να οδηγήσει σε σημαντική μείωση των επιπέδων phe και κατ' επέκταση βελτιστοποίηση της ποιότητας ζωής των ασθενών που πάσχουν από PKU (Longo et al.,2018) ^[18]. Ωστόσο, λόγω των σοβαρών αλλεργικών αντιδράσεων που έχουν καταγραφεί σε ορισμένους ασθενείς ύστερα από τη χορήγηση της πεγβαλιάσης, η χορήγηση της συνήθως ξεκινά υπό αυστηρή ιατρική παρακολούθηση, διασφαλίζοντας έτσι την ασφάλεια των ασθενών (Hydrey & Coppenrath,2019) ^[17].

2.13 Παράγοντες που επηρεάζουν τη συμμόρφωση στη θεραπεία:

Σε μελέτες έχει φανεί ότι η ηλικία των ασθενών με φαινυλακετονουρία διαδραματίζει καθοριστικό ρόλο στη συμμόρφωση στην εκάστοτε θεραπεία. Συγκεκριμένα, οι παιδιατρικοί ασθενείς παρουσιάζουν σημαντική μείωση των επιπέδων φαινυλαλανίνης στο αίμα, γεγονός που οφείλεται στην επίβλεψη από τους γονείς τους. Αντίθετα, οι έφηβοι και οι ενήλικες δυσκολεύονται να ακολουθήσουν τη θεραπεία, καθώς δεν έχουν εξοικειωθεί από νωρίς με τη γεύση των σκευασμάτων, με αποτέλεσμα να μειώνεται η συμμόρφωση στη θεραπεία (Concolino,2016)^[7]. Επιπρόσθετα, έρευνα σε εφήβους και ενήλικες έδειξε ότι ο κύριος παράγοντας που επηρεάζει τη συμμόρφωση των ασθενών στη θεραπεία με αμινοξέα, πέρα από τις ελλειπείς γνώσεις σχετικά με την αντιμετώπιση της νόσου και τη γεύση των μειγμάτων αμινοξέων, αποτελεί η κοινωνική πίεση που συνδέεται με τη χρήση τους. Το γεγονός αυτό έχει ως αποτέλεσμα η μέση ημερήσια χρήση μειγμάτων αμινοξέων να είναι χαμηλή, λόγω της αμηχανίας του ασθενούς να καταναλώνει μείγματα όταν βρίσκεται σε κάποιο δημόσιο χώρο (εργασία, ταξίδια) εκτός του σπιτιού. Αντίθετα, η προγραμματισμένη εγκυμοσύνη αύξησε την προσκόλληση στη δίαιτα. Εξαιτίας όλων των παραπάνω λόγων, οι πάροχοι υγειονομικής περίθαλψης θα πρέπει να εστιάσουν σε πιο αποτελεσματικές εκπαιδευτικές στρατηγικές (Cazzorla,2016)^[8].

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3

Μεγάλα ουδέτερα αμινοξέα(Large Neutral Amino Acids, LNAAs)

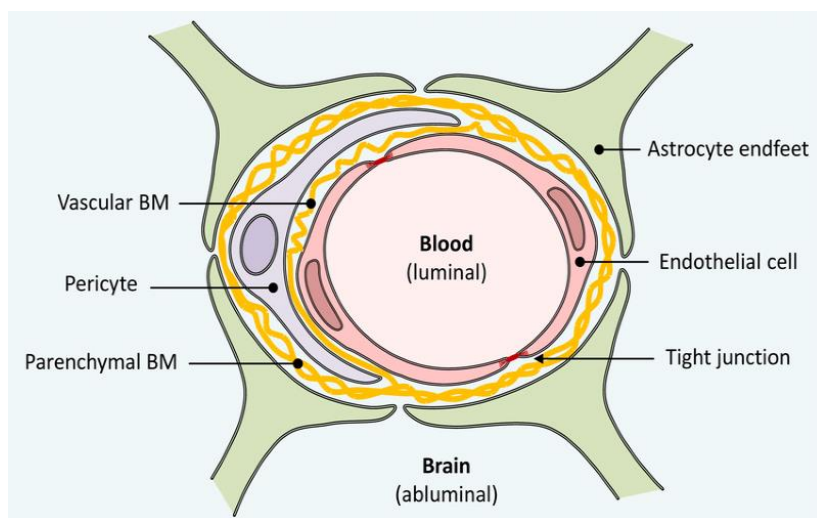
3.1 Τι είναι τα LNAAs:

Τα μεγάλα ουδέτερα αμινοξέα(Large Neutral Amino Acids, LNAAs) αποτελούν μια ομάδα αμινοξέων με μη-πολικές αλυσίδες. Τα αμινοξέα που περιλαμβάνονται σε αυτήν την ομάδα είναι τα εξής: φαινυλαλανίνη (phe), τρυπτοφάνη (trp), τυροσίνη (tyr), θρεονίνη (thr), μεθειονίνη (met), βαλίνη (val), λευκίνη (leu), ισολευκίνη (ile) και ιστιδίνη (his). Τα LNAAs είναι υψίστης σημασίας για την εύρυθμη λειτουργία του ανθρώπινου οργανισμού, γεγονός που οφείλεται στον τρόπο με τον οποίο μεταφέρονται μέσω του αιματοεγκεφαλικού φραγμού, καθώς και λόγω της επίδρασης που φαίνεται να έχουν στις νευρολογικές λειτουργίες και ιδιαίτερα στην σύνθεση νευροδιαβιβαστών, όπως για παράδειγμα η ντοπαμίνη και η σεροτονίνη (National Academies Press (US),1999)^[23]. Μάλιστα, η φαινυλαλανίνη θεωρείται ένα από τα βασικότερα μεγάλα ουδέτερα αμινοξέα, δεδομένου ότι διαδραματίζει πολύ

σημαντικό ρόλο στη βιοχημεία του ανθρώπινου σώματος. Πιο συγκεκριμένα, η φαινυλαλανίνη θα μπορούσε να χαρακτηριστεί και ως ο πρόδρομος της τυροσίνης, η οποία στη συνέχεια μεταβολίζεται με τη σειρά της σε ντοπαμίνη, νορεπινεφρίνη, επινεφρίνη, καθώς και σε άλλες ουσίες που είναι σημαντικές για τη λειτουργία του νευρικού συστήματος (Fernstrom & Wurtman et al.,1972)^[44].

3.2 Αιματοεγκεφαλικός φραγμός (Blood Brain Barrier,BBB):

Όπως ήδη προαναφέρθηκε, ο αιματοεγκεφαλικός φραγμός (Blood Brain Barrier,BBB) αποτελεί το μέσο μεταφοράς των μεγάλων ουδέτερων αμινοξέων. Συγκεκριμένα, πρόκειται για έναν εξειδικευμένο φυσιολογικό φραγμό που προστατεύει τον εγκέφαλο από δυνητικά επιβλαβείς ουσίες που κυκλοφορούν στο αίμα. Αποτελείται από ενδοθηλιακά κύτταρα που συνδέονται στενά μεταξύ τους με στενές συνδέσεις, αποτρέποντας τη διέλευση μεγάλων και υδρόφιλων μορίων, ενώ επιτρέπει τη μεταφορά απαραίτητων θρεπτικών συστατικών και αερίων. Στον εγκέφαλο, η λειτουργία του αιματοεγκεφαλικού φραγμού ρυθμίζεται από μια ποικιλία μεταφορέων, που επιτρέπουν την είσοδο συγκεκριμένων ουσιών. Για παράδειγμα, τα μεγάλα ουδέτερα αμινοξέα (LNAAs) εισέρχονται στον εγκέφαλο μέσω ειδικών μεταφορέων του συστήματος L, οι οποίοι ανταγωνίζονται τη φαινυλαλανίνη. Ο ανταγωνισμός αυτός μπορεί να μειώσει τα επίπεδα φαινυλαλανίνης στον εγκέφαλο, κάτι που είναι σημαντικό για ασθενείς με φαινυλκετονουρία (PKU). Η διατήρηση της ακεραιότητας του αιματοεγκεφαλικού φραγμού είναι κρίσιμη για τη νευρολογική υγεία, καθώς διαταραχές στον φραγμό μπορεί να οδηγήσουν σε αυξημένη διαπερατότητα και διείσδυση τοξικών ουσιών στον εγκέφαλο, προκαλώντας νευρολογικές βλάβες (Pardridge,1983)^[25].



Εικόνα 3.1: Φυσιολογία Αιματοεγκεφαλικού Φραγμού. Πηγή:^[43]

3.3 Φαινυλαλανίνη και Μεγάλα ουδέτερα αμινοξέα (LNAAs):

Οι πιο σημαντικές κλινικές εκδηλώσεις της ανεπάρκειας της υδροξυλάσης της φαινυλαλανίνης (PAH) εμφανίζονται στον εγκέφαλο και οφείλονται στις επιδράσεις της αυξημένης συγκέντρωσης φαινυλαλανίνης (Phe). Η υπομελάγχρωση, που προκύπτει από τη μειωμένη παραγωγή μελανίνης, είναι η μοναδική μη νευρολογική εκδήλωση της ανεπάρκειας της υδροξυλάσης της φαινυλαλανίνης (PAH). Τα μεγάλα ουδέτερα αμινοξέα (LNAAs), όπως η φαινυλαλανίνη, η τυροσίνη και η τρυπτοφάνη, διασχίζουν τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό μέσω διάχυσης με τη βοήθεια του μεταφορέα LAT1 (ή SLCA7A5). Η αυξημένη φαινυλαλανίνη (Phe) στο αίμα ανταγωνίζεται τη μεταφορά των άλλων μεγάλων ουδέτερων αμινοξέων (LNAAs) στον εγκέφαλο, μειώνοντας τις συγκεντρώσεις τους. Αυτές οι μειωμένες συγκεντρώσεις μεγάλων ουδέτερων αμινοξέων (LNAAs) μπορούν να επηρεάσουν την πρωτεϊνική σύνθεση στον εγκέφαλο και να συμβάλουν στην ανεπάρκεια των μονοαμινικών νευροδιαβιβαστών. Ωστόσο, η αντισταθμιστική δράση των ενεργειακά απαιτητικών εξαγωγέων αμινοξέων μπορεί να βοηθήσει στη διαχείριση της ανισορροπίας των αμινοξέων και να αποκαταστήσει την ομοιόσταση. Η φαινυλαλανίνη αναστέλλει τις δραστηριότητες της υδροξυλάσης της τυροσίνης (TH) και της τρυπτοφάνης (TPH) στον εγκέφαλο, οδηγώντας σε ανεπάρκεια ντοπαμίνης και σεροτονίνης. Αυτός ο μηχανισμός μπορεί να σχετίζεται με την υψηλή συχνότητα των διαταραχών άγχους και διάθεσης σε άτομα με υπερφαινυλαλανιναιμία. Επιπλέον, η αυξημένη φαινυλαλανίνη έχει συνδεθεί με επιγενετικές αλλαγές στα μοτίβα γονιδιακής έκφρασης στον εγκέφαλο, μειωμένη σύνθεση μυελίνης, μειωμένο μεταβολισμό της γλυκόζης στον εγκέφαλο, σχηματισμό ινιδίων που μοιάζουν με αμυλοειδείς πλάκες και αυξημένο οξειδωτικό στρες (Huttenlocher, 2000)^[16].

3.4 Τρόπος μεταφοράς Μεγάλων ουδέτερων αμινοξέων (LNAAs):

Στο έντερο, τα μεγάλα ουδέτερα αμινοξέα (LNAAs) μεταφέρονται τόσο στην κορυφαία όσο και στη βασεοπλάγια μεμβράνη των εντερικών κυττάρων. Στην κορυφαία μεμβράνη, η μεταφορά των μεγάλων ουδέτερων αμινοξέων (LNAAs) εξαρτάται κυρίως από το νάτριο (Na⁺), μέσω του μεταφορέα που ονομάζεται σύστημα B0 (B0-AT1, SLC6A19). Επιπλέον, στην κορυφαία μεμβράνη υπάρχει και ο μεταφορέας ASCT2 (SLC1A5), ο οποίος ασκεί μια αντιθυρίδα αμινοξέων, αλλά δεν συμβάλλει στην καθαρή μεταφορά ουδέτερων αμινοξέων στην επιφάνεια του κυττάρου. Στη βασεοπλάγια μεμβράνη του εντερικού επιθηλίου, η μεταφορά των μεγάλων ουδέτερων αμινοξέων (LNAAs) γίνεται κυρίως μέσω του μεταφορέα

LAT2 του συστήματος L (SLC7A8), ο οποίος σχηματίζει ένα ετεροδιμερές με τη βαριά αλυσίδα 4F2 (4F2hc). Το σύμπλεγμα LAT2-4F2hc εκφράζεται κυρίως στη νήστιδα και στον ειλεό, ενώ το LAT1 εκφράζεται κυρίως στον εγκέφαλο, στον εγκεφαλοαιματικό φραγμό και στον πλακούντα. Το LAT2 εκφράζεται σε υψηλότερο βαθμό στο λεπτό έντερο, στους νεφρούς, στους πνεύμονες, στην καρδιά και στον σπλήνα. Το LAT2 μεσολαβεί σε μια ανεξάρτητη από Na^+ υποχρεωτική ανταλλαγή υποστρωμάτων με στοιχειομετρία 1:1 και έχει εξειδίκευση προς τα LNAAs, περιλαμβάνοντας τις μικρές και τις θυρεοειδικές ορμόνες. Το σύμπλεγμα LAT2-4F2hc έχει υψηλότερη συγγένεια ($K_m = 30\text{-}150 \mu\text{M}$) με τα αμινοξέα τυροσίνη, φαινυλαλανίνη, τρυπτοφάνη, θρεονίνη, ασπαραγίνη, ισολευκίνη, κυστεΐνη, σερίνη, λευκίνη, βαλίνη και γλουταμίνη, και χαμηλότερη συγγένεια με την ιστιδίνη, αλανίνη, μεθειονίνη και γλυκίνη. Επιπλέον, το LAT2 έχει υψηλότερη συγγένεια για την L-φαινυλαλανίνη από το LAT1. Εμπλέκεται κυρίως στη διαεπιθηλιακή μεταφορά παρά στην κυτταρική συσσώρευση (Scala et al., 2021)^[28].

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4

ΣΚΟΠΟΣ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

Σκοπός της εργασίας είναι να διερευνήσει τη δράση της χορήγησης συμπληρωμάτων Large Neutral Amino Acids (LNAAs) σε ασθενείς που πάσχουν από φαινυλκετονουρία (PKU).

Πραγματοποιήθηκε μελέτη ανασκόπησης τυχαιοποιημένων κλινικών δοκιμών και παρεμβατικών μελετών (Randomized Control Trials –RCTs και Interventional Studies/ Clinical Trials) μέσω των διεθνών βάσεων δεδομένων “PubMed”, “Google scholar”, “Cochrane Library” και “Scopus”.

Οι μελέτες που συμπεριλήφθηκαν σε αυτή την μελέτη πληρούσαν συγκεκριμένα κριτήρια, τα οποία είναι τα ακόλουθα: (1) Τυχαιοποιημένες ελεγχόμενες μελέτες, (2) Παρεμβατικές μελέτες/ κλινικές δοκιμές στις οποίες πληρούνταν όλες οι προϋποθέσεις που διασφάλιζαν την ασφάλεια των συμμετεχόντων και τηρούνταν όλες οι ηθικές κατευθυντήριες γραμμές, (3) οι μελέτες που επιλέχθηκαν έχουν διεξαχθεί όλες από το 2006 και έπειτα, (4) παρεμβάσεις που έλεγχαν τα επίπεδα των αμινοξέων φαινυλαλανίνης (phe), τυροσίνης (tyr) καθώς και τον λόγο αυτών (phe/tyr) σε ανθρώπους πριν, μετά ή και κατά τη διάρκεια της

λήψης των LNAAAs, τόσο σε ανθρώπους όσο και σε ζώα, (5) οι συμμετέχοντες έπρεπε να είναι ασθενείς που πάσχουν από φαινυλκετονουρία (PKU).

Επιλέχθηκαν συνολικά 12 μελέτες: 8 μελέτες σε ανθρώπους (οι 4 εκ των οποίων ήταν RCTs και οι άλλες 4 κλινικές δοκιμές), καθώς και 4 μελέτες σε ζώα (οι 2 εκ των οποίων ήταν RCTs και οι άλλες 2 preclinical experimental intervention studies).

Οι λέξεις κλειδιά που χρησιμοποιήθηκαν είναι: PKU, LNAAAs, phe blood levels, low protein diet, neuropsychological performances.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

5.1 Μελέτες σε ζώα

Στον πίνακα, αναφέρονται συνοπτικά οι μέθοδοι και τα αποτελέσματα της συμπληρωματικής χορήγησης LNAAAs που πραγματοποιήθηκαν σε πειραματόζωα.

Μελέτη	Χώρα	Μέθοδος	Δείγμα	Έλεγχος	Αποτέλεσμα
Van Vliet, 2022 [35]	Ολλανδία	Preclinical experimental intervention study Βασική διαίτα 124,12g/kg AIN-93M (natural protein) Αυστηρά περιοσμένη σε phe (115g/kg synthetic AA mixture+ 25g/kg natural protein) Ημι-περιορισμένη σε phe (55g/kg synthetic AA mixture+ 75g/kg natural protein)	2 πειραματικές ομάδες BTBR Pahu2 (LNAA+ημι-περιοσμένη σε phe/LNAA+χωρίς περιορισμούς) και 4 control groups (AIN-93M σε PKU/ημι-περιοσμένη σε phe σε PKU/αυστηρά περιοσμένη σε PKU/AIN-93M σε WT)	10 εβδομάδες	↑ συγκεντρώσεων μονοαμινών εγκεφάλου συγκριτικά με διαίτα ημι-περιορισμένη σε phe Συγκρίσιμες συγκεντρώσεις μονοαμινών εγκεφάλου συγκριτικά με διαίτα αυστηρά

		Ημι-περιορισμένη σε phe +LNAAAs (124,12g/kg LNAAAs+75,88g/kg natural protein) LNAAAs (124,12g/kg LNAAAs+125,88g/kg natural protein)	n=14 [ποντίκια άγριου τύπου (WT)] και n=70 (ποντίκια με PKU)		περιορισμένη σε phe ↑ συγκεντρώσεων phe εγκεφάλου συγκριτικά με δίαιτα αυστηρά περιορισμένη σε phe Σταθερές συγκεντρώσεις phe εγκεφάλου και πλάσματος συγκριτικά με δίαιτα ημι-περιορισμένη σε phe ↓ συγκεντρώσεων phe στο πλάσμα σε συνδυασμό με μια δίαιτα ημι-περιορισμένη σε phe Συγκρίσιμες συγκεντρώσεις
--	--	---	---	--	---

					αμινοξέων και μονοαμινών στον εγκέφαλο σε συνδυασμό με μια δίαιτα ημι-περιορισμένη σε phe Σταθερό ΣΒ στα ποντίκια με PKU
Van Vliet,2015^[36]	Ολλανδία	Preclinical experimental intervention study Βασική Δίαιτα (124g/kg AIN-93M) Δίαιτα με υψηλή περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες (124g/kg AIN-93M + 124g/kg καζεΐνη) Δίαιτα συμπληρωμένη με LNAA's (124g/kg AIN-93M + 124g/kg LNAA's)	3 ομάδες C57BL/6-Pahenu2 αποτελούμενες και από τους 2 τύπους ποντικών: 1. Ομάδα ελέγχου: Βασική δίαιτα 2. Πειραματική ομάδα: Δίαιτα πλούσια σε πρωτεΐνες 3. Πειραματική ομάδα: Δίαιτα συμπληρωμένη με LNAA n=88	6 εβδομάδες	↓Συγκεντρώσε ων phe εγκεφάλου. ↓Συγκεντρώσε ων phe στο πλάσμα. ↑Συγκεντρώσε ων νορεπινεφρίνης, σεροτονίνης και 5-HIAA στον εγκέφαλο. ↑ Αναλογίας ντοπαμίνης/ τυροσίνης στον εγκέφαλο.

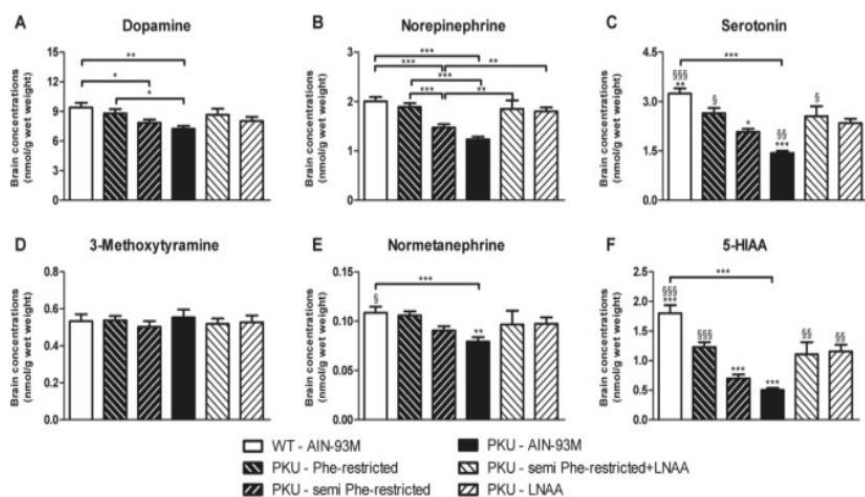
			[42 ποντίκια Wild Type (WT)] (46 ποντίκια με PKU)		↑ Αναλογίας νορεπινεφρίνης / ντοπαμίνης στον εγκέφαλο. ↑ Αναλογίας σεροτονίνης/ τρυπτοφάνης στον εγκέφαλο. Σταθερό ΣΒ βάρος στα ποντίκια με PKU
Gowda,2006 [12]	Αμερικ ή	Randomized Control Trial (Τυχαιοποιημένη διπλή τυφλοποίηση) Βασική διαίτα 5001 (6g/ποντίκι) Δίαιτα συμπληρωμένη με LNAAs (5g/ποντίκι βασικής διαίτας 5001 και 1g/ποντίκι LNAAs)	2 ομάδες ποντικών BTBR-Pahenu2 Πειραματική ομάδα ποντικών με μητρική PKU που έλαβε διαίτα συμπληρωμένη με LNAAs Ομάδα ελέγχου ποντικών με μητρική PKU που έλαβε βασική διαίτα 5001	20 μέρες	↓Phe αίματος

Matalon, 2006 [21]	Αμερικ ή	Open Label Study Δίαιτα συμπληρωμένη με LNAAs (5g/ποντίκι βασικής διαίτας και 1g/ποντίκι NeoPhe)	n=7 Ποντίκια με κλασική PKU (γονότυπος ENU2/ENU2)	9 ημέρες	Σταθερό βάρος ποντικών ↓Phe αίματος
------------------------------------	----------	---	--	----------	--

Πίνακας 5.1: Μελέτες και αποτελέσματα δράσης χορήγησης συμπληρωμάτων Large Neutral Amino Acids (LNAAs) σε ζώα.

5.1.1 Χορήγηση Large Neutral Amino Acids (LNAAs) και επίπεδα μονοαμινών στον εγκέφαλο των ποντικών:

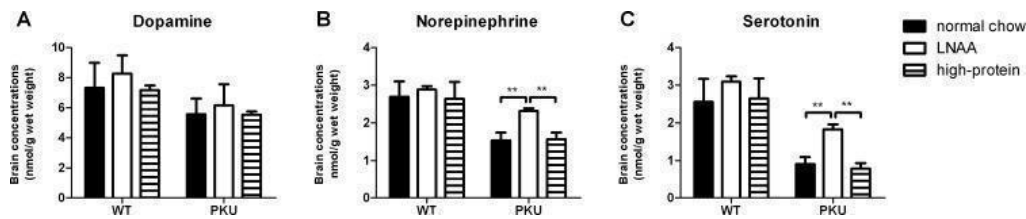
Στη μελέτη που πραγματοποίησαν οι Van Vliet et al. (2022), η προσθήκη μιας διαίτας ημι-περιορισμένης σε φαινυλαλανίνη στη θεραπεία με LNAA δεν συσχετίστηκε με σημαντικά διαφορετικές συγκεντρώσεις μονοαμινών στον εγκέφαλο. Ωστόσο, η θεραπεία με LNAA συσχετίστηκε με στατιστικά σημαντικά υψηλότερες συγκεντρώσεις μονοαμίνης στον εγκέφαλο σε σύγκριση με μια δίαιτα ημι-περιορισμένης φαινυλαλανίνης ($p < 0,01$ για τη νορεπινεφρίνη και 5-HIAA, $p < 0,05$ για τη σεροτονίνη), χωρίς όμως οι συγκεντρώσεις να φτάνουν πλήρως τα επίπεδα των WT (Van Vliet et al. 2022) [\[35\]](#).



Εικόνα 5.1: Οι συγκεντρώσεις των μονοαμινών του εγκεφάλου και των σχετικών μεταβολιτών σε ποντίκια PKU στις διάφορες πειραματικές δίαιτες καθώς και σε ποντίκια ελέγχου PKU και WT σε δίαιτα AIN-93 M.

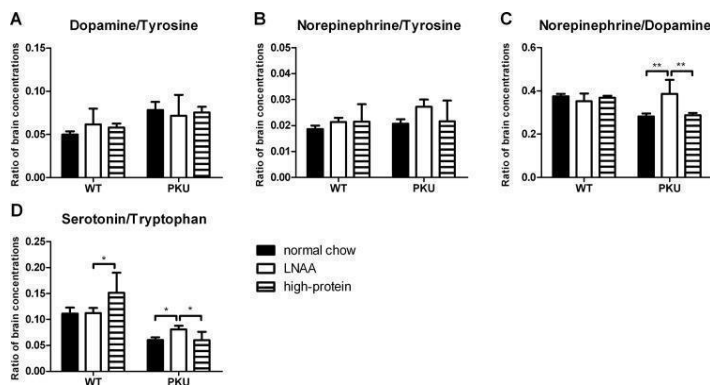
Στην έρευνα των Van Vliet et al. (2015), παρατηρήθηκε αύξηση των συγκεντρώσεων της νορεπινεφρίνης και της σεροτονίνης στον εγκέφαλο ($p < 0.01$) συγκριτικά με την βασική

δίαιτα, ενώ η συγκεντρώση ντοπαμίνης δε διέφεραν μεταξύ των ποντικών στις διάφορες θεραπείες ($p=0.307$) (Van Vliet et.al,2015) [36].



Εικόνα 5.2: Συγκεντρώσεις μονοαμινεργικών νευροδιαβιβαστών.

Προκειμένου να διερευνηθεί αν η μεταβολή της σεροτονίνης και της νορεπινεφρίνης στον εγκέφαλο των ποντικών με PKU με συμπλήρωμα LNAA οφείλεται στην αυξημένη διαθεσιμότητα των πρόδρομων αμινοξέων ή στην ενισχυμένη μετατροπή τους, εξετάστηκαν οι νευροδιαβιβαστές σε σχέση με τους αντίστοιχους πρόδρομους τους. Βρέθηκε ότι στα ποντίκια με PKU αυξήθηκε τόσο ο λόγος νορεπινεφρίνης/ντοπαμίνη ($p<0.01$), όσο και ο λόγος σεροτονίνης/τρυπτοφάνη ($p<0.05$) μετά τη χορήγηση LNAA, συγκριτικά με τις υπόλοιπες δίαιτες. Αύξηση παρατηρήθηκε και στην αναλογία ντοπαμίνης/τυροσίνη, όπως και στην αναλογία νορεπινεφρίνης/τυροσίνη, συγκριτικά με τα WT ποντίκια. (Vilet et al.,2015) [35].

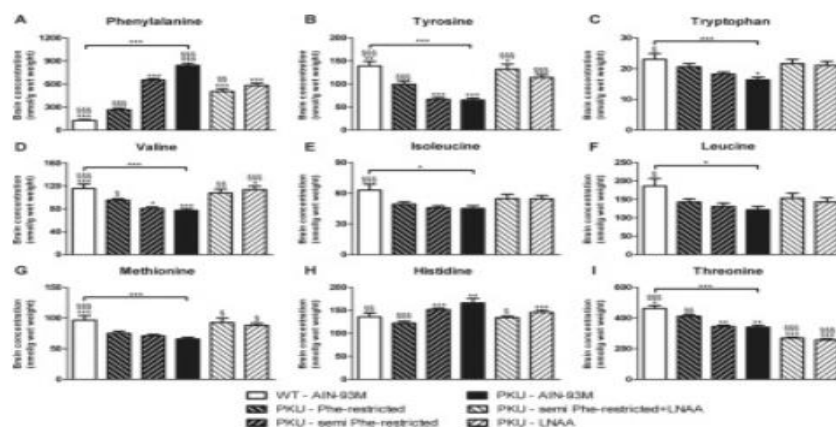


Εικόνα 5.3: Αναλογίες εγκεφαλικών μονοαμινεργικών νευροδιαβιβαστών προς πρόδρομες ουσίες.

5.1.2 Χορήγηση Large Neutral Amino Acids (LNAAs) και επίπεδα LNAAs στον εγκέφαλο των ποντικών:

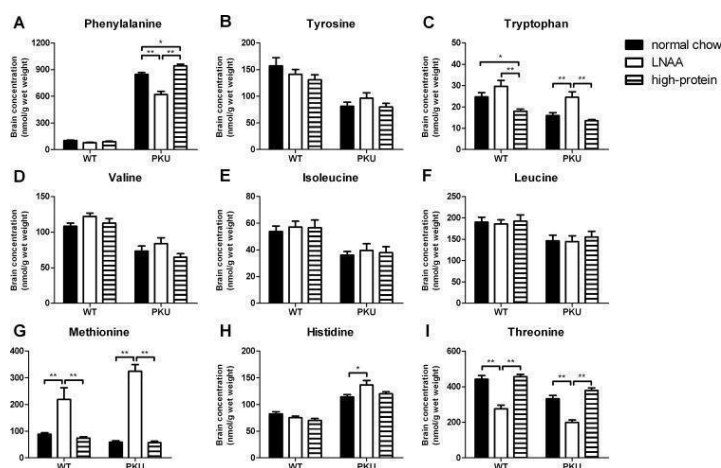
Σε έρευνα που πραγματοποίησαν οι Van Vilet et al. (2022) φάνηκε ότι η προσθήκη μιας δίαιτας ημι-περιορισμένης σε φαινυλαλανίνη στη θεραπεία με LNAA δεν συσχετίστηκε με σημαντικά διαφορετικές συγκεντρώσεις φαινυλαλανίνης στον εγκέφαλο ($p = 0,274$). Επίσης, οι συγκεντρώσεις των άλλων LNAA στον εγκέφαλο δεν διέφεραν σημαντικά μεταξύ ποντικών PKU σε δίαιτα ημι-περιορισμένης φαινυλαλανίνης με LNAA και δίαιτα ημι-περιορισμένης φαινυλαλανίνης χωρίς συμπλήρωμα LNAA. Οι συγκεντρώσεις φαινυλαλανίνης στον εγκέφαλο σε ποντικούς PKU με συμπλήρωμα LNAA (χωρίς δίαιτα περιορισμένης σε Phe) ήταν

σημαντικά υψηλότερες από τις συγκεντρώσεις Phe στον εγκέφαλο σε ποντίκια PKU σε δίαιτα με αυστηρό περιορισμό φαινυλαλανίνης (χωρίς συμπλήρωμα LNAA) ($p < 0,001$). Εν συνεχεία των συγκεντρώσεων φαινυλαλανίνης στον εγκέφαλο, δεν υπήρχε κάποια σημαντική διαφορά ανάμεσα σε μια δίαιτα ημι-περιορισμένης φαινυλαλανίνης και στη θεραπεία με LNAA ($p = 0,399$). Ακόμα, οι συγκεντρώσεις τυροσίνης, βαλίνης και μεθειονίνης εγκεφάλου σε ποντίκια PKU σε θεραπεία με LNAA ήταν σημαντικά υψηλότερες ($p < 0,001$ για τυροσίνη και βαλίνη και $p < 0,05$ για μεθειονίνη), ενώ οι συγκεντρώσεις θρεονίνης στον εγκέφαλο ήταν σημαντικά χαμηλότερες ($p < 0,001$) σε σύγκριση με τη δίαιτα ημι-περιορισμένης φαινυλαλανίνης. Τέλος, στη θεραπεία με LNAA, οι συγκεντρώσεις βαλίνης και ιστιδίνης στον εγκέφαλο ήταν σημαντικά υψηλότερες ($p < 0,05$ και $p < 0,001$, αντίστοιχα), ενώ οι συγκεντρώσεις θρεονίνης στον εγκέφαλο ήταν σημαντικά χαμηλότερες σε σύγκριση με μια δίαιτα με αυστηρά περιορισμένη σε φαινυλαλανίνη ($p < 0,001$) (Van Vilet et al.,2022) [\[35\]](#).



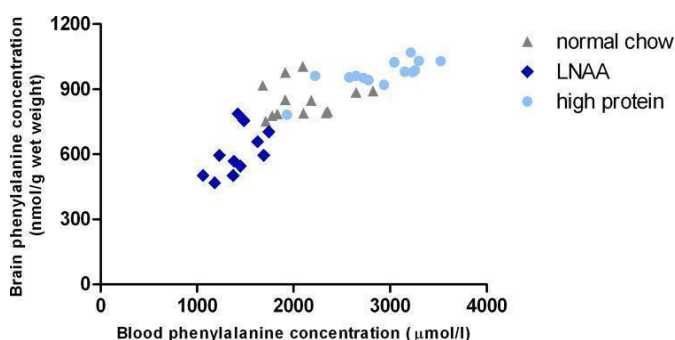
Εικόνα 5.4: Οι συγκεντρώσεις στον εγκέφαλο μεμονωμένων LNAA σε ποντίκια PKU στις διάφορες πειραματικές δίαιτες καθώς και σε ποντίκια ελέγχου PKU και WT σε δίαιτα AIN-93 M.

Παρόμοια αποτελέσματα φάνηκαν και στη μελέτη των Van Vilet et al. (2015). Συγκεκριμένα, παρατηρήθηκε αύξηση των συγκεντρώσεων της ιστιδίνης και της μεθειονίνης στον εγκέφαλο μετά τη χορήγηση LNAA ($p < 0,05$), καθώς και μείωση των συγκεντρώσεων της θρεονίνης ($p < 0,01$). Τέλος, σημαντική ήταν και η επίδραση της χορήγησης LNAA στις συγκεντρώσεις φαινυλαλανίνης στον εγκέφαλο, οι οποίες μειώθηκαν σημαντικά συγκριτικά με τη βασική δίαιτα (AIN-93M) (Van Vilet et al.,2015) [\[35\]](#).



Εικόνα 5.5: Συγκεντρώσεις LNAA στον εγκέφαλο.

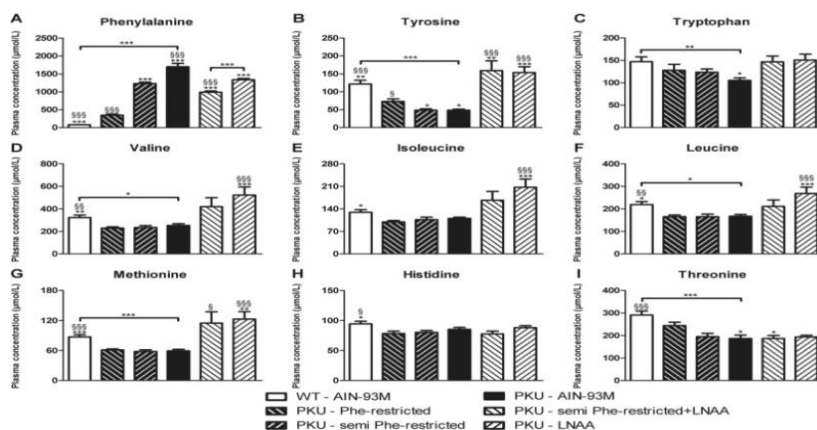
Ωστόσο, προκειμένου να διερευνηθεί αν η μείωση των συγκεντρώσεων φαινυλαλανίνης στον εγκέφαλο των ποντικών PKU με συμπλήρωμα LNAA οφείλεται στη δράση του αιματοεγκεφαλικού φραγμού (BBB) ή στη μείωση των συγκεντρώσεων της φαινυλαλανίνης στο αίμα, η έρευνα Vliet et al.(2015) εξέτασε τη σχέση μεταξύ των συγκεντρώσεων της φαινυλαλανίνης στο αίμα και στον εγκέφαλο. Η πολλαπλή γραμμική ανάλυση έδειξε ότι οι συγκεντρώσεις φαινυλαλανίνης στον εγκέφαλο προέκυψαν από τις συγκεντρώσεις φαινυλαλανίνης στο αίμα και τη δίαιτα με συμπλήρωμα LNAA. Οι συγκεντρώσεις των άλλων LNAAs στον εγκέφαλο δεν έδειξαν σαφή σχέση με τις αντίστοιχες στο αίμα ή με τις συγκεντρώσεις φαινυλαλανίνης στο αίμα.



Εικόνα 5.6: Συγκεντρώσεις phe πλάσματος έναντι εγκεφάλου σε ποντίκια με PKU σε διαφορετικές διατροφικές θεραπείες.

5.1.3 Χορήγηση Large Neutral Amino Acids (LNAAs) και επίπεδα LNAAs στο πλάσμα του αίματος των ποντικών:

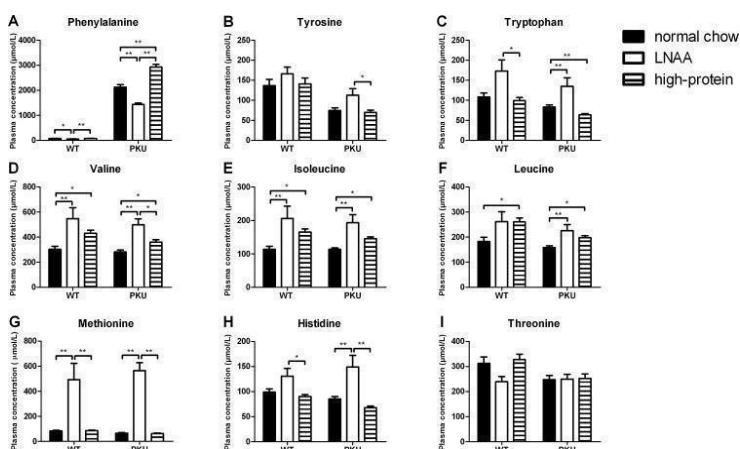
Στη μελέτη που πραγματοποίησαν οι Van Vliet et al (2022) βρέθηκε ότι οι συγκεντρώσεις φαινυλαλανίνης στο πλάσμα σε ποντικούς PKU σε θεραπεία με LNAA, χωρίς δίαιτα περιορισμένη σε φαινυλαλανίνη, ήταν σημαντικά υψηλότερες συγκριτικά με μια δίαιτα με αυστηρή περιορισμένη φαινυλαλανίνη ($p < 0,001$). Αντίθετα, σε μια δίαιτα ημι-περιορισμένη σε φαινυλαλανίνη οι συγκεντρώσεις φαινυλαλανίνης στο πλάσμα μεταξύ των ποντικών σε θεραπεία με LNAA δεν διέφεραν σημαντικά ($p = 0,168$). Ακόμα, οι συγκεντρώσεις πλάσματος των υπόλοιπων αμινοξέων (με εξαίρεση την τρυπτοφάνη, την ιστιδίνη και τη θρεονίνη) ήταν σημαντικά υψηλότερες σε ποντίκια PKU που έλαβαν θεραπεία με LNAA συγκριτικά με τη δίαιτα με αυστηρή και ημι-περιορισμένη φαινυλαλανίνη, ενώ δεν είχαν κάποια σημαντική διαφορά μεταξύ των ποντικών PKU σε δίαιτα ημιπεριορισμένης φαινυλαλανίνης με LNAA και χωρίς LNAA. Τέλος, η έρευνα έδειξε ότι μια δίαιτα ημι-περιορισμένη σε φαινυλαλανίνη με LNAA είχε ως αποτέλεσμα σημαντικά χαμηλότερες συγκεντρώσεις φαινυλαλανίνης στο πλάσμα ($p < 0,001$). (Van Vliet et al., 2022) ^[36].



Εικόνα 5.7: Οι συγκεντρώσεις πλάσματος μεμονωμένων LNAA σε ποντικούς PKU στις διάφορες πειραματικές δίαιτες καθώς και σε ποντίκια ελέγχου PKU και WT σε δίαιτα AIN-93 M.

Παρόμοια αποτελέσματα είχαν φανεί και σε παλιότερη έρευνα των Van Vliet et al. (2015), όπου οι συγκεντρώσεις φαινυλαλανίνης στο πλάσμα μειώθηκαν κατά 67% των συγκεντρώσεων συγκριτικά με τη βασική δίαιτα (AIN-93M), μετά από χορήγηση LNAAs. Με παρόμοιο τρόπο παρατηρήθηκε αύξηση των συγκεντρώσεων στο πλάσμα όλων των LNAAs

($p < 0,05$ για tyr και $p < 0,01$ για τα υπόλοιπα LNAA), εκτός από τη θρεονίνη ($p = 0,073$) (Van Vliet et al., 2015) [35].



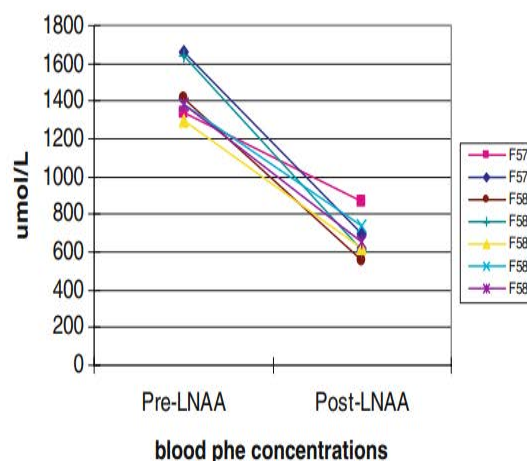
Εικόνα 5.8: Συγκεντρώσεις LNAA στο πλάσμα.

Η έρευνα Vliet et al. (2015) έδειξε ότι η χορήγηση LNAA, χωρίς περιορισμό της διαιτητικής φαινυλαλανίνης σε ποντίκια με PKU μπορεί να έχει ευεργετική επίδραση στη βιοχημεία του εγκεφάλου μέσω της δράσης τριών συνεργατικών μηχανισμών: του ανταγωνισμού που ανατάσσεται μεταξύ της φαινυλαλανίνης και των υπολοίπων αμινοξέων για τη μεταφορά τους μέσω του αιματοεγκεφαλικού φραγμού, της βελτιωμένης πρωτεϊνσύνθεσης και του περιορισμού των τοξικών επιπτώσεων της νόσου.

Παλιότερες έρευνες συμφωνούν με τα παραπάνω ευρήματα αναφορικά με τη φαινυλαλανίνη πλάσματος στο αίμα των ποντικών. Στη μελέτη των Matalon et al (2006) φάνηκε ότι τα αυξημένα επίπεδα φαινυλαλανίνης στο αίμα των ποντικών μειώθηκαν κατά 53%, πέφτοντας από μέσο όρο 1444 σε μέσο όρο 678 $\mu\text{mol/dl}$ ($p < 0,0001$), μετά τη χορήγηση μιας τροποποιημένης έκδοσης των LNAAs (NeoPhe). Τα ποντίκια συνήθως καταναλώνουν περίπου 6 γραμμάρια τροφής την ημέρα. Η προσθήκη 1 γραμμαρίου LNAAs σε 5 γραμμάρια τροφής, με περίπου 50mg Phe, οδηγεί σε πολύ υψηλή αναλογία LNAAs προς φαινυλαλανίνη. Κατά μέσο όρο, υπήρξε μείωση της φαινυλαλανίνης αίματος κατά 766 $\mu\text{mol/dl}$ ($\text{SD} = 197$). Η τροποποιημένη αυτή έκδοση προορίζεται και για ανθρώπινη κατανάλωση.

Δεδομένου ότι τα ποντίκια καταναλώναν σταθερά την ίδια δίαιτα, καθώς δεν ήταν σε θέση να επιλέξουν τη διατροφή τους, η μείωση των επιπέδων φαινυλαλανίνης στο αίμα τους αποδεικνύει ότι τα LNAAs στο μείγμα NeoPhe μπορούν να μειώσουν τα επίπεδα φαινυλαλανίνης στο αίμα (Matalon et al. 2006) [21].

Fig. 1 Mean blood Phe concentration with standard deviation of ENU²/ENU² mice ($n=7$) on normal chow (pre-LNAA) and on 16.7% NeoPhe. The ID of each mouse is given at the right. The reduction in blood Phe level is 53% from baseline with p -value <0.0001



Εικόνα 5.9: Μέση τιμή phe αίματος ποντικών πριν και μετά την χορήγηση NeoPhe.

5.1.4 Large Neutral Amino Acids (LNAAs) και μητρική φαινυλκετονουρία:

Για τις γυναίκες που πάσχουν από φαινυλκετονουρία και βρίσκονται σε αναπαραγωγική ηλικία κρίνεται ιδιαίτερα σημαντική η τήρηση της διαίτας, καθώς οποιαδήποτε απόκλιση από αυτήν μπορεί να οδηγήσει σε υψηλά επίπεδα φαινυλαλανίνης στο αίμα της μητέρας και κατά συνέπεια να αποδειχθεί επιβλαβής για το έμβρυο. Αυτό συμβαίνει λόγω του ότι ο πλακουντιακός φραγμός επιτρέπει την είσοδο σε περισσότερη ποσότητα φαινυλαλανίνης στο εμβρυϊκό διαμέρισμα, με αποτέλεσμα το έμβρυο να εκτίθεται σε σχεδόν διπλάσια ποσότητα φαινυλαλανίνης, συγκριτικά με την αντίστοιχη στο αίμα της μητέρας. Στη μελέτη Maternal PKU Collaborative, η οποία έλαβε χώρα στις ΗΠΑ το 1984 με τη χρηματοδότηση του Εθνικού Ινστιτούτου Υγείας του Παιδιού και Ανθρώπινης Ανάπτυξης, διαπιστώθηκε ότι οι μητέρες που διατηρούσαν χαμηλά τα επίπεδα φαινυλαλανίνης στο αίμα τους (2-6 mg/dl) πριν από την εγκυμοσύνη και συνέχιζαν καθ' όλη τη διάρκεια αυτής πετύχαιναν καλύτερα αναπαραγωγικά αποτελέσματα. Η έρευνα Gowda et al. η οποία διεξήχθη σε ποντίκια που αναπαράγουν την κλασική φαινυλκετονουρία στον άνθρωπο (μοντέλο BTBR-Pahenu2), με στόχο να αποδείξει όσα έχουν προαναφερθεί, έδειξε ότι οι μητέρες που ανήκουν στην ομάδα ελέγχου, στην οποία χορηγήθηκε διατροφή που περιλάμβανε 6 γραμμάρια σκόνης από μια τυπική διατροφή για ποντίκια (δίαιτα 5001) θρυμματισμένη σε σκόνη, εμφανίζουν υψηλότερα επίπεδα φαινυλαλανίνης στο αίμα τους σε σύγκριση με αυτές στην ομάδα παρέμβασης, στην οποία χορηγήθηκε 1 γραμμάριο από ένα μίγμα με LNAAs και 5 γραμμάρια σκόνης από τη δίαιτα 5001.

Τόσο η μελέτη Maternal PKU Collaborative όσο και η μελέτη στα ποντίκια έδειξε ότι η μείωση των επιπέδων φαινυλαλανίνης στο αίμα του εμβρύου της ομάδας παρέμβασης ήταν επίσης στατιστικά σημαντική.

Table: 2

LNAA supplemented maternal blood Phe levels (Average)		
Control (n = 6)	Test (n = 7)	
	Pre LNAA	Post LNAA
23.4	24.9	18.5

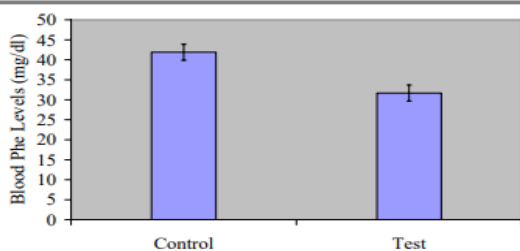


Fig. 1. Fetal blood levels in the control and the test groups.

Εικόνα 5.10: Τιμές phe αίματος ανάμεσα στα 2 γκρούπ πριν και μετά την χορήγηση συμπληρώματος LNAAs.

Από όλα τα παραπάνω φαίνεται ότι τα LNAAs είναι καλοί ανταγωνιστές της φαινυλαλανίνης αναφορικά με τη διέλευση των εντερικών και πιθανώς των πλακουντιακών φραγμών, οδηγώντας στη μείωση των επιπέδων φαινυλαλανίνης όχι μόνο στο αίμα της μητέρας, αλλά και στο έμβρυο. Η θεραπεία με LNAAs θα μπορούσε να χρησιμεύσει ως τυπική θεραπεία για την μητρική φαινυλκετονουρία, που θα επέτρεπε στους ασθενείς να απολαμβάνουν μια μεγαλύτερη ποικιλία (Gowda,2006) [\[10\]](#).

5.2 Μελέτες σε ανθρώπους:

Στον πίνακα, αναφέρονται συνοπτικά οι μέθοδοι και τα αποτελέσματα της συμπληρωματικής χορήγησης LNAAs που πραγματοποιήθηκαν σε ανθρώπους.

Μελέτη	Χώρα	Μέθοδος	Δείγμα	Έλεγχος	Αποτέλεσμα
Scala,2021 [28]	Ιταλία	Clinical Trial Συμπλήρωμα Slow-Release (SR)LNAAs 0,5 gr/kg/d	n=14 Ασθενείς με PKU	12 μήνες	↓ phe ↑ Tyr ↓ Phe/Tyr
Burlina,2020 [31]	Ιταλία	Clinical Trial	n=12	12 μήνες	↑ phe

		Συμπλήρωμα Slow-Release (SR)LNAAs 1 gr/kg/d	Ασθενείς με κλασική PKU		↑ Tyr ↓ Phe/Tyr
Scala,2020 ^[29]	Ιταλία	Clinical Trial Συμπλήρωμα LNAAs 0,8-1 g/kg /d	n=10 Ασθενείς με ανεπάρκει α PAH	12 μήνες	↑ Ευημερία ↑ Ευεξία ↑ Αυτοέλεγχος ↑ Γενικευμένη υγεία ↑ Ζωτικότητας Σταθεροποίηση άγχους, κατάθλιψης και αισθήματος δυσφορίας. Βελτίωση γνωστικών και κινητικών επιδόσεων.
Burlina,2019 ^[4]	Ιταλία	Clinical Trial Συμπλήρωμα LNAA 1g/kg	n=12 Ασθενείς με κλασική PKU	12 μήνες	↑ Phe ↑ Tyr ↓ Phe/Tyr
Yano,2013 ^[41]	Αμερική	Randomized Control Trial (Τυχαιοποιημένη	2 ομάδες n=10 ασθενείς με PKU	9 μήνες (3 φάσεις, τριών εβδομάδω	↑ Νυχτερινής μελατονίνης ↑ Ντοπαμίνης

		διπλή τυφλοποίηση) Δισκία LNAA 0,5 mg/kg/d	n= 10 υγιείς ασθενείς	ν η κάθε μια)	ούρων ↑ 6- σουλφα- τοξυμελατονίν ης ↑ Trp/LNAA έναντι ντοπαμίνης ούρων ↑ Trp/LNAA έναντι 6- σουλφατοξυ- μελατονίνης Σταθερή phe
Matalon,2007 ^{12} ^{11}	Αμερική	Randomized Control Trial (Τυχαιοποιημένη διπλή τυφλοποίη- ση) Συμπλήρωμα LNAA (NeoPhe) 0,5 g/kg/d, διαιρε- μένο σε 3 δόσεις που πρέπει να λαμβάνονται με τα γεύματα. Τα χάπια εικονικού φαρμά- κου χορηγήθηκαν στην ίδια ποσότητα.	n=20 Ασθενείς με PKU	3 εβδομάδες (κάθε εβδομάδα αποτελούσ ε και μια φάση)	↓ phe αίματος

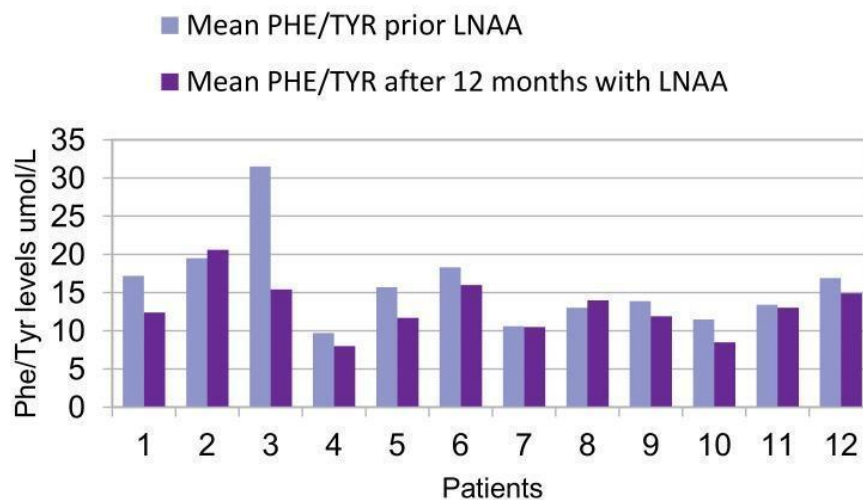
Schindeler, 2007 ^[30]	Αυστραλία	Randomized Control Trial (Τυχασιοποιημένη διπλή τυφλοποίηση) Συμπλήρωμα LNAA 250 mg/kg/d σε 3 δόσεις μαζί με τα κύρια γεύματα. Το εικονικό φάρμακο χορηγήθηκε στην ίδια ποσότητα.	n= 16 (9 γυναίκες και 7 άνδρες) Ασθενείς με κλασική PKU	5 μήνες (4 φάσεις των 2 εβδομάδων η κάθε μια)	Καμία σημαντική αλλαγή στο βάρος ↑ phe/tyr ↑ phe Βελτίωση γνωστικών και λεκτικών λειτουργιών ↑ επιπέδων άγχους Καμία αλλαγή στην προσοχή
Matalon, 2006 ^[21]	Αμερική	Open label study Συμπλήρωμα LNAA (NeoPhe) 0,5g/kg/d και 1,0g/kg/d διαιρεμένο σε 3 δόσεις που πρέπει να λαμβάνονται με τα γεύματα.	n=11 Ασθενείς με κλασική PKU	1 εβδομάδα	↓ phe αίματος

Πίνακας 5.2: Μελέτες και αποτελέσματα δράσης χορήγησης συμπληρωμάτων Large Neutral Amino Acids (LNNAs) σε ανθρώπους.

5.2.1 Επίδραση των LNAAs στα επίπεδα φαινυλαλανίνης, τυροσίνης και του λόγου αυτών:

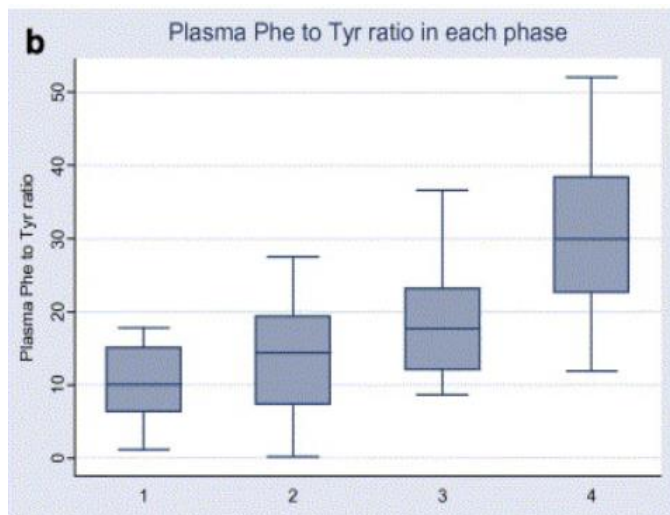
Η μελέτη Burlina et al. εξέτασε τις αλλαγές στα βιοχημικά επίπεδα σε ασθενείς με φαινυλκετονουρία (PKU) πριν και μετά την εισαγωγή της θεραπείας με μεγάλα ουδέτερα

αμινοξέα (LNAA) για μια χρονική περίοδο 12 μηνών. Πριν την έναρξη της θεραπείας, η αναλογία Phe/Tyr κυμαινόταν από 9,7 έως 19,9 $\mu\text{mol/L}$, ενώ μετά από 12 μήνες θεραπείας με LNAA η αναλογία Phe/Tyr μειώθηκε σημαντικά στο 83% των ασθενών.



Εικόνα 5.11: μέση αναλογία phe/tyr πριν και μετά τη χορήγηση συμπληρωμάτων LNAA.

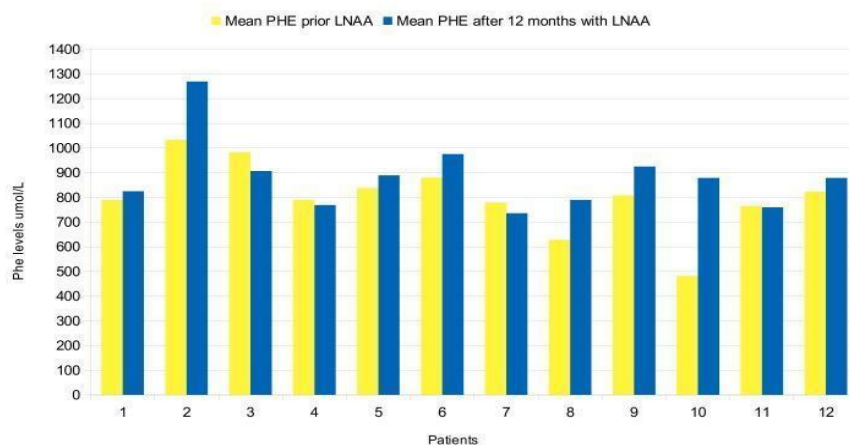
Αντίθετα φαίνεται να ήταν τα αποτελέσματα φάνηκαν στη μελέτη Schindeler et al., αφού ο λόγος phe/tyr είχε ανοδική πορεία με την αύξηση της συνολικής πρόσληψης LNAA.



Εικόνα 5.12: Boxplots για το λόγο phe/tyr πλάσματος που μετρήθηκε σε κάθε φάση.

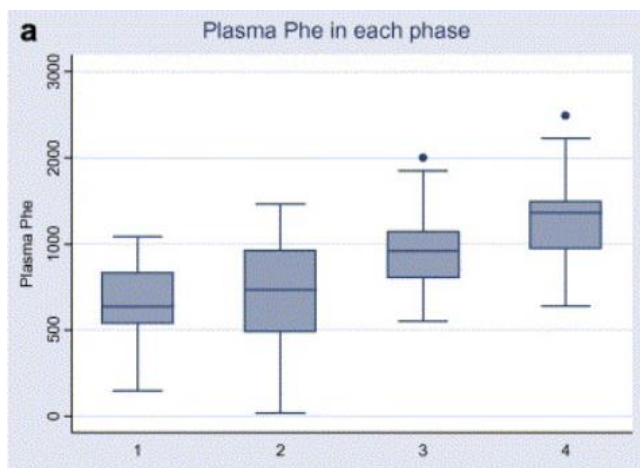
Αναφορικά με τα επίπεδα της φαινυλαλανίνης στο πλάσμα, στη μελέτη των Burlina et al. τα επίπεδα Phe παρέμειναν σταθερά για τους περισσότερους ασθενείς κατά τη διάρκεια της θεραπείας. Συγκριτικά με την αρχική τιμή, τα επίπεδα της Phe μειώθηκαν σημαντικά κατά τους

πρώτους έξι μήνες της θεραπείας ($p = 0,00458$), αλλά στη συνέχεια αυξήθηκαν σημαντικά κατά το δεύτερο εξάμηνο ($p = 0,0522$). Παρά το γεγονός ότι η διατροφική πρόσληψη δεν καταγράφηκε κατά τη διάρκεια της μελέτης, θεωρείται πιθανό ότι ένα αυστηρότερο διατροφικό πρόγραμμα κατά τους πρώτους έξι μήνες της θεραπείας οδήγησε σε μείωση των επιπέδων της Phe, ενώ μια πιθανή χαλάρωση στους διατροφικούς περιορισμούς ενδέχεται να προκάλεσε την αύξηση των επιπέδων της Phe στους 12 μήνες. (Burlina et al.2019) [\[4\]](#).



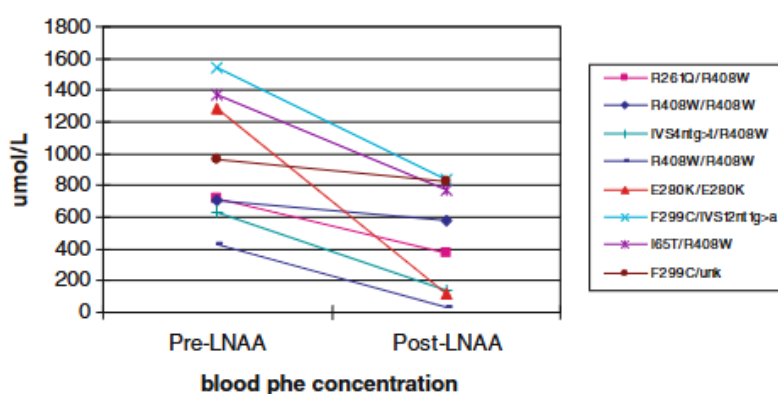
Εικόνα 5.13: Μέσα επίπεδα phe 12 μήνες πριν και μετά την χορήγηση συμπληρωμάτων LNAA.

Αντίστοιχα αποτελέσματα βρέθηκαν τόσο στη μελέτη των Yano et al., όπου τα επίπεδα Phe στο αίμα στα άτομα με PKU δεν άλλαξαν σημαντικά από τη φάση του εικονικού φαρμάκου μετά τη συμπλήρωση με LNAA, όσο και στη μελέτη των Schindeler et al. (Εικόνα 5.14), όπου η συμπληρωματική χορήγηση LNAA μείωσε τα επίπεδα φαινυλαλανίνης στο πλάσμα, μόνο όταν οι ασθενείς δεν λάμβαναν το φαρμακευτικό τους σκεύασμα. Το γεγονός αυτό καθιστά το συμπλήρωμα LNAA ωφέλιμο για τη μείωση της φαινυλαλανίνης πλάσματος μόνο για τα άτομα που δεν μπορούν να συμμορφωθούν με τη δίαιτα και το φαρμακευτικό προϊόν (Schindeler et al., 2007) [\[30\]](#), (Yano et al., 2013) [\[41\]](#).

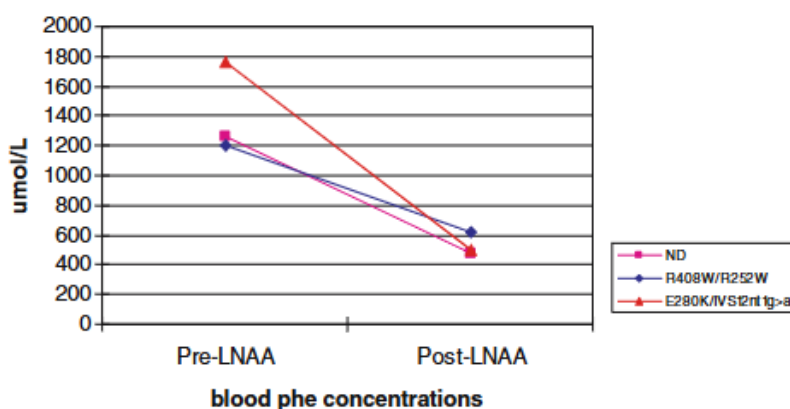


Εικόνα 5.14: Boxplots για phe πλάσματος (μmol/L) που μετρήθηκαν σε κάθε φάση.

Ωστόσο, τα παραπάνω αποτελέσματα έρχονται σε αντίθεση με τη μελέτη του Matalon et al., όπου παρατηρήθηκε μείωση των αυξημένων επιπέδων φαινυλαλανίνης στο αίμα κατά 52% σε οκτώ άτομα με PKU με μέσο όρο ηλικίας 20,5 έτη, μετά τη χορήγηση NeoPhe σε δόση 0,5 g/kg ημερησίως, πέφτοντας από μέσο όρο 957,4 μmol/dl σε μέσο όρο 458,4 μmol/dl ($p=0,004$) (Εικόνα 5.15). Παρόμοια αποτελέσματα της τάξης του 55% φάνηκαν και σε τρεις ασθενείς με μέσο όρο ηλικίας 16,5 έτη όταν τους χορηγήθηκε δόση 1,0 g/kg LNAAς ημερησίως για μία εβδομάδα, πέφτοντας από μέσο όρο 1230 μmol/dl σε μέσο όρο 549,0 μmol/dl (Εικόνα 5.16). Φαίνεται πως η χορήγηση του μίγματος NeoPhe οδήγησε σε μέση μείωση της τάξης των 601 μmol/dl ($SD = 370$) των επιπέδων φαινυλαλανίνης στο αίμα όλων των ασθενών, συγκριτικά με τα αρχικά τους επίπεδα, ενώ όταν εξετάστηκε ως σύνολο ($N = 11$), αυτή η μείωση της φαινυλαλανίνης στο αίμα ήταν εξαιρετικά σημαντική ($p = 0,0003$) (Matalon et al.,2006) ^[21].



Εικόνα 5.15: Μείωση phe αίματος μετά την χορήγηση 0,5 g/kg NeoPhe

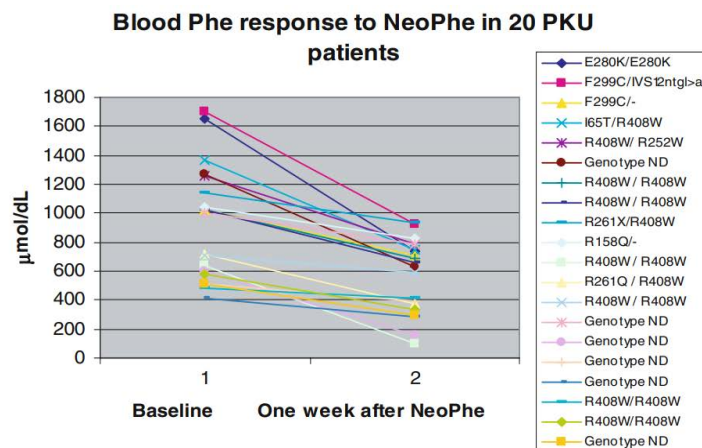


Εικόνα 5.16: Μείωση phe αίματος μετά την χορήγηση 1,0 g/kg NeoPhe

Προκειμένου να επιβεβαιωθούν τα παραπάνω θετικά ευρήματα, διεξήχθη μια διπλή-τυφλή μελέτη (Matalon et al.,2007) ^[20] ελέγχου εικονικού φαρμάκου με LNAA σε ασθενείς με

PKU. Τα αποτελέσματα έδειξαν μείωση του μέσου επιπέδου φαινυλαλανίνης στο αίμα από 932,9 $\mu\text{mol/L}$ που ήταν κατά την έναρξη της μελέτης σε 568,4 $\mu\text{mol/L}$ (μέση μείωση 364,5, $\text{SD} = 233,2$), σε όλους του ασθενείς μετά από μια εβδομάδα λήψης 0,5g/kg/ημέρα NeoPhe (LNAA), με αποτέλεσμα μείωση κατά 39% ($p < 0,0001$). Επτά άτομα με κλασική PKU παρουσίασαν μείωση των επιπέδων φαινυλαλανίνης στο αίμα από 531,6 $\mu\text{mol/L}$ σε 281,5 $\mu\text{mol/L}$ (μέση μείωση 250,1, $\text{SD} = 173,7$, $p = 0,009$) με την προσθήκη του NeoPhe (μείωση 47%).

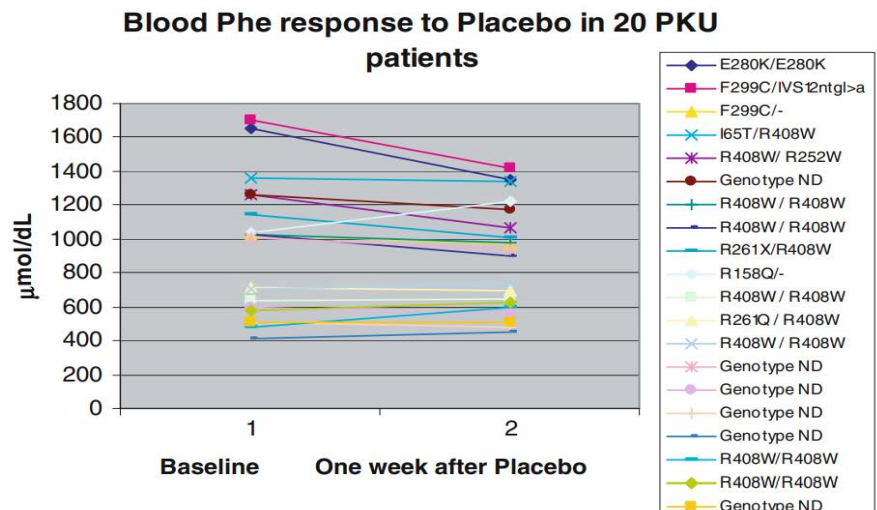
Fig. 1 Blood Phe response to NeoPhe in 20 PKU patients after one week. Average blood Phe concentration at baseline was 932.9 $\mu\text{mol/L}$, which dropped to 568.4 $\mu\text{mol/L}$ (average drop of 364.5, $\text{SD} = 232.2$, $p < 0.0001$). Seven patients with mean baseline of 531.6 $\mu\text{mol/L}$, which dropped to 281.5 $\mu\text{mol/L}$ (average drop of 250.1, $\text{SD} = 73.7$, $p = 0.009$)



Εικόνα 5.17: Ανταπόκριση του σκευάσματος NeoPhe στην phe αίματος των ασθενών μετά από 1 εβδομάδα λήψης του σκευάσματος.

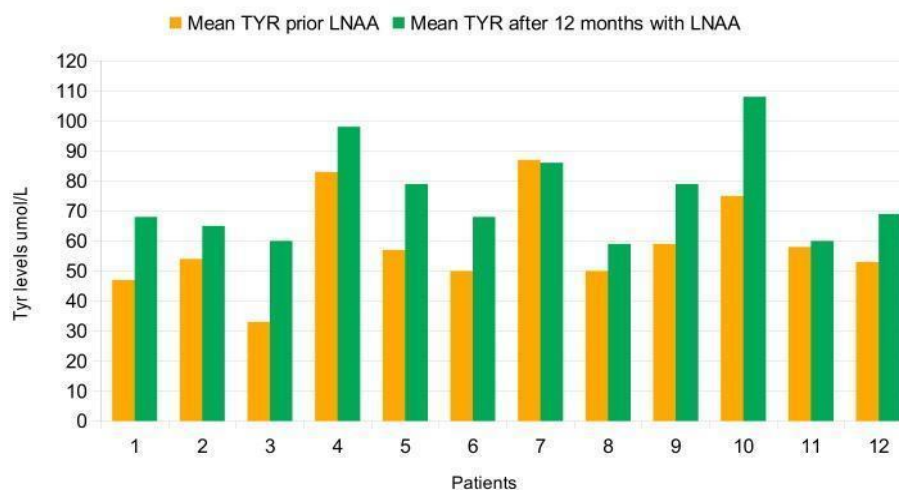
Μικρές αλλαγές παρατηρήθηκαν στις συγκεντρώσεις φαινυλαλανίνης στο αίμα των ασθενών με PKU, έπειτα από τη λήψη του εικονικού φαρμάκου, σε σύγκριση με τα αρχικά επίπεδα. Το μέσο επίπεδο της Phe στο αίμα μειώθηκε κατά 5,4 %, πέφτοντας από 932,9 $\mu\text{mol/L}$ σε 882,66 $\mu\text{mol/L}$, αλλά η αλλαγή αυτή δεν κρίθηκε στατιστικά σημαντική ($p = 0,07$).

Fig. 2 Blood Phe response to placebo in 20 PKU patients after one week of washout. Average blood Phe concentration at baseline was 932.9 $\mu\text{mol/L}$, which dropped to 882.6 $\mu\text{mol/L}$, a decline of 5.4% (not statistically significant)



Εικόνα 5.18: Ανταπόκριση του σκευάσματος NeoPhe στην phe αίματος των ασθενών μετά από 1 εβδομάδα λήψης του σκευάσματος

Τέλος, αναφορικά με τα επίπεδα Tyr, στη μελέτη Burlina et al., τα επίπεδα Tyr αυξήθηκαν σημαντικά στο 92% των ασθενών κατά τη διάρκεια της θεραπείας, παραμένοντας σχετικά σταθερά με την πάροδο του χρόνου, υποδηλώνοντας συνεπή κατανάλωση του νέου σκευάσματος LNAA (Burlina et al.2019) [\[4\]](#).



Εικόνα 5.19 : Μέσα επίπεδα tyr 12 μήνες πριν και μετά την χορήγηση συμπληρωμάτων LNAA.

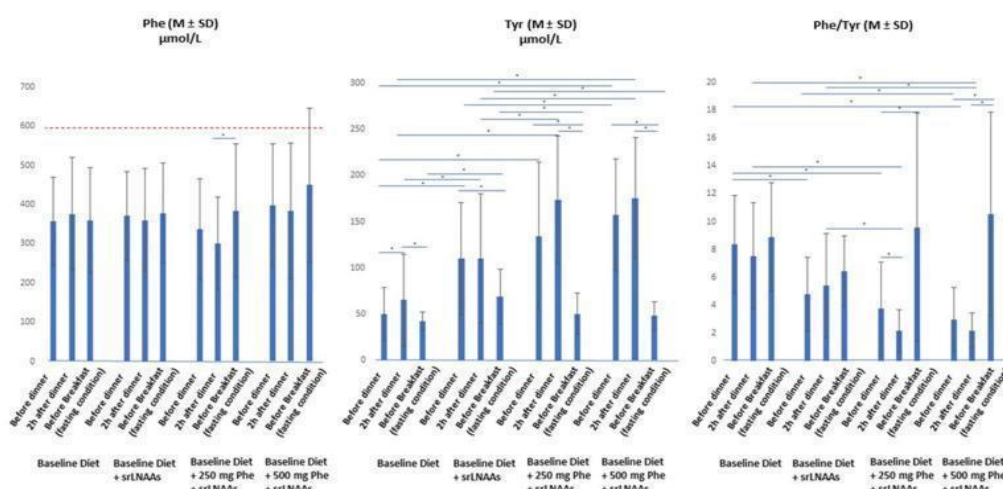
5.2.2 SR LNAA's και επίπεδα LNAA's στο πλάσμα των ασθενών με PKU:

Σύμφωνα με τις έρευνες Scala et al. και Burlina et al., η προσθήκη srLNAA's στη διατροφή ασθενών που πάσχουν από PKU και ακολουθούν μια χαμηλή σε πρωτεΐνη δίαιτα, διαδραματίζουν πολύ σημαντικό ρόλο στις τιμές των επιπέδων φαινυλαλανίνης στο πλάσμα του αίματος, τις τιμές της τυροσίνης, καθώς και το λόγο phe/tyr.

Αναλυτικότερα, η έρευνα των Scala et al. εξέτασε τις επιδράσεις των srLNAA's και της φαινυλαλανίνης (Phe) στη διατροφή των ασθενών. Την πρώτη ημέρα, οι ασθενείς ακολούθησαν τη συνηθισμένη τους δίαιτα και οι μετρήσεις της φαινυλαλανίνης δεν έδειξαν στατιστικά σημαντικές διακυμάνσεις. Την έβδομη ημέρα, προστέθηκε στη δίαιτά τους srLNAA's χωρίς σημαντικές διαφοροποιήσεις στις τιμές φαινυλαλανίνης. Στις ημέρες 14 και 21 προστέθηκε φορτίο Phe 250 mg, το οποίο μείωσε τη συγκέντρωση Phe δύο ώρες μετά το δείπνο. Στις ημέρες 28 και 35, με την προσθήκη 500 mg Phe, οι τιμές Phe ήταν υψηλότερες αλλά όχι στατιστικά σημαντικές, ενώ παρέμειναν κάτω από 600 $\mu\text{mol/L}$.

Για την τυροσίνη (Tyr), την πρώτη ημέρα παρατηρήθηκε αύξηση των τιμών Tyr μετά το δείπνο και μείωση πριν από το πρωινό. Την έβδομη ημέρα, οι τιμές Tyr αυξήθηκαν σημαντικά, και στις ημέρες 14 και 21 οι τιμές Tyr ήταν υψηλότερες σε σύγκριση με την ημέρα 1. Στις ημέρες 28 και 35, τα προφίλ Tyr ήταν συγκρίσιμα με τις προηγούμενες ημέρες, αλλά με μειωμένες τιμές μετά από τη νυχτερινή νηστεία.

Τέλος, ο λόγος Phe/Tyr μειώθηκε σημαντικά καθ' όλη τη μελέτη με την προσθήκη srLNAA's, εκτός από τις πρωινές τιμές στις ημέρες 14-21 και 28-35, οι οποίες όμως δεν ήταν στατιστικά σημαντικές (Scala et al.,2021) [\[28\]](#).



Εικόνα 5.20: Μέση αναλογία φαινυλαλανίνης, τυροσίνης και phe/tyr.

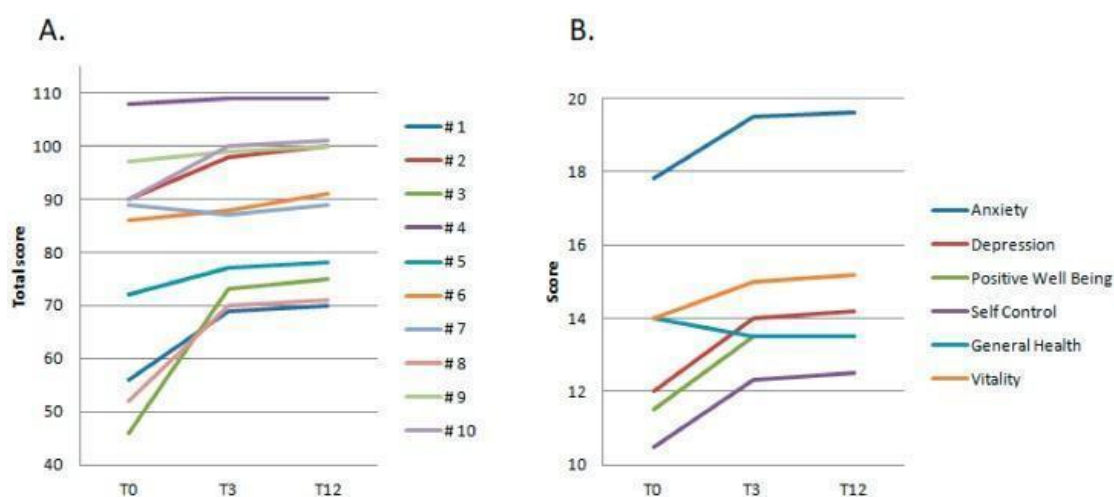
Αντίστοιχα και στην έρευνα Burlina et al. βρέθηκε ότι η χορήγηση srLNAAς συμβάλλει στη μείωση του λόγου Phe/Tyr, ενώ αυξάνει τα επίπεδα τυροσίνης (Tyr). Κατά τη διάρκεια της θεραπείας με LNAA, οι τιμές Phe και Tyr παρουσίασαν αντίστοιχες μεταβολές, με τα επίπεδα Tyr να αυξάνονται σημαντικά στο 92% των ασθενών, ενώ η αναλογία Phe/Tyr μειώθηκε σημαντικά σε σχέση με την περίοδο πριν από τη θεραπεία. Για τους περισσότερους ασθενείς, τα μέσα επίπεδα Phe ήταν παρόμοια πριν και κατά τη διάρκεια της 12μηνιαίας περιόδου θεραπείας με LNAAς (Burlina et al.,2020)^[3].

Συνολικός πληθυσμός ασθενών	Πριν από τη θεραπεία LNAA	Κατά τη διάρκεια της θεραπείας με LNAA	της p Τιμή
Phe	752 ± 143	894 ± 145	0,0522
Tyr	59 ± 13	75 ± 16	0,0195
Phe/Tyr	16 ± 4	12 ± 3	0,049

Πίνακας 5.3: Σύγκριση μεταξύ των μέσων τιμών του λόγου Phe, Tyr και Phe/Tyr όλων των ασθενών στους δώδεκα μήνες πριν από την έναρξη της θεραπείας με LNAA και κατά τη διάρκεια της θεραπείας με LNAA.

5.2.3 Large Neutral Amino Acids (LNAAS) και νευροψυχολογικές επιδράσεις:

Σύμφωνα με τη μελέτη Scala et al., η οποία χρησιμοποίησε ένα σύνολο δεικτών και εργαλείων ικανά να αξιολογήσουν τις νευροψυχολογικές επιδράσεις των ασθενών, όπως για παράδειγμα το Psychological General Well Being Index (PGWBI), το Wisconsin Card Sorting Test (WCST), το Test of Attentional Performance (TAP Test) και το 9-Hole Peg Test (HPG), η χορήγηση συμπληρωμάτων LNAAs στους ασθενείς βελτίωσε σημαντικά τις νευροψυχολογικές επιδράσεις τους. Αναλυτικότερα, τα αποτελέσματα του PGWBI έδειξαν αξιοσημείωτη βελτίωση στην ευεξία των ασθενών, ύστερα από τη χορήγηση συμπληρωμάτων LNAAs. Η εμφάνιση της βελτίωσης αυτής έγινε αντιληπτή διότι το άγχος, η κατάθλιψη και το αίσθημα δυσφορίας κατέγραψαν σταθερή πορεία, σε αντίθεση με τη θετική ευεξία, τη γενικευμένη υγεία, τον αυτοέλεγχο και τη ζωτικότητα, η αύξηση των οποίων ήταν χαρακτηριστική.



Εικόνα 5.21: Psychological General Well Being Index (PGWBI). (A) Δείκτης συνολικής βαθμολογίας για κάθε ασθενή στο T0 και μετά από 3 και 12 μήνες συμπλήρωσης LNAA (T3, T12). (B) Μέσες τιμές των υποκλιμάκων PGWBI σε T0, T3 και T12.

Ακόμα, μέσω του WCTS αξιολογήθηκαν οι γνωστικές και κινητικές επιδόσεις των ασθενών, οι οποίες φάνηκαν να εμφανίζουν σημαντική βελτίωση από τη στιγμή που πραγματοποιήθηκε η έναρξη της χορήγησης των συμπληρωμάτων LNAA και με την πάροδο του χρόνου. Θετική πρόοδος καταγράφηκε και στην επαγρύπνηση και στη συνεχή προσοχή μέσω της δοκιμής TAP, με σημαντική πτώση του χρόνου ολοκλήρωσης των εργασιών, όπως και στα λάθη. Τέλος, η λεπτή κινητική λειτουργία και ο συντονισμός ματιού-χειριού μετρήθηκαν με τη βοήθεια του τεστ 9 Hole-Peg. Ωστόσο, δεν παρατηρήθηκε κάποια σημαντική αλλαγή στις επιδόσεις των ασθενών, πέρα από μία ήπια βελτίωση στην ταχύτητα κίνησης (Scala et al.,2020) [\[29\]](#).

Με παρόμοιο τρόπο, η μελέτη των Schindeler et al. (2007) έδειξε ότι το συμπλήρωμα LNAA είχε επίδραση τόσο στις λεκτικές όσο και στις γνωστικές λειτουργίες. Αντιθέτως, τα επίπεδα άγχους φάνηκαν να αυξάνονται όταν χορηγούνταν στους ασθενείς το συμπλήρωμα. Τέλος, η προσοχή των ασθενών δεν φάνηκε να επηρεάζεται από τη συμπληρωματική χορήγηση των LNAA (Schindeler et al.,2007) [\[30\]](#).

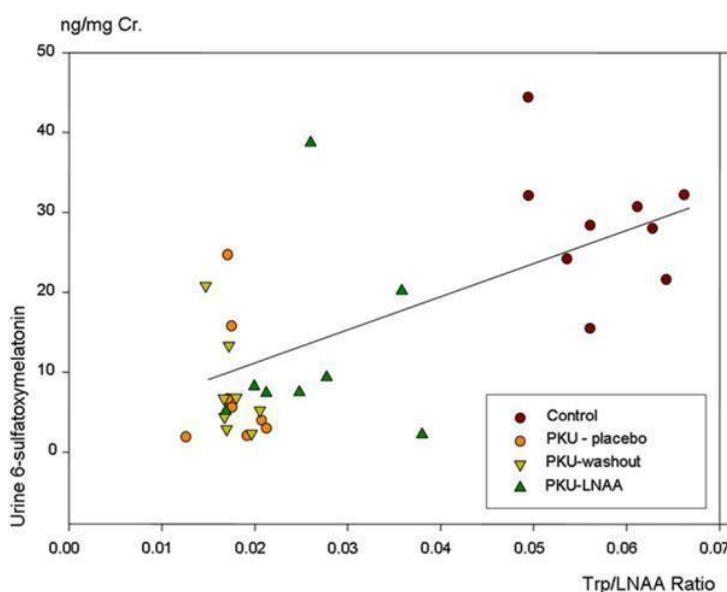
5.2.4 Συμπληρώματα LNAA και επίδραση στα επίπεδα των μονοαμινών του εγκεφάλου σε ασθενείς με PKU.

Η μελέτη Yano et al. υποστήριξε ότι το συμπλήρωμα LNAA μπορεί να συμβάλλει στη βελτίωση της σύνθεσης της μελατονίνης σε άτομα με PKU, δεδομένου ότι τα τελευταία

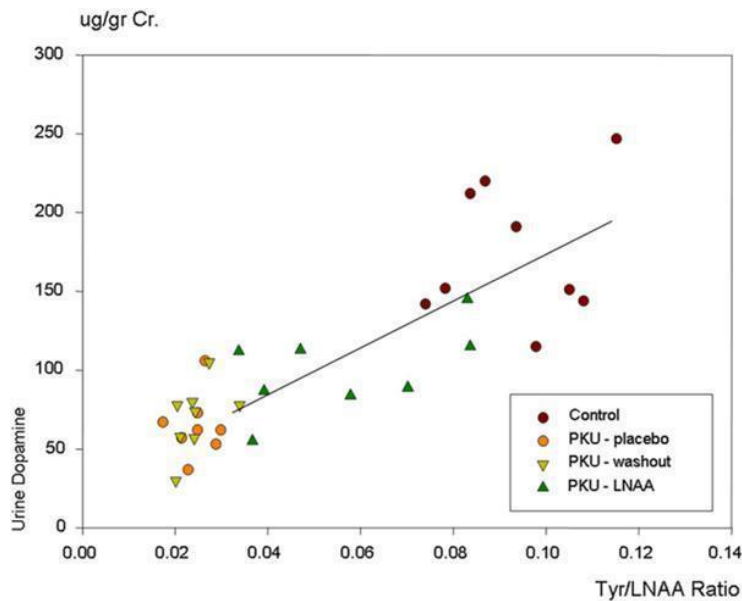
εμφανίζουν χαμηλότερα επίπεδα νυχτερινής μελατονίνης συγκριτικά με τα υγιή άτομα. Πιο αναλυτικά, ασθενείς με PKU που έλαβαν συμπλήρωμα LNAA αύξησαν σημαντικά τα επίπεδα της νυχτερινής μελατονίνης τους σε σχέση με την περίοδο που έλαβαν εικονικό φάρμακο, χωρίς όμως τα επίπεδα αυτά να φτάσουν πλήρως τα επίπεδα της ομάδας ελέγχου.

Αναφορικά με τα αρχικά επίπεδα 6-σουλφατοξυμελατονίνης στα ούρα, παρατηρήθηκε ότι ήταν σημαντικά χαμηλότερα σε άτομα με PKU σε σύγκριση με τους υγιείς μάρτυρες. Η χορήγηση συμπληρωμάτων LNAA αύξησε τα επίπεδα της 6-σουλφατοξυμελατονίνης, αν και αυτά παρέμειναν σημαντικά χαμηλότερα από εκείνα των μαρτύρων. Επιπλέον, τα αρχικά επίπεδα ντοπαμίνης στα ούρα ήταν σημαντικά χαμηλότερα στα άτομα με PKU σε σύγκριση με τους μάρτυρες. Η συμπλήρωση με LNAA αύξησε τα επίπεδα ντοπαμίνης στα άτομα με PKU, αλλά αυτά τα επίπεδα παρέμειναν σημαντικά χαμηλότερα από τα επίπεδα των μαρτύρων.

Τέλος, εξετάστηκε και η 6-σουλφατοξυμελατονίνη ούρων έναντι της αναλογίας Trp/LNAA πλάσματος και η ντοπαμίνη ούρων έναντι της αναλογίας Tyr/LNAA πλάσματος. Η μέση αναλογία Trp/LNAA ήταν σημαντικά χαμηλότερη στα άτομα με PKU σε σύγκριση με τους υγιείς μάρτυρες, με τις δύο ομάδες να μην παρουσιάζουν καμία επικάλυψη. Επιπλέον, τα επίπεδα μελατονίνης στα ούρα παρουσίασαν θετική συσχέτιση με την αναλογία Trp/LNAA (Εικόνα 5.23). Τέλος, τα επίπεδα ντοπαμίνης στα ούρα παρουσίασαν θετική συσχέτιση με την αναλογία Tyr/LNAA (Εικόνα 5.24).



Εικόνα 5.22: Αναλογία 6- σουλφατοξυμελατονίνης και Trp/LNAA ούρων.



Εικόνα 5.23: Αναλογία ντοπαμίνης και Tyr/LNAA ούρων.

Συμπερασματικά, εύκολα γίνεται αντιληπτό ότι τα επίπεδα μελατονίνης στο αίμα και στα ούρα μπορούν να παρέχουν πληροφορίες για το μεταβολισμό των νευροδιαβιβαστών, φανερώνοντας τυχόν ανεπάρκειες, όπως στις περιπτώσεις της σεροτονίνης και της ντοπαμίνης. Η συμπλήρωση με LNAA μπορεί να συμβάλλει στην αύξηση των συγκεντρώσεων των μεταβολιτών τους. (Yano et al.,2013) [\[41\]](#).

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Τα τελευταία χρόνια παρατηρείται έντονο επιστημονικό ενδιαφέρον σχετικά με την επίδραση της χορήγησης Large Neutral Amino Acids (LNAAs) σε ασθενείς που πάσχουν από φαινυλκετονουρία (PKU), και κατ' επέκταση της δράσης τους έναντι της μεταβολικής νόσου.

Μελέτες που πραγματοποιήθηκαν σε ζώα απέδειξαν πως οι νευροψυχολογικές επιπτώσεις της νόσου μπορούν, αν όχι να εξαλειφθούν, να μειωθούν μέσω της δράσης των LNAAs. Πιο αναλυτικά, φάνηκε πως σε ζώα που χορηγήθηκε δίαιτα συμπληρωμένη με LNAAs τα επίπεδα των μονοαμινών του εγκεφάλου καθώς και ένα σύνολο νευροδιαβιβαστών κατέγραψαν σημαντική αύξηση σε σχέση με άλλα ζώα που ακολούθησαν διαφορετικά διατροφικά πρότυπα [\[35\]](#), [\[36\]](#). Επιπροσθέτως, παρατηρήθηκε η συμβολή των LNAAs στη μείωση των επιπέδων φαινυλαλανίνης τόσο στον εγκεφαλο, όσο και στο πλάσμα των ζώων [\[10\]](#), [\[21\]](#) [\[35\]](#), [\[36\]](#).

Αντίστοιχα, σε πολλές μελέτες που πραγματοποιήθηκαν σε ανθρώπους, βρέθηκε ότι η χορήγηση LNAs σε ασθενείς με PKU οδηγεί σε σημαντική μείωση των επιπέδων phe σε όσους δυσκολεύονται να συμμορφωθούν με τη δίαιτα, αύξηση της τυροσίνης (tyr), καθώς και μείωση του λόγου των προαναφερθέντων αμινοξέων (phe/tyr).

Αναλυτικότερα, η μελέτη των Burlina et al. (2019) έδειξε ότι η χορήγηση LNAs σε ασθενείς με PKU οδηγεί σε σημαντική μείωση του λόγου Phe/Tyr, ενώ τα επίπεδα της Tyr αυξάνονται σημαντικά [14]. Συγκεκριμένα, στη μελέτη των Burlina et al. 2019, η αναλογία Phe/Tyr μειώθηκε στο 83% των ασθενών, ενώ παρατηρήθηκε αύξηση των επιπέδων Tyr στο 92% των ασθενών. Ωστόσο, τα επίπεδα της Phe στο πλάσμα παρέμειναν σταθερά κατά τη διάρκεια της θεραπείας, με κάποιες αυξομειώσεις στους πρώτους έξι μήνες της θεραπείας. Παρόμοια ευρήματα αναφέρθηκαν και στη μελέτη των Schindeler et al. (2007), όπου παρατηρήθηκε μείωση των επιπέδων Phe μόνο όταν οι ασθενείς δεν λάμβαναν το φαρμακευτικό τους σκεύασμα. Από την άλλη πλευρά, η μελέτη του Matalon et al. 2006 έδειξε μεγαλύτερη μείωση των επιπέδων Phe μετά τη χορήγηση NeoPhe, με μέση μείωση της τάξης του 52%, υποδεικνύοντας ότι η συμπληρωματική χορήγηση LNA μπορεί να έχει εντονότερες επιδράσεις υπό ορισμένες συνθήκες. Τα αποτελέσματα αυτά επιβεβαιώθηκαν και από μια διπλή-τυφλή μελέτη ελέγχου εικονικού φαρμάκου, η οποία έδειξε μείωση του μέσου επιπέδου φαινυλαλανίνης κατά 39% μετά από μια εβδομάδα λήψης NeoPhe [14, 20, 21, 30].

Διαπιστώθηκε ακόμη πως η χορήγηση συμπληρώματος srLNAs μπορεί να βελτιώσει τις συγκεντρώσεις Tyr, καθώς και την αναλογία Phe/Tyr, ενώ στη μελέτη των Scala et al. (2021) η προσθήκη srLNAs στη διατροφή φάνηκε να μειώνει σημαντικά τα επίπεδα Phe στο πλάσμα. Ταυτόχρονα, η χορήγηση srLNAs είχε θετική επίδραση στα επίπεδα Tyr, τα οποία αυξήθηκαν σημαντικά μετά τη χορήγηση του συμπληρώματος [28, 29].

Όσον αφορά τις νευροψυχολογικές επιδράσεις των ασθενών με PKU, φαίνεται ότι η χορήγηση LNAs βελτίωσε σημαντικά τις νευροψυχολογικές επιδόσεις των ασθενών, όπως αξιολογήθηκε μέσω δεικτών όπως το Psychological General Well Being Index (PGWBI), το Wisconsin Card Sorting Test (WCST), και το Test of Attentional Performance (TAP Test). Τα αποτελέσματα έδειξαν αξιοσημείωτη βελτίωση στην ευεξία των ασθενών, καθώς και στις γνωστικές και κινητικές επιδόσεις τους, ενώ παρατηρήθηκε θετική πρόοδος και στην προσοχή και επαγρύπνηση [29]. Αντίθετα, η μελέτη των Schindeler et al. 2007, ανέφερε ότι, παρά τη βελτίωση των λεκτικών και γνωστικών λειτουργιών, τα επίπεδα άγχους των ασθενών αυξήθηκαν, ενώ η προσοχή τους δεν επηρεάστηκε σημαντικά από τη χορήγηση LNA [30].

Σχετικά με τους νευροδιαβιβαστές, διαπιστώθηκε πως η χορήγηση συμπληρωμάτων LNAAs μπορεί να συμβάλει στη βελτίωση της σύνθεσης της μελατονίνης σε άτομα με PKU, αυξάνοντας τα επίπεδα της νυκτερινής μελατονίνης και της 6-σουλφατοξυμελατονίνης στα ούρα. Ωστόσο, τα επίπεδα αυτά παρέμειναν χαμηλότερα σε σύγκριση με τους υγιείς μάρτυρες. Παρόμοια ευρήματα παρατηρήθηκαν και για τη ντοπαμίνη, όπου η χορήγηση LNAA αύξησε τα επίπεδα της στα άτομα με PKU, αν και αυτά τα επίπεδα παρέμειναν χαμηλότερα από εκείνα των υγιών ατόμων [41].

Σημαντικό είναι να αναφερθεί ότι δεν παρατηρήθηκαν μεταβολές στο σωματικό βάρος των ανθρώπων και των ζώων, πάρα μόνο στην έρευνα Vliet et al., 2015 όπου παρατηρήθηκε αύξηση στο σωματικό βάρος των θηλυκών ποντικών WT [41, 110, 120, 121, 128, 129, 130, 135, 136, 141]. Μοναδικός περιορισμός της πλειοψηφίας των ερευνών αποτέλεσε και το γεγονός ότι ο αριθμός των συμμετεχόντων, στις έρευνες που πραγματοποιήθηκαν με ανθρώπους, ήταν σχετικά μικρός, με μοναδικές εξαιρέσεις τις έρευνες Matalon et al. 2007 και Yano et al. 2013, οι οποίες συγκριτικά με όλες τις υπόλοιπες έρευνες, συγκέντρωναν το μεγαλύτερο αριθμό συμμετεχόντων. Τέλος, σύντομο ήταν και το χρονικό διάστημα διεξαγωγής τους. [120, 141].

Φαίνεται πως ο μεθοδολογικός σχεδιασμός, ο τρόπος δηλαδή με τον οποίο οδηγήθηκε η κάθε μελέτη στα συμπεράσματά της, διέφερε μεταξύ των ερευνών που περιεγράφηκαν παραπάνω. Πιο αναλυτικά, το σύνολο των μελετών που πραγματοποιήθηκαν σε πειραματόζωα ήλεγχε τη δράση της χορήγησης των Large Neutral Amino Acids (LNAAs) μεταξύ μιας ομάδας ελέγχου και της/των πειραματικών ομάδων [110, 135, 136], σε αντίθεση με τη μελέτη Matalon (2006), η οποία κατέληξε στο συμπέρασμα ότι η χορήγηση συμπληρωμάτων Large Neutral Amino Acids (LNAAs) μειώνει τα επίπεδα phe αίματος μετά από την παρατήρηση της δράσης του χορηγούμενου συμπληρώματος στα πειραματόζωα [121]. Με παρόμοιο τρόπο, παρατηρούμε ότι και στην πλειοψηφία των μελετών σε ανθρώπους, τα αποτελέσματα της δράσης της χορήγησης συμπληρωμάτων LNAAs προκύπτουν ύστερα από παρατήρηση και καταγραφή των διαφορών [31, 41, 110, 120, 121, 128, 129, 130], εκτός από την μελέτη Yano, 2013 η οποία ελέγχει την επίδραση των LNAAs ανάμεσα σε μια ομάδα ελέγχου και στην πειραματική ομάδα [141].

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Συμπερασματικά, η χορήγηση συμπληρωμάτων Large Neutral Amino Acids (LNAAs) σε ασθενείς που πάσχουν από φαινυλκετονουρία (PKU) μπορεί να μειώσει την αναλογία φαινυλαλανίνης/τυροσίνης (Phe/Tyr) και να αυξήσει τα επίπεδα τυροσίνης στο αίμα. Ακόμα, βελτιώνει τις νευροψυχολογικές επιδόσεις, όπως αναφέρεται σε διάφορες μελέτες, αν και οι επιδράσεις μπορεί να διαφέρουν. Επιπλέον, η χορήγηση συμπληρωμάτων LNAAs επηρεάζει θετικά τη σύνθεση της μελατονίνης και τη ντοπαμίνη. Αν και η θεραπεία με LNAAs συνεισφέρει στη βελτίωση της βιοχημικής και νευροψυχολογικής κατάστασης, δεν εξαλείφει πλήρως όλες τις ανωμαλίες που σχετίζονται με την PKU. Οι μελλοντικές έρευνες θα μπορούσαν να εξετάσουν τη συνδυασμένη χρήση LNAAs με άλλες θεραπευτικές προσεγγίσεις για πιο τελεσφόρα αποτελέσματα.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Beutler, E. (2006). Gaucher disease: multiple lessons from a single gene disorder. *Acta Paediatrica*, 95(0), 103–109. <https://doi.org/10.1080/08035320600619039>
2. Bohra, V., & Nair, V. (2011). Gaucher's disease. *Indian Journal of Endocrinology and Metabolism*, 15(3), 182. <https://doi.org/10.4103/2230-8210.83402>
3. Burlina, A. P., Cazzorla, C., Massa, P., Loro, C., Guerardi, D., & Burlina, A. B. (2020). The Impact of a Slow-Release Large Neutral Amino Acids Supplement on Treatment Adherence in Adult Patients with Phenylketonuria. *Nutrients*, 12(7), 2078. <https://doi.org/10.3390/nu12072078>
4. Burlina, N., Cazzorla, N., Massa, N., Polo, N., Loro, N., Guerardi, N., & Burlina, N. (2019). Large Neutral Amino Acid Therapy Increases Tyrosine Levels in Adult Patients with Phenylketonuria: A Long-Term Study. *Nutrients*, 11(10), 2541. <https://doi.org/10.3390/nu11102541>
5. Cazzorla, C., Bensi, G., Biasucci, G., Leuzzi, V., Manti, F., Musumeci, A., Papadia, F., Stoppioni, V., Tummolo, A., Vendemiaie, M., Polo, G., & Burlina, A. (2018). Living

- with phenylketonuria in adulthood: The PKU ATTITUDE study. *Molecular Genetics and Metabolism Reports*, 16, 39–45. <https://doi.org/10.1016/j.ymgmr.2018.06.007>
6. Classification and diagnosis of diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes—2018. (2017). *Diabetes Care*, 41(Supplement_1), S13–S27. <https://doi.org/10.2337/dc18-s002>
 7. Concolino, D., Mascaro, I., Moricca, M. T., Bonapace, G., Matalon, K., Trapasso, J., Radhakrishnan, G., Ferrara, C., Matalon, R., & Strisciuglio, P. (2016). Long-term treatment of phenylketonuria with a new medical food containing large neutral amino acids. *European Journal of Clinical Nutrition*, 71(1), 51–55. <https://doi.org/10.1038/ejcn.2016.166>
 8. Dalei, S. K., & Adlakha, N. (2022). Food regime for phenylketonuria: Presenting complications and possible solutions. *Journal of Multidisciplinary Healthcare, Volume 15*, 125–136. <https://doi.org/10.2147/jmdh.s330845>
 9. De Giorgi, A., Nardecchia, F., Manti, F., Campistol, J., & Leuzzi, V. (2023). Neuroimaging in early-treated phenylketonuria patients and clinical outcome: A systematic review. *Molecular Genetics and Metabolism*, 139(2), 107588. <https://doi.org/10.1016/j.ymgme.2023.107588>
 10. DeBerardinis, R. J., & Thompson, C. B. (2012). Cellular metabolism and disease: What do metabolic outliers teach us? *Cell*, 148(6), 1132–1144. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2012.02.032>
 11. Fernstrom, J. D., & Wurtman, R. J. (1972). Brain serotonin content: physiological regulation by plasma neutral amino acids. *Science*, 178(4059), 414–416. <https://doi.org/10.1126/science.178.4059.414>
 12. Gowda, S. S. & McDonald, J. D. (2006). Effect of large neutral amino acids on maternal phenylketonuria offspring. In Proceedings : 2nd Annual Symposium on Graduate Research and Scholarly Projects. Wichita, KS : Wichita State University, p.90-91 <http://hdl.handle.net/10057/816>
 13. Grundy, S. M., Stone, N. J., Bailey, A. L., Beam, C., Birtcher, K. K., Blumenthal, R. S., Braun, L. T., De Ferranti, S., Faiella-Tommasino, J., Forman, D. E., Goldberg, R., Heidenreich, P. A., Hlatky, M. A., Jones, D. W., Lloyd-Jones, D., Lopez-Pajares, N., Ndumele, C. E., Orringer, C. E., Peralta, C. A., . . . Yeboah, J. (2019). 2018

- Guideline on the Management of Blood Cholesterol: Executive Summary. *Journal of the American College of Cardiology*, 73(24), 3168–3209. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2018.11.002>
14. Hillert, A., Anikster, Y., Belanger-Quintana, A., Burlina, A., Burton, B. K., Carducci, C., Chiesa, A. E., Christodoulou, J., Đorđević, M., Desviat, L. R., Eliyahu, A., Evers, R. A., Fajkusova, L., Feillet, F., Bonfim-Freitas, P. E., Giżewska, M., Gundorova, P., Karall, D., Kneller, K., . . . Blau, N. (2020). The genetic landscape and Epidemiology of phenylketonuria. *American Journal of Human Genetics*, 107(2), 234–250. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2020.06.006>
 15. Hoeksma, M., Van Rijn, M., Verkerk, P. H., Bosch, A. M., Mulder, M. F., De Klerk, J. B. C., De Koning, T. J., Rubio-Gozalbo, E., De Vries, M., Sauer, P. J. J., & Van Spronsen, F. J. (2005). The intake of total protein, natural protein and protein substitute and growth of height and head circumference in Dutch infants with phenylketonuria. *Journal of Inherited Metabolic Disease*, 28(6), 845–854. <https://doi.org/10.1007/s10545-005-0122-x>
 16. Huttenlocher, P. R. (2000). The neuropathology of phenylketonuria: human and animal studies. *European Journal of Pediatrics*, 159(S2), S102–S106. <https://doi.org/10.1007/pl00014371>
 17. Hyderly, T., & Coppenrath, V. A. (2019). A comprehensive review of Pegvaliase, an enzyme substitution therapy for the treatment of phenylketonuria. *Drug Target Insights*, 13, 117739281985708. <https://doi.org/10.1177/1177392819857089>
 18. Longo, N., Dimmock, D., Levy, H., Viau, K., Bausell, H., Bilder, D. A., Burton, B., Gross, C., Northrup, H., Rohr, F., Sacharow, S., Sanchez-Valle, A., Stuy, M., Thomas, J., Vockley, J., Zori, R., & Harding, C. O. (2019). Evidence- and consensus-based recommendations for the use of pegvaliase in adults with phenylketonuria. *Genetics in Medicine*, 21(8), 1851–1867. <https://doi.org/10.1038/s41436-018-0403-z>
 19. MacLeod, E. L., & Ney, D. M. (2010). Nutritional management of phenylketonuria. *Annales Nestlé (English Ed)*, 68(2), 58–69. <https://doi.org/10.1159/000312813>
 20. Matalon, R., Michals-Matalon, K., Bhatia, G., Burlina, A. B., Burlina, A. P., Braga, C., Fiori, L., Giovannini, M., Grechanina, E., Novikov, P., Grady, J., Tyring, S. K., & Guttler, F. (2007). Double blind placebo control trial of large neutral amino acids in

- treatment of PKU: Effect on blood phenylalanine. *Journal of Inherited Metabolic Disease*, 30(2), 153–158. <https://doi.org/10.1007/s10545-007-0556-4>
21. Matalon, R., Michals-Matalon, K., Bhatia, G., Grechanina, E., Novikov, P., McDonald, J. D., Grady, J., Tying, S. K., & Guttler, F. (2006). Large neutral amino acids in the treatment of phenylketonuria (PKU). *Journal of Inherited Metabolic Disease*, 29(6), 732–738. <https://doi.org/10.1007/s10545-006-0395-8>
 22. Mitchell, J. J., Trakadis, Y. J., & Scriver, C. R. (2011). Phenylalanine hydroxylase deficiency. *Genetics in Medicine*, 13(8), 607–617. <https://doi.org/10.1097/gim.0b013e3182141b48>
 23. National Academies Press (US). (1999). *Amino acid and protein requirements: cognitive performance, stress, and brain function*. The Role of Protein and Amino Acids in Sustaining and Enhancing Performance - NCBI Bookshelf. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK224629/>
 24. Organization of Teratology Information Specialists (OTIS). (2022, November 1). *Phenylketonuria (PKU)*. Mother to Baby | Fact Sheets - NCBI Bookshelf. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK582816/>
 25. Pardridge, W. M. (1983). Brain metabolism: a perspective from the blood-brain barrier. *Physiological Reviews*, 63(4), 1481–1535. <https://doi.org/10.1152/physrev.1983.63.4.1481>
 26. *Phenylketonuria: an inborn error of phenylalanine metabolism*. (2008, February 1). PubMed. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18566668/>
 27. Rocha, J. C., & MacDonald, A. (2016). Dietary intervention in the management of phenylketonuria: current perspectives. *Pediatric Health, Medicine and Therapeutics*, 7, 155–163. <https://doi.org/10.2147/PHMT.S49329>
 28. Scala, I., Concolino, D., Nastasi, A., Esposito, G., Crisci, D., Sestito, S., Ferraro, S., Albano, L., Ruoppolo, M., Parenti, G., & Strisciuglio, P. (2021). Beneficial Effects of Slow-Release Large Neutral Amino Acids after a Phenylalanine Oral Load in Patients with Phenylketonuria. *Nutrients*, 13(11), 4012. <https://doi.org/10.3390/nu13114012>
 29. Scala, I., Riccio, M. P., Marino, M., Bravaccio, C., Parenti, G., & Strisciuglio, P. (2020). Large Neutral Amino Acids (LNAAs) Supplementation Improves Neuropsychological

- Performances in Adult Patients with Phenylketonuria. *Nutrients*, 12(4), 1092. <https://doi.org/10.3390/nu12041092>
30. Schindeler, S., Ghosh-Jerath, S., Thompson, S., Rocca, A., Joy, P., Kemp, A., Rae, C., Green, K., Wilcken, B., & Christodoulou, J. (2007). The effects of large neutral amino acid supplements in PKU: An MRS and neuropsychological study. *Molecular Genetics and Metabolism*, 91(1), 48–54. <https://doi.org/10.1016/j.ymgme.2007.02.002>
 31. Stone, W. L., Basit, H., & Los, E. (2023, August 8). *Phenylketonuria*. StatPearls - NCBI Bookshelf. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK535378/>
 32. The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease, 8th Edition 2001. (2001). *Journal of Inherited Metabolic Disease*, 24(4), 519–520. <https://doi.org/10.1023/a:1017409002434>
 33. Van Spronsen, F. J., & Enns, G. M. (2010). Future treatment strategies in phenylketonuria. *Molecular Genetics and Metabolism*, 99, S90–S95. <https://doi.org/10.1016/j.ymgme.2009.10.008>
 34. Van Spronsen, F. J., Blau, N., Harding, C., Burlina, A., Longo, N., & Bosch, A. M. (2021). Phenylketonuria. *Nature Reviews. Disease Primers*, 7(1). <https://doi.org/10.1038/s41572-021-00267-0>
 35. Van Vliet, D., Van Der Goot, E., Van Ginkel, W., Van Faassen, H., De Blaauw, P., Kema, I., Heiner-Fokkema, Van Der Zee, E., & Van Spronsen, F. (2022). The increasing importance of LNAA supplementation in phenylketonuria at higher plasma phenylalanine concentrations. *Molecular Genetics and Metabolism*, 135(1), 27–34. <https://doi.org/10.1016/j.ymgme.2021.11.003>
 36. Van Vliet, D., Bruinenberg, V. M., Mazzola, P. N., Van Faassen, M. H. J. R., De Blaauw, P., Kema, I. P., Heiner-Fokkema, M. R., Van Anholt, R. D., Van Der Zee, E. A., & Van Spronsen, F. J. (2015). Large Neutral Amino Acid Supplementation Exerts Its Effect through Three Synergistic Mechanisms: Proof of Principle in Phenylketonuria Mice. *PLoS ONE*, 10(12), e0143833. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0143833>
 37. Van Wegberg, A., Macdonald, A., Ahring, K., Belanger-Quintana, A., Blau, N., Bosch, A., Burlina, A., Campistol, J., Feillet, F., Gizewska, M., Huijbregts, S., Kearney, S., Leuzzi, V., Mailliot, F., Muntau, A., Van De Rijn, M., Trefz, F., Walter, J., & Van

- Spronsen, F. (2017). The complete European guidelines on phenylketonuria: diagnosis and treatment. *Orphanet Journal of Rare Diseases*, 12(1). <https://doi.org/10.1186/s13023-017-0685-2>
38. Wilcken, B., & Wiley, V. (2008). Newborn screening. *Pathology*, 40(2), 104–115. <https://doi.org/10.1080/00313020701813743>
39. Williams, R. A., Mamotte, C. D., & Burnett, J. R. (2008, February 1). *Phenylketonuria: an inborn error of phenylalanine metabolism*. PubMed Central (PMC). <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2423317/>
40. Woolf, L. I., & Adams, J. (2020). The early history of PKU. *International Journal of Neonatal Screening*, 6(3), 59. <https://doi.org/10.3390/ijns6030059>
41. Yano, S., Moseley, K., & Azen, C. (2013). Large neutral amino acid supplementation increases melatonin synthesis in phenylketonuria: a new biomarker. *The Journal of Pediatrics*, 162(5), 999–1003. <https://doi.org/10.1016/j.jpeds.2012.10.015>
42. Ζαμπέλας, Α.(2020). «Κλινική Διαιτολογίακαι Διατροφή ΜΕ ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΠΑΘΟΛΟΓΙΑΣ», εκδόσεις Πασχαλίδη, 2^η έκδοση.
43. Η φυσιολογία του αιματοεγκεφαλικού φραγμού και η συσχέτισή της με τις νευρολογικές διαταραχές. (2022, November 20). OffLine Post. <https://www.offlinepost.gr/2022/11/20/h-physiologia-tou-aimatoegkefalikou-fragmou-kai-h-sysxetish-ths-me-tis-neurologikes-diataraxes/>

