



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ  
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ  
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ  
ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ  
«Η ΔΙΑΤΡΟΦΗ ΣΤΗΝ ΥΓΕΙΑ ΚΑΙ ΣΤΗ ΝΟΣΟ»**



**ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ**

**Η επίδραση της χορήγησης μεγάλων ουδέτερων αμινοξέων στη νόσο της Φαινυλκετονουρίας**

**Κωνσταντινοπούλου Μαρία**

Διαιτολόγος-Διατροφολόγος

**ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ**

Φωτουλάκη Μαρία, Καθηγήτρια Παιδιατρικής - Παιδιατρικής Γαστρεντερολογίας, Ιατρική Σχολή Αριστοτελείου Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης, Επιβλέπουσα Καθηγήτρια

Ποταμιάνος Σπυρίδων, Καθηγητής Γαστρεντερολογίας, Τμήμα Ιατρικής Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, Μέλος Τριμελούς Επιτροπής

Σκεντέρης Νικόλαος, τ. Αναπληρωτής Καθηγητής Παιδιατρικής-Κοινωνικής και Αναπτυξιακής Παιδιατρικής, Τμήμα Ιατρικής Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, Μέλος Τριμελούς Επιτροπής

Λάρισα, 2022



**UNIVERSITY OF THESSALY  
SCHOOL OF HEALTH SCIENCES  
FACULTY OF MEDICINE**



**POSTGRADUATE STUDIES PROGRAM  
NUTRITION IN HEALTH AND DISEASE**

---

## **DIPLOMATHESES**

**The effect of the administration of large neutral amino acidson  
phenylketonuria**

## ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

<b>ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ.....</b>	<b>5</b>
<b>ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....</b>	<b>6</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>7</b>
<b>ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ.....</b>	<b>8</b>
<b>ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....</b>	<b>9</b>
<b>ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....</b>	<b>11</b>
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1. Φαινυλκετονουρία.....</b>	<b>11</b>
1.1. Ορισμός και στοιχεία παθοφυσιολογίας.....	11
1.2. Φαινότυπο νόσου.....	11
1.3. Φαινυλαλανίνη.....	12
1.4. Ιστορικά στοιχεία φαινυλκετονουρίας.....	14
1.5. Πρωτιές/ πρωτοπορίες φαινυλκετονουρίας.....	15
1.6. Κλινική εικόνα, παθοφυσιολογία και συνέπειες της νόσου στην υγεία και την ανάπτυξη.....	15
1.6.1. Μητρική φαινυλκετονουρία.....	18
1.7. Επιπολασμός νόσου στην Ελλάδα και στο γενικό πληθυσμό.....	20
1.8. Διάγνωση και έναρξη θεραπείας.....	21
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2. Θεραπευτική προσέγγιση φαινυλκετονουρίας.....</b>	<b>25</b>
2.1. Διατροφική θεραπεία.....	25
Πίνακας 1.....	29
2.1.1. Διαχείριση μητρικής φαινυλκετονουρίας.....	29
2.1.2. Έναρξη διατροφικής θεραπείας.....	31
2.1.3. Θηλασμός και απογαλακτισμός.....	32
2.1.4. Δυσκολίες διατροφικής προσέγγισης και συνέπειες μη τήρησής της.....	33
2.1.5. Παρακολούθηση διατροφικής φαινυλαλανίνης.....	37
2.1.6. Θρεπτικά συστατικά και δείκτες διατροφικής κατάστασης.....	37
2.1.7. Διατροφική διαχείριση και IQ.....	38
2.2. Γενετική συμβουλευτική.....	39
2.3. Φαρμακευτική θεραπεία.....	39
2.3.1. Ιατρικά τρόφιμα.....	40
2.3.1.1. Γλυκομακροπεπτίδιο.....	41
2.3.1.2. Μεγάλα ουδέτερα αμινοξέα.....	42
2.3.2. Τετραϋδροβιοπτερίνη.....	47

2.3.3. Διυδρογλωρική σαπροπτερίνη.....	48
2.4. Πειραματικές θεραπείες.....	51
2.4.1. Γονιδιακή θεραπεία.....	52
2.4.2. Αντικατάσταση ενζύμων.....	54
2.4.2.1. Αμμωνιακή λύση της φαινυλαλανίνης συζευγμένη με πολυαιθυλενογλυκόλη .....	54
<b>ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....</b>	<b>57</b>
<b>Κεφάλαιο 3. Σκοπός και μεθοδολογία.....</b>	<b>57</b>
3.1. Σκοπός.....	57
3.1.1. Επιμέρους Στόχοι.....	57
3.2. Μεθοδολογία.....	57
<b>Κεφάλαιο 4. Αποτελέσματα.....</b>	<b>58</b>
4.1. Δεδομένα από Κατευθυντήριες οδηγίες.....	58
4.2. Δεδομένα από Ανασκοπήσεις.....	58
4.3. Δεδομένα από Μελέτες σε ζώα .....	59
4.4. Δεδομένα από Μελέτες σε ανθρώπους.....	60
Πίνακας 2.....	62
Πίνακας 3.....	68
Πίνακας 4.....	68
Πίνακας 5.....	70
Πίνακας 6.....	72
Πίνακας 7.....	72
<b>Κεφάλαιο 5. Συζήτηση- Συμπεράσματα.....</b>	<b>74</b>
5.1. Συζήτηση.....	74
5.2. Συμπεράσματα.....	80
<b>Βιβλιογραφικές αναφορές.....</b>	<b>81</b>

## **Ευχαριστίες**

Θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τον κύριο Μιδγάνη Αθανάσιο για τη συνεχή καθοδήγησή του προς τη συγγραφή της εργασίας, για τις επιστημονικές γνώσεις, το χρόνο και την καθοριστική βοήθεια που μου προσέφερε, καθώς επίσης και την κυρία Φωτουλάκη Μαρία για την συμβολή της στην εκπόνηση της εργασίας μου.

## Περίληψη

Η νόσος της φαινυλκετονουρίας αποτελεί διαταραχή στο μεταβολισμό του απαραίτητου αμινοξέος φαινυλαλανίνη και πιο συγκεκριμένα αφορά μεταλλάξεις της υδροξυλάσης της, με αποτέλεσμα τη συσσώρευση της φαινυλαλανίνης στο αίμα και στον εγκέφαλο. Έχει διαφορετικούς φαινοτύπους και κατηγοριοποιείται. Οι συνέπειες τόσο της φαινυλκετονουρίας όσο και της υπερφαινυλαλανιναιμίας, είναι ποικίλες και σοβαρές και περιλαμβάνουν νοητική υστέρηση, μικροκεφαλία, προβλήματα στην ανάπτυξη, επιληπτικές κρίσεις και παρεκκλίνουσα συμπεριφορά. Η διάγνωση της νόσου, γίνεται πλέον μέσω προσυμπτωματικού νεογνικού ελέγχου και ακολουθεί αντιμετώπισή της. Η αποτελεσματικότερη θεραπεία της είναι ο αυστηρός διατροφικός περιορισμός της φαινυλαλανίνης, που αποτελεί μια πολύπλοκη διαδικασία, καθώς εμπεριέχεται σε πολλά και απαραίτητα τρόφιμα και απαιτεί μεταξύ άλλων εκμάθηση, πειθαρχία, συμπληρώματα και ιατρικά τρόφιμα. Συμπληρωματικά αυτής, υπάρχει και φαρμακευτική θεραπεία, η οποία εξελίσσεται, ενώ μελετώνται καινούριες και πρωτοποριακές μέθοδοι αντιμετώπισης.

**Σκοπός:** να μελετήσουμε τη χορήγηση μεγάλων ουδέτερων αμινοξέων, ως εναλλακτική/ενισχυτική μέθοδο αντιμετώπισης της φαινυλκετονουρίας και να διαπιστώσουμε την αποτελεσματικότητά της.

**Μεθοδολογία:** μελετήθηκαν επιστημονικά άρθρα, χρησιμοποιώντας κυρίως τις μηχανές αναζήτησης Pubmed, ScienceDirect, GoogleScholar και Medline, χωρίς φυσικά να αποκλείουμε και άλλες πηγές όπως επιστημονικά βιβλία. Έγινε συλλογή και ανάλυση έγκυρων και επίκαιρων πληροφοριών για την παθοφυσιολογία της νόσου, τα αίτια και τους τρόπους αντιμετώπισής της, ενώ έγινε προσπάθεια πιο εστιασμένης μελέτης στη χρήση και επίδραση των συγκεκριμένων αμινοξέων (LNAA's) στις υπερφαινυλαλανιναιμίες.

**Συμπεράσματα:** το θεωρητικό υπόβαθρο πίσω από τη χρήση των μεγάλων ουδέτερων αμινοξέων στη θεραπεία των αυξημένων συγκεντρώσεων φαινυλαλανίνης, αφορά στην ικανότητά τους να ρυθμίζουν τη μεταφορά της μέσω του εντέρου και του αιματοεγκεφαλικού φραγμού και να αυξάνουν τις συγκεντρώσεις των νευροδιαβιβαστών του εγκεφάλου, όπως και κάποιων εξ αυτών (αμινοξέων) στον εγκέφαλο. Η χρήση τους όμως στην πράξη, περιορίζεται σε συγκεκριμένες ομάδες ασθενών, που δε μπορούν να διατηρήσουν αλλιώς έναν καλό μεταβολικό έλεγχο, ενώ υπάρχει αντένδειξή τους για κάποιες άλλες ομάδες ασθενών. Η βέλτιστη σύνθεση των συμπληρωμάτων τους δεν είναι ακόμα γνωστή και η παρακολούθηση της έκβασης της θεραπείας με τη χρήση τους είναι δύσκολη. Απαιτούνται περισσότερες και μεγαλύτερες κλινικές δοκιμές προς τεκμηρίωση της θεωρητικής σύμπραξής τους στη θεραπεία, αλλά και για την ασφάλεια στη μακροπρόθεσμη χρήση τους.

**Λέξεις κλειδιά:** φαινυλαλανίνη, φαινυλκετονουρία, υπερφαινυλαλανιναιμία, ανεπάρκεια της υδροξυλάσης της φαινυλαλανίνης

## Abstract

Phenylketonuria is an error in the metabolism of the essential amino acid phenylalanine and more specifically it involves mutations in its hydroxylase, resulting in the accumulation of phenylalanine in the blood and in the brain. It has different phenotypes and is categorized. The consequences of both phenylketonuria and hyperphenylalaninemia are varied and severe and include mental retardation, microcephaly, developmental problems, seizures and deviant behavior. The diagnosis of the disease is now made through pre-symptomatic neonatal examination and its treatment follows. The most effective treatment is strict dietary restriction of phenylalanine, which is a complex process, as it is contained in many and necessary foods and requires, among other things, learning, discipline, supplements and medical foods. In addition, there is drug therapy, which is evolving, while new and innovative methods of treatment are being studied.

**Purpose:** to study the administration of large neutral amino acids, as an alternative/supportive method of treating phenylketonuria and to determine its effectiveness.

**Methodology:** scientific articles were studied, mainly from international scientific databases such as Pubmed Science Direct, GoogleScholar and Medline scientific search engines, without excluding other sources such as scientific books. Valid and up-to-date information was collected and analyzed regarding the pathophysiology of the disease, its causes and ways of management, while we tried to concentrate on the use and effectiveness of these amino acids (LNAA's) on hyperphenylalaninemias.

**Conclusion:** theoretical background of the use of large neutral amino acids in the treatment of elevated phenylalanine concentrations is their ability to regulate its transport through the intestine and blood-brain barrier and to increase the concentrations of cerebral neurotransmitters, as well as in some of them (amino acids) into the brain. However, their use in practice is limited to specific groups of patients, who cannot otherwise maintain a good metabolic control, while there is a contraindication for some other groups of patients. The optimal composition of their supplements is not known and monitoring the outcome of treatment with their use is difficult. More and larger clinical trials, well designed in terms of methodology are required to substantiate their theoretical involvement in treatment, but also for safety in their long-term use.

**Keywords:** phenylalanine, phenylketonuria, hyperphenylalaninemia, phenylalanine hydroxylase deficiency

## Συντομογραφίες

Phe φαινυλαλανίνη	rAAV8 ανασυνδυασμένου αδενοσχετιζόμενου ιού ορότυπου 8
Tyrτυροσίνη	
PAH υδροξυλάση της φαινυλαλανίνης	PAL αμμωνιακή λυάση της φαινυλαλανίνης
BH4 τετραϋδροβιοπτερίνη	PEG πολυαιθυλενογλυκόλη
HPA υπερφαινυλαλανιναιμία	rAvPAL-PEG αμμωνιακή λυάση της φαινυλαλανίνης με πολυαιθυλενογλυκόλη κυανοβακτήριο <i>Anabaenavariabilis</i>
PKU φαινυλκετονουρία	GMP γλυκομακροπεπίδιο
mHPA ήπια υπερφαινυλαλανιναιμία	LNAA μεγάλα ουδέτερα αμινοξέα
GTP τριφωσφορική γουανοσίνη	TH υδροξυλάση της τυροσίνης
GTP CHGTP κυκλοϋδρολάσης I	TPH2 υδροξυλάση της τρυπτοφάνης
PTPS συνθάση 6 – πυρουβοϋλο-τετραϋδροπτερίνης	LAT1 ή SLCA7AS μεταφορέας αμινοξέων
SP σεπιαπτερίνη	BIA δοκιμασία βακτηριακής αναστολής
PCD αφυδατάση της πτερίνης-4α-καρβινολαμίνης	FMA φθοριακή μικροανάλυση
DHPR αναγωγή της διυδροπτεριδίνης	DNAJC12 απαιτούμενος συνοδό
NBS νεογνικός προσυμπτωματικός έλεγχος	
MPKU μητρική φαινυλκετονουρία	
MS/MS ή TMS διαδοχική φασματομετρία μάζας	
CHD συγγενείς καρδιακές ανωμαλίες	
FDA οργανισμός τροφίμων και φαρμάκων	
RDA συνιστώμενες διαιτητικές προσλήψεις	
IUGR περιορισμένη ενδομήτρια ανάπτυξη	
IMDs κληρονομικές μεταβολικές ασθένειες	
BBB αιματοεγκεφαλικός φραγμός	



## Εισαγωγή

Η φαινυλκετονουρία (PKU) είναι μια αυτοσωματική υπολειπόμενη διαταραχή, που προκαλείται από ένα εγγενές σφάλμα στο μεταβολισμό του αμινοξέος φαινυλαλανίνη (Phe) [1,2]. Πιο αναλυτικά, είναι αποτέλεσμα μεταλλάξεων στο γονίδιο της υδροξυλάσης της φαινυλαλανίνης (PAH), ένα ηπατικό ένζυμο το οποίο καταλύει τη μετατροπή της φαινυλαλανίνης σε τυροσίνη (Tyr). Σε σφάλμα λοιπόν του μεταβολισμού, υπάρχει έλλειψη του φυσιολογικού, λειτουργικού αυτού ενζύμου, με αποτέλεσμα αύξηση της τιμής της φαινυλαλανίνης στο αίμα (υπερφαινυλαλανιναιμία) και στον εγκέφαλο. Συνέπεια αυτού, είναι η νευροτοξική βλάβη και ανωμαλίες στο νευρικό σύστημα, αλλά και αλλαγές στον εγκέφαλο που δεν αναστρέφονται, ως αποτέλεσμα της έλλειψης των νευροδιαβιβαστών ντοπαμίνης και σεροτονίνης [3,4,5,6].

Η ανίχνευση της φαινυλκετονουρίας γίνεται με δείγματα αίματος με προσυμπτωματικό έλεγχο στη νεογνική ηλικία, καθώς με έγκαιρη ανίχνευση και θεραπεία, η εγκεφαλική υστέρηση μπορεί να αποτραπεί. Μάλιστα, η φαινυλκετονουρία αποτελεί το πρώτο εγγενές μεταβολικό σφάλμα, που ανιχνεύτηκε μέσω ελέγχου στον πληθυσμό [11].

Οι φαινότυποι ποικίλουν ανάλογα τα επίπεδα φαινυλαλανίνης στο αίμα, ταξινομώντας τη φαινυλκετονουρία σε κλασσική, μέτρια και ήπια. Η υπερφαινυλαλανιναιμία επίσης διαχωρίζεται, σε ήπια υπερφαινυλαλανιναιμία που απαιτεί διαιτητικό περιορισμό πρωτεϊνών, και σε ήπια υπερφαινυλαλανιναιμία που δεν απαιτεί θεραπεία, καθώς τα επίπεδα φαινυλαλανίνης στο αίμα είναι κάτω από 360  $\mu\text{mol/L}$  [10,11,12].

Αν δεν αντιμετωπιστεί θεραπευτικά, η φαινυλκετονουρία μπορεί να προκαλέσει μη αναστρέψιμη διανοητική αναπηρία, μικροκεφαλία, κινητικά ελλείμματα, έκζεμα, αυτισμό, επιληπτικές κρίσεις, αναπτυξιακά προβλήματα, παρεκκλίνουσα συμπεριφορά, ψυχιατρικά συμπτώματα και άλλα. Η μόνη αποτελεσματική θεραπεία, είναι η πρόωμη έναρξη περιορισμένης σε φαινυλαλανίνη διατροφής που συνοδεύεται από συμπληρωματική χορήγηση των υπολοίπων αμινοξέων, εκτός της φαινυλαλανίνης, με ιατρικά σκευάσματα, τα οποία και καλύπτουν το 75-90% των απαιτήσεων. Η πειθαρχία που απαιτεί η διατροφή αυτή, αλλά και το κόστος, την καθιστά δύσκολη στην τήρηση, ειδικά για τους εφήβους, τους νέους και τις εγκύους, καθώς χρειάζεται αποκλεισμός ή αυστηρός περιορισμός τροφίμων πλούσιων σε φαινυλαλανίνη (όπως κρέας, κοτόπουλο, ψάρι, αυγά, όσπρια, κλασσικά ζυμαρικά και ψωμί), καθημερινός υπολογισμός της πρωτεϊνικής πρόσληψης, κατανάλωση συμπληρωμάτων, αλλά και συχνή εργαστηριακή αξιολόγηση των επιπέδων φαινυλαλανίνης στο αίμα [11,16,17].

Έτσι, μεταξύ των διαφορετικών μεθόδων που έχουν προταθεί για την αντιμετώπιση της φαινυλκετονουρίας, είναι και η χρήση των μεγάλων ουδέτερων αμινοξέων, καθώς για να περάσουν τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό απαιτείται μία πρωτεΐνη μεταφορέας, η οποία

φαίνεται πως είναι κοινή και για τα κατιονικά αμινοξέα, στα οποία συγκαταλέγεται η φαινυλαλανίνη. Για το λόγο αυτό, τα μεγάλα ουδέτερα αμινοξέα, ανταγωνίζονται τα κατιονικά ως προς την πρωτεΐνη μεταφορέα για την είσοδό τους στον εγκέφαλο. Το ίδιο ισχύει και για τη διέλευσή τους στον εντερικό βλεννογόνο. Λόγω αυτών των μηχανισμών, μελετάται η μείωση της συγκέντρωσης της φαινυλαλανίνης αίματος, με τη χρήση μείγματος μεγάλων ουδέτερων αμινοξέων μέσω της διατροφής, ενώ ακόμη φαίνεται ότι η συμπληρωματική τους χορήγηση δια στόματος, οδηγεί στην αποφυγή της επιβράδυνσης της ηλεκτρικής εγκεφαλικής δραστηριότητας που προκαλούν τα αυξημένα επίπεδα φαινυλαλανίνης στον εγκέφαλο [16,17,19].

Επιπλέον, νέες μέθοδοι για την φαρμακευτική θεραπεία της φαινυλκετονουρίας διερευνώνται, εκ των οποίων κάποιες είναι ακόμα σε πειραματικό στάδιο, ώστε να σημειωθεί επιπλέον πρόοδος στην αντιμετώπιση της νόσου [11,13,17].

## ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

### Κεφάλαιο 1. Φαινυλκετονουρία

#### 1.1. Ορισμός και στοιχεία παθοφυσιολογίας

Η φαινυλκετονουρία (PKU) αποτελεί ένα σπάνιο κληρονομικό νόσημα διαταραχής του μεταβολισμού του αμινοξέος φαινυλαλανίνη, το οποίο οφείλεται σε ανεπάρκεια του ενζύμου υδροξυλάση της φαινυλαλανίνης [1,2,3,4]. Αποτελεί την συχνότερη κληρονομική διαταραχή του μεταβολισμού των αμινοξέων [5].

Αυτή η γενετική διαταραχή, είναι συνήθως αποτέλεσμα μεταλλάξεων του γονιδίου της υδροξυλάσης της φαινυλαλανίνης (για την κλασσική της μορφή), που αποτελεί το απαραίτητο ηπατικό ένζυμο για το μεταβολισμό της L-φαινυλαλανίνης σε L-τυροσίνη, στο χρωμόσωμα 12q23 και συμβαίνει σε περίπου 1/16.000 γεννήσεις[1,2,4,6]. Οι μεταλλάξεις αυτές έχουν ως συνέπεια το ένζυμο αυτό να είναι μη λειτουργικό, οδηγώντας σε συσσώρευση της φαινυλαλανίνης στο αίμα, δηλαδή υπερφαινυλαλανιναιμία (HPA) και δυσμενείς επιπτώσεις [1,2]. Βέβαια, ορισμένες μεταλλάξεις αυτού του ενζύμου, προκαλούν λιγότερο σοβαρή απώλεια της δραστηριότητάς του, με αποτέλεσμα ποικιλία φαινοτύπων (π.χ. non-PKUHPA)[7].

#### 1.2. Φαινότυποι νόσου

Η κατηγοριοποίηση των ασθενών με φαινυλκετονουρία, γίνεται σύμφωνα με τα επίπεδα της φαινυλαλανίνης αίματος πριν αντιμετωπιστεί θεραπευτικά. Έτσι, οι φαινότυποι ποικίλουν ταξινομώντας τη φαινυλκετονουρία που απαιτεί θεραπευτική αντιμετώπιση σε κλασσική, μέτρια και ήπια [8,9]. Πλήρη ενζυμική ανεπάρκεια της υδροξυλάσης της φαινυλαλανίνης (PAH), προκαλεί επίπεδα φαινυλαλανίνης στο αίμα πάνω από 1200  $\mu\text{mol/L}$ . Ο φαινότυπος αυτός είναι ο πιο σοβαρός και αποτελεί την κλασσική μορφή της φαινυλκετονουρίας [10,11,12]. Επίπεδα φαινυλαλανίνης αίματος 360-600  $\mu\text{mol/L}$  αποτελούν την ήπια φαινυλκετονουρία, ενώ επίπεδα φαινυλαλανίνης αίματος >600 και έως 1200  $\mu\text{mol/L}$  αποτελούν τη μέτρια φαινυλκετονουρία [4,8]. Οι μεταλλάξεις στο γονίδιο της υδροξυλάσης της φαινυλαλανίνης είναι πάνω από 500, με τις περισσότερες να είναι σημειακές, ενώ παρατηρούνται και εισαγωγές, διπλασιασμοί και διαγραφές. Το αποτέλεσμα των περισσότερων λανθασμένων μεταλλάξεων είναι η μη φυσιολογική αναδίπλωση της πρωτεΐνης της υδροξυλάσης της φαινυλαλανίνης και/ή η μειωμένη δραστηριότητα. Να σημειωθεί ότι αν και οι συσχετίσεις γονότυπου- φαινοτύπου είναι ατελείς, ο καλύτερος

κλινικά διαθέσιμος προγνωστικός παράγοντας της σοβαρότητας της ανεπάρκειας της υδροξυλάσης της φαινυλαλανίνης είναι ο γονότυπος. Επίσης, η νόσος είναι πολυπαραγοντική καθώς απαιτεί την έκθεση στη διατροφική φαινυλαλανίνη αλλά και τη γενετική ανεπάρκεια της υδροξυλάσης της φαινυλαλανίνης [11].

Η υπερφαινυλαλανιναιμία, επίσης διαχωρίζεται, σε ήπια υπερφαινυλαλανιναιμία (mHPA) που απαιτεί διαιτητικό περιορισμό πρωτεϊνών και σε ήπια υπερφαινυλαλανιναιμία που δεν απαιτεί θεραπεία, καθώς τα επίπεδα φαινυλαλανίνης στο αίμα είναι κάτω από 360  $\mu\text{mol/L}$  [8], ενώ οι φαινότυποι κυμαίνονται στο φάσμα μεταξύ ήπιας υπερφαινυλαλανιναιμίας, ήπιας, μέτριας και σοβαρής φαινυλκετονουρίας [10]. Ένας άλλος διαχωρισμός κατηγοριοποιεί την υπερφαινυλαλανιναιμία σε απλή παροδική, που αφορά στην περιγεννητική ανωριμότητα της υδροξυλάσης της φαινυλαλανίνης που αποκαθίσταται μόνη της μέσα στον πρώτο μήνα ζωής συνήθως, και σε απλή επίμονη, όπου υπάρχει μικρή ανεπάρκεια του ίδιου ενζύμου, με τις τιμές της φαινυλαλανίνης αίματος να κυμαίνονται σε 4-10  $\text{mg/dl}$  [12].

Να σημειωθεί ότι η υπερφαινυλαλανιναιμία, εκτός από την ανεπάρκεια της υδροξυλάσης της φαινυλαλανίνης, μπορεί ακόμη να προκληθεί (σπανίως) και από ανεπάρκεια ενζύμων που εμπλέκονται με την ανακύκλωση ή την σύνθεση του απαραίτητου για τη δραστηριότητα της υδροξυλάσης της φαινυλαλανίνης συμπαραγόνα τετραϋδροβιοπτερίνη ( $\text{BH}_4$ ), η οποία είναι κληρονομική και οδηγεί σε δευτερογενή ανεπάρκεια της υδροξυλάσης της φαινυλαλανίνης με επακόλουθο της αύξηση της φαινυλαλανίνης στο αίμα [11,13]. Έτσι έχουμε την άτυπη ή κακοήθης φαινυλκετονουρία είτε λόγω ανεπάρκειας της δραστηριότητας του ενζύμου ρεδοκτάση της δεϋδροπτεριδίνης (DHPR), είτε λόγω αδυναμίας της σύνθεσης της τετραϋδροβιοπτερίνης [12].

### 1.3. Φαινυλαλανίνη

Η φαινυλαλανίνη (phe) είναι ένα αρωματικό αμινοξύ [1], το οποίο κατατάσσεται στα απαραίτητα, αφού ο ανθρώπινος οργανισμός δεν την συνθέτει, αλλά πρέπει να την προσλαμβάνει από την τροφή [13].

Πηγές της φαινυλαλανίνης είναι υψηλά σε πρωτεΐνη τρόφιμα, όπως το κρέας, το αυγό, το γάλα και τα προϊόντα του, το κοτόπουλο, το ψάρι, τα όσπρια, οι ξηροί καρποί, το φύτρο σιταριού, το τεχνητό γλυκαντικό ασπαρτάμη, αλλά και η ενδογενής ανακύκλωση των αποθεμάτων των αμινοξέων [2,14]. Εμπεριέχεται επίσης ως συστατικό σε αρκετά ψυχοτρόπα φάρμακα, όπως η μορφίνη και η κωδεΐνη [14]. Για το φυσιολογικό μεταβολισμό της είναι απαραίτητα ο σίδηρος, ο χαλκός, η βιοπτερίνη, η πυριδοξίνη (βιταμίνη B6), η νιασίνη

(βιταμίνη Β3) και το ασκορβικό οξύ (βιταμίνη C) [2,14], ενώ οι συγκεντρώσεις της μένουν σταθερές με δυναμική ροή εισόδου και εξόδου της [2].

Η φαινυλαλανίνη έχει δύο μορφές, την L και την D [2]. Η L μορφή της, χρησιμοποιείται για τη σύνθεση πρωτεϊνών και για τη βιοσύνθεση άλλων αμινοξέων, ενζύμων και μεταβολιτών [1,2,14], ενώ η D μορφή της χρησιμοποιείται ως κατασταλτικό του πόνου [14]. Με την L μορφή της λοιπόν, συντίθεται το αμινοξύ τυροσίνη (tyr) η οποία, λόγω αυτού θεωρείται μη απαραίτητο αμινοξύ, και χρησιμοποιείται και αυτή ως πρόδρομο για τη σύνθεση κατεχολαμινών και θυρεοειδικών ορμονών, τη μετατροπή σε μελανίνη στα μελανοκύτταρα και σε ακετοξικό και φουμαρικό κατά τον πλήρη καταβολισμό [1,14,17]. Για να γίνει αυτό, απαραίτητη είναι η υδροξυλάσης της φαινυλαλανίνης (PAH), ένα ηπατικό ένζυμο (μείγμα τετραμερών και διμερών [2]) το οποίο καταλύει τη μετατροπή της φαινυλαλανίνης σε τυροσίνη στο ήπαρ [1,6,8] με τη συμμετοχή του συμπαραγόνα τετραϋδροβιοπτερίνη (BH4) [1,8,15], (για την "αναγέννηση" του οποίου απαιτούνται τα ένζυμα αναγωγή της διυδροπτεριδίνης και 4α-καρβινοξαμίνη της αφυδρατάσης [2]), μοριακού οξυγόνου και σιδήρου [1,15]. Ελαττώματα στο σύστημα αναγέννησης αυτού του συμπαραγόνα, επηρεάζουν την ομοιόσταση της φαινυλαλανίνης και τη βιοσύνθεση των κατεχολαμινών, της μυελίνης και της σεροτονίνης, οδηγώντας σε σπάνιες διαταραχές [2,16,17]. Φαίνεται ότι ένα από τα συστήματα που ρυθμίζει την υδροξυλάση της φαινυλαλανίνης με φωσφορυλίωση και αποφωσφορυλίωση, είναι η εξαρτώμενη cAMP πρωτεϊνική κινάση και ο διεγερμένος α-αδρενεργικός  $Ca^{2+}$  παράγοντας/εξαρτώμενος από την καλμοδουλίνη πρωτεϊνική κινάση, οι οποίοι μηχανισμοί ελέγχου, επηρεάζουν και την αλληλεπίδραση του ενζύμου με τον συμπαραγόνα τετραϋδροβιοπτερίνη. Η φαινυλαλανίνη δε, φαίνεται πως μπορεί να προκαλέσει διαμορφωτική αλλαγή στην υδροξυλάση της, αλλά και να ρυθμίσει τη δραστηριότητα της cAMP. Δηλαδή, συνολικά αυτοί οι μηχανισμοί, επιτρέπουν μια προσεκτική ρύθμιση των συγκεντρώσεων της φαινυλαλανίνης με την εξισορρόπηση επαρκών επιπέδων της για τη διατήρηση της πρωτεϊνικής βιοσύνθεσης, ελαχιστοποιώντας παράλληλα την έκθεση των ιστών σε υψηλές συγκεντρώσεις της [2]. Δε γνωρίζουμε ποια είναι η ακριβής ποσότητα της φαινυλαλανίνης που χρησιμοποιείται καθαρά για τον πρωτεϊνικό μεταβολισμό, ενώ υπολογίζεται ότι ένα ποσοστό της τάξης του 10 με 20% της πρόσληψης του αμινοξέος χρησιμοποιείται στην ανακύκλωση των πρωτεϊνών [17].

Αξίζει να σημειωθεί, ότι ένα σημαντικό ποσοστό της μετατροπής της φαινυλαλανίνης σε τυροσίνη πραγματοποιείται και στους νεφρούς, απ' όπου και διατίθεται για την σύνθεση πρωτεϊνών, μάλιστα με ρυθμό παραγωγής της μεγαλύτερο από το ρυθμό διάθεσής της, εν αντιθέσει με το ήπαρ, αποδεικνύοντας έτσι ότι οι νεφροί συνεισφέρουν ξεκάθαρα τυροσίνη στην συστηματική κυκλοφορία [1,17].

Η μετατροπή λοιπόν της φαινυλαλανίνης σε τυροσίνη, για την οποία διαδικασία θα χρησιμοποιηθεί περίπου το 80 με 90% της πρόσληψης της φαινυλαλανίνης, εκτός του μη

απαραίτητου αμινοξέος, έχει σα δεύτερο αποτέλεσμα την πλήρη οξείδωση της φαινυλαλανίνης σε διοξείδιο του άνθρακα και νερό, συμβάλλοντας έτσι στην ομάδα μεταβολικών γλυκόζης και 2-άνθρακα. Εκτός από την οξείδωσή της σε L-τυροσίνη, η L-φαινυλαλανίνη μέσω αποκαρβοξυλίωσης ή τρανσαμίνωσης, μεταβολίζεται σε διάφορους μεταβολίτες, οι οποίοι απεκκρίνονται με τα ούρα. Τέτοιοι είναι το φαινυλπυρουβικό, το φαινυλγαλακτικό και το ο-υδροξυφαινυλοξικό [2].

Είναι γνωστό ότι η φαινυλαλανίνη σχετίζεται με διάφορα ενζυμικά συστήματα του εγκεφάλου, ενώ υψηλές συγκεντρώσεις της στο πλάσμα επηρεάζουν τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό, αυξάνοντας την είσοδό της στον εγκέφαλο και περιορίζοντας την είσοδο άλλων μεγάλων ουδέτερων αμινοξέων σε αυτόν [14]. Φυσιολογικές τιμές της στο αίμα είναι 2-3 mg/dl (120-180  $\mu\text{mol/L}$ ), ενώ αποδεκτά όρια ασφάλειας θεωρούνται τα 3,3-6,6 mg/dl (200-400  $\mu\text{mol/L}$ ). Η χρόνια συσσώρευσή της σε αρκετά υψηλά επίπεδα, σχετίζεται με εγγενή σφάλματα του μεταβολισμού, καθώς μπορεί να δράσει ως νευροτοξίνη, διαταράσσοντας το νευρικό ιστό, αλλά και ως τοξικός μεταβολίτης, προκαλώντας δυσμενείς επιπτώσεις στην υγεία. Αποτελέσματα αυτού μεταξύ άλλων, είναι η διαταραχή Hartnup, η τυροσιναιμία τύπου 2 (ή σύνδρομο Richner-Hanhart) και τύπου III (TYRO3), η υπερφαινυλαλανιναιμία (HPA) και η φαινυλκετονουρία (PKU) [14].

#### 1.4. Ιστορικά στοιχεία φαινυλκετονουρίας

Η φαινυλκετονουρία, περιγράφηκε αρχικά από το Νορβηγό ιατρό AsbjornFolling το 1934 [2,11], στην προσπάθειά του να εξηγήσει την απορία μιας μητέρας δύο παιδιών με διανοητική αναπηρία, εάν η περίεργη μυρωδιά μούχλας των ούρων τους σχετιζόταν με την πνευματική τους κατάσταση. Με την προσθήκη στα ούρα χλωριούχου σιδήρου, απέδιδαν σκούρο πράσινο χρώμα (πράγμα που σήμαινε πως δεν περιείχαν κετόνες), ενώ έπειτα από χημική ανάλυση, οργανική εκχύλιση, καθαρισμό της υπεύθυνης ουσίας και καθορισμό του σημείου τήξης της, προέκυψε, μετά από οξείδωσή της, μια άγνωστη ένωση, που μύριζε βενζοϊκό οξύ. Η ανάμιξή της με φαινυλπυρουβικό οξύ από τον Folling, δεν άλλαξε το σημείο τήξεως της άγνωστης ένωσης, επιβεβαιώνοντας έτσι ότι ήταν όντως φαινυλπυρουβικό οξύ. Με την προσθήκη χλωριούχου σιδήρου σε δείγματα ούρων από 430 ασθενείς τοπικών ιδρυμάτων με διανοητική δυσλειτουργία, προέκυψε παρόμοιο αποτέλεσμα σε 8 άτομα, τα οποία εμφάνιζαν ήπια χροιά συχνά με έκζεμα, κεκλισμένη φιγούρα με πλατιούς ώμους, σπαστικό βάδισμα και σοβαρή πνευματική υστέρηση. Από μελέτες των οικογενειών τους, φάνηκε ένας κληρονομικός, υπολειπόμενος, αυτοσωμικός χαρακτήρας, με τον Folling να προτείνει την ονομασία «*imbecillitasphenylpyruvica*» (*imbecillitas* σημαίνει αδυναμία/ανικανότητα), συσχετίζοντας έτσι την απεκκρινόμενη ουσία με τη νοητική

υστέρηση, που αργότερα μετονομάστηκε σε φαινυλκετονουρία [2].

Η ανακάλυψη αυτή του Folling, έδειξε μεταξύ άλλων, πως μεταβολικές διαταραχές μπορεί να επιδρούν νευρολογικά και πως η θεραπεία μπορεί να επηρεάσει τις κλινικές εκδηλώσεις της διαταραχής, ενώ χρησιμοποιήθηκε και ως πρότυπο διερεύνησης για πάνω από 200 άλλα ενδογενή νοσήματα του μεταβολισμού [2]. Μάλιστα, η φαινυλκετονουρία αποτελεί το πρώτο μεταβολικό νόσημα που ανιχνεύτηκε μέσω ελέγχου στον πληθυσμό [11,15]. Να σημειωθεί ότι η πρώτη φορά που ένας ασθενής με ανεπάρκεια της υδροξυλάσης της φαινυλαλανίνης αντιμετωπίστηκε με διατροφή με χαμηλή περιεκτικότητα σε φαινυλαλανίνη, τοποθετείται στα μέσα του 1950 [11].

### **1.5. "Πρωτιές"/ πρωτοπορίες της φαινυλκετονουρίας.**

Όπως προαναφέρθηκε η φαινυλκετονουρία αποτέλεσε πρότυπο για άλλες κληρονομικές μεταβολικές ασθένειες (IMDs).

Το γεγονός αυτό βασίζεται στο ότι αποτελεί τη μεταβολική νόσο για την οποία έγιναν πρώτη φορά τα ακόλουθα: εξηγήθηκε βιοχημικά η νοητική υστέρηση και βρέθηκε ο κληρονομικός της χαρακτήρας δίνοντας την απάντηση στους γονείς για την αναπηρία των απογόνων τους, σε έγκαιρη διάγνωση και αντιμετώπισή της με διατροφικό, θεωρητικά απλό, περιορισμό έχουμε πρόληψη των επακόλουθων της βιοχημικής ανωμαλίας, εφευρέθηκε η μέθοδος του προσυμπτωματικού ελέγχου για τον έγκαιρο εντοπισμό των ασθενών, και σε κάποιους ασθενείς υπήρξε αντικατάσταση της διατροφικής θεραπείας με φάρμακο. Επιπλέον, καθώς η σοβαρότητά της μεταβάλλεται δεν απαιτείται η ίδια αυστηρότητα στη διατροφική θεραπεία για κάθε ασθενή και, τέλος μέσω του ελέγχου για κάποια ανωμαλία σε βιοχημικό δείκτη (δηλαδή στη φαινυλαλανίνη) και όχι για ασθένεια, επέρχεται και η εύρεση ατόμων (που διαφορετικά είναι δύσκολη) των οποίων η υψηλή φαινυλαλανίνη οφείλεται σε κάποια άλλη κληρονομική μεταβολική ασθένεια που δεν ανήκει στο νεογνικό προσυμπτωματικό έλεγχο [17].

### **1.6. Κλινική εικόνα, παθοφυσιολογία και συνέπειες της νόσου στη υγεία και την ανάπτυξη.**

Η συσσώρευση της φαινυλαλανίνης αλλά και των μεταβολιτών της στο αίμα (που κανονικά είναι λιγότερη από 150  $\mu\text{M}$ , με μέσο φυσιολογικό επίπεδο τα 60  $\mu\text{mol/l}$  [11], αλλά σε αθεράπευτους ασθενείς μπορεί να υπερβαίνει τα 2.000  $\mu\text{M}$ ) και στον εγκέφαλο, που θα συμβεί εάν δεν υπάρξει θεραπευτική της αντιμετώπιση, έχει επιβλαβείς επιδράσεις στην ανάπτυξη και τη λειτουργία του εγκεφάλου, προκαλώντας μη αναστρέψιμη νευρολογική

βλάβη, με επακόλουθα σημαντική διανοητική αναπηρία και συμπεριφορικά προβλήματα [3,4,7,10,13,15].

Η ενζυμική ανεπάρκεια, οδηγεί σε υπερφαινυλαλανιναιμία και αυξημένες φαινυλκετόνες, άρα φαινυλκετονουρία, με μείωση στον σχηματισμό της μυελίνης, της ντοπαμίνης, της νορεπινεφρίνης και της παραγωγής σεροτονίνης [16]. Τα αυξημένα επίπεδα της φαινυλαλανίνης διαταράσσουν τις νευρικές λειτουργίες και παρεμβαίνουν στη μεταφορά των αμινοξέων [5]. Πιο συγκεκριμένα, όσον αφορά στην ανεπάρκεια των νευροδιαβιβαστών σεροτονίνη και νορεπινεφρίνη στην φαινυλκετονουρία, έχουν επιβεβαιωθεί από μεταθανάτιες έρευνες στον εγκέφαλο ασθενών που δεν είχαν υποβληθεί σε θεραπεία και σε ζωικά μοντέλα με υπερφαινυλαλανιναιμία και έχουν προταθεί ως πιθανοί μηχανισμοί που συνηγορούν παθοφυσιολογικά για ένα μέρος τουλάχιστον των συμπεριφορικών, γνωστικών και νευροψυχιατρικών ελλειμμάτων των ασθενών. Οι μηχανισμοί που συμβάλλουν στη δημιουργία των ελλείψεων αυτών των νευροδιαβιβαστών μονοαμίνης, ίσως να είναι η ανεπάρκεια στον εγκέφαλο της τυροσίνης, που είναι υπόστρωμα για την σύνθεση της ντοπαμίνης, όπως και της τρυπτοφάνης που είναι υπόστρωμα για την σεροτονίνη που οφείλονται στον ανταγωνισμό μεταφοράς των αμινοξέων, η μειωμένη έκφραση της υδροξυλάσης της τυροσίνης (TH) και της υδροξυλάσης της τρυπτοφάνης (TPH2) που είναι απαραίτητες για την σύνθεση ντοπαμίνης και σεροτονίνης αντίστοιχα και τέλος η μεσολαβούμενη από τη φαινυλαλανίνη ανταγωνιστική αναστολή των δραστηριοτήτων των προαναφερθέντων υδροξυλάσεων [17]. Επιπλέον, φτωχή διαχείριση της φαινυλκετονουρίας κατά τα πρώτα δώδεκα χρόνια ζωής, οδηγεί σε μείωση του ηλικίου νοημοσύνης (IQ), με την ισχυρότερη αντίστροφη σχέση μεταξύ φαινυλαλανίνης αίματος και IQ, να εμφανίζεται σε ηλικίες κάτω των δέκα ετών [9]. Τεκμηριωμένα είναι τα ευρήματα του μικρού μεγέθους του εγκεφάλου και της εξασθενημένης μυελίνωσης σε νευροπαθολογικές αξιολογήσεις που πραγματοποιήθηκαν μεταθανάτια σε ασθενείς με φαινυλκετονουρία που δεν είχαν λάβει θεραπεία, με φυσιολογικό όμως αριθμό νευρώνων. Επιπρόσθετα, σε φαινυλκετονουρία χωρίς τη λήψη θεραπείας, μειώνονται η πολυπλοκότητα της δενδριτικής διακλάδωσης και ο αριθμός των συναπτικών συνδέσεων, ενώ φαίνεται πως η φαινυλαλανίνη εμποδίζει την παραγωγή της μυελίνης μέσω επιρροής στην σύνθεση της χοληστερόλης και άλλων εγκεφαλικών λιπιδίων [17].

Αναλυτικότερα, η φαινυλκετονουρία που δεν αντιμετωπίζεται έγκαιρα, χαρακτηρίζεται από μη αναστρέψιμη διανοητική αναπηρία, μικροκεφαλία, κινητικά ελλείμματα, σπασμούς, εκζέματα (χαρακτηριστικό δερματικό έκζεμα), εξανθήματα, αυτισμό, επιληπτικές κρίσεις, παρεκκλίνουσα συμπεριφορά, μυρωδιά μούχλας στο σώμα, ελαφριά μελάγχρωση, αποχρωματισμό του δέρματος, των μαλλιών και των ματιών, φλοιώδη τύφλωση και ψυχιατρικά συμπτώματα [12,15,16,17]. Επίσης, σε χρόνια αυξημένη τιμή φαινυλαλανίνης, μπορεί να προκληθεί μια προοδευτική νευροεκφυλιστική διαταραχή που επηρεάζει τη λευκή



ουσία και που οδηγεί, εκτός των επιληπτικών κρίσεων και σε διαταραχή στο βάδισμα, ενώ η υπερφαινωλαλανιναιμία σε ενήλικες, έχει συσχετιστεί με μη σταθερή διάθεση, προβλήματα στην προσοχή του ατόμου, αλλά και κακή απόδοση στην εργασία [12,13].

Όσον αφορά στα ψυχιατρικά συμπτώματα στην ανεπάρκεια της υδροξυλάσης της φαινωλαλανίνης, το ποσοστό τους είναι αυξημένο, χωρίς όμως ως επί το πλείστον να υπάρχει κάποια διάγνωση, ενώ η σοβαρότητά τους είναι αλληλένδετη φυσικά με την αύξηση και τη μείωση της φαινωλαλανίνης, με τη μείωση να επιφέρει βελτίωσή τους. Είναι αναγκαίο λοιπόν να υπάρξει συχνή παρακολούθηση της ψυχικής υγείας, καλύτερος χαρακτηρισμός του επιπολασμού των ψυχιατρικών διαταραχών σε αυτούς τους ανθρώπους, όπως είναι η διαταραχή ελλειμματικής προσοχής-υπερκινητικότητας, της οποίας είναι αυξημένος, καθώς επίσης και αξιολόγηση της απόκρισης που έχουν τόσο σε φαρμακευτική θεραπεία, όσο και σε συμπεριφορική. Υπάρχουν ψυχολογικές δοκιμασίες η χρησιμότητα των οποίων είναι ο προσυμπτωματικός έλεγχος [11].

Οι περισσότερες μελέτες δείχνουν ότι το βάρος γέννησης παιδιών με φαινωλκετονουρία, μπορεί να είναι μειωμένο, αν και συνήθως δε διαφέρει από αυτό των υγιή παιδιών, το μήκος/ύψος τους ίσως κάποιες φορές να είναι μικρότερο αλλά ανακτάται αργότερα, ενώ όσον αφορά στην περίμετρο κεφαλής, επίσης ανακτάται στις αναμενόμενες τιμές μετά τον πρώτο χρόνο ζωής, στις περιπτώσεις που ήταν αρχικά μικρότερη. Ενώ συνήθως το βάρος και το ύψος παιδιών με φαινωλκετονουρία είναι παρόμοια με αυτά των υγιή παιδιών κατά τη γέννηση και τη βρεφική ηλικία, φαίνεται να είναι μικρότερα από αυτά που θα αναμέναμε κατά τα πρώτα τέσσερα χρόνια ζωής, ενώ το μειωμένο ύψος συνεχίζει να παρατηρείται μέχρι και την ηλικία των 18 χρόνων, με μια μελέτη να κάνει λόγο ότι στις ηλικίες 11 μέχρι 18 ετών, οι ασθενείς είχαν σημαντικά χαμηλότερο ύψος σε σχέση με τις τιμές αναφοράς, μετά την κάλυψη διαφορών από την παιδική ηλικία. Συνολικά, εν συγκρίσει με υγιή παιδιά, φαίνεται ότι τα παιδιά με φαινωλκετονουρία, δεν πετυχαίνουν το αναπτυξιακό δυναμικό τους. Στα πρώτα τρία χρόνια ζωής, κατά τα οποία η ανάπτυξη καθορίζεται κυρίως από τη διατροφή, φαίνεται να είναι εξασθενημένη στα παιδιά με φαινωλκετονουρία, ενώ στις μετέπειτα ηλικίες, παιδική και εφηβική, φαίνεται να επηρεάζεται από γενετικούς ή ορμονικούς παράγοντες. Σε βρέφη με υπερφαινωλαλανιναιμία, συνήθως δε φαίνεται να υπάρχουν αξιοσημείωτες διαφορές στο βάρος και στο ύψος γέννησης. Βιβλιογραφικά, από ορισμένες μελέτες δεν αποδείχτηκε κάποια αξιοσημείωτη συσχέτιση των τιμών φαινωλαλανίνης αίματος και των παραμέτρων ανάπτυξης, ωστόσο, σε μία μελέτη βρέθηκε συσχέτιση μεταξύ του βάρους, του ύψους και των τιμών φαινωλαλανίνης αίματος. Διατροφικά, έχει διαπιστωθεί θετική συσχέτιση μεταξύ της περιφέρειας κεφαλής και της συνολικής, φυσικής πρόσληψης πρωτεΐνης τα πρώτα τρία χρόνια ζωής, αλλά όχι της πρόσληψης υποκατάστατου πρωτεΐνης. Συνολικά, από τις περισσότερες μελέτες, δε φαίνεται να υπάρχει σημαντική συσχέτιση μεταξύ των ανθρωπομετρικών χαρακτηριστικών και της

ολικής, φυσικής ή υποκατάστατης πρωτεΐνης [4]. Σε παιδιά με κλασσική μορφή φαινυλκετονουρίας, η ανάπτυξη συνήθως είναι σημαντικά μειωμένη σε σχέση με παιδιά με μη κλασσική μορφή φαινυλκετονουρίας, ωστόσο ίσως να μπορούν να ανακτήσουν την καθυστερημένη τους ανάπτυξη μετά την ηλικία των δώδεκα ετών, καθώς ίσως οφείλεται σε ανεπαρκή διατροφική τους διαχείριση και όχι στις υψηλές τιμές φαινυλαλανίνης στο αίμα [9]. Σε κάποιες μελέτες, αλλά όχι σε όλες, η αύξηση της συνολικής πρόσληψης πρωτεΐνης πάνω από το RDA (τις συνιστώμενες δηλαδή διαιτητικές προσλήψεις) που ισχύει για το γενικό πληθυσμό, συσχετίστηκε με φυσιολογική ανάπτυξη. Ίσως, οι διαφορετικές συστάσεις για την πρόσληψη πρωτεΐνης σε μία χώρα ή σε έναν πληθυσμό, να οδηγούν στα αντικρουόμενα αποτελέσματα σχετικά με την ανάπτυξη, ενώ πιθανότατα η ανάπτυξη στη φαινυλκετονουρία επηρεάζεται και από τη φτωχή προσκόλληση στη διατροφή χαμηλή σε φαινυλαλανίνη. Καθώς πιθανές αιτίες που έχουν προταθεί για τη μη βέλτιστη ανάπτυξη των μικρών παιδιών με φαινυλκετονουρία, όπως είναι η ορμονική κατάσταση, η ηλικία των οστών ή η γονική ανάπτυξη, δεν έχουν επιτύχει συσχέτιση, αποδίδεται ως επί το πλείστον στη χρήση μιας ημισυνθετικής δίαιτας χαμηλής σε φαινυλαλανίνη τις πρώτες εβδομάδες ζωής [4].

Όσον αφορά στο υπερβάλλον βάρος και την παχυσαρκία σε αγόρια και ενήλικες, ο επιπολασμός τους φαίνεται να είναι παρόμοιος με του γενικού πληθυσμού, ή ακόμα και μικρότερος κάποιες φορές, με τα κορίτσια και τις γυναίκες με φαινυλκετονουρία όμως, να εμφανίζουν μια ευαισθησία στην υπερβολική αύξηση του βάρους [18].

Γενικά, όσον αφορά στον αντίκτυπο που έχει η φαινυλκετονουρία αλλά και η αντιμετώπισή της στην ανάπτυξη, τα δεδομένα είναι περιορισμένα και κάποιες φορές αντιφατικά, ώστε να βγει ένα ξεκάθαρο συμπέρασμα, καθώς υπάρχουν ενδείξεις για μειωμένη ανάπτυξη παρά τον καλό μεταβολικό έλεγχο, αλλά και καλύτερη ανάπτυξη παρά τη χαλάρωση στην προσκόλληση στη διατροφή. Παρόλα αυτά, τα στοιχεία υποδεικνύουν ότι η βέλτιστη ανάπτυξη στη φαινυλκετονουρία δεν επιτυγχάνεται, ακόμα και με την πρόοδο στη διατροφική θεραπεία [4].

### **1.6.1. Μητρική φαινυλκετονουρία.**

Επιπρόσθετα, υπάρχει και το σύνδρομο φαινυλκετονουρίας της μητέρας (μητρική φαινυλκετονουρία, MPKU), που αφορά στη διάρκεια της εγκυμοσύνης, κατά την οποία η μη θεραπευμένη υπερφαινυλαλανιναιμία της μητέρας εγγυάται την πρόκληση συγγενών ανωμαλιών του νεογνού κατά τη γέννηση (αφού τα υψηλά επίπεδα της φαινυλαλανίνης είναι τοξικά για τον αναπτυσσόμενο εμβρυϊκό εγκέφαλο, με τερατογόνες επιδράσεις [11]), που περιλαμβάνουν μεταξύ άλλων μικροκεφαλία, νοητική υστέρηση, συγγενείς καρδιακές ανωμαλίες (CHD) και μη οικογενή χαρακτηριστικά του προσώπου [5,11,12,13]. Η μητρική φαινυλκετονουρία μάλιστα αναγνωρίστηκε ως παράγοντας κινδύνου το 1957, πριν καν γίνει

εισαγωγή της μεθόδου του προσυμπτωματικού νεογνικού ελέγχου, ενώ τόσο η περίοδος της εγκυμοσύνης όσο και η περίοδος απόπειρας σύλληψης πρέπει να θεωρούνται αυξημένου κινδύνου [17].

Βέβαια, δεν είναι απαραίτητο ότι τα παιδιά αυτά θα πάσχουν από φαινυλκετονουρία, παρά μόνο εάν είναι πάσχων και ο πατέρας. Εάν ο πατέρας είναι ετερόζυγος, η πιθανότητα είναι 50%. Ακόμα και σε μικρές αυξήσεις των τιμών φαινυλαλανίνης αίματος της μητέρας, το έμβryo κινδυνεύει να υποστεί βλάβες, καθώς είναι εκτεθειμένο σε ακόμα μεγαλύτερες συγκεντρώσεις φαινυλαλανίνης από ότι εκείνη, με τη σοβαρότητα των βλαβών αυτών να εξαρτάται φυσικά από το ύψος της φαινυλαλανίνης στο αίμα της μητέρας του [12].

Αναλυτικότερα, σε μια εγκυμονούσα με φαινυλκετονουρία, τα αυξημένα επίπεδα φαινυλαλανίνης κατά τα πρώτα στάδια της κύησης, συσσωρεύονται στο έμβryo και διαταράσσουν τη φυσιολογική ανάπτυξη του κεντρικού νευρικού συστήματος, ενώ εάν δεν εφαρμοστεί θεραπεία, οι πιθανότητες απόκτησης νεογνού με νοητική υστέρηση, το οποίο είναι και το πιο σταθερό χαρακτηριστικό του συνδρόμου, ανέρχονται σε 92%, με παθολογικά μικρό μέγεθος κεφαλής, το οποίο είναι η πιο κοινή εμβρυική δυσπλασία, σε 73%, με άλλη πηγή της βιβλιογραφίας να αναφέρει ότι η συχνότητά του έχει αύξουσα πορεία ποσοστού 5 με 18% όταν ο έλεγχος επιτυγχάνεται έως τη 10 εβδομάδα κύησης, με σταθερή αύξηση στο 67% εάν ο έλεγχος δεν έχει επιτευχθεί μέχρι τις 30 εβδομάδες της κύησης. Αυξημένος είναι και ο κίνδυνος να εμφανιστούν στη μετέπειτα ζωή του επιληπτικές κρίσεις, διαταραχές συμπεριφοράς και υπερδραστηριότητα [5,11]. Ο κίνδυνος για τις χρόνιες καρδιακές ανωμαλίες που είναι αυξημένος, σχετίζεται με το χρόνο της ανάπτυξης της καρδιάς του εμβρύου και τον έλεγχο της φαινυλκετονουρίας της μητέρας. Η καρδιά του εμβρύου αναπτύσσεται πριν από τις 8-10 εβδομάδες τη κύησης και τα σταθερά αυξημένα επίπεδα της φαινυλαλανίνης της μητέρας κατά την πρώιμη κύηση σε πάνω από 600  $\mu\text{mol/l}$ , έχουν συσχετιστεί με αύξηση του κινδύνου για δυσπλασίες κατά 8 με 12%. Επιπλέον, αύξηση αυτού του κινδύνου έχουμε και σε κακή πρωτεϊνική πρόσληψη, αλλά και σε ανεπάρκεια της βιταμίνης B12. Εάν επιτευχθεί έλεγχος της φαινυλαλανίνης μέχρι τις 10 εβδομάδες κύησης, φαίνεται ότι η επίπτωση της καθυστέρησης της ανάπτυξης του εμβρύου δεν αυξάνεται, γεγονός που δεν συμβαίνει εάν ο έλεγχος επέλθει μεταγενέστερα [11].

Ο μεγαλύτερος κίνδυνος για το έμβryo αφορά στις πρώτες 8 με 12 εβδομάδες κύησης, ενώ η απόκτηση ενός απόλυτα υγιούς βρέφους είναι σπάνια, ακόμα και αν η διαίτα ξεκινήσει μέσα στο πρώτο τρίμηνο κύησης, με τις οδηγίες αντιμετώπισης της μητρικής φαινυλκετονουρίας να συνιστούν στις γυναίκες με φαινυλκετονουρία που θέλουν να αποκτήσουν παιδί, έναρξη πολύ αυστηρής διαίτας 3 με 6 μήνες πριν την σύλληψη. Όπως είναι λογικό, η ακρίβεια που απαιτεί αυτή η διαίτα καθ' όλη τη διάρκεια της εγκυμοσύνης, την καθιστά πολύ δύσκολη στην εφαρμογή, ακόμη και για γυναίκες που ακολουθούν φτωχή σε φαινυλαλανίνη διαίτα από τη δική τους βρεφική ηλικία [12], ενώ αξιοσημείωτο είναι το

ποσοστό των μητέρων με ανεπάρκεια της υδροξυλάσης της φαινυλαλανίνης που δεν έχουν επαρκή έλεγχο των επιπέδων του αμινοξέος πριν τις οκτώ εβδομάδες κύησης, το οποίο φτάνει το 65% [11].

Βέβαια να αναφερθεί ότι η πάθηση δύναται να εμφανιστεί και σε απογόνους γονέων που δεν είχαν φαινυλκετονουρία, καθώς και ότι δεν την κληρονομούν όλοι οι απόγονοι γονέων με φαινυλκετονουρία, αν και οι υπόλοιποι κίνδυνοι που αναφέρθηκαν για το έμβρυο, συνεχίζουν να ελλοχεύουν [5]. Δηλαδή, σε γυναίκες με φαινυλκετονουρία, η διαίτα μειώνει την πιθανότητα γέννησης παιδιών με συγγενείς ανωμαλίες, βελτιώνοντας παράλληλα τη ψυχοκινητική τους ανάπτυξη, αλλά δεν εξασφαλίζει τη γέννηση ενός φυσιολογικού παιδιού. Αυτή η εξασφάλιση στην πραγματικότητα υπάρχει μόνο με την αποφυγή της εγκυμοσύνης [12].

### **1.7. Επιπολασμός νόσου στην Ελλάδα και στο γενικό πληθυσμό**

Ο επιπολασμός της νόσου της φαινυλκετονουρίας γενικά ποικίλλει από 1 στις 2.600 γεννήσεις έως 1 στις 200.000 γεννήσεις, με την Ευρώπη να εμφανίζει μέσο επιπολασμό περίπου 1:10.000 νεογνά, ενώ γενικότερα είναι υψηλός στους λευκούς ή τους πληθυσμούς της Ανατολικής Ασίας [15,16,17].

Όσον αφορά στην κλασσική φαινυλκετονουρία που είναι και η πιο συχνή, εμφανίζεται στους Καυκάσιους πληθυσμούς με συχνότητα που ποικίλει. Παραδειγματικά, στην Ευρώπη 1:12000-30000 γεννήσεις, σε Ιρλανδία και Φινλανδία 1:4400 και 1:50000 γεννήσεις αντίστοιχα, στην Τουρκία 1:2600 γεννήσεις, ενώ στις ΗΠΑ 1:13000-19000 γεννήσεις [11,12]. Να σημειωθεί ότι ο υψηλός επιπολασμός της φαινυλκετονουρίας που υπάρχει σε χώρες της Μέσης Ανατολής όπως για παράδειγμα στην Τουρκία, εξηγείται ίσως από το γεγονός ότι σε αυτές τις χώρες πραγματοποιούνται συχνά γάμοι μεταξύ συγγενών. Από την άλλη, σε χώρες όπως η Ταϊλάνδη και η Ιαπωνία, ο επιπολασμός της είναι χαμηλός, ενώ για κάποιες περιοχές της Ασίας, της Αφρικής και της Καραϊβικής, δεν υπάρχουν δεδομένα [17].

Ομοίως ποικίλλει και ο επιπολασμός της ανεπάρκειας της υδροξυλάσης της φαινυλαλανίνης, με τον υψηλότερο να φαίνεται να είναι σε Ιρλανδία, Γερμανία, Ιταλία, Ιράν και Ιορδανία, ενώ στην Ισπανία φαίνεται πως είναι υψηλός ο επιπολασμός της ήπιας ανεπάρκειας της υδροξυλάσης της φαινυλαλανίνης. [17].

Σύμφωνα με το Ινστιτούτο Υγείας του Παιδιού, από το οποίο γίνεται το εθνικό πρόγραμμα προληπτικού ελέγχου νεογνών, ο επιπολασμός της φαινυλκετονουρίας στη χώρα μας είναι 1:10-12.000 γεννήσεις, με το μέσο όρο εμφάνισής της στις ευρωπαϊκές χώρες να είναι 1 στα 10.000 νεογνά. Πιο αναλυτικά, η απλή επίμονη υπερφαινυλαλανιναιμία εμφανίζεται με συχνότητα 1:22000 γεννήσεις, η κλασσική φαινυλκετονουρία 1:17000

γεννήσεις, η φαινυλκετονουρία λόγω ανεπάρκειας της δραστηριότητας της ρεδοκτάσης της δεϋδροπεριδίνης 1:2.500.000 γεννήσεις, με την ίδια συχνότητα να ισχύει και για την φαινυλκετονουρία λόγω αδυναμίας σύνθεσης της τετραϋδροβιοπτερίνης [12].

### 1.8. Διάγνωση και έναρξη θεραπείας.

Η ανάπτυξη ενός τεστ που ανιχνεύει την υπερφαινυλαλανιναίμια σε νεογνά, έγινε το 1963 από τον Guthrie, δίνοντας έτσι τη δυνατότητα έγκαιρης ανίχνευσης και αντιμετώπισης [15,17]. Έως τα τέλη της ίδια δεκαετίας η μέθοδος αυτή έγινε ευρέως διαδεδομένη στη Βόρεια Αμερική και το Ηνωμένο Βασίλειο, ενώ όσον αφορά στον υπόλοιπο ανεπτυγμένο κόσμο, στις αρχές του 1970 [11].

Έτσι, σε όλες σχεδόν τις ευρωπαϊκές χώρες, η φαινυλκετονουρία ανιχνεύεται μέσω του νεογνικού προσυμπτωματικού ελέγχου (NBS), γεγονός που επιτρέπει την άμεση έναρξη της θεραπείας, με την πλειοψηφία των βρεφών να την ξεκινούν σε ηλικία μικρότερη των 14 ημερών [16], ενώ συνιστάται η έναρξη πριν τις δέκα ημέρες ζωής [15]. Αυτά τα ανιχνευτικά προγράμματα νεογνών αποτελούν τη μοναδική μέθοδο έγκαιρης διάγνωσης της νόσου και λειτουργούν με ποσοτικό έλεγχο των επιπέδων φαινυλαλανίνης σε ξηρή σταγόνα αίματος όλων των νεογνών, από τσίμπημα στη φτέρνα τους, πάνω στη λεγόμενη κάρτα Guthrie, που αποτελεί ένα διηθητικό χαρτί, μέχρι οι κύκλοι της κάρτας να είναι πλήρως κορεσμένοι [12,17]. Απαιτείται λοιπόν μια υποδομή, καλά δομημένη, στην οποία θα γίνει η λήψη νεογνικού αίματος ιδανικά μέσα σε 24 με 72 ώρες μετά τον τοκετό και ένα σωστά εξοπλισμένο εργαστήριο που θα διαχειριστεί τα δείγματα [15]. Ο προαναφερόμενος χρόνος αιμοληψίας θεωρείται ο κατάλληλος, αν και ποικίλλει μεταξύ των χωρών αλλά και των περιοχών [17].

Υπάρχουν διαφορετικοί μέθοδοι προσυμπτωματικού ελέγχου στα εργαστήρια με τις οποίες μπορεί να γίνει εκτίμηση των επιπέδων φαινυλαλανίνης. Η αρχική δοκιμή Guthrie είναι η δοκιμασία βακτηριακής αναστολής (BIA) στην οποία η ξηρή σταγόνα αίματος τοποθετείται μέσα σε πλάκες άγαρ που περιέχουν ένα στέλεχος του *Bacillus subtilis* και β-2-θειενυλανίνη, η οποία είναι ένα ανάλογο της φαινυλαλανίνης που αναστέλλει την ανάπτυξη των βακτηρίων. Σε υψηλά λοιπόν επίπεδα φαινυλαλανίνης στη σταγόνα αίματος, αναστέλλεται η μεταφορά αυτού του αναλόγου στο βακτήριο με συνέπεια την εύκολα ανιχνεύσιμη βακτηριακή ανάπτυξη. Άλλη μέθοδος είναι η φθοριομετρική μικροανάλυση (FMA) η οποία γίνεται με χρωματογραφικό διαχωρισμό και παραγωγοποίηση και ανίχνευση φθορισμού. Έχει αυξημένη ακρίβεια και ευαισθησία. Όμως, οι δύο προαναφερθείσες μέθοδοι μπορούν να ανιχνεύσουν μόνο ένα αμινοξύ, κάτι που δεν ισχύει για την ακόλουθη μέθοδο [17].

Πλέον, η ανίχνευση γίνεται με τη χρήση διαδοχικής φασματομετρίας μάζας (MS/MS

ή TMS), η οποία επιτρέπει τη μέτρηση πολλαπλών αμινοξέων [17], ενώ έχουμε τη δυνατότητα ποσοτικοποίησης των αυξημένων συγκεντρώσεων της φαινυλαλανίνης στις κηλίδες αίματος από τις πρώτες κιόλας εικοσιτέσσερις ώρες μετά τη γέννηση [11]. Αυτή η μέθοδος είναι και η μόνη που επιτρέπει τον έλεγχο για πολλές κληρονομικές μεταβολικές ασθένειες, αλλά και την ταυτόχρονη μέτρηση φαινυλαλανίνης και τυροσίνης, οδηγώντας σε πιο ευαίσθητο έλεγχο για φαινυλκετονουρία [17]. Βέβαια να σημειωθεί ότι αν και ο προσυμπτωματικός έλεγχος νεογνών που βασίζεται σε αυτή τη μέθοδο είναι πιο ακριβής από παλαιότερες μεθόδους προσυμπτωματικού ελέγχου και λιγότερο δαπανηρός, η παρατήρηση ενός αυξημένου επιπέδου της φαινυλαλανίνης αίματος δεν είναι ειδική και δεν οριστικοποιεί την ύπαρξη ανεπάρκειας της υδροξυλάσης της, με τα περισσότερα εργαστήρια νεογνικού προσυμπτωματικού ελέγχου να καθορίζουν τα δικά τους όρια πάνω από τα οποία θεωρείται θετική μια δοκιμή και χρήζει περαιτέρω αξιολόγησης. Πάντως, μια διεθνής βάση δεδομένων από 133 εργαστήρια, αναφέρει ως μη φυσιολογικές την τιμή των 130μmol φαινυλαλανίνης/l, με εύρος 65 με 234μmol/l και την αναλογία φαινυλαλανίνης:τυροσίνης πάνω από 3, ενώ τα αυξημένα επίπεδα χρήζουν αναγκαίες και τις δοκιμές για εύρεση πιθανών ελαττωμάτων στην σύνθεση ή αναγέννηση του συμπαραγόντα τετραϋδροβιοπτερίνη. Έτσι, απαραίτητη είναι η μέτρηση των πτερινών αίματος ή ούρων, αφύσικες τιμές των οποίων οδηγούν σε έλεγχο για ανεπάρκεια GTP κυκλοδρόλασης I (GTPCH), συνθάσης 1,6 – πυρουβούλο-τετραϋδροπτερίνης,αναγωγάσης της διυδροπτεριδίνης ή καρβινολαμινο-4α-αφυδρατάση πτερίνης [11].

Άλλη πηγή αναφέρει ότι μέσω της διαδοχικής φασματομετρίας μάζας που είναι πιο ευαίσθητη στην ανίχνευση, συγκέντρωση φαινυλαλανίνης 120 μmol/l (2mg/dl) συνδυαστικά με αναλογία φαινυλαλανίνης προς τυροσίνη πάνω από 1,5 αποτελεί θετικό αποτέλεσμα ανίχνευσης φαινυλκετονουρίας. Ακολουθεί η έρευνα για διάκριση ανάμεσα σε ανεπάρκεια της υδροξυλάσης της φαινυλαλανίνης, διαταραχές στο μεταβολισμό της τετραϋδροβιοπτερίνης (με μέθοδο εκλογής για όλες τις πρωτογενείς ελλείψεις της τετραϋδροβιοπτερίνης να είναι πια η μοριακή ανάλυση), αλλά και ελαττωμάτων στονDNAJG12 (ο οποίος μπορεί να λειτουργήσει ως συνοδός στην σωστή αναδίπλωση και συναρμολόγηση των λειτουργικών μονομερών της υδροξυλάσης της φαινυλαλανίνης, όπως δηλαδή και η τετραϋδροβιοπτερίνη, η οποία αναδίπλωση σε απουσία του διακόπτεται και όπως φάνηκε πρόσφατα, παθογενετικές παραλλαγές σε αυτόν μπορούν να προκαλέσουν, σε λίγες περιπτώσεις βέβαια, υπερφαινυλαλανιναιμία, ενώ έχει περιγραφεί ως πρόσθετη αιτία κληρονομικής υπερφαινυλαλανιναιμίας με μεγάλη κλινική μεταβλητότητα) [17].Επιπλέον, θα πρέπει να υπάρξει διευκρίνιση για το εάν η ανεπάρκεια της συγκεκριμένης υδροξυλάσης οφείλεται σε άλλα αίτια όπως σε υψηλή πρόσληψη πρωτεϊνών ή σε νόσο του ήπατος [15].

Πάντως, με γνώμονα τις πρώτες κατευθυντήριες οδηγίες της Ευρώπης για τη φαινυλκετονουρία, η ταξινόμηση της ανεπάρκειας της υδροξυλάσης της φαινυλαλανίνης

είναι η ακόλουθη: επίπεδα φαινυλαλανίνης 120 με 360  $\mu\text{mol/l}$  αποτελούν την ήπια υπερφαινυλαλανιναιμία που δεν απαιτεί θεραπεία, ενώ επίπεδα πάνω από 360  $\mu\text{mol/l}$  αποτελούν τη φαινυλκετονουρία (εννοώντας τις σοβαρές μορφές) που περαιτέρω ταξινομείται σε ανταποκρινόμενη ή μη στην τετραϋδροβιοπτερίνη. Σύμφωνα λοιπόν με αυτές τις οδηγίες, αλλά και με τις κατευθυντήριες οδηγίες των ΗΠΑ, η σύσταση έναρξης της θεραπείας είναι συγκεντρώσεις φαινυλαλανίνης πάνω από 360  $\mu\text{mol/l}$ . Επιπλέον, και οι δύο κατευθυντήριες οδηγίες δίνουν σύσταση για παιδιά και για γυναίκες που θέλουν να τεκνοποιήσουν τη διατήρηση των συγκεντρώσεων φαινυλαλανίνης σε κάτω από τα 360  $\mu\text{mol/l}$ , με τη διαφορά μεταξύ τους να είναι ότι οι ΗΠΑ συνιστούν τα ίδια επίπεδα και σε εφήβους και ενήλικες, ενώ οι ευρωπαϊκές οδηγίες συνιστούν για άτομα πάνω από τα 12 έτη οι συγκεντρώσεις φαινυλαλανίνης να διατηρούνται κάτω από τα 600  $\mu\text{mol/l}$  [17].

Σε θετικό νεογνικό προσυμπτωματικό έλεγχο, η ανάλυση αμινοξέων πλάσματος θα επιβεβαιώσει τα αυξημένα επίπεδα φαινυλαλανίνης, με δείγματα που έχουν ληφθεί πριν την έναρξη του διατροφικού περιορισμού [11]. Η ίδια ανάλυση πρέπει να γίνει και σε άτομα που δεν υποβλήθηκαν σε νεογνικό προσυμπτωματικό έλεγχο και παρουσιάζουν συσχετιζόμενα με την φαινυλκετονουρία συμπτώματα [15].

Αξιοσημείωτο είναι ότι η συσχέτιση γονότυπου-φαινότυπου καθίσταται δύσκολη εξαιτίας του γεγονότος ότι μόλις το 25% των γονότυπων της υδροξυλάσης της φαινυλαλανίνης είναι ομο-αλληλικοί και ότι ασθενείς των οποίων οι μεταλλαγμένοι γονότυποι της υδροξυλάσης της φαινυλαλανίνης είναι παρόμοιοι, μπορεί πάραυτα να έχουν διαφορετικούς φαινότυπους. Έτσι, αν και δεν είναι απαραίτητος για να γίνει η διάγνωση, ο παράγοντας που καθορίζει το μεταβολικό φαινότυπο ενός ατόμου (όπως και το βαθμό της πρωτεϊνικής δυσλειτουργίας και τη δραστηριότητα της υδροξυλάσης της φαινυλαλανίνης που υπολείπεται) είναι ο συγκεκριμένος γονότυπος της υδροξυλάσης της φαινυλαλανίνης [11,15,17]. Από όλα τα βρέφη που έχουν αυξημένα επίπεδα φαινυλαλανίνης, θα πρέπει να λαμβάνεται ανάλυση μετάλλαξης καθώς αυτό θα παρέχει πληροφορίες που μπορεί να επηρεάσουν την έκταση του διατροφικού περιορισμού της φαινυλαλανίνης όπως και την πιθανή απόκριση στη συμπληρωματική χορήγηση τετραϋδροβιοπτερίνης ή σαπροπτερίνης[11].

Η θεραπεία πρέπει να ξεκινήσει όσο το δυνατόν νωρίτερα, με στόχο τα επίπεδα της φαινυλαλανίνης αίματος να είναι εντός του θεραπευτικού εύρους μέσα στις δύο πρώτες εβδομάδες ζωής [11]. Στη χώρα μας, ο προληπτικός έλεγχος των νεογνών πραγματοποιείται από το 1969 από το Ινστιτούτο Υγείας του Παιδιού και η μέση ηλικία έναρξης της φτωχής σε φαινυλαλανίνη διαίτας είναι η 10η με 15η ημέρα ζωής [12].

Να διευκρινιστεί, ότι λόγω του νεογνικού προσυμπτωματικού ελέγχου και των θετικών αποτελεσμάτων του, η φαινυλκετονουρία θεωρείται επιτυχία της ιατρικής, όμως

συνολικά, το μέσο γνωσιακό επίπεδο των ασθενών, είναι πάντα λίγο πιο χαμηλά από εκείνων που έχουν τα αδέρφια τους ή ο γενικός πληθυσμός [15].



## Κεφάλαιο 2. Θεραπευτική προσέγγιση φαινυλκετονουρίας

Να σημειωθεί ότι καθώς έχει πλέον ξεκαθαριστεί η σχέση μεταξύ των επιπέδων φαινυλαλανίνης στο αίμα και της κλινικής έκβασης, οποιαδήποτε θεραπευτική προσέγγιση που επιφέρει μείωση της φαινυλαλανίνης αίματος χωρίς αρνητικές συνέπειες, το οποίο αποτελεί και τον πρωταρχικό στόχο της θεραπείας, θα βελτιώσει το φαινότυπο της φαινυλκετονουρίας [11,13]. Επιπλέον στόχοι της θεραπείας αποτελούν φυσικά η βέλτιστη νευρογνωστική ανάπτυξη και λειτουργία όπως και η φυσιολογική ανάπτυξη [17].

Σα δευτερεύοντες στόχοι των εκάστοτε θεραπευτικών προσεγγίσεων πρέπει να είναι η βελτίωση της διατροφικής ανοχής στη φαινυλαλανίνη, των συμπτωμάτων, της ποιότητας της ζωής των ασθενών, καθώς και η ψυχοκοινωνική τους ευεξία [11,17], ενώ όπως έχει αναφερθεί, οι ασθενείς με ανεπάρκεια της υδροξυλάσης της φαινυλαλανίνης μπορεί να κατηγοριοποιηθούν ως απαιτούντες διατροφική θεραπεία, τετραϋδροβιοπτερίνη ή και τα δύο και ως μη απαιτούντες θεραπεία [15].

### 2.1. Διατροφική θεραπεία

Η αποτελεσματική θεραπεία της φαινυλκετονουρίας, είναι η διατροφή με τον αυστηρό περιορισμό της από τις πρώτες κιόλας ημέρες της ζωής, με τις τωρινές οδηγίες να συνιστούν στόχο τιμών φαινυλαλανίνης στο αίμα μεταξύ 120-360 μmol/L (2-6 mg/dL), αφού φαίνεται ότι το εύρος αυτό σχετίζεται με τη διατήρηση της φυσιολογικής πνευματικής λειτουργίας και ανάπτυξης για τους ασθενείς, αλλά και για τη διάρκεια της εγκυμοσύνης, με τη συμπληρωματική χρήση "ειδικών" τροφίμων (ιατρικές τροφές, φόρμουλες, ειδικά τροποποιημένα τρόφιμα) και υποκατάστατων πρωτεΐνης 4,5,6,9,10,11,13,16].

Αυτά τα ειδικά συμπληρωματικά φαρμακευτικά προϊόντα, προμηθεύουν τόσο με τα απαραίτητα αμινοξέα, όσο και με ενέργεια προερχόμενη από υδατάνθρακες και λίπος [13], ενώ συνήθως είναι εμπλουτισμένα με τυροσίνη, βιταμίνες, μέταλλα και ιχνοστοιχεία [5]. Πιο συγκεκριμένα, ως ιατρικό τρόφιμο αναφέρεται εκείνο που έχει σχεδιαστεί προς κατανάλωση ή προς εντερική χορήγηση, υπό ιατρική επίβλεψη, για τη διατροφική διαχείριση κάποιας συγκεκριμένης κατάστασης ή νόσου, η οποία βάσει επιστημονικών τεκμηριώσεων και ιατρικής αξιολόγησης, έχει συγκεκριμένες διατροφικές απαιτήσεις, ενώ ως τροποποιημένο, χαμηλό σε πρωτεΐνη τρόφιμο, εκείνο που έχει φτιαχτεί έτσι ώστε να περιέχει κάτω από 1 γραμμάριο πρωτεΐνης ανά μερίδα [19]. Άλλη πηγή της βιβλιογραφίας αναφέρει ότι συνήθως οι τιμές φαινυλαλανίνης αίματος που επιτρέπει η θεραπευτική της πολιτική, είναι έως 6,6 mg/dl για τη διάρκεια της παιδικής ηλικίας, 10-15 mg/dl για την εφηβεία και κάτω από 20 mg/dl για μετά την ενηλικίωση [12]. Επιπλέον, έχει υπολογιστεί ότι μια αναλογία πρωτεΐνης-ενέργειας στα 3,0-4,5 γραμμάρια πρωτεΐνης/100 kcal, ίσως να υποστηρίξει μια βέλτιστη

ανάπτυξη [4]. Συγκεντρωτικά δηλαδή, η διαιτητική θεραπεία της φαινυλακτονουρίας είναι τρίπτυχη και περιλαμβάνει τον περιορισμό στην πρόσληψη της φυσικής πρωτεΐνης, τη συμπλήρωση των αναγκών με μείγμα αμινοξέων που δεν περιλαμβάνει φαινυλαλανίνη και την κατανάλωση τροφίμων με χαμηλή περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη [17].

Καθώς λοιπόν το ήπαρ δεν μπορεί να μεταβολίσει την περίσσεια της φαινυλαλανίνης, απαιτείται ο αυστηρός περιορισμός της φυσικής πρωτεΐνης ώστε να μειωθεί η συγκέντρωση της φαινυλαλανίνης στο αίμα, ειδικά κατά τη διάρκεια του πρώτου χρόνου ζωής [16]. Το πόσο αυστηρός θα είναι ο διατροφικός περιορισμός της φαινυλαλανίνης εξαρτάται από την ανοχή του κάθε ασθενούς, το οποίο καθορίζεται από τη δραστηριότητα της υδροξυλάσης της φαινυλαλανίνης ή από το φαινότυπο και απαιτεί επομένως εξατομίκευση [4,5,11], αλλά και από την ποσότητα φαινυλαλανίνης που απαιτείται για την καθαρή πρωτεϊνική σύνθεση [17]. Να σημειωθεί πως ο όρος ανοχή στη φαινυλαλανίνη αναφέρεται στην ποσότητα της φαινυλαλανίνης(ανά κιλό σωματικού βάρους ή mg ανά ημέρα και αλλιώς αναφέρεται ως φυσική ανοχή στην πρωτεΐνη που εκφράζεται σε γραμμάρια ανά ημέρα [15]) που μπορεί να καταναλώσει ένας ασθενής με ανεπάρκεια της υδροξυλάσης της μέσω της διατροφής, χωρίς να ξεφύγουν τα επίπεδα της φαινυλαλανίνης από το θεραπευτικό εύρος και συχνά ο προσδιορισμός της δύναται να γίνει από την ηλικία των δύο με πέντε χρόνων [19]. Το να διαπιστωθεί πόσο σοβαρή είναι η ανεπάρκεια της υδροξυλάσης της φαινυλαλανίνης είναι δύσκολο, καθώς πλέον η διάγνωση των ασθενών γίνεται πριν τα επίπεδα φαινυλαλανίνης φτάσουν την βιολογικά υψηλότερη συγκέντρωση [17]. Η φαινυλαλανίνη φυσικά εξακολουθεί να αποτελεί απαραίτητο αμινοξύ (δεν μπορεί δηλαδή να την συνθέσει ο οργανισμός, στο οποίο γεγονός βασίζεται και η επιτυχία της διαιτητικής θεραπείας [17]), αλλά σε πολύ μικρότερες δόσεις σε σχέση με τους υγιείς ανθρώπους [12]. Άσχετα δηλαδή από τα ιατρικά τρόφιμα, πρέπει να παρέχονται ορισμένες ποσότητες, περιορισμένες φυσικά, από ανέπαφες πρωτεΐνες για διάφορες αναβολικές διεργασίες [19]. Αλλαγή έχουμε στην τυροσίνη, που μετατρέπεται σε άκρως απαραίτητο αμινοξύ λόγω της αδυναμίας των ασθενών αυτών να την συνθέσουν [12]. Έχουμε δηλαδή ειδικές συστάσεις για την πρόσληψη πρωτεΐνης, φαινυλαλανίνης και τυροσίνης στα άτομα με ανεπάρκεια της υδροξυλάσης της φαινυλαλανίνης(πίνακας 1), τροποποιώντας έτσι τις διατροφικές προσλήψεις αναφοράς που ισχύουν για το γενικό πληθυσμό, ενώ να τονιστεί ότι τα εύρη για την πρόσληψη της φαινυλαλανίνης είναι μεγάλα, αντικατοπτρίζοντας έτσι το γεγονός ότι οι απαιτήσεις σε αυτή είναι παλυπαραγοντική υπόθεση, που περιλαμβάνει μεταξύ άλλων την υπολλειπόμενη δραστηριότητα της υδροξυλάσης της φαινυλαλανίνης, την ηλικία του ατόμου, το ρυθμό ανάπτυξης, την απόκριση στην σαπροπερίνη, αλλά με τον καθοριστικό παράγοντα να είναι πάντα τα επίπεδα φαινυλαλανίνης στο αίμα [11].Ενώ λοιπόν αλλάζουν οι συστάσεις για τα δύο αμινοξέα και για τη συνολική πρωτεϊνική πρόσληψη, η οποία υπερβαίνει τις διατροφικές προσλήψεις αναφοράς (DRIs) για το φύλο και την ηλικία, οι υπόλοιπες απαιτήσεις σε

θρεπτικά συστατικά δε διαφοροποιούνται από αυτές που ισχύουν για το γενικό πληθυσμό [19].

Οι τροφές που είναι πλούσιες σε φαινυλαλανίνη όπως το κρέας, το κοτόπουλο, το ψάρι, τα αλλαντικά, τα όσπρια, οι ξηροί καρποί, το αυγό, το γιαούρτι, κάποια τυριά, το σιτάρι και τα προϊόντα του, ίσως χρειαστεί να αποκλειστούν από τη διατροφή, με τις πρωτεϊνικές ανάγκες να καλύπτονται από κάποια γαλακτοκομικά και κυρίως από πλούσια σε πρωτεΐνη αλλά χαμηλά σε φαινυλαλανίνη τυποποιημένα και εμπλουτισμένα προϊόντα. Για το γάλα να σημειωθεί ότι επιτρέπεται όταν απαιτείται η διατήρηση ελάχιστης ποσότητας φαινυλαλανίνης στο αίμα, ενώ κανονικά περιλαμβάνονται τα φρούτα και τα λαχανικά, το καλαμπόκι, η πατάτα και το ρύζι, τα λιπαρά και τα σάκχαρα, καθώς και υδατανθρακούχες τροφές χωρίς φαινυλαλανίνη[5,12], με τα κοινά δημητριακά, ζυμαρικά και ψωμιά όμως να πρέπει επίσης συνήθως να αποκλειστούν ή να περιοριστούν αυστηρώς, ενώ πρακτικά η δίαιτα φαίνεται πως έχει υποχρεωτική εξάρτηση από τα φρούτα και τα λαχανικά. Είναι σημαντικό να καλύπτονται οι ενεργειακές ανάγκες, γιατί διαφορετικά θα χρησιμοποιηθούν για αναβολικές διεργασίες τα ελεύθερα αμινοξέα από τον οργανισμό [16].

Δηλαδή, η κύρια πηγή πρωτεΐνης παρέχεται από τα υποκατάστατα πρωτεΐνης που συνταγογραφούνται, τα οποία καταναλώνονται συνήθως τουλάχιστον τρεις φορές την ημέρα, με σύσταση κατανάλωσης μαζί με τα γεύματα ώστε να βελτιστοποιηθεί ο μεταβολισμός τους και να προωθηθεί ο αναβολισμός και όχι η οξείδωση των αμινοξέων [11,16]. Αξίζει να αναφερθεί ότι αρχικά ως υποκατάστατα πρωτεΐνης είχαν χρησιμοποιηθεί προϊόντα υδρόλυσης πρωτεϊνών που σημαίνει ότι ήταν τεχνικά δεν ήταν δυνατό να μην εμπεριέχεται καθόλου φαινυλαλανίνη, με συνέπεια την ακόμα πιο μειωμένη πρόσληψή της από τη φυσική πρωτεΐνη. Σήμερα έχουμε στη διάθεσή μας μείγματα αμινοξέων χωρίς καθόλου φαινυλαλανίνη, που επιτρέπουν στους ασθενείς με φαινυλκετονουρία να τη λαμβάνουν μόνο από τη φυσική πρωτεΐνη [17]. Επίσης, τα υποκατάστατα πρωτεΐνης ίσως να παίζουν ρόλο στην εξισορρόπηση της μεταφοράς των αμινοξέων από τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό, προλαμβάνοντας την υπερβολική είσοδο της φαινυλαλανίνης στον εγκέφαλο [16]. Καθώς κάποιες επιστημονικές ενδείξεις συνηγορούν στο ότι ο ρυθμός που απορροφώνται τα αμινοξέα των περισσότερων ιατρικών τροφίμων είναι ταχύτερος σε σχέση με το ρυθμό απορρόφησης των ανέπαφων πηγών πρωτεΐνης (άθικτες πρωτεΐνες, εννοώντας τις προερχόμενες από τρόφιμα, φυσικές πρωτεΐνες [19]), θεωρείται από ορισμένους συγγραφείς ότι αυτό επιφέρει μεγαλύτερες απώλειες του αζώτου μέσω των ούρων, επειδή η ταχεία απορρόφησή τους στο αίμα δε θα επιτρέψει παρατεταμένο μακροπρόθεσμο αναβολισμό. Προς προώθηση του αναβολισμού, απαιτείται η κατανάλωση των ελεύθερων αμινοξέων να γίνεται μαζί με κάποια πηγή ενέργειας. Βέβαια, καθώς η σύνθεση των υποκατάστατων πρωτεΐνης ποικίλλει, πρέπει να λαμβάνεται υπόψη η πλήρης διατροφική σύνθεση του εκάστοτε υποκατάστατου, ενώ τα ειδικά, χαμηλά σε πρωτεΐνη τρόφιμα προσφέρουν

υψηλότερα ποσοστά υδατανθράκων και λιπών, δίνοντας την δυνατότητα μεγαλύτερης ποικιλίας [16], ενώ επιτρέπουν στους ασθενείς να ένα διατροφικό προφίλ που να προσομοιάζει, σε κάποιο βαθμό, τις κανονικές διατροφικές συνήθειες [17].

Ειδικότερα, στην κλασσική μορφή της φαινυλκετονουρίας, οι περισσότεροι ασθενείς ανέχονται λιγότερα από 10 γραμμάρια φυσικής πρωτεΐνης και λιγότερα από 20mg/kg/d φαινυλαλανίνης, με τις περισσότερες επιτρεπόμενες φυσικές πηγές να είναι φυτικές. Έτσι, οι υπόλοιπες πρωτεϊνικές απαιτήσεις πρέπει να καλυφθούν συνήθως από κάποιο υποκατάστατο πρωτεΐνης, που είναι είτε ελεύθερο είτε χαμηλό σε φαινυλαλανίνη και περιέχει και μέταλλα, βιταμίνες και απαραίτητα λιπαρά οξέα. Οι φαινότυποι δε, που δεν είναι όσο σοβαροί είναι η κλασσική μορφή, μπορεί να ανέχονται μεγαλύτερες ποσότητες φυσικής πρωτεΐνης, δηλαδή 20-50 mg/kg/d φαινυλαλανίνης, ενώ μπορεί να ανταποκρίνονται και σε άλλες θεραπείες, όπως η θεραπεία με τετραϋδροβιοπτερίνη, οι οποίες επιτρέπουν ο έλεγχος της φυσικής πρόσληψης πρωτεΐνης να είναι λιγότερο αυστηρός [4,19]. Δηλαδή, στους ασθενείς των οποίων η υπολειπόμενη δραστηριότητα της υδροξυλάσης της φαινυλαλανίνης είναι χαμηλή, απαιτώνται περισσότερα ιατρικά τρόφιμα και τα χαμηλά σε πρωτεΐνη τροποποιημένα τρόφιμα πρέπει να εισάγονται νωρίς, εν αντιθέσει με την ήπια ή μέτρια ανεπάρκεια της υδροξυλάσης, που απαιτούν λιγότερα τέτοια τρόφιμα [19].

Επιπλέον, επίπεδα φαινυλαλανίνης μεταξύ 60 και 120  $\mu\text{mol/l}$  δε θα πρέπει να θεωρούνται πολύ χαμηλά, ειδικά για τα άτομα που δεν ακολουθούν διατροφή με αυστηρούς περιορισμούς, ενώ η παρακολούθηση των ασθενών να είναι απαραίτητη ώστε να αποφευχθούν οι πιθανοί κίνδυνοι που ελλοχεύουν σε παρατεταμένα και χαμηλά, κάτω των 30  $\mu\text{mol/l}$ , επίπεδα φαινυλαλανίνης [11].

Αυτή η διατροφική διαχείριση της φαινυλκετονουρίας με τον περιορισμό της φαινυλαλανίνης που είναι όμως προσεγμένη ώστε να είναι και διατροφικά επαρκής, μπορεί να αποτρέψει τις περισσότερες μακροπρόθεσμες νευρολογικές και γνωστικές επιπλοκές της φαινυλκετονουρίας, να διατηρηθεί η διανοητική λειτουργία εντός φυσιολογικού εύρους [9] και η ανάπτυξη να επέλθει φυσιολογικά ή τουλάχιστον να υπολείπεται ελαφρώς αυτού που θεωρείται φυσιολογικό [5].

**Πίνακας 1.** Συνιστώμενες προσλήψεις φαινυλαλανίνης, τυροσίνης και πρωτεΐνης για άτομα με ανεπάρκεια της υδροξυλάσης της φαινυλαλανίνης.

Ηλικία	PHE (mg/day)	TYR (mg/day)	Protein (g/kg)
0 έως < 3 μηνών	130-430	1100-1300	3-3.5
3 με < 6 μηνών	135-400	1400-2100	3-3.5
6 με < 9 μηνών	145-370	2500-3000	2.5-3
9 με < 12 μηνών	135-330	2500-3000	2.5-3
1 με < 4 χρόνων	200-320	2800-3500	≥30
4 χρόνων με ενηλικίωση	200-1100	4000-6000	120-140% RDA για ηλικία
1 <sup>ο</sup> τρίμηνο εγκυμοσύνης	265-770	6000-7600	≥70
2 <sup>ο</sup> τρίμηνο εγκυμοσύνης	400-1650	6000-7600	≥70
3 <sup>ο</sup> τρίμηνο εγκυμοσύνης	700-2275	6000-7600	≥70
Θηλασμός	700-2275	6000-7600	≥70

Genetic Metabolic Dietitians International and Southeast Regional Newborn Screening and Genetics Collaborative  
PHE, φαινυλαλανίνη; TYR, τυροσίνη; Protein, πρωτεΐνη; RDA, συνιστώμενες διατητικές προσλήψεις

### 2.1.1. Διαχείριση Μητρικής Φαινυλκετονουρίας

Ο στόχος για τη φαινυλαλανίνη στο αίμα της μητέρας είναι τα 60 με 360  $\mu\text{mol/l}$ , με τις διεθνείς συστάσεις να κάνουν λόγο για διατήρησή της σε λιγότερα από 240  $\mu\text{mol/l}$ . Βέβαια, τα επίπεδά της κατά την κύηση δε θα πρέπει να είναι ούτε ιδιαίτερα χαμηλά, με τα 100  $\mu\text{mol/l}$  να θεωρούνται ακόμα ασφαλή, καθώς αυτό πιθανόν να σχετίζεται με υψηλό κίνδυνο για περιορισμένη ενδομήτρια ανάπτυξη (IUGR), ειδικά κατά τη διάρκεια του δεύτερου και τρίτου τριμήνου κύησης, ενώ αλλού ως εύρος στόχος της μητέρας για πριν και κατά την κύηση, αναφέρεται το 120-240  $\mu\text{mol/l}$  [11,19].

Γνωρίζουμε ότι το έμβρυο, η ανάπτυξη του οποίου χρήζει συνεχούς παρακολούθησης, έχει υψηλότερα επίπεδα φαινυλαλανίνης από τη μητέρα του, καθώς το αμινοξύ μεταφέρεται μέσω του πλακούντα και ότι ο έλεγχος των επιπέδων του θα πρέπει να ξεκινά πριν από την σύλληψη. Σε επίπεδα εκτός του θεραπευτικού εύρους, οι μητέρες χρήζουν έγκαιρης και εντατικής υποστήριξης, το οποίο μπορεί να σημαίνει και νοσηλεία τους, ενώ δεν ενδείκνυται όλα τα διαθέσιμα φάρμακα και συμπληρώματα διατροφής κατά την περίοδο της

εγκυμοσύνης, όπως είναι λόγου χάριν τα μεγάλα ουδέτερα αμινοξέα. Σε συγκεντρώσεις τις μητρικής φαινυλαλανίνης πάνω από τα 360  $\mu\text{mol/l}$  αυξάνεται ο κίνδυνος εμβρυικών αναπτυξιακών ανωμαλιών, αλλά και αν η θεραπεία δε ξεκινήσει πριν την εγκυμοσύνη, αν και επίτευξη επιπέδων κάτω των 600  $\mu\text{mol/l}$  πριν την 10<sup>η</sup> εβδομάδα κύησης, μπορεί να μειώσει τον κίνδυνο σε αποδεκτό επίπεδο [17].

Καθώς έχουμε αλλαγές στις ανάγκες της μητέρας σε φαινυλαλανίνη κατά την εγκυμοσύνη, απαραίτητες είναι οι συχνές δοκιμές και οι διατροφικές προσαρμογές, με αποφυγή φυσικά των υπερβολικών διατροφικών περιορισμών, αφού μια πρόσληψη πρωτεϊνών και θερμίδων που δεν είναι επαρκής, επιφέρει μια συνολικά χαμηλή πρόσληψη θρεπτικών συστατικών και μπορεί να συμβάλλει σε αυξημένα μητρικά επίπεδα φαινυλαλανίνης, με τη συχνότητα των συγγενών ανωμαλιών να αυξάνεται στις περιπτώσεις αυτές [11,19]. Επαρκής πρέπει να είναι η πρόσληψη και του λίπους, επομένως απαιτείται προσοχή ιδιαίτερα εάν δεν περιέχεται στην ιατρική τροφή που καταναλώνεται, αλλά και η αύξηση του βάρους, με τον έλεγχο των εμέτων να συμβάλλει στην πρόληψη απώλειάς του. Σε όλες τις εγκύους με ανεπάρκεια της υδροξυλάσης της φαινυλαλανίνης θα πρέπει να παρέχεται καθημερινά συμπλήρωμα DHA, 200 με 300 mg [19]. Ακόμα, απαραίτητη είναι η παρακολούθηση των βιταμινών και μετάλλων, καθώς η πρόσληψή τους που γίνεται μέσω των ιατρικών τροφίμων για τη θεραπεία της ανεπάρκειας της υδροξυλάσης της φαινυλαλανίνης, είναι πιθανό να παρέχει πολλή βιταμίνη A, γεγονός συσχετιζόμενο με γενετικές ανωμαλίες, ενώ από την άλλη, μειωμένη πρόσληψη της B12 σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο χρόνιων καρδιακών ανωμαλιών. Αξιοσημείωτο είναι ότι δεν υπάρχει συσχέτιση των μη φυσιολογικών επιπέδων τυροσίνης με ανεπιθύμητες βρεφικές εκβάσεις [11,19].

Κατά το δεύτερο μισό της εγκυμοσύνης, η επίτευξη επιπέδων φαινυλαλανίνης κάτω από τον ανώτερο στόχο συνήθως δεν αποτελεί πρόβλημα, ενώ η γρήγορη ανάπτυξη του πλακούντα και του εμβρύου στις 16 με 22 εβδομάδες οδηγούν σε αυξημένες πρωτεϊνικές ανάγκες, με την πρόσληψη της φαινυλαλανίνης να πρέπει να αυξηθεί πολύ ώστε να αποτραπεί η πτώση των συγκεντρώσεών της σε επίπεδα τόσο χαμηλά που να κινδυνεύει η ανάπτυξη του εμβρύου από υποφαινυλαλανιναιμία [17].

Κατά τα άλλα, συνιστάται κανονικά η κλασική προγεννητική φροντίδα, με τις αυξημένες τιμές της μητρικής φαινυλαλανίνης να μην επηρεάζουν τον κλασικό μητρικό προσυμπτωματικό έλεγχο ορού για άλλες καταστάσεις. Ωστόσο στις συστάσεις ανήκει ο πρώιμος έλεγχος με υπερήχους καθώς υπάρχουν φόβοι για μετέπειτα ύπαρξη επιβράδυνσης της ενδομήτριας ανάπτυξης και μικροκεφαλίας, ενώ το ηχοκαρδιογράφημα του εμβρύου θα πρέπει να πραγματοποιείται στις 18 με 22 εβδομάδες της κύησης [11].

Η χρήση της σαπροπερίνης για τη διαχείριση των επιπέδων μητρικής φαινυλαλανίνης σε γυναίκες που ανταποκρίνονται στην τετραϋδροβιοπερίνη, έχει οδηγήσει σε αυξημένη ανοχή για φαινυλαλανίνη και λιγότερες εμβρυικές ανωμαλίες. Δεν υπάρχει

όμως ένα πρόσφατο συνολικό μητρώο για τη συχνότητά τους κατά τη λήψη αυτής της θεραπείας [17].

Όσον αφορά για μετά τον τοκετό, και πάλι έχουμε αλλαγή των απαιτήσεων φαινυλαλανίνης της μητέρας, καθώς μειώνονται, με τις ανάλογες διατροφικές προσαρμογές και την παρακολούθηση να συνεχίζονται, ενώ δεν υπάρχουν αντενδείξεις ως προς το θηλασμό, οι αυξημένες θερμιδικές (640 kcal/d) και πρωτεϊνικές (25g/d) ανάγκες του οποίου μπορούν να καλυφθούν με τη χρήση των ιατρικών τροφίμων [11].

### 2.1.2. Έναρξη διατροφικής θεραπείας

Η πρώτη αναφορά της αποτελεσματικότητας μιας διατροφής χαμηλής σε φαινυλαλανίνη για τα παιδιά με φαινυλκετονουρία, έγινε το 1953 από τον Bickel [15]. Στις αναπτυγμένες χώρες, η διαχείρισή της συνίσταται να ξεκινά αμέσως μετά τη διάγνωση, το οποίο συνήθως σημαίνει λίγο μετά τη γέννηση, καθώς ο έλεγχος για φαινυλκετονουρία είναι πλέον μέρος προγραμμάτων ελέγχου στα νεογέννητα και να ακολουθείται καθ' όλη τη διάρκεια της ζωής [5,9]. Οι επισκέψεις των νεοδιαγνωσθέντων βρεφών στις κλινικές θα πρέπει να είναι συχνές μέχρι να σταθεροποιηθούν τα επίπεδα φαινυλαλανίνης και ακολούθως να παρακολουθούνται σε εβδομαδιαία βάση, μέχρι τη ηλικία του ενός έτους [11].

Έτσι, επίπεδα φαινυλαλανίνης αίματος πάνω από 300μmol/l στο βρεφικό αίμα χρήζουν θεραπείας, με πολλά κέντρα της βόρειας Αμερικής να κάνουν έναρξη θεραπείας στα 600μmol/l, καθώς σε αυτό υπάρχει ομοφωνία για λήψη θεραπείας. Βέβαια, το εύρος 360 με 600 μmol/l απαιτεί περισσότερη έρευνα σχετικά με την έναρξη της θεραπείας ή όχι, καθώς υπάρχουν μελέτες των οποίων τα αποτελέσματα για την κλινική έκβαση των ασθενών άνευ θεραπείας έδειχναν φυσιολογικά και άλλες που παρουσίαζαν ανεπαισθητα νευρογνωστικά ελλείμματα [11,15].

Βέβαια, σε συνεννόηση με τους γονείς, συνιστάται θεραπεία των βρεφών με παρατεταμένα επίπεδα φαινυλαλανίνης πάνω από 360μmol/l καθώς οι πιθανοί νευρογνωστικοί κίνδυνοι ελλοχεύουν, ενώ δε συνιστάται στα επίπεδα 120 έως 360 μmol/l, με την παρακολούθησή τους όμως να είναι αναγκαία, για τα πρώτα δυο χρόνια τουλάχιστον αλλά και μετέπειτα ανά χρόνο ή διαιτία, ώστε να διασφαλιστεί ότι τα επίπεδα δε θα αυξηθούν με την πρόσληψη πρωτεΐνης [11].

Μια πηγή αναφέρει πως δύο αποτελέσματα προέκυψαν από την εμπειρία με τον διαιτητικό περιορισμό της φαινυλαλανίνης: ότι καταρχάς υπάρχει σημαντική βελτίωση στο συμπεριφορικό αποτέλεσμα και όχι τόσο στο νοητικό στα άτομα που ξεκίνησαν θεραπεία αφού είχε ήδη επέλθει βλάβη και ότι υπάρχει τεράστια βελτίωση όταν η θεραπεία ξεκινήσει πριν από την έναρξη της βλάβης [17].

### 2.1.3. Θηλασμός και απογαλακτισμός

Πιο παλιά ο θηλασμός θεωρούνταν αδύνατος εξαιτίας του κινδύνου μη ελεγχόμενων συγκεντρώσεων φαινυλαλανίνης, αφού δεν ήταν γνωστή η ποσότητα πρωτεΐνης και η ποσότητα του μητρικού γάλακτος που κατανάλωνε ένα βρέφος. Αργότερα ο φόβος αυτός αποδείχτηκε περιττός.

Έτσι, η μία μέθοδος χορήγησης μητρικού γάλακτος είναι με τη χρήση μπιμπερό, για να είναι γνωστός ο όγκος του, και η άλλη να δίνεται πρώτα στο βρέφος ένα μείγμα αμινοξέων, η ποσότητα του οποίου βασίζεται στην συγκέντρωση στόχο για τη φαινυλαλανίνη και μετά να επιτρέπεται ο θηλασμός [17]. Στις περιπτώσεις λοιπόν θηλασμού, ο οποίος μπορεί να υπάρξει αφού τα βρέφη που δεν έχουν ανεπάρκεια της υδροξυλάσης της φαινυλαλανίνης μπορούν να μεταβολίσουν τα ελαφρώς αυξημένα επίπεδα της φαινυλαλανίνης του μητρικού γάλακτος, γίνεται συνδυασμός με βρεφική φόρμουλα που δεν περιέχει φαινυλαλανίνη, η οποία δίνεται πριν από κάθε θηλασμό [16,19].

Αναλυτικότερα, ο όγκος της φόρμουλας (η οποία περιέχει και αραχοδοονικό οξύ) είναι μετρημένος, ενώ η ποσότητά του τιτλοδοτείται ανάλογα με τα επίπεδα της φαινυλαλανίνης στο αίμα. Δηλαδή, εάν τα επίπεδα του αμινοξέος στο αίμα του βρέφους είναι υψηλά, του χορηγείται περισσότερη φόρμουλα χωρίς φαινυλαλανίνη, ενώ εάν είναι χαμηλά ο όγκος της φόρμουλας μειώνεται. Στις περιπτώσεις που δεν μπορεί να υπάρξει θηλασμός, η φόρμουλα αντικαθιστά το θηλασμό ώστε να παρέχονται οι βασικές απαιτήσεις σε φαινυλαλανίνη. Δηλαδή, η ποσότητα της φαινυλαλανίνης που παρέχεται είναι ελεγχόμενη ώστε και να διατηρείται εντός των ορίων στο αίμα, αλλά και να αποφευχθεί ανεπάρκεία της που θα σήμαινε κακή ανάπτυξη και δυσμενείς επιπτώσεις [11,16,17,19]. Πάντως το μίγμα αμινοξέων μαζί με το εκάστοτε γάλα (είτε μητρικό, είτε φόρμουλα)καλύπτουν το 90-100% των πρωτεϊνικών και το 80% των ενεργειακών αναγκών των βρεφών, με το γάλα να καλύπτει τις ανάγκες τους σε φαινυλαλανίνη στο 100% μέχρι την ηλικία των πέντε με έξι μηνών [12], ενώ κοινή είναι η άποψη ότι το μητρικό γάλα, είτε δίνεται μέσω θηλασμού, είτε με μπιμπερό, οδηγεί σε καλό μεταβολικό έλεγχο [19].

Η πρακτική εναλλασσόμενων τροφών, μητρικό γάλα δηλαδή και συμπλήρωμα αμινοξέων, έχει φανεί ασφαλής και πρακτική, με τον ημερήσιο αριθμό θηλασμών να εξαρτάται από την συγκέντρωση της φαινυλαλανίνης. Η περιεκτικότητα του μητρικού γάλακτος σε φαινυλαλανίνη ποικίλλει ανάλογα την ηλικία της μητέρας μετά τον τοκετό και φυσικά σε εκείνες με φαινυλκετονουρία, την τήρηση του διατροφικού ελέγχου. Ένα μωρό με ή χωρίς φαινυλκετονουρία, μπορεί να θηλάσει τη μητέρα του με φαινυλκετονουρία, εφόσον παρακολουθούνται οι συγκεντρώσεις φαινυλαλανίνης. Όσον αφορά στην τετραϋδροβιοπτερίνη που υπάρχει στο μητρικό γάλα του ανθρώπου, αν και δεν έχει μελετηθεί πολύ, από μία μελέτη φάνηκε ότι τα επίπεδά της είναι αρκετά υψηλά, ακόμα και σε υγιείς



μητέρες που δε λάμβαναν θεραπεία με σαπροπτερίνη [17].

Να σημειωθεί ότι η πρώτη περίοδος μετά τη διάγνωση, κατά την οποία η επιτρεπτή ποσότητα φαινυλαλανίνης χωρία να υπερβαίνει τα 360  $\mu\text{mol/l}$ , τις συγκεντρώσεις στόχου δηλαδή, μπορεί να είναι πολύ πιο υψηλή απ' ό τι σε μεταγενέστερο χρόνο και ονομάζεται μήνας του μέλιτος, ενώ μπορεί να διαρκέσει για εβδομάδες[17].

Όσον αφορά στον απογαλακτισμό, θα πρέπει να γίνει όπως και για τα άλλα βρέφη, εξαλείφοντας βέβαια τις τροφές που έχουν υψηλή περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη και παρέχοντας μόνο τις βασικές απαιτήσεις σε φαινυλαλανίνη [16]. Η χαμηλή ποσότητα φυσικής πρωτεΐνης στα βρέφη με φαινυλκετονουρία, δεν αφήνει περιθώρια για πλούσιες σε φυσική πρωτεΐνη τροφές [17]. Στους 12 μήνες περίπου έχουμε σταδιακή αφαίρεση του γάλακτος, είτε μητρικό, είτε φόρμουλας και γίνεται ανταλλαγή του με ισάξιες ποσοτικά σε φαινυλαλανίνη άθικτες πρωτεΐνες [19]. Συνήθως μετά την ηλικία των τριών χρόνων το γάλα αποκλείεται από την καθημερινή διατροφή, ειδικά σε παιδιά με πολύ μικρή ανοχή στη φαινυλαλανίνη [12].

#### **2.1.4. Δυσκολίες διατροφικής προσέγγισης και συνέπειες μη τήρησής της.**

Η διατροφική θεραπεία της φαινυλκετονουρίας, που συνήθως χρειάζεται ένα διάστημα 4 με 6 μηνών για να εκπαιδευτεί ο ασθενής [5], έχει βρεθεί ότι είναι δύσκολη στην εφαρμογή, τόσο για τους ασθενείς, ειδικά μετά την παιδική ηλικία και κατά τη διάρκεια της εφηβείας και της ενηλικίωσης, όσο και για τους φροντιστές [3,4,13], ενώ περίπου 12-28% των παιδιών κάτω των τεσσάρων χρόνων έχουν επίπεδα φαινυλαλανίνης αίματος πάνω από το όριο που συνιστούν οι κατευθυντήριες οδηγίες [9].

Παλαιότερες οδηγίες επέτρεπαν στα άτομα να σταματήσουν τη θεραπεία με την ενηλικίωσή τους, γεγονός που επέφερε δυσκολίες στην τελικά εφόρου ζωής αναγκαία προσήλωση στη θεραπεία, καθώς είχαν συνηθίσει να καταναλώνουν τροφές υψηλότερες σε πρωτεΐνη καθώς η επαφή με την θεραπευτική κλινική έχει χαθεί, δε γνωρίζουν την αναγκαιότητα της δια βίου θεραπείας [11,16]. Η πολιτική για μια διατροφή εφόρου ζωής σε ασθενείς με φαινυλκετονουρία, άρχισε να διαμορφώνεται περίπου τη δεκαετία του 90 [12], ενώ αξιοσημείωτο είναι ότι ασθενείς που λάμβαναν θεραπεία από τις πρώτες κιόλας εβδομάδες ζωής και είχαν καλό μεταβολικό έλεγχο, που όμως τον έχασαν στη μετέπειτα παιδική ή ενήλικη ζωή τους, καθώς επιτρεπόταν η απελευθέρωση ή η χαλάρωση από την αυστηρή διαίτα και τον έλεγχο, είναι πιθανό να έχουν νευρογνωστικές και ψυχιατρικές συνέπειες, που είναι αναστρέψιμες ή μη και περιλαμβάνουν ελλείμματα στην εκτελεστική λειτουργία, άγχος, φοβίες, κατάθλιψη κ.ά. με αποτέλεσμα ένα συνολικά χαμηλότερο

μορφωτικό και κοινωνικοοικονομικό επίπεδο. Επιπρόσθετα, τα συμπτώματα αυτά καθιστούν δύσκολο στον ασθενή να επιστρέψει στον καλό μεταβολικό έλεγχο. Τα άτομα αυτά, μπορεί να έχουν ανεπαρκή κατανόηση της φύσης της διαταραχής τους, να μη γνωρίζουν τις εξελίξεις της διατροφικής αλλά και φαρμακευτικής θεραπείας και να παρουσιάζουν ελλείμματα, αγνοώντας όμως ότι αυτά σχετίζονται με την ανεπάρκεια της υδροξυλάσης της φαινυλαλανίνης [11]. Κλινικά προβλήματα όπως σπαστικότητα των κάτω άκρων, παραεγκεφαλική αταξία, τρόμος και εγκεφαλοπάθεια μπορεί να εμφανιστούν και σε ανεπαρκή θεραπεία για μεγάλο διάστημα, όπως και σε παρατεταμένη μη συμμόρφωση με τη θεραπεία κατά την ενήλικη ζωή [17]. Να σημειωθεί ότι η προσκόλληση στη θεραπεία ίσως είναι υψηλότερη στις γυναίκες λόγω του φόβου για το σύνδρομο φαινυλκετονουρίας της μητέρας [16] και ότι η πρακτική χαλάρωσης του ελέγχου της φαινυλαλανίνης ή απελευθέρωσης από τη διατροφή που είναι χαμηλή σε αυτή, που ιστορικά είχε επιτραπεί, δεν είναι πια αποδεκτή, με τις κλινικές να έχουν σύσταση να καταβάλουν κάθε δυνατή προσπάθεια επικοινωνίας με τους ασθενείς που ακολουθούν την παλαιότερη πρακτική, ώστε να τους ενθαρρύνουν για επιστροφή στη θεραπεία [11].

Ενώ ο διατροφικός περιορισμός της φαινυλαλανίνης έχει αποδειχθεί αποτελεσματικός, δεν εκπληρώνει βέλτιστα πάντα κάθε στόχο της θεραπείας. Παράδειγμα αυτού αποτελεί η συχνότητα της διαταραχής ελλειμματικής προσοχής και ειδικών μαθησιακών δυσκολιών παιδιών με φαινυλκετονουρία, που πιθανών σχετίζονται με ελλείψεις στις εκτελεστικές τους λειτουργίες, η οποία μπορεί να παραμένει υψηλή ενώ θεραπευτικά αντιμετωπίζονται καλά, σε σχέση με τη συχνότητά τους σε παιδιά που δεν έχουν φαινυλκετονουρία [17].

Πρόκληση αποτελούν και οι άνθρωποι με ανεπάρκεια της υδροξυλάσης της φαινυλαλανίνης των οποίων η θεραπεία καθυστέρησε να ξεκινήσει και έχουν ήδη σοβαρή γνωστική καθυστέρηση, καθώς αν και μέσω της διαιτητικής θεραπείας θα μειωθούν τα επίπεδα του αμινοξέος στο αίμα, οι ενδείξεις για βελτίωση είναι πολύ μικρές. Οι αλλαγές στη διατροφή τους θα πρέπει να είναι σταδιακές και συνιστάται η παρακολούθηση από φροντιστές ή από κάποιο οικογενειακό πρόσωπο, να είναι προσεκτική [11]. Σε άτομα που η φαινυλκετονουρία εμφανίστηκε για πρώτη φορά κατά την ενήλικη ζωή τους, έχει αναφερθεί και η εμφάνιση άνοιας, με ότι αυτό συνεπάγεται, αλλά και εγκεφαλοπάθεια μετά από μακροχρόνιο κακό μεταβολικό έλεγχο, η οποία όμως ανταποκρίνεται στην αυστηρή διαιτητική θεραπεία. Σε κακή προσήλωση στη θεραπεία κατά την ενηλικίωση έχουν αναφερθεί επιπλέον οπτικές ανωμαλίες, οι οποίες μπορεί να εξαφανιστούν με την εκ νέου έναρξη αυστηρής διαιτητικής θεραπείας, τα δεδομένα αυτά φαίνεται να συνάδουν και με τα πιο λεπτά οπτικά ελλείμματα που παρατηρούνται σε παιδιά που δεν επιτυγχάνουν καλό μεταβολικό έλεγχο, όπως και με τη φλοιώδη τύφλωση που εμφανίζεται σε αθεράπευτους ενήλικες [17].

Ακόμη, καθώς η πρόσληψη φαινυλαλανίνης προέρχεται επίσης από τροφές όπως η πατάτα, το καλαμπόκι, το σπανάκι, αναγκαίος είναι ένας κατάλογος ανταλλαγής των πρωτεϊνικών τροφίμων, ώστε να μπορεί να υπολογιστεί η περιεκτικότητα φαινυλαλανίνης της διατροφής. Σε πολλές χώρες ο κατάλογος αυτός παρέχεται από διαιτολόγους, η ανάγκη όμως για επικυρωμένα εργαλεία για την περιγραφή των τροφίμων και της διατροφικής πρόσληψης στη φαινυλκετονουρία, είναι επιτακτική. Αξιοσημείωτο είναι ότι σε μικρά παιδιά με φαινυλκετονουρία εμφανίζεται συχνά τροφική νεοφοβία, ενώ πρέπει να γίνει κατανοητό εάν υπάρχει συσχέτιση μεταξύ χαμηλής πρόσληψης φρούτων και λαχανικών και της μετέπειτα ανάπτυξης υπέρβαρων ατόμων με φαινυλκετονουρία [16].

Επιπλέον, είναι γνωστό ότι το μοτίβο διατροφής των ασθενών που κυριαρχεί, είναι το πλούσιο σε υδατάνθρακες και δη ζάχαρης, χωρίς συνήθως να υπάρχει η αναγκαία ποικιλία από όλες τις ομάδες τροφίμων, ενώ από τα φυσικά τρόφιμα που συνήθως επιτρέπονται στη φαινυλκετονουρία, είναι δύσκολο να καλυφθούν όλες οι ανάγκες σε θρεπτικά συστατικά [16]. Επιπλέον υπάρχουν αναφορές και για ανεπάρκεια στη φαινυλαλανίνη, τα συμπτώματα της οποίας περιλαμβάνουν ατονία, ανορεξία, κακή ανάπτυξη, αλωπεκία κ.α. [15].

Η παρακολούθηση των επιπέδων φαινυλαλανίνης στο αίμα των παιδιών μετά την ηλικία του πρώτου έτους πρέπει να είναι συχνή, ειδικά στις περιόδους που η ανάπτυξη είναι ταχεία και λόγω αυτού οι απαιτήσεις σε φαινυλαλανίνη μπορεί να εμφανίζουν μεγάλη ποικιλομορφία [11,17], αλλά και κατά τη μετάβαση στη δίαιτα, λόγω χάριν κατά την εισαγωγή των τροφίμων, ενώ όσον αφορά στα παιδιά έως δώδεκα ετών, επαρκής είναι η δειγματοληψία κάθε δύο εβδομάδες. Από κει και πέρα, εάν υπάρχει καλός έλεγχος και σταθερότητα, τότε ίσως να είναι επαρκής η εξέταση κάθε μήνα [11]. Άλλη πηγή της βιβλιογραφίας αναφέρει ότι συνιστάται η παρακολούθηση της φαινυλαλανίνης σε εβδομαδιαία με μηνιαία βάση για τις ηλικίες 1 έως 18 χρόνων, μηνιαία για τους ενήλικες, δυο φορές την εβδομάδα με εβδομαδιαία κατά την εγκυμοσύνη και εβδομαδιαία με μηνιαία κατά το θηλασμό. Δηλαδή σε περιόδους κατά τις οποίες ο αναβολισμός είναι αυξημένος, απαιτείται πιο συχνή παρακολούθηση. Ακόμη, συνιστάται η μέτρηση της φαινυλαλανίνης να πραγματοποιείται σταθερή ώρα της ημέρας, κατά προτίμηση δύο τρεις ώρες μετά την κατανάλωση του φαγητού [19].

Δυσκολίες στον έλεγχο της φαινυλαλανίνης επιφέρουν ακόμα οι παιδικές ασθένειες, ειδικά ο πυρετός αλλά και οι κολικοί και οι γαστρεντερικές διαταραχές, ενώ δύσκολη συνήθως είναι και η περίοδος που φύονται τα δόντια [16,17]. Οι περίοδοι αυτοί απαιτούν ενέργεια από τον καταβολισμό των πρωτεϊνών και τη γλυκονεογένεση, όμως καθώς η φαινυλαλανίνη δεν μπορεί να διασπαστεί, θα αυξηθεί η συγκέντρωσή της στην κυκλοφορία[17].

Η συμμόρφωση με τα υποκατάστατα πρωτεΐνης συνήθως δεν είναι καλή και σε αυτό συνηγορεί η υποβέλτιστη γεύση τους [16], ενώ επιπρόσθετα τα τροποποιημένα τρόφιμα που

είναι αναγκαία, είναι πιο δαπανηρά σε σχέση με τα αντίστοιχα μη τροποποιημένα, το κόστος των οποίων βαραίνει συχνά τον ασθενή [11]. Σε μη τήρηση των συνταγογραφούμενων ιατρικών τροφίμων, μπορεί να έχουμε και ανεπάρκεια στην τυροσίνη, η οποία εκτός από αυτό, λόγω της χαμηλής διαλυτότητάς της, μπορεί να καθιζάνει κατά την αποθήκευση αυτών των τροφίμων [19]. Επιπλέον, συχνή ανησυχία αποτελεί εάν η ποσότητα των βιταμινών, μετάλλων και απαραίτητων λιπαρών οξέων που προσλαμβάνουν οι ασθενείς μέσω αυτών, είναι η αναγκαία [11] αλλά και εάν έχουμε καλή απορρόφηση των θρεπτικών συστατικών που λαμβάνονται μέσω αυτών [19]. Αναλυτικότερα, εάν η διατροφική πρόσληψη δεν είναι η συνιστώμενη ή εξαρτάται υπερβολικά από διατροφικά ελλείψεις ιατρικά τρόφιμα, χρειάζεται πλήρης αιματολογικός έλεγχος, ενώ θα πρέπει να ελέγχουν τα αμινοξέα πλάσματος, τη τρανσθυρετίνη, τη λευκοματίνη, τη φερριτίνη, τις βιταμίνες D, A, το φολικό οξύ, τα απαραίτητα λιπαρά οξέα και ιχνοστοιχεία όπως ο χαλκός, ο ψευδάργυρος και το σελήνιο αλλά και την πρόσληψη του ασβεστίου [11], καθώς ο κίνδυνος πολλαπλών ελλείψεων είναι αυξημένος [19]. Στην αντίπερα όχθη, υπάρχουν δεδομένα που υποδηλώνουν πως κάποια υποκατάστατα είναι "φορτωμένα" με κάποια συστατικά, όπως το φολικό οξύ, υψηλές συγκεντρώσεις του οποίου στον ορό προκαλούν ανησυχία, ενώ υπερβολική κατανάλωση των ειδικών χαμηλών σε πρωτεΐνη τροφίμων σχετίζεται με αυξημένη ενεργειακή πρόσληψη, που υστερεί όμως σε θρεπτικά συστατικά. Απαιτείται επομένως καλή γνώση της σύνθεσής τους. Υπάρχουν δηλαδή διατροφικές ανισορροπίες. Επιπλέον, όσον αφορά στα υποκατάστατα πρωτεΐνης και τη χρήση τους στα παιδιά και τους εφήβους, καθώς προάγουν τον κορεσμό λόγω του αζώτου, είναι πιθανό να οδηγήσουν σε άρνηση της τροφής, γεγονός που θα ήταν ίσως θεμιτό σε κίνδυνο ή εγκατεστημένο υπερβάλλον βάρος και παχυσαρκία, άλλα αποτελεί πιθανό κίνδυνο εάν υπάρχει απειλή υποσιτισμού [16].

Συγκεντρωτικά, είναι αναγκαία λοιπόν η διατροφή χαμηλή σε φαινυλαλανίνη με περιορισμό της φυσικής πρωτεΐνης και χρήση συμπληρωμάτων αμινοξέων χωρίς φαινυλαλανίνη εφόρου ζωής, με συχνή τροποποίηση της διαίτας ώστε να ανταποκρίνεται στο εκάστοτε στάδιο ζωής, η συχνή παρακολούθηση των ατόμων και ο αυστηρός έλεγχος της σύνθεσης των τροφίμων, η αποφυγή διακυμάνσεων των τιμών της φαινυλαλανίνης στο αίμα αλλά και η χρήση ειδικών φαρμακευτικών προϊόντων, η πρόληψη των διαφόρων διατροφικών ελλείψεων, που είναι απόρροια της αυστηρής, συνήθως διατροφικής διαχείρισης των ανθρώπων αυτών αλλά και η πρόσβαση σε εξειδικευμένη φροντίδα, η διατροφική τους εκπαίδευση και η διδασχία από τη νεαρή ηλικία, η ανοιχτή επικοινωνία ανάμεσα στην οικογένεια και στον πάροχο φροντίδας, καθώς και η στάθμιση του ψυχολογικού τους παράγοντα, που είναι επίσης υψίστης σημασίας [4,6,9,11,12,16,17].

### 2.1.5. Παρακολούθηση διατροφικής φαινυλαλανίνης

Η μέθοδος που φαίνεται να έχει την καλύτερη ακρίβεια στην παρακολούθηση των προσλαμβανόμενων ποσοτήτων φαινυλαλανίνης, φαίνεται να είναι η μέτρηση των mg (χιλιοστόγραμμα) φαινυλαλανίνης που περιέχει ένα είδος διατροφής, η οποία βέβαια προϋποθέτει να υπάρχουν και να είναι διαθέσιμα τα δεδομένα περιεκτικότητάς της σε αυτό.

Υπάρχει το σύστημα ανταλλαγής που βολεύει κάποιους ανθρώπους, κατά το οποίο 1 ανταλλαγή ισούται με 15 γραμμάρια φαινυλαλανίνης, ενώ άλλοι, που συνήθως ανέχονται περισσότερη φαινυλαλανίνη, μετρούν γραμμάρια πρωτεΐνης και επομένως μπορούν να χρησιμοποιούν σαν οδηγό τις ετικέτες τροφίμων. Κατά άλλους, επιτρέπεται ελεύθερα η κατανάλωση λαχανικών, φρούτων και τροφίμων που έχουν χαμηλή περιεκτικότητα σε φαινυλαλανίνη [19].

### 2.1.6. Θρεπτικά συστατικά και Δείκτες διατροφικής κατάστασης

Καθώς έχει πλέον αναγνωριστεί η αξία της διατροφικής θεραπείας και κατάστασης των ασθενών με φαινυλκετονουρία και θεωρείται από τα σημαντικότερα μέρη της κλινικής διαχείρισης, η παρακολούθησή της κρίνεται αναγκαία [16].

Καθώς η πρωτεϊνική πρόσληψη αποκτά μεγάλη σημασία για τα άτομα με ανεπάρκεια της υδροξυλάσης της φαινυλαλανίνης, κυρίως επειδή προσλαμβάνεται κατά κόρον από τα ιατρικά τρόφιμα, είναι σημαντικό να ελέγχεται η επάρκειά της. Αυτό γίνεται μέσω βιοχημικής παρακολούθησης και μέτρησης της προλευκωματινής πλάσματος (τρανσθυρετίνη), καθώς είναι πιο ευαίσθητη σε αλλαγές της πρωτεϊνικής κατάστασης, συγκεντρώσεις της οποίας σε λιγότερα από 20 mg/dl υποδηλώνουν μια ήπια ανεπάρκεια της πρωτεΐνης, που όμως συσχετίζεται με μειωμένη γραμμική ανάπτυξη [16,19,20].

Πρόβλημα στην τυροσίνη, καθώς και με τα άλλα θρεπτικά συστατικά που ακολουθούν, όπως προαναφέρθηκε θα εμφανιστεί εάν δεν υπάρχει συμμόρφωση στα ιατρικά και συμπληρωματικά τρόφιμα που πρέπει να λαμβάνει ένας ασθενής με ανεπάρκεια της υδροξυλάσης της φαινυλαλανίνης και στη διατροφή που πρέπει να ακολουθεί. Έτσι εάν οι συγκεντρώσεις της είναι σε σταθερά χαμηλότερα επίπεδα έναντι του φυσιολογικού, εκτός των ιατρικών τροφίμων, ίσως να χρειαστεί και λήψη συμπληρωμάτων [19].

Το ίδιο ισχύει και για τα απαραίτητα λιπαρά οξέα, ειδικά εάν λαμβάνονται ιατρικά τρόφιμα χωρίς λιπαρά και ανεπαρκείς διατροφικές πηγές τους, καθώς και για τα μέταλλα όπως ο ψευδάργυρος, το σελήνιο, ο χαλκός, το μαγγάνιο και ο σίδηρος, για τα οποία έχουν αναφερθεί ανεπάρκειες [16,19].

Προσοχή χρειάζεται και για τις βιταμίνες B12, B6, A και D. Μάλιστα τα ελλείμματα

της B12 που είναι νευρολογικά, θα μπορούσαν λανθασμένα να αποδοθούν στα επίπεδα της φαινυλαλανίνης, ενώ έχει αναφερθεί και οστεοπενία που μάλλον σχετίζεται με τη συνολική διατροφική διαχείριση του ατόμου και όχι μόνο με τις συγκεντρώσεις της βιταμίνης D και η οστική πυκνότητα θα πρέπει να μετράται με τις ακτίνες X διπλής ενέργειας (DXA) [19].

Συνολικά, η διατροφική κατάσταση παρακολουθείται μέσω των δεικτών της που είναι η ανθρωπομετρία (ύψος, βάρος), η σύσταση του σώματος, η βιοχημεία και η διατροφική πρόσληψη [16].

### 2.1.7. Διατροφική διαχείριση και IQ score.

Όπως αναφέρθηκε, η σχέση των επιπέδων φαινυλαλανίνης και του πηλίκου νοημοσύνης φαίνεται πως είναι αντίστροφη, και η βαθμολογία του χρησιμοποιείται και αυτή για να αξιολογηθεί εάν το άτομο ανταποκρίνεται στη θεραπεία και εάν υπάρχει γνωστική του ανάπτυξη [11].

Αξιοσημείωτο είναι όμως ότι, η βαθμολογία του IQ στην ανεπάρκεια της υδροξυλάσης της φαινυλαλανίνης, σχετίζεται κατά κύριο λόγο με την ηλικία που έχει ο ασθενής όταν γίνεται η έναρξη ή η διακοπή της διατροφής, με τα δεδομένα να δείχνουν ότι σε χαλάρωση της διατροφικής διαχείρισης του ασθενούς, επέρχεται και μείωση στα σκορ του πηλίκου νοημοσύνης [11]. Μάλιστα σύμφωνα με τον Smith και την ομάδα του, φάνηκε τη δεκαετία του 90 ότι κάθε καθυστέρηση της θεραπείας για 4 εβδομάδες, είχε σαν συνέπεια να μειώνεται ο δείκτης νοημοσύνης κατά 4 μονάδες περίπου, ενώ σπάνια παρατηρείται βελτίωσή του εάν η θεραπεία ξεκινήσει μετά από τα επτά χρόνια ζωής [15]. Ακόμα, χαμηλός, κάτω των 85 μονάδων δείκτης νοημοσύνης της μητέρας, έχει συσχετιστεί με την επίτευξη του ελέγχου της φαινυλαλανίνης της εγκυμοσύνης της να επέρχεται αργότερα, έχοντας σα συνέπεια φτωχά αποτελέσματα για το έμβρυο, με το αξιοσημείωτο όμως να είναι ότι όταν επιτευχθεί ο βέλτιστος μητρικός έλεγχος του εν λόγω αμινοξέος, επέρχεται και βελτίωση των εμβρυικών αποτελεσμάτων, ανεξάρτητα από το IQ της [11].

Βέβαια, και με τη συνεχή θεραπεία, η βαθμολογία του IQ φτάνει μέχρι το μέσο εύρος, με τα δεδομένα σε παιδιά με ανεπάρκεια της υδροξυλάσης της φαινυλαλανίνης να υποδηλώνουν σκορ IQ χαμηλότερα κατά 6 με 9 μονάδες εν συγκρίσει με τα αδέρφια και τους γονείς τους [11].

## 2.2. Γενετική συμβουλευτική

Είναι μια διαδικασία που θα πρέπει να γίνεται σε όλη τη ζωή των ατόμων με ανεπάρκεια της υδροξυλάσης της φαινυλαλανίνης και των οικογενειών τους, αφού ενημερώνει για τον υπολειπόμενο κίνδυνο που διατρέχουν και αφορά στον έλεγχο για φορείς και στον προγεννητικό έλεγχο.

Αναλυτικότερα, καθώς η κληρονόμηση της ανεπάρκειας είναι υπολειπόμενη και αφορά δύο μεταλλάξεις στο γονίδιο της υδροξυλάσης της φαινυλαλανίνης, μία από κάθε γονέα, η αναγνώριση φορέων για ανεπάρκεια της συγκεκριμένης υδροξυλάσης (δοκιμή φορέα), οδηγεί σε έλεγχο για την συγκεκριμένη μετάλλαξη, γεγονός που δίνει τη δυνατότητα στους κοντινούς συγγενείς να αποκτούν μια ξεκάθαρη εικόνα για το εάν ο κίνδυνος να είναι φορείς είναι αυξημένος. Εάν είναι γνωστός ο γονότυπος που προσβεβλημένου μέλους, η αναγνώριση φορέα είναι πιο ακριβής, με τον στοχευμένο όμως έλεγχο να μην ανιχνεύει άλλες μεταλλάξεις της υδροξυλάσης της φαινυλαλανίνης.

Ο προγεννητικός έλεγχος για ανεπάρκεια της υδροξυλάσης της φαινυλαλανίνης, θα πρέπει να γίνεται σε μητέρες που έχουν ήδη αποκτήσει παιδί με χαρακτηριστικά του συνδρόμου μητρικής φαινυλκετονουρίας, σε γυναίκες που προέρχονται από χώρες στις οποίες δεν πραγματοποιείται νεογνικός προσυμπτωματικός έλεγχος ή που έχουν γεννηθεί πριν η έναρξή του να γίνει καθολική στη χώρα τους και σε εκείνες που έχουν νοητική υστέρηση η οποία δεν μπορεί να εξηγηθεί. Η προγεννητική διάγνωση της ανεπάρκειας, γίνεται με μεθόδους που βασίζονται στο DNA [11].

## 2.3. Φαρμακευτική θεραπεία

Πλέον, σε κάποιες υποομάδες ασθενών, πέραν της τυπικής θεραπείας, δηλαδή του διατροφικού περιορισμού του αμινοξέος, συνταγογραφούνται και άλλες εναλλακτικές ή συμπληρωματικές θεραπείες [4]. Σε αυτές περιλαμβάνονται η διυδροχλωρική σαπροπτερίνη, το γλυκομακροπεπτίδιο (GMP), τα μεγάλα ουδέτερα αμινοξέα (LNAA) και η αμμωνιακή λύση της φαινυλαλανίνης [16]. Να σημειωθεί ότι τα τροποποιημένα, χαμηλά σε πρωτεΐνη τρόφιμα και τα ροφήματα χωρίς φαινυλαλανίνη αλλά με μείγμα αμινοξέων που αναφέρθηκαν και πιο πάνω, πρέπει να θεωρούνται φάρμακα αφού είναι ιατρικά απαραίτητα για τους ανθρώπους αυτούς, καθώς μπορεί να επηρεάσουν τη διατροφική κατάσταση του ατόμου, χρήζουν επομένως παρακολούθησης [11].

### 2.3.1. Ιατρικά τρόφιμα

Τα ειδικά χαμηλά σε πρωτεΐνη τρόφιμα ρυθμίζονται από την ευρωπαϊκή νομοθεσία “Τρόφιμα για Ειδικούς Ιατρικούς Σκοπούς” από την οποία ορίζονται και κανόνες για την σύνθεσή τους και για την επισήμανση ότι αποτελούν ειδικά τρόφιμα με επεξεργασία που προορίζονται για τη διαχείριση ιατρικών καταστάσεων, υπό ιατρική επίβλεψη. Επιπλέον, πρέπει να παρέχονται πληροφορίες για την ενεργειακή τους αξία και κύρια θρεπτικά συστατικά τους, με τις βιταμίνες και τα μέταλλα όμως να πρέπει να δηλωθούν μόνο εάν περιέχονται σε σημαντικές ποσότητες. Αξιοσημείωτο επίσης είναι το γεγονός ότι η διαθεσιμότητά τους στις ευρωπαϊκές χώρες δεν είναι ομοιόμορφη [21].

Όπως προαναφέρθηκε, τα ιατρικά τρόφιμα είναι αυτά που κυρίως θα προμηθεύσουν τον οργανισμό των ασθενών αυτών με την απαραίτητη πρωτεΐνη αλλά και με άλλα θρεπτικά συστατικά [19,21]. Ανάλογα με τη σοβαρότητα της νόσου, προμηθεύουν με έως και 50% της ενέργειας που χρειάζεται στις σοβαρότερες μορφές της, με τις ηπιότερες να μην έχουν τόσο μεγάλη εξάρτηση από αυτά, λόγω της μεγαλύτερης φυσικής πρωτεϊνικής ανοχής, ενώ επιπλέον υποστηρίζουν τον αναβολισμό των ελεύθερων αμινοξέων, συμβάλλουν στη συμμόρφωση του ασθενούς με τη διατροφή και επομένως βοηθούν στον έλεγχο του επίμαχου αμινοξέος [21].

Για την ανεπάρκεια λοιπόν της υδροξυλάσης της φαινυλαλανίνης, υπάρχουν περισσότερα από τριάντα τέτοια προϊόντα, τα οποία κατηγοριοποιούνται. Η κατηγοριοποίησή τους γίνεται βάσει της σύνθεσής τους σε θρεπτικά συστατικά, αλλά και ανάλογα με την ηλικία που απευθύνονται, ενώ η μορφή τους είναι σε σκόνη, σε κάψουλες, σε ταμπλέτες, έτοιμα προς κατανάλωση υγρά, σε μπάρες, σε πουτίγκες κ.ά και η γεύση τους ποικίλλει. Καθώς δεν συνταγογραφούνται, δεν ισχύει πάντα ασφαλιστική τους κάλυψη, ενώ αυτά που είναι σε μορφή σκόνης είναι πιο οικονομικά συνήθως.

Βάσει σύστασης λοιπόν, υπάρχουν εκείνα που περιέχουν αμινοξέα, λιπαρά, υδατάνθρακες, βιταμίνες και μέταλλα που είναι και τα πιο ολοκληρωμένα και έχουν υψηλή προς μέτρια αναλογία ενέργειας/πρωτεΐνης, εκείνα με αμινοξέα, υδατάνθρακες, βιταμίνες και μέταλλα, δεν περιέχουν δηλαδή λιπαρά και έχουν μέτρια προς χαμηλή αναλογία ενέργειας/πρωτεΐνης, εκείνα που περιέχουν μόνο αμινοξέα ή ίσως και λίγες βιταμίνες και μέταλλα, με χαμηλή αναλογία ενέργειας/πρωτεΐνης, το γλυκομακροπεπίδιο, το θρεπτικό προφίλ του οποίου ποικίλλει ανάλογα το προϊόν και περιέχει φαινυλαλανίνη, και εκείνα με τα μεγάλα, ουδέτερα αμινοξέα, που έχουν χαμηλή αναλογία ενέργειας/πρωτεΐνης. Βάσει ηλικίας, υπάρχουν εκείνα που έχουν σχεδιαστεί για βρέφη, εκείνα για παιδιά και εκείνα εφήβους και ενήλικες [19].

Να αναφερθεί ότι σε σύγκριση των ειδικών χαμηλών σε πρωτεΐνη τροφίμων με τα κανονικά, βρέθηκε υψηλότερη κατά 58% συνεισφορά των πρώτων σε λίπος, κατά 92% σε



υδατάνθρακα αλλά και υψηλότερο ενεργειακό περιεχόμενο, τα οποία τονίζουν την αναγκαιότητα της καθοδήγησης, της παρακολούθησης αλλά και της προσεκτικής τους συνταγογράφησης [21].

### 2.3.1.1. Γλυκομακροπεπτίδιο (GMP)

Αποτελεί μια άθικτη πρωτεΐνη, από τον ορό του γάλακτος, με χαμηλήπεριεκτικότητα σε φαινυλαλανίνη, 2 με 5 mg/g πρωτεΐνης, το οποίο το καθιστά πηγή πρωτεΐνης για ιατρικά προϊόντα διατροφής [11,19], αποτελεί δηλαδή υποκατάστατο πρωτεΐνης, μάλιστα με καλύτερη γεύση και αίσθημα κορεσμού [17]. Σε άλλη πηγή αναφέρεται ως cGMP, δηλαδή καζεΐνη γλυκομακροπεπτιδίου, που μέσω της δράσης της χυμοσύνης, απελευθερώνεται από την κ-καζεΐνη κατά τη διαδικασία παρασκευής του τυριού [16,22].

Βέβαια, καθώς δεν είναι μια ολοκληρωμένη πρωτεΐνη, για να αποτελέσει κατάλληλη πηγή πρωτεΐνης για τα άτομα με ανεπάρκεια της υδροξυλάσης της φαινυλαλανίνης, πρέπει να του προστεθούν σε μορφή ελεύθερων 1-αμινοξέων η ιστιδίνη, η λευκίνη, η τυροσίνη, η αργινίνη, η τρυπτοφάνη και η μεθειονίνη, καθώς η περιεκτικότητά του και σε αυτά είναι χαμηλή [16,17,18,22]. Βέβαια, η προσθήκη των αμινοξέων που λείπουν έχει αρνητική επιρροή στη γεύση [17]. Η συνηθέστερη περιεκτικότητα των υποκατάστατων πρωτεΐνης είναι 60-70% ισοδύναμα πρωτεΐνης από αυτό και το ποσοστό που μένει από συμβατικά αμινοξέα [16]. Θα πρέπει επίσης να συνυπολογίζεται η περιεκτικότητά του σε φαινυλαλανίνη με των υπόλοιπων τροφίμων που θα καταναλωθούν, ώστε να μην υπερβαίνεται η ανοχή που έχει το άτομο στη φαινυλαλανίνη [19], γιατί, αν και υφίσταται επεξεργασία με χρωματογραφία, υπερδιήθηση και λυοφιλοποίηση, περιέχει περίπου 1,8 mg φαινυλαλανίνης ανά γραμμάριο [16], ενώ τα πρώιμα προϊόντα του περιείχαν 3 με 4% [17].

Σε θεωρητικό επίπεδο αναφέρεται ότι βελτιώνει την κατακράτηση των πρωτεϊνών, τη χρήση του αζώτου, νευροφυσιολογικά τον έλεγχο της φαινυλαλανίνης στον εγκέφαλο και το αίμα, όπως και τον κορεσμό και τη γεύση, λειτουργεί σαν πρεβιοτικό και ενισχύει το ανοσοποιητικό, μειώνοντας τη φλεγμονή. Τα στοιχεία όμως είναι λίγα και δεν υπάρχουν μακροπρόθεσμα αποτελέσματα.

Έχει χρησιμοποιηθεί λοιπόν σε ιατρικά τρόφιμα, συνδυαστικά με αμινοξέα χωρίς φαινυλαλανίνη (ο συνδυασμός τους αναφέρεται ως cGMP-AA), σαν πηγή πρωτεΐνης, έχοντας καλύψει περίπου το 85% των πρωτεϊνικών αναγκών ατόμων των οποίων η ανεπάρκεια της υδροξυλάσης της φαινυλαλανίνης ήταν σοβαρή. Από μια μελέτη στην οποία χρησιμοποιήθηκε ως πηγή πρωτεΐνης αντικαθιστώντας άλλα ιατρικά τρόφιμα με βάση αμινοξέα, σε έντεκα άτομα με φαινυλκετονουρία ηλικίας 11 με 31 χρόνων, αν και η

φαινυλαλανίνη μετά το γεύμα δεν είχε κάποια σημαντική διαφορά εν συγκρίσει με εκείνη των ασθενών που έπαιρναν το συμπλήρωμα αμινοξέων, ήταν χαμηλότερη η φαινυλαλανίνη νηστείας αυτών που έπαιρναν το γλυκομακροπεπτίδιο [16]. Ακόμα, δεν προέκυψαν θέματα σχετικά με την ασφάλεια χρήσης του, αν και απαιτώνται περαιτέρω μελέτες, ενώ η μειωμένη γκρελίνη που βρέθηκε έπειτα από τη χρήση του, υποδηλώνει καλό κορεσμό, γεγονός που υποστηρίζεται και από τη διέγερση της χολοκυστοκινίνης που προκαλεί [16,19].

Δεν υπάρχουν δεδομένα για τη χρήση του κατά την περίοδο της εγκυμοσύνης και καθώς η χρήση του στην Ευρώπη είναι μικρή, χρειάζονται περισσότερες έρευνες για την ασφαλή χρήση του ως υποκατάστατο πρωτεΐνης σε παιδιά [16].

Παρά τις βελτιώσεις του, έχει μειονεκτήματα ειδικά για τους ασθενείς με χαμηλή ανοχή στη φυσική πρωτεΐνη και επομένως υψηλή απαίτηση για υποκατάστατα, αλλά και το γεγονός ότι η πορεία απορρόφησης των αμινοξέων από τα υποκατάστατα πρωτεΐνης, δεν ακολουθεί αυτή της φυσικής πρωτεΐνης. Για τον λόγο αυτό, δημιουργήθηκαν το φυσιομιμικό σκεύασμα, προστέθηκε δηλαδή μια επικάλυψη στο υποκατάστατο πρωτεΐνης, αποτελούμενη από αιθυλοκυταρίνη και αλγινικά που περικλύουν κόκκους αμινοξέων άνευ φαινυλαλανίνης, το οποίο παρουσιάζει μια πολύ καλύτερη απελευθέρωση των απαραίτητων αμινοξέων στο αίμα, ώστε να μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την σύνθεση πρωτεϊνών έναντι της παραγωγής ενέργειας [17].

### **2.3.1.2. Μεγάλα ουδέτερα αμινοξέα (LNAA)**

Η πρόταση για θεραπεία της ανεπάρκειας της υδροξυλάσης της φαινυλαλανίνης με τη χρήση των μεγάλων ουδέτερων αμινοξέων, βασίζεται στην ικανότητά τους να μπλοκάρουν την πρόσληψη της φαινυλαλανίνης τόσο από το έντερο, όσο και από τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό [11,15] προτάθηκε το 1948 [16,23] και πρωτομελετήθηκε σε αρουραίους το 1976 [23].

Γενικά πολλά αμινοξέα ανταγωνίζονται για την σύνδεσή τους με τον κοινό τους μεταφορέα και έχουν διαφορετική συγγένεια μαζί του, ανάλογα με τη μάζα της πλευρικής τους αλυσίδας και την παρουσία ηλεκτρικού πεδίου, η οποία συγγένεια αυξάνεται με τη μάζα, ενώ για τα ουδέτερα αμινοξέα είναι υψηλότερη. Επίσης, η ελεγχόμενη μεταφορά των μεγάλων ουδέτερων αμινοξέων καθορίζει τη συγκέντρωση των απαραίτητων αμινοξέων στον εγκέφαλο. Αναλυτικότερα, η μεταφορά (που δεν εξαρτάται από το νάτριο) από την κυκλοφορία τόσο της φαινυλαλανίνης, της τυροσίνης και της τρυπτοφάνης, δηλαδή των αρωματικών αμινοξέων, όσο και των λευκίνης, ισολευκίνης, θρεονίνης, βαλίνης, μεθειονίνης και ιστιδίνης (που αποτελούν τα υπόλοιπα μεγάλα ουδέτερα αμινοξέα) στον εγκέφαλο μέσω του αιματοεγκεφαλικού φραγμού (BBB, που απομονώνει τον εγκέφαλο από διακυμάνσεις στο

αίμα παρέχοντας το απαραίτητο σταθερό χημικό περιβάλλον [22]), διευκολύνεται από τον μεταφορέα αμινοξέων-1 (LAT1 ή αλλιώς SLCA7A5, που ανήκει στις οργανωτικές πρωτεΐνες διαμεμβρανικής μεταφοράς αμινοξέων- πολυαμίνης), ο οποίος έχει υψηλή συσχέτιση με τις συγκεντρώσεις όλων των μεγάλων ουδέτερων αμινοξέων στο αίμα και γι' αυτό είναι πάντα κορεσμένος [17,22]. Ο μεταφορέας αυτός εκφράζεται και στη μεμβράνη του αιματικού αυλού και στην εγκεφαλική, διευκολύνοντας έτσι τη μεταφορά των μεγάλων ουδέτερων αμινοξέων με αντάλλαγμα υποστρώματα μη απαραίτητων αμινοξέων, ενώ τα εντός του εγκεφάλου κύτταρα έχουν τριπλάσια συγγένεια για τα απαραίτητα αμινοξέα. Το σύστημα αυτό λοιπόν εξαρτάται από την αφθονία και τη συγγένεια των μεγάλων ουδέτερων αμινοξέων [22]. Η συσσωρευμένη φαινυλαλανίνη που υπάρχει στη φαινυλκετονουρία, αυξάνει τη μεταφορά της στον εγκέφαλο έναντι των άλλων μεγάλων ουδέτερων αμινοξέων αφού ανταγωνίζεται τη δέσμευση με τον μεταφορέα τους, καθώς είναι αυτή που έχει τη μεγαλύτερη συγγένεια μαζί του, μπλοκάρει έτσι την πρόσληψη των υπόλοιπων μεγάλων ουδέτερων αμινοξέων, με συνέπεια να διακόπτεται η ομοιόστασή τους σε αυτόν [16,17,22] και να εμφανίζεται εγκεφαλική ανεπάρκειά τους. Είναι πιθανό λοιπόν αυτές οι ανεπάρκειες να ευθύνονται για την μειωμένη σύνθεση εγκεφαλικής πρωτεΐνης που παρατηρείται στη φαινυλκετονουρία και που συνηγορεί στις ανεπάρκειες νευροδιαβιβαστών μονοαμίνης του εγκεφάλου [17].

Αυτή η υπόθεση είχε μελετηθεί για πρώτη φορά σε αρουραίους με υπερφαινυλαλανιναιμία και αποδείχτηκε ότι εκείνοι που έλαβαν μεγάλα ουδέτερα αμινοξέα είχαν σημαντικά μειωμένες συγκεντρώσεις φαινυλαλανίνης στον εγκέφαλο εν συγκρίσει με αρουραίους που δεν έλαβαν θεραπεία, με παρόμοιες συγκεντρώσεις φαινυλαλανίνης αίματος [23]. Πρέπει όμως να σημειωθεί ότι η θεωρία αυτή για τον ανταγωνισμό των μεγάλων ουδέτερων αμινοξέων για τη μεταφορά μέσω του αιματεγκεφαλικού φραγμού, πιθανότατα δεν είναι επαρκώς ανεπτυγμένη, καθώς συνήθως δε λαμβάνεται υπόψη ότι στη μεμβράνη των εγκεφαλικών τριχοειδών ενδοθηλιακών κυττάρων, υπάρχουν ξεχωριστοί, εξαρτώμενοι από το νάτριο μεταφορείς αμινοξέων με πολύ υψηλή συγγένεια για τα μεγάλα ουδέτερα αμινοξέα, οι οποίοι έχουν την ικανότητα άντλησης των αμινοξέων από τον εγκέφαλο πίσω στην κυκλοφορία και ίσως λειτουργούν για ρύθμιση τυχόν διαταραχών στην ομοιόσταση των αμινοξέων στον εγκέφαλο [17].

Ιστορικά, από μελέτες με συμπληρώματα βαλίνης, λευκίνης και ισολευκίνης είχε φανεί ελαφρώς βελτιωμένη νευροψυχιατρική λειτουργία σε ασθενείς με φαινυλκετονουρία, ενώ μετέπειτα σε άλλες μελέτες έγινε χρήση όλων των μεγάλων ουδέτερων αμινοξέων με θετική έκβαση στη νευροφυσιολογική και νευροψυχολογική λειτουργία ασθενών, με τις διαφορές στην έκβαση να σχετίζονται ίσως με την σύνθεση, τη δοσολογία, την οδό χορήγησης και την τη διάρκεια της περιόδου συμπλήρωσης [23].

Έχει προταθεί ότι η δια στόματος παροχή συμπληρωμάτων μεγάλων ουδέτερων αμινοξέων σε ποσότητες πιο ψηλές από τις κανονικές, χωρίς φυσικά φαινυλαλανίνη, σε

αυτούς τους ασθενείς, ανταγωνίζεται τη φαινυλαλανίνη και μπορεί επομένως να μειώσει την εγκεφαλική είσοδό της και να επιτραπεί έτσι η είσοδος σε άλλα μεγάλα ουδέτερα αμινοξέα, αλλά και να αυξήσει τη συγκέντρωση των βασικών αμινοξέων και των νευροδιαβιβαστών στον εγκέφαλο, να διορθώσει δηλαδή την εγκεφαλική ανισορροπία και τις συνέπειές της, χωρίς όμως να γνωρίζουμε ποια είναι η βέλτιστη σύνθεση των συμπληρωμάτων αυτών [15,16,17,22,23,24]. Αυτή η μείωση της εγκεφαλικής εισόδου της φαινυλαλανίνης, θα ήταν πιο αποτελεσματική με τη χρήση λευκίνης (και ισολευκίνης), όμως το πρόβλημα έγκειται στο ότι αυτό δεν αντιμετωπίζει όλη την παθογένεση της εγκεφαλικής δυσλειτουργίας στη φαινυλκετονουρία, αλλά επιπλέον εγκυμονεί κινδύνους για άλλα εγγενή σφάλματα του μεταβολισμού από πιθανές υψηλές εγκεφαλικές συγκεντρώσεις των δύο αυτών αμινοξέων. Αυτό δείχνει και τη σημασία που έχει και την αναγκαιότητα, προσεκτικά ισορροπημένης σύνθεσης των μειγμάτων αμινοξέων σε μεγάλα ουδέτερα αμινοξέα, η οποία πρέπει να είναι σύμφωνη με τη συγγένεια με τους μεταφορείς, ενώ επιπλέον υψηλά πρέπει να είναι τα επίπεδα τρυπτοφάνης και τυροσίνης μέσα σε αυτά, προς προώθηση των φυσιολογικών συγκεντρώσεων των μονοαμινεργικών νευροδιαβιβαστών στον εγκέφαλο [22]. Εδώ να αναφερθεί ότι υπάρχει η υπόνοια ότι η παθογένεση των μειωμένων νευροδιαβιβαστών, εκτός της τοξικότητας της φαινυλαλανίνης, ίσως να οφείλεται επιπλέον και στην αναστολή της εισροής των πρόδρομων ουσιών της οδού της σεροτονίνης και της ντοπαμίνης ή στην άμεση αναστολή της εγκεφαλικής φαινυλαλανίνης στις δραστηριότητες της υδροξυλάσης της τυροσίνης και της τρυπτοφάνης [25]. Η στρατηγική συμπληρώματος τυροσίνης και τρυπτοφάνης προς αύξηση των νευροδιαβιβαστών του εγκεφάλου, αντανακλάται από τις μειωμένες συγκεντρώσεις νευροδιαβιβαστών σε εγκέφαλο ποντικού με φαινυλκετονουρία και τις μειωμένες συγκεντρώσεις σεροτονίνης, ντοπαμίνης και των μεταβολιτών τους σε εγκεφαλικό ιστό και στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό ασθενών με φαινυλκετονουρία, με τα συμπληρώματα αυτά να δείχνουν ότι βελτιώνουν το μεταβολισμό των νευροδιαβιβαστών. Αυτή η θεραπευτική στρατηγική είχε υποστηριχθεί επιπλέον από τη θεωρία δυσλειτουργίας του προμετωπιαίου λοβού, σύμφωνα με την οποία ο λοβός αυτός επηρεάζεται περισσότερο από τη μείωση της ντοπαμίνης και έχει εξάρτηση από αυτή, καθώς οι ντοπαμινεργικοί νευρώνες του έχουν σχετικά υψηλά επίπεδα δραστηριότητας και υψηλό κύκλο εργασιών ντοπαμίνης. Ωστόσο παλαιότερες μελέτες δεν είχαν δείξει τα θετικά αποτελέσματα που αναμένονταν σε μεγάλες δόσεις τυροσίνης ή L-dopa [16,23].

Σε κάποιες μελέτες, αλλά όχι σε όλες, αναφέρεται επίσης ότι τα μεγάλα ουδέτερα αμινοξέα, διασχίζουν το βλεννογόνο του εντέρου με μια πρωτεΐνη φορέα που είναι παρόμοια με αυτή του αιματεγκεφαλικού φραγμού, με μελέτες να δείχνουν ότι σε υψηλές συγκεντρώσεις τους στο έντερο μπορούν να μειώσουν σημαντικά τη μεταφορά της φαινυλαλανίνης, με ανταγωνισμό για τη μεταφορά [15]. Αν και απαιτούνται περισσότερες και μεγαλύτερες κλινικές δοκιμές προς τεκμηρίωση του ακολουθούστος ευρήματος, μια

δοκιμή έδειξε τη φαινυλαλανίνη αίματος να μειώνεται κατά περίπου 40% όταν αντικαταστάθηκε η τυπική διατροφή με χαμηλά σε φαινυλαλανίνη ιατρικά τρόφιμα, με μια διατροφή με χρήση συμπληρωμάτων μεγάλων ουδέτερων αμινοξέων, σε δόσεις των 0,5 ή 1,0 g/kg σωματικού βάρους [11,16,23]. Αυτό υποδηλώνει ότι τα συμπληρώματα των μεγάλων ουδέτερων αμινοξέων που επιβάλλονται στη διαιτητική αγωγή, μπορούν να μειώσουν την απορρόφηση της φαινυλαλανίνης στον γαστρεντερικό σωλήνα, χωρίς όμως να γνωρίζουμε εάν σε αυτό απαιτούνται όλα τα LNAA ή κάποια από αυτά, αφού είχε αναφερθεί ότι η συμπλήρωση με θρεονίνη (έως και 50 mg/kg) ήταν αρκετή για κατά 20 με 50% μείωση της φαινυλαλανίνης στο αίμα. Βέβαια, υπάρχει και η αναφορά ότι η μείωση της φαινυλαλανίνης στο αίμα με τη λήψη των συμπληρωμάτων των μεγάλων ουδέτερων αμινοξέων μπορεί απλά να είναι θέμα χρόνου της δειγματοληψίας[23]. Επιπλέον, όσον αφορά στον ανταγωνισμό των μεγάλων ουδέτερων αμινοξέων και της φαινυλαλανίνης για τη εντερική μεταφορά, υποδηλώνεται και από την επίδρασή τους στην αναλογία φαινυλαλανίνη προς τυροσίνη, με τη σχέση τους να φαίνεται να είναι αντίστροφη. Δηλαδή, χωρίς φυσικά να υποκαθίσταται ο διαιτητικός έλεγχος της φαινυλαλανίνης, περισσότερα μεγάλα ουδέτερα αμινοξέα στη διατροφή είναι αποτελεσματικά συνδυαστικά με μια θεραπευτική προσέγγιση που προάγει στη σωστή αναλογία φαινυλαλανίνης:τυροσίνης [24].

Σε μια πηγή αναφέρεται ότι η συσχέτιση με τη διαιτητική πρόσληψη των μεγάλων ουδέτερων αμινοξέων και του αθροίσματός τους στο πλάσμα είναι σαφής, με τη συσχέτιση όμως της βαλίνης ειδικά, τόσο με τα μεγάλα ουδέτερα αμινοξέα πλάσματος και τα διατροφικά, όσο και με την αναλογία φαινυλαλανίνη προς τυροσίνη να ξεχωρίζει, υποδηλώνοντας ότι η βαλίνη μπορεί να αποτελέσει δείκτη της κατάστασής τους, της διατροφικής συμμόρφωσης και του μεταβολικού ελέγχου στη φαινυλκετονουρία, χωρίς όμως να ξέρουμε το γιατί [24].

Σε κάποιους ενήλικες βρέθηκε να βελτιώνεται η εκτελεστική τους λειτουργία, ειδικά η λεκτική, έπειτα από θεραπεία με αυτά, ενώ περαιτέρω δοκιμές απαιτούνται και για την ασφάλεια στη μακροπρόθεσμη χρήση τους, αλλά και για την επίδραση που έχουν στα συμπτώματα που δεν σχετίζονται με τα επίπεδα της φαινυλαλανίνης. [16,19]. Μπορούν να καλύπτουν το 25 με 30% των συνολικών πρωτεϊνικών αναγκών, αλλά θα πρέπει να γίνεται παρακολούθηση προς αποφυγή ανεπαρκείων των βασικών αμινοξέων. Μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως ιατρικά τρόφιμα για κάποιους ασθενείς με ανεπάρκεια της υδροξυλάσης της φαινυλαλανίνης, συνδυαστικά με έναν πιο χαλαρό περιορισμό της πρωτεΐνης [11,19], των οποίων όμως ο μεταβολικός έλεγχος είναι κακός και δεν έχουν άλλη θεραπευτική επιλογή [11].

Συγκεντρωτικά, οι λειτουργίες τους στη νόσο της φαινυλκετονουρίας περιλαμβάνουν τη μείωση της φαινυλαλανίνης στον εγκέφαλο μέσω ανταγωνισμού για μεταφορά δια του αιματεγκεφαλικού φραγμού, την αύξηση των συγκεντρώσεων των νευροδιαβιβαστών του

εγκεφάλου σεροτονίνη, επινεφρίνη και νορεπινεφρίνη και την αύξηση των συγκεντρώσεων κάποιων εξ αυτών στον εγκέφαλο όπως είναι τα διακλαδισμένης αλυσού, η τυροσίνη και η τρυπτοφάνη [15,22,24] οι οποίοι μηχανισμοί έχουν επιβεβαιωθεί με ένα μοντέλου ποντικού με φαινυλκετονουρία, χωρίς όμως πάλι η σύνθεσή τους να είναι η πρόποσα [22], ενώ επιπλέον αλλού αναφέρεται και η μείωση της φαινυλαλανίνης αίματος μέσω ανταγωνισμού για τη μεταφορά στον εντερικό-αιματικό φραγμού [15,23,24].

Η γενική θεωρία που επικρατεί στη βιβλιογραφία είναι ότι τα μεγάλα ουδέτερα αμινοξέα, είτε ως αυτούσιο συμπλήρωμα είτε σε υψηλότερες συγκεντρώσεις ως συστατικά ιατρικών τροφίμων, θα μπορούσαν να επιφέρουν όφελος στη φαινυλκετονουρία, ενώ σε συνέργεια με σαπροπερίνη σε μια μελέτη, φάνηκε μια συνεργιστική επίδραση στη μελατονίνη ορού [24].

Μέχρι τώρα η θεραπεία με τη χρήση τους περιορίζεται σε εφήβους και ενήλικες, με αποφυγή τους στις εγκύους και στα παιδιά κάτω των έντεκα χρόνων, καθώς η κατανόησή μας για τις επιπτώσεις τους στην ανάπτυξη και το κεντρικό νευρικό σύστημα του εμβρύου είναι περιορισμένη, γνωρίζοντας βέβαια ότι δε μεταβάλλουν σταθερά τα επίπεδα της μητρικής φαινυλαλανίνης, αλλά και με αντένδειξη της χρήσης τους κατά την εγκυμοσύνη ως μονοθεραπεία, αφού δε μειώνουν τα επίπεδα της φαινυλαλανίνης σε ασφαλές για την ανάπτυξη του εμβρύου εύρος. [11,16]. Η χρήση τους εξετάζεται κυρίως για μεγαλύτερους που δε μπορούν να έχουν την απαιτούμενη προσκόλληση στη διατροφή, ενώ ίσως να είναι ανώφελα σε ασθενείς που τηρούν τη διατροφή και χρησιμοποιούν τα συμπληρώματα αμινοξέων χωρίς φαινυλαλανίνη [16].

Δεν είναι εύκολη η παρακολούθηση της καλής έκβασης της θεραπείας με τη χρήση τους και αυτό γιατί οι συγκεντρώσεις φαινυλαλανίνης στο αίμα μένουν υψηλές και δεν είναι πρακτική η μέτρησή τους στον εγκέφαλο. Καθώς έχει βρεθεί ότι σε άτομα με ανεπάρκεια της υδροξυλάσης της φαινυλαλανίνης που παρουσιάζουν ελαττώματα εκτελεστικής λειτουργίας, η σεροτονίνη δεν είναι επαρκής, αντί αυτής έχει προταθεί η μελατονίνη ούρων και αίματος ως δείκτης για την παρακολούθηση της θεραπείας [11].

Η θεραπεία με τη χρήση συμπληρωμάτων μεγάλων ουδέτερων αμινοξέων λοιπόν, θεωρείται εναλλακτική της συμβατικής διαιτητικής θεραπείας αλλά, ενώ συνήθως αναφέρεται ως μία συγκεκριμένη μέθοδος θεραπείας, οι στρατηγικές που χρησιμοποιούνται είναι πολλές. Παραδειγματικά, αλλού μελετάται η συμπληρωματική χρήση τους με την πρόσληψη της φυσικής πρωτεΐνης σύμφωνα με το RDA, αλλού με τη συμβατική διατροφική θεραπεία για φαινυλκετονουρία, ενώ αλλού μπορεί να αναφέρεται στη λήψη μεμονωμένων αμινοξέων όπως η τρυπτοφάνη και η τυροσίνη [23]. Περισσότερες μελέτες είναι αναγκαίες για την καλύτερη εφαρμογή των συμπληρωμάτων των μεγάλων ουδέτερων αμινοξέων στη θεραπεία της νόσου της φαινυλκετονουρίας, τους πιθανούς ρόλους σε αυτή, αλλά φυσικά και της σύνθεσης και της δοσολογίας τους [23,24].

### 2.3.2. Τετραϋδροβιοπτερίνη

Μείωση της φαινυλαλανίνης με τη χορήγηση τετραϋδροβιοπτερίνης σε άτομα με φαινυλκετονουρία, πρωτοαναφέρθηκε το 1999 [16]. Αναλυτικότερα, έχει αποδειχθεί ευεργετική η φαρμακολογική τετραϋδροβιοπτερίνη, καθώς αυξάνει τη δραστηριότητα της υδροξυλάσης της φαινυλαλανίνης καθώς ενεργεί σα χημικός συνοδός αφού θεωρείται ότι αποτρέπει τη λανθασμένη αναδίπλωση της πρωτεΐνης και προστατεύει από την αδρανοποίηση, με αποτέλεσμα μείωση των συγκεντρώσεων φαινυλαλανίνης στο αίμα ή/και αύξηση της ανοχής της στη φυσική πρωτεΐνη. Για να γίνει βέβαια αυτό, ο ασθενής θα πρέπει να ανταποκρίνεται στην τετραϋδροβιοπτερίνη, κάτι που δεν ισχύει για όλους, με τον επιπολασμό ανταπόκρισης να είναι από 20 έως και 62%, ενώ θα πρέπει να υπάρξει και ένας ενιαίος ορισμός της απόκρισης σε αυτή, ώστε να δικαιολογηθεί η μακρόχρονη θεραπεία με τη χρήση της, καθώς μέχρι στιγμής υπάρχει ανομοιογένεια ως προς αυτόν τον ορισμό, όχι μόνο μεταξύ των μεγάλων οργανισμών παγκόσμια, αλλά και εντός κέντρων [3,16,17].

Όπως έχει αναφερθεί, η τετραϋδροβιοπτερίνη αποτελεί συμπαράγοντα για την υδροξυλάση της φαινυλαλανίνης, αλλά και για άλλα μεταβολικά ένζυμα, όπως είναι η υδροξυλάση της τυροσίνης και η υδροξυλάση της τρυπτοφάνης, η συνθάση του μονοξειδίου του αζώτου και άλλα. Η σύνθεσή της γίνεται από τριφωσφορική γουανωσίνη (GTP), με μια αντίδραση καταλύομενη από GTP κυκλοϋδρολάση I (GTPCH), συνθάση 6 – πυρουβούλο-τετραϋδροπτερίνης (PTPS) και αναγωγή σεπιαπτερίνης (SP). Η τετραϋδροβιοπτερίνη λοιπόν, κατά τη διάρκεια των δραστηριοτήτων των ενζύμων που την απαιτούν, οξειδώνεται σε κινονοειδής διυδροβιοπτερίνη και εν συνεχεία αναγεννάται από την αφυδατάση της πτερίνης-4α-καρβινολαμίνης (PCD) και την αναγωγή της διυδροπτεριδίνης (DHPR). Έτσι, μεταλλάξεις σε οποιοδήποτε γονίδιο που κωδικοποιεί ένζυμα σύνθεσης ή ανακύκλωσης της τετραϋδροβιοπτερίνης, μπορούν να οδηγήσουν σε ανεπάρκειά της, αναγκάζοντας σε θεραπεία με εξωγενή τετραϋδροβιοπτερίνη [13,17].

Δια στόματος συμπληρωματική της χορήγηση μπορεί να μειώσει τα επίπεδα της φαινυλαλανίνης στο αίμα, με τα δύο τρίτα των ασθενών με ήπια φαινυλκετονουρία, να ανταποκρίνονται σε αυτή, απαιτείται όμως περαιτέρω έρευνα για να χαρακτηριστεί ο γονότυπος που ανταποκρίνεται στην τετραϋδροβιοπτερίνη [13]. Επιπλέον, έχει προταθεί ότι φαρμακολογικές δόσεις της μπορεί, πάντα στους ανταποκρινόμενους σε αυτή, να μειώνουν τις κirkάδιες διακυμάνσεις της φαινυλαλανίνης εμφανίζονται μέσα στο εικοσιτετράωρο [22]. Από το 71% των γονότυπων των ασθενών, δύναται να υπάρξει πρόβλεψη του επιπέδου ανταπόκρισης σε αυτή [16]. Οι μέχρι τώρα υποθέσεις που έχουν γίνει για την απόκριση ενός ασθενούς στην τετραϋδροβιοπτερίνη αφορούν τρεις μηχανισμούς οι οποίοι είναι, η μειωμένη δέσμευση συγγενειών της τετραϋδροβιοπτερίνης σε μεταλλάξεις Km της υδροξυλάσης της φαινυλαλανίνης, η σταθεροποίηση της μεταλλαγμένης υδροξυλάσης της φαινυλαλανίνης από

την τετραϋδροβιοπτερίνη μέσω προστασίας των ενεργών τετραμερών ή διμερών είτε από διάσπαση είτε από αποικοδόμηση από την εξαρτώμενη από την ουβικιτίνη οδό πρωτεασώματος και, οι επιδράσεις της εξωγενούς συμπληρωματικής τετραϋδροβιοπτερίνη στη ρύθμιση της βιοσύνθεσής της [13]. Σε ασθενείς με γνωστό γονότυπο με δύο μηδενικές μεταλλάξεις, δε θα πρέπει να γίνεται περαιτέρω εξέταση της απόκρισης στην τετραϋδροβιοπτερίνη, ενώ σε γονότυπο με δύο ανταποκρινόμενες στην τετραϋδροβιοπτερίνη μεταλλάξεις, θα πρέπει να προχωρά σε δοκιμή θεραπείας και όχι σε δοκιμή φόρτισης με αυτή [16].

Ξεκάθαρες ενδείξεις ανεπάρκειας της τετραϋδροβιοπτερίνης είναι το μη φυσιολογικό μοτίβο περινών στα ούρα ή μείωση της δραστηριότητας της αναγωγάσης της διυδροπτεριδίνης, ενώ συμπληρωματικά απαιτείται μια δοκιμή φόρτισης με τετραϋδροβιοπτερίνη, τόσο για να αξιολογηθεί περαιτέρω η πιθανότητα ανεπάρκειάς της, όσο και για να κατηγοριοποιηθούν οι ασθενείς με φαινοτυπική ανεπάρκεια ως αποκρινόμενοι ή όχι σε αυτή [13].

### **2.3.3. Διυδροχλωρική σαπροπτερίνη**

Επιπλέον, σε ασθενείς που ανταποκρίνονται στην τετραϋδροβιοπτερίνη, η πρώτη μη διαιτητική θεραπεία που εγκρίθηκε το 2007 από τον FDA, είναι η χρήση της διυδροχλωρικής σαπροπτερίνης[9,11,13].

Αποτελεί μια συνθετική φόρμα του 6R ισομερούς της τετραϋδροβιοπτερίνης (δραστική σύνθεση τετραϋδροβιοπτερίνης), το διυδροχλωρικό της άλας δηλαδή, φάρμακο κατηγορίας C, που καταναλώνεται δια στόματος, κατάλληλη και για ασθενείς κάτω των τεσσάρων χρόνων, που ελέγχει αποτελεσματικά και με ασφάλεια τα επίπεδα της φαινολαλανίνης αίματος [9,11,16], που δεν είναι όμως ιδιαίτερα αποτελεσματική στην πρόβλεψη της μακροχρόνιας ανταπόκρισης της τετραϋδροβιοπτερίνης [17].

Σε κάποιους λοιπόν ασθενείς με ανεπάρκεια της υδροξυλάσης της φαινολαλανίνης, σε ποσοστό 25-50%, που παρουσιάζουν όμως κάποια υπολειπόμενη δραστηριότητα του ενζύμου, έχουμε ανταπόκριση στην σαπροπτερίνη, με αύξηση του μεταβολισμού της φαινολαλανίνης σε τυροσίνη. Ενισχύεται δηλαδή η υπολειπόμενη δραστηριότητα της υδροξυλάσης της φαινολαλανίνης, χωρίς όμως να μας είναι σαφής ο μηχανισμός. Φαίνεται ότι στην ήπια ανεπάρκεια της υδροξυλάσης η απόκριση είναι πιο πιθανή, καθώς για τη λειτουργία της σαπροπτερίνης απαιτείται κάποια σταθερή πρωτεΐνη, με ανταποκρινόμενους όμως ασθενείς να υπάρχουν πάραυτα και μεταξύ εκείνων με πλήρη ανεπάρκεια της υδροξυλάσης. Έτσι μια δοκιμή θεραπείας με σαπροπτερίνη θα πρέπει να γίνεται σε όλους τους ασθενείς, ακόμη και σε εκείνους που έλαβαν καθυστερημένα τη θεραπεία και η γνωστική τους εξασθένηση είναι σοβαρή, καθώς μπορεί να είναι πολύ μικρές αλλά υπάρχουν



ενδείξεις που υποδηλώνουν ότι ενδέχεται να παρουσιάσουν συμπεριφορικές και ψυχιατρικές βελτιώσεις, αλλά και καλύτερο έλεγχο των επιληπτικών κρίσεων [11,19].

Πλεονέκτημα υπάρχει και για εκείνους που δε μπορούν να μείνουν πιστοί στους διατροφικούς περιορισμούς και τη χρήση των ιατρικών τροφίμων, αφού φαίνεται να μειώνει τη φαινυλαλανίνη χωρίς να απαιτούνται περαιτέρω διατροφικές τροποποιήσεις, με κάποιους ασθενείς να έχουν κάνει λόγω για μια πιο εύκολη διατροφική διαχείριση με τη λήψη της σαπροπτερίνης, ενώ για εκείνους που έχουν πετύχει ένα θεραπευτικό εύρος των τιμών της μέσω της προσκόλλησης στη διατροφική θεραπεία, μπορεί να επιτρέπει μια κάποια χαλάρωση για τη διαιτητική φαινυλαλανίνη και μια μικρότερη πρόσληψη ιατρικών τροφίμων [16,18]. Εξαίρεση της δοκιμής με σαπροπτερίνη αποτελούν εκείνοι που έχουν δύο μηδενικές μεταλλάξεις τύπου intrans[11].

Αναλυτικότερα, δίνονται 20 mg/kg(εύρος δόσης 5-20 mg/kg την ημέρα, με τη δόση έναρξης να είναι συνήθως τα 10) δια στόματος διυδροχλωρικής σαπροπτερίνης, με τα επίπεδα φαινυλαλανίνης αίματος να παρακολουθούνται για 24 ώρες πριν και μετά, ενώ από τη χορήγησή της δεν έχουν εντοπιστεί σοβαρές παρενέργειες [11,13,16,17].Βέβαια, θα πρέπει πριν τη χορήγησή της να έχει γίνει εξέταση που να διαπιστώνει εάν ο ασθενής ανταποκρίνεται σε αυτή, γεγονός που πραγματοποιείται στην Ευρώπη, εν αντιθέσει με τις ΗΠΑ, ενώ όσον αφορά στην πρόιμη βρεφική ηλικία, πριν από αυτόν τον έλεγχο συνιστάται οι τιμές φαινυλαλανίνης αίματος να είναι κάτω από τα 480-600  $\mu\text{mol/l}$  [11]. Εάν λοιπόν στις 8, 16 και 24 ώρες μετά τη χορήγηση σαπροπτερίνης δεν πραγματοποιηθεί 30% μείωση της φαινυλαλανίνης, χορηγείται δεύτερη δόση των 20mg/kg, με τη δοκιμή να σταματάει εάν εντός 24 ωρών και πάλι δεν επιτευχθεί 30% μείωση της φαινυλαλανίνης [13]. Να σημειωθεί ότι, αν και απαιτείται μεμονωμένη κλινική κρίση ώστε να προσδιοριστεί εάν η μείωση της φαινυλαλανίνης είναι σημαντική για τον εκάστοτε ασθενή, βιβλιογραφικά η μείωσή της στο 30% αναφέρεται ως αποτελεσματική [11,16]. Εάν από την άλλη, μετά από οποιαδήποτε δόση παρατηρηθεί 30% μείωση της φαινυλαλανίνης, η θεραπεία συνεχίζεται και η δόση προσαρμόζεται στα 5-20mg/kg, ώστε να διατηρούνται σε θεραπευτικό εύρος τα επίπεδα της φαινυλαλανίνης αίματος. Σε αυτό το σημείο, και μόνο, μπορούν να μειωθούν ή και να αρθούν οι διατροφικοί περιορισμοί του ασθενούς (σε μικρό αριθμό ασθενών συμβαίνει αυτό [16]) και τα υποκατάστατα πρωτεΐνης [13,16], ενώ η διατροφή θα πρέπει να έχει υπάρξει σταθερή σε όλη την περίοδο της εξέτασης [11]. Επιπλέον να αναφερθεί ότι θα πρέπει να λαμβάνεται την ίδια ώρα κάθε μέρα [16].

Μάλιστα, στα αποτελέσματα της σαπροπτερίνης σε παιδιά έως τεσσάρων χρόνων ανήκουν, η κατά 42% μείωση της μέσης αιματικής φαινυλαλανίνης μετά από τρία χρόνια από την έναρξή της, γεγονός που αύξησε την ανεκτικότητά τους στη φαινυλαλανίνη, ενώ σύμφωνα με τη μελέτη SPARK, η ανοχή των παιδιών ηλικίας κάτω των τεσσάρων ετών αυξήθηκε κατά μέσο όρο 30,5 mg/kg/day με το συνδυασμό του διατροφικού περιορισμού

της φαινυλαλανίνης και της χρήσης σαπροπτερίνης για 26 εβδομάδες, σε σχέση με παιδιά που ακολουθούσαν μόνο διατροφή με περιορισμό του αμινοξέος. Αυτός ο συνδυασμός, οδήγησε στη διατήρηση των συγκεντρώσεων φαινυλαλανίνης αίματος των παιδιών εντός του εύρους στόχου των 120-360 μmol/L στα επτά χρόνια παρακολούθησης. Επιπλέον, σύμφωνα με τη μελέτη PKU-015 σε μικρά παιδιά, σε συνδυασμό διατροφής με περιορισμένη φαινυλαλανίνη και χρήσης σαπροπτερίνης, η ανάπτυξη των παιδιών ηλικίας 0-6 ετών ήταν εντός φυσιολογικών ορίων και η πνευματική τους λειτουργία σταθερή, ενώ έχει βρεθεί ότι η θεραπεία με σαπροπτερίνη έχει σαν αποτέλεσμα μικρότερες διακυμάνσεις της φαινυλαλανίνης αίματος. Η διέγερση της υπολειμματικής δραστηριότητας της υδροξυλάσης της φαινυλαλανίνης από την σαπροπτερίνη, προκαλεί αύξηση στην ανοχή της διατροφικής φαινυλαλανίνης, με επακόλουθο, εν μέρει τουλάχιστον, την αύξηση στη φαινυλαλανίνη που μπορεί να καταναλωθεί μέσω της διατροφής, επιτρέποντας έτσι στα παιδιά μια μερική χαλάρωση από τους αυστηρούς διατροφικούς περιορισμούς, βελτιώνοντας παράλληλα την ποιότητα ζωής [9].

Η απόκριση στη θεραπεία συνήθως είναι γρήγορη, με περιστασιακές όμως εξαιρέσεις καθυστέρησης δύο με τέσσερις εβδομάδες. Στους ασθενείς των οποίων η φαινυλαλανίνη στο αίμα ήταν αρχικά στα 180 μmol/l ή πιο κάτω, αν και ανταποκρίνονται στη σαπροπτερίνη, η μείωση των επιπέδων της φαινυλαλανίνης συνήθως δεν είναι σημαντική και η απόκριση θα πρέπει να προσδιορίζεται με την περαιτέρω σταδιακή πρόσθεση φαινυλαλανίνης στη διατροφή, ώστε να καθοριστεί εάν επιτυγχάνεται αύξηση της ανοχής σε αυτή [11].

Το να βελτιωθούν τα νευροψυχιατρικά συμπτώματα του ασθενούς, ή το να υπάρξει αύξηση της ανοχής στη φαινυλαλανίνη ακόμα και χωρίς τη μείωσή της στο αίμα, επαρκεί για να συνεχιστεί η θεραπεία με σαπροπτερίνη. Βέβαια, όπως προαναφέρθηκε, υπάρχει και όφελος σε αυτούς που διατηρούν τη φαινυλαλανίνη σε επιθυμητό εύρος μόνο με τη διαιτητική θεραπεία, και είναι ότι στους ανταποκρινόμενους στη σαπροπτερίνη, αυξάνει την ανοχή στη φαινυλαλανίνη και τη διατροφική πρωτεΐνη, γεγονός που καθιστά εφικτό να προσθέσουν οι ασθενείς αυτοί περισσότερη φυσική πρωτεΐνη στη διατροφή τους. Η αύξηση της διαιτητικής πρωτεΐνης μπορεί να είναι ακόμη και διπλάσια ή τριπλάσια από την αρχική τιμή, με σημαντικό δηλαδή αντίκτυπο στην ποιότητα ζωής των ασθενών, με τα οφέλη που έχει η μακροχρόνια θεραπεία με σαπροπτερίνη να την καθιστούν διατηρητέα [11]. Αλλού αναφέρεται ότι όσοι τη χρησιμοποιούν, τείνουν να καταναλώνουν λιγότερη ζωική πρωτεΐνη και γαλακτοκομικά, αλλά έχουν υψηλότερη κατανάλωση πατάτας και ζυμαρικών, και έτσι δημιουργούνται ανησυχίες για την πρόσληψη συστατικών όπως η βιταμίνη D και το ασβέστιο εάν δεν υπάρξει λήψη συμπληρωματός τους [16].

Όσον αφορά στη χρήση της στην περίοδο της εγκυμοσύνης, δεν υπάρχουν ενδείξεις ανεπιθύμητων επιπτώσεων ή τερατογένεσης και ως εκ τούτου μπορεί να χρησιμοποιηθεί, όταν η μη χρήση της υπερτερεί των πιθανών δυσμενών επιπτώσεων. Δηλαδή, εάν μια γυναίκα

λάμβανε σαπροπτερίνη πριν την εγκυμοσύνη της, θα πρέπει να της δίνεται η επιλογή συνέχισης της χρήσης του φαρμάκου και κατά την εγκυμοσύνη, αλλά και η έναρξή του σε γυναίκες που μπορεί να επωφεληθούν από αυτό κατά την κύηση. Βέβαια, στη δεύτερη περίπτωση, το ιδανικό θα ήταν η δοκιμή της απόκρισης στο φάρμακο να έχει γίνει πριν την εγκυμοσύνη, ώστε να μη υπάρξει δυσκολία στην ερμηνεία της απόκρισης αλλά και προς αποφυγή των διακυμάνσεων της φαινυλαλανίνης [11].

#### 2.4. Πειραματικές θεραπείες

Η πρόοδος που έχει σημειωθεί στη γονιδιακή και κυτταρική θεραπεία, αλλά και στην ενζυμική υποκατάσταση της φαινυλκετονουρίας, είναι σημαντική. Το ήπαρ είναι προφανής στόχος τέτοιων θεραπειών καθώς αποτελεί τον κύριο μεσολαβητή της ομοιόστασης της φαινυλαλανίνης, αλλά καθώς δεν επηρεάζεται αρνητικά από την ανεπάρκεια της υδροξυλάσης της, δεν απαιτείται τελικά απαραίτητα η στόχευσή του για την επιτυχή θεραπευτική αντιμετώπιση της φαινυλκετονουρίας. Αυτό αποδεικνύεται από το γεγονός ότι η διαιτητική θεραπείας που σε μεγάλο βαθμό αποτρέπει επιτυχώς τις κύριες εκδηλώσεις της φαινυλκετονουρίας, δεν αντιμετωπίζει άμεσα την ανεπάρκεια της ηπατικής υδροξυλάσης της φαινυλαλανίνης. Δηλαδή, ενζυμικές υποκαταστάσεις, μεταμόσχευση κυττάρων ή γονιδιακές θεραπείες που απευθύνονται σε εκτός του ήπατος ιστούς, μπορεί να είναι επιτυχείς εάν ομαλοποιούν τα επίπεδα της φαινυλαλανίνης στο αίμα [13,17].

Η διερεύνηση αυτών των νέων θεραπειών, υποβοηθείται από ένα μοντέλο ποντικού που συνοψίζει σε ικανοποιητικό βαθμό τον ανθρώπινο φαινότυπο της φαινυλκετονουρίας, στο οποίο σε ποντίκια με ανεπάρκεια της υδροξυλάσης της φαινυλαλανίνης λόγω μεταλλαξιογένεσης, το ποντίκι Pah<sup>enu2</sup> (το οποίο αποτελεί εξαιρετικό μοντέλο για τη φαινυλκετονουρία στον άνθρωπο) φέρει στη θέση 788 του cDNA της υδροξυλάσης της φαινυλαλανίνης του ποντικού μια μετάβαση T σε C, η οποία αντικαθιστά στην καταλυτική θέση μια διατηρημένη φαινυλαλανίνη με μια σερίνη και απενεργοποιεί πλήρως την πρωτεΐνη της υδροξυλάσης της φαινυλαλανίνης. Τα ομόζυγα ποντίκια σε σχέση με τα ετερόζυγα ή με τα άγριου τύπου, έχουν υπερφαινυλαλανιναιμία, είναι υποχρωματισμένα, με ήπια καθυστερημένη ανάπτυξη και γνωστική εξασθένηση. Όσον αφορά στα θηλυκά ποντίκια που έχουν προσβληθεί, προσομοιάζουν αρκετά το σύνδρομο φαινυλκετονουρίας της ανθρώπινης μητέρας, καθώς είναι γόνιμα και πολλοί από τους απογόνους τους παρουσιάζουν δομικά ελαττώματα που περιλαμβάνουν συγγενείς καρδιακές βλάβες [13,17]

Ακόμα, από το ίδιο μοντέλο ποντικού, έχει φανεί ότι η υπερφαινυλαλανιναιμία προκαλεί διαταραχές της νευρωτικής δένδρικής ανάπτυξης και της συναπτικής συνδεσιμότητας, δηλαδή της λευκής ουσίας. Σε τέτοια ποντίκια με υπερφαινυλαλανιναιμία,

φαίνεται επιπλέον να έχουμε μειωμένη παραγωγή ενέργειας με αντίκτυπο στη σοβαρότητα των συμπεριφορικών ανωμαλιών τους, με κυριότερη την σημαντική εξασθένηση της μνήμης, λόγω της μείωσης του μεταβολισμού της γλυκόζης στον μετωπιαίο εγκεφαλικό φλοιό, που πιθανόν είναι αποτέλεσμα της αναστολής της πυροσταφυλικής κινάσης με τη μεσολάβηση της φαινυλαλανίνης ή άλλων ενζύμων γλυκόλυσης ή οξειδωτικής φωσφορύλιωσης.

Από μελέτες στο ίδιο μοντέλο ποντικίου, έχει αποδειχθεί ότι η φαινυλαλανίνη σε συγκεντρώσεις χιλιοστογραμμοριακές δημιουργεί συσσωματώματα ινιδίων που προσομοιάζουν με αμυλοειδή τα οποία θυμίζουν τις αμυλοειδείς πλάκες που σχετίζονται με τη νόσο Alzheimer και υπάρχει η υπόθεση ότι έχουν παθογενετικό ρόλο στα γνωστικά ελλείμματα που υπάρχουν στη φαινυλκετονουρία. Αυτό, εκτός από τον εγκέφαλο των συγκεκριμένων ποντικών, βρέθηκε και σε έναν ανθρώπινο εγκέφαλο με φαινυλκετονουρία που εξετάστηκε μετά τον θάνατό του.

Επιπλέον ίσως η αυξημένη φαινυλαλανίνη να επιδρά σημαντικά και στο επιγονιδίωμα, αφού αποδεδειγμένα μεταβάλλει το πρότυπο μεθυλίωσης μιας ομάδας γνωστών μεθυλιωμένων γονιδίων, που συμπεριλαμβάνουν ρυθμιστικά microRNA στον εγκέφαλο και το αίμα ασθενών με φαινυλκετονουρία και ποντικών Pah<sup>enu2</sup>.

Ακόμα, η αυξημένη υπεροξείδωση λιπιδίων και η μικρογλοιακή ενεργοποίηση στον εγκέφαλο ποντικών Pah<sup>enu2</sup>, υποδεικνύουν αυξημένο οξειδωτικό στρες που σχετίζεται με την υπερφαινυλαλανιναιμία [17].

#### 2.4.1. Γονιδιακή θεραπεία

Ο επαναπληθυσμός του ήπατος με ηπατοκύτταρα ή βλαστοκύτταρα άγριου τύπου, αποτελεί μια πιθανή θεραπεία που διερευνάται για εγγενή σφάλματα του μεταβολισμού σε ζωικά μοντέλα, αλλά και σε ανθρώπους και αφορά στη μεταμόσχευση ηπατοκυττάρων ή βλαστοκυττάρων άγριου τύπου στο ήπαρ [13].

Αναλυτικότερα, σε ποντίκια με ανεπάρκεια της υδροξυλάσης της φαινυλαλανίνης, η μεταμόσχευση ηπατοκυττάρων άγριου τύπου, έδειξε, σε αυτά που είχαν πετύχει τουλάχιστον 10% επαναπληθυσμό του ήπατος, πλήρη διόρθωση των συγκεντρώσεων της φαινυλαλανίνης στο αίμα, σε συνθήκες βέβαια που παρείχαν στα κύτταρα δότες επιλεκτικό πλεονέκτημα ανάπτυξης. Από την άλλη, σε ποντίκια που είχαν πετύχει επαναπληθυσμό του ήπατος σε ποσοστό 5 με 10%, τα επίπεδα φαινυλαλανίνης αίματος διορθώθηκαν μόνο εν μέρει. Δηλαδή, ο θεραπευτικός ουδός για την πλήρη διόρθωση της κάθαρσης της φαινυλαλανίνης είναι το 10% περίπου των ηπατοκυττάρων που εκφράζουν την υδροξυλάση της φαινυλαλανίνης, ποσοστό που είναι επίσης σημαντικό για την αποτελεσματικότητα της γονιδιακής θεραπείας της φαινυλκετονουρίας που στοχεύει στο ήπαρ. Βέβαια, τα κύτταρα που εκφράζουν την υδροξυλάση της φαινυλαλανίνης, δεν παρουσιάζουν κανένα φυσικό πλεονέκτημα

επιλεκτικής ανάπτυξης σε σχέση με ηπατοκύτταρα με ανεπάρκεια της υδροξυλάσης της φαινυλαλανίνης. Δηλαδή, για να επιτευχθεί ένας επαναπληθυσμός του ήπατος σε βαθμό που θα έχει θεραπευτικό αντίκτυπο στη φαινυλκετονουρία, απαιτείται ένα επιλεκτικό πλεονέκτημα ανάπτυξης για τα κύτταρα δότες, ακόμα και υπό συνθήκες που διεγείρουν την αναγέννηση των ηπατοκυττάρων, όπως είναι η μερική ηπατεκτομή, γεγονός που αποτελεί και τον κύριο περιορισμό της χρήσης της μεταμόσχευσης των ηπατοκυττάρων ως θεραπεία για τη φαινυλκετονουρία [13].

Το πρώτο πείραμα για την πιθανή αποτελεσματικότητα της κατευθυνόμενης από το ήπαρ γονιδιακής θεραπείας, αφορούσε ποντίκια Pah<sup>enu2</sup> που έλαβαν πειραματική θεραπεία με φορέα ανασυνδιασμένου αδενοϊού, ο οποίος εκφράζει την υδροξυλάση της φαινυλαλανίνης από το ανθρώπινο cDNA της υδροξυλάσης της φαινυλαλανίνης, στα οποία τα επίπεδα φαινυλαλανίνης αίματος διορθώθηκαν πλήρως στα ποντίκια που πέτυχαν ηπατική δραστηριότητα της υδροξυλάσης της φαινυλαλανίνης μεγαλύτερη από 10%. Βέβαια, η υπερφαινυλαλανιναιμία επανήλθε μετά από δύο εβδομάδες, όταν η ανοσομεσολαβούμενη καταστροφή των ηπατοκυττάρων που υπέστησαν μεταγωγή, επέφερε απώλεια της δραστηριότητας της υδροξυλάσης της φαινυλαλανίνης, με την επαναχορήγηση του φορέα του αδενοϊού να αποδεικνύεται αναποτελεσματική, καθώς πλέον σχηματίζονταν αντισώματα που τον εξουδετέρωναν [13,17].

Μια ακόμη κατευθυνόμενη από το ήπαρ γονιδιακή θεραπεία της φαινυλκετονουρίας, που όμως έχει πετύχει μακροχρόνια διόρθωση στη συγκέντρωση της φαινυλαλανίνης στο αίμα, αφορά στη χρήση φορέων ανασυνδιασμένου αδενοσχετιζόμενου ιού ορότυπου 8 (rAAV8). Μέσω αυτού λοιπόν, προκλήθηκε σε ποντίκια Pah<sup>enu2</sup> διόρθωση των τιμών της φαινυλαλανίνης στο αίμα για ένα χρόνο, χωρίς όμως να επέλθει η ανοσοποιητική απόρριψη που παρατηρήθηκε με τη θεραπεία με τον αδενοϊό. Ωστόσο, η διόρθωση της ανεπάρκειας της υδροξυλάσης της φαινυλαλανίνης δεν ήταν μόνιμη, καθώς πιστεύεται ότι τα επισωματικά γονιδιώματα του φορέα rAAV εξαλείφονται λόγω της συνεχούς αναγέννησης των ηπατοκυττάρων, με αποτέλεσμα την απώλεια της έκφρασης της υδροξυλάσης της φαινυλαλανίνης. Και πάλι η επανέγχυση του φορέα δεν είναι αποτελεσματική, λόγω αντισωμάτων [13,17].

Να σημειωθεί πως μια ακόμη προσέγγιση της γονιδιακής θεραπείας που βρίσκεται υπό βελτίωση, αφορά στον ενήλικο σκελετικό μυ, καθώς αυτός δεν έχει συνεχή κυτταρική διαίρεση, ενώ η ενδομυϊκή ένεση σε ποντίκια Pah<sup>enu2</sup> με έναν φορέα ορότυπου rAAV 5, είχε σαν αποτέλεσμα την έκφραση ενός συστήματος υδροξυλίωσης της φαινυλαλανίνης συμπεριλαμβανομένων των συνθετικών βημάτων της τετραϋδροβιοπτερίνης που απαιτούνται για την πλήρη υποστήριξη της δραστηριότητας της υδροξυλάσης της [13].

Η γονιδιακή θεραπεία με φακοϊό ίσως επέτρεπε τη γονιδιωματική ενσωμάτωση του γονιδίου της υδροξυλάσης της φαινυλαλανίνης, παρέχοντας μια σταθερή πηγή ενζύμου, ενώ

όλοι οι ασθενείς θα μπορούσαν να λάβουν αυτή τη θεραπεία, καθώς δεν υπάρχει προϋπάρχουσα ανοσία στους φακοϊκούς φορείς. Βέβαια υπάρχει η πιθανότητα μεταλλαξιογένεσης, ενώ ακόμα δεν υπάρχουν δημοσιευμένα προκλινικά δεδομένα χρήσης αυτής της μεθόδου στη φαινυλκετονουρία [17].

#### **2.4.2. Αντικατάσταση ενζύμων**

Αφορά στρατηγικές που έχουν χρησιμοποιηθεί επιτυχώς για τη θεραπεία εγγενών σφαλμάτων του μεταβολισμού. Για τη χρήση της ενζυμικής αντικατάστασης στη φαινυλκετονουρία, θα χρειαζόταν να γίνει εισαγωγή ενεργού πρωτεΐνης της υδροξυλάσης της φαινυλαλανίνης στο ήπαρ, που αποτελεί ένα πολύπλοκο τετραμερές με πολλές απαιτήσεις συμπαράγοντα για να διατηρηθεί η σταθερότητα [13].

##### **2.4.2.1. Αμμωνιακή λύαση της φαινυλαλανίνης συζευγμένη με πολυαιθυλενογλυκόλη (PEG-PAL)**

Μια εναλλακτική προσέγγιση αυτού, που βρίσκεται πιο κοντά στην κλινική χρήση, παρέχει η ενζυμική υποκατάσταση με το ένζυμο αμμωνιακή λύαση της φαινυλαλανίνης (PAL) από μη θηλαστικά, καθώς είναι ενεργό ως μονομερές και δεν απαιτεί εξωγενείς συμπαράγοντες [11,13].

Δηλαδή, το φάρμακο αυτό υποκαθιστά την υδροξυλάση της φαινυλαλανίνης [16], αφού μεταβολίζει τη φαινυλαλανίνη με ανεξάρτητο από την υδροξυλάση της μηχανισμό, κάτι που το καθιστά σε θεωρητικό υπόβαθρο βέβαια, αποτελεσματικό για όλους τους ασθενείς με τη συγκεκριμένη ανεπάρκεια [11].

Υποδόρια, καθημερινή ένεση με αυτό το ένζυμο, τροποποιημένη βέβαια με πολυαιθυλενογλυκόλη (PEG) για να προστατευτεί από το ανοσοποιητικό σύστημα, ονόματι πεγκβαλιάση, οδηγεί σε παρατεταμένες συγκεντρώσεις του στο αίμα, όπου και μετατρέπει (αποικοδομεί) τη φαινυλαλανίνη που υπάρχει εκεί σε αμμωνία και σε τρανς κινναμικό οξύ, το οποίο είναι αβλαβές και, μαζί με το βενζοϊκό οξύ, το οποίο αποτελεί το τελικό προϊόν του οξέος αυτού, συζευγνύονται με γλυκίνη και απεκκρίνονται με τα ούρα [11,13,16]. Η αποτελεσματικότητά του στη μείωση της φαινυλαλανίνης φαίνεται να ισχύει ακόμη και σε περιπτώσεις ασθενών οι οποίοι ακολουθούν μια εντελώς ελεύθερη διατροφή [11].

Φαίνεται βέβαια πως η πιο κατάλληλη εκδοχή της αμμωνιακής λύασης της φαινυλαλανίνης για τη θεραπεία της φαινυλκετονουρίας, είναι αυτή από το κυανοβακτήριο *Anabaena variabilis*, τροποποιημένη βέβαια γενετικά με πολυαιθυλενογλυκόλη (rAvPAL-PEG, που αλλού αναφέρεται ως πεγκυλιωμένη ανασυνδιασμένη αμμωνιακή λύαση της φαινυλαλανίνης [16,25]), που πήρε έγκριση από τον FDA το 2018 με την ονομασία Palynziq.

ως η πρώτη θεραπεία που μπορεί να υποκαθιστά την υδροξυλάση της φαινυλαλανίνης [25,26], καθώς σε ποντίκια Pah<sup>enu2</sup> οδήγησε σε πλήρη και διαρκή διόρθωση των επιπέδων της φαινυλαλανίνης στο αίμα.

Συνέπεια αυτού, ήταν η επιτυχής πραγματοποίηση στις ΗΠΑ μιας κλινικής δοκιμής, μόνο σε ενήλικες, Φάσης I ενέσιμου rAvPAL-PEG σε 25 ασθενείς με φαινυλκετονουρία, όπου οι συχνότερες ανεπιθύμητες ενέργειες ήταν η ζάλη και αντίδραση στο σημείο που έγινε ένεση και που σε αυτούς που έλαβαν την υψηλότερη δόση (σε πέντε δηλαδή ασθενείς) επέφερε μείωση της φαινυλαλανίνης στο αίμα κατά 54%, με την πολλαπλών θέσεων δοκιμή φάσης II να αναφέρει μείωση περίπου 65% της φαινυλαλανίνης σε σχέση με τα προ-θεραπείας επίπεδα της, αλλά και ανοσολογικές αντιδράσεις [11,13,16], ενώ υποβλήθηκε και σε κλινικές δοκιμές Φάσης III το 2001, όπου χρησιμοποιήθηκε και εικονικό φάρμακο (placebo) [11,16]. Στην ομάδα που έλαβε το πραγματικό φάρμακο, τα επίπεδα φαινυλαλανίνης διατηρήθηκαν στα αρχικά, εν αντιθέσει με εκείνη που έλαβε το placebo της οποίας αυξήθηκαν. Σημειώθηκαν όμως στην πρώτη ομάδα ανεπιθύμητες ενέργειες με τις συχνότερες να είναι η κόπωση, ο πονοκέφαλος και η αρθραλγία [16].

Σε άλλες πηγές αναφέρεται ότι ενώ είναι εξαιρετικά αποτελεσματική στη μείωση της φαινυλαλανίνης για τους περισσότερους ασθενείς, δίνοντας μάλιστα στην πλειοψηφία αυτών τη δυνατότητα να απομακρυνθούν από τη διαιτητική θεραπεία, έχει μειονεκτήματα. Σε αυτά περιλαμβάνονται οι τοπικές αλλά και γενικότερες δερματικές αντιδράσεις, αρθραλγία που προαναφέρθηκε αλλά και σε πολύ σπανιότερες περιπτώσεις αναφυλακτική απόκριση, που είναι συνέπεια δύο διαφορετικών ανοσολογικών αποκρίσεων [17,30,31]. Η ισχυρότερη συνήθως είναι τους πρώτους έξι μήνες περίπου, με αντισώματα anti-PEG, ενώ τα αντισώματα αυτά εμμένουν, προκαλώντας λιγότερο σοβαρά συμπτώματα [17]. Δηλαδή η ανοσοαπόκριση ήταν διφασική και συνίστατο κυρίως από anti-PEGIgG, anti-PEGIgM και anti-PALIgM, ενώ μετά από έξι μήνες η απόκριση anti-PEG, με κύρια πλέον την anti-PALIgG. Η πλειοψηφία ανέπτυξε επίσης και αντισώματα κατά της παγκβαλιάσης IgG4 [31]. Έτσι, καθώς χρειάζονται μήνες για να ξεπεραστεί αυτή η ανοσολογική απόκριση, οι ασθενείς θα πρέπει να είναι επίμονοι στη θεραπεία ώστε να γίνει αποτελεσματικό το φάρμακο.

Επιπλέον καθώς το μεγαλύτερο μέρος της απορροφούμενης φαινυλαλανίνης προέρχεται από τη λεγόμενη εντεροκυκλοφορία μεταξύ εντέρου και σώματος και όχι από τη διατροφική πρωτεΐνη, εισέρχονται στο έντερο μεγάλες ποσότητες πρωτεϊνών, ενζύμων και πολυπεπτιδίων μέσω των παγκρεατικών και άλλων αδενικών εκκρίσεων, οι οποίες υφίστανται θρυπτική πέψη για να απελευθερωθούν τα αμινοξέα που επαναρροφούνται στο έντερο. Σε ένα μοντέλο ποντικού λοιπόν με φαινυλκετονουρία, το δια στόματος χορηγούμενο φάρμακο μεταβόλισε αποτελεσματικά την εντερική φαινυλαλανίνη, υποδηλώνοντας ότι τα δια στόματος σκευάσματα μπορεί να αποτελούν αποτελεσματική θεραπευτική προσέγγιση [17].

Άλλη πηγή αναφέρει ότι προς το παρόν δεν υπάρχει δημοσιευμένο πρωτόκολλο απευαισθητοποίησης για την αναφυλαξία της πρόσφατα εγκεκριμένης πεγκβαλιάσης. Η ίδια πηγή, παρουσιάζει τη διαδικασία απευαισθητοποίησης μιας εικοσιεξάχρονης Καυκάσιας ασθενούς με φαινυλκετονουρία έπειτα από σοβαρή αντίδρασή της στο φάρμακο Palynziq (αναφυλαξία τρίτου βαθμού), ενώ παρότι η σύσταση για τη συγκεκριμένο βαθμό αναφυλαξίας είναι η εξέταση για διακοπή του φαρμάκου, ζυγίζοντας τα οφέλη του, παραπέμφθηκε σε αλλεργία για πιθανή απευαισθητοποίηση. Αναλυτικότερα, δύο εβδομάδες μετά την έναρξη του φαρμάκου με ημερήσια δόση τα 10 mg, λίγα λεπτά μετά από την ένεση, εμφάνισε γενικευμένο κνησμό και διάχυτη κνίδωση, αγγειοοίδημα στο πρόσωπο, εφίδρωση και έμετο, ενώ χορήγησε η ίδια επινεφρίνη, αξιολογήθηκε αρχικά σε τοπικό τμήμα επειγόντων και έπειτα από συζήτηση πάρθηκε απόφαση πραγματοποίησης πρωτοκόλλου απευαισθητοποίησης 13 σταδίων, με χρήση τριών συγκεντρώσεων του διαλύματος Palynziq, που στέφθηκε με επιτυχία και χωρίς επιπλοκές.

Θεωρείται ότι οι οξείες συστηματικές αντιδράσεις υπερευαισθησίας, προκαλούνται από τις χρησιμοποιούμενες πολυαιθυλενογλυκόλες (PEGs), που ενώ πιστεύεται ότι βιολογικά είναι αδρανείς, μια πρόσφατη ανασκόπηση ανέφερε τις τελευταίες 14 δεκαετίες 37 περιπτώσεις υπερευαισθησίας σε αυτές, με το ευθυνόμενο μηχανισμό να μη μας είναι πλήρως κατανοητός [30].



## ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

### Κεφάλαιο 3. Σκοπός και μεθοδολογία.

**3.1.Σκοπός** της παρούσας βιβλιογραφικής ανασκόπησης είναι η μελέτη της νόσου της φαινυλκετονουρίας μέσω έγκυρων επιστημονικών πηγών, εστιάζοντας στα μεγάλα ουδέτερα αμινοξέα, καθώς έχουν προταθεί ως μέθοδος αντιμετώπισής της.

#### 3.1.1. Επιμέρους στόχοι.

- σφαιρική κάλυψη της νόσου
- διερεύνηση της επίδρασης των μεγάλων ουδέτερων αμινοξέων στα επίπεδα φαινυλαλανίνης
  - στον εγκέφαλο των ασθενών
  - στο πλάσμα
  - στο έντερο
- διερεύνηση της επίδρασης των μεγάλων ουδέτερων αμινοξέων
  - στους νευροδιαβιβαστές του εγκεφάλου
  - στα επίπεδα των απαραίτητων αμινοξέων

#### 3.2. Μεθοδολογία.

Έγινε μελέτη επιστημονικών άρθρων και δημοσιεύσεων, κυρίως από τους ηλεκτρονικούς ιστότοπους Pubmed, ScienceDirect, Medline και Googlescholar, ώστε να είμαστε βέβαιοι για την εγκυρότητα των πληροφοριών, αλλά και κάποιων δημοσιευμένων ηλεκτρονικών επιστημονικών βιβλίων όπως και έντυπων. Εστίασαμε σε πρόσφατα άρθρα, καθώς έδιναν πληροφορίες τόσο για τη θεραπευτική πορεία της νόσου ιστορικά, αλλά και για την εξέλιξη αυτής στις μέρες μας και την ανάπτυξη καινούριων μεθόδων. Εκτός από τις χρονολογικά παλιές πηγές, αποκλείστηκαν και εκείνες η πρόσβαση στις οποίες δεν ήταν ελεύθερη και που δε χρησιμοποιούσαν την αγγλική ή την ελληνική ως γλώσσες συγγραφής. Καθώς τα δεδομένα για το ακριβές θέμα είναι σχετικά περιορισμένα, έγινε προσπάθεια ευρύτερης κάλυψης της νόσου, με στοιχεία για την παθοφυσιολογία και για όλες τις διαθέσιμες θεραπευτικές της προσεγγίσεις. Δύο πηγές αποτελούν κατευθυντήριες οδηγίες, μία πηγή αποτελεί συνοδευτικό της μιας εκ των δύο κατευθυντήριων οδηγιών, τρεις αποτελούν ανασκοπήσεις, μία πηγή αφορά σε έρευνα τόσο σε ζωικό μοντέλο όσο και σε ανθρώπους, μία αφορά σε έρευνα σε ζωικό μοντέλο και τέσσερις πηγές αφορούν σε έρευνα σε ανθρώπους. Για την ανασκόπηση χρησιμοποιήθηκαν οι λέξεις κλειδιά: φαινυλαλανίνη, φαινυλκετονουρία, υπερφαινυλαλανιναιμία, ανεπάρκεια της υδροξυλάσης της φαινυλαλανίνης και μεγάλα ουδέτερα αμινοξέα.

## **Κεφάλαιο 4. Αποτελέσματα.**

### **4.1. Δεδομένα από Κατευθυντήριες οδηγίες.**

Δύο πηγές από τις οποίες αντλήθηκαν πληροφορίες για την συγκεκριμένη βιβλιογραφική ανασκόπηση αποτελούν κατευθυντήριες οδηγίες και μία πηγή αποτελεί συνοδευτική των Αμερικάνικων κατευθυντήριων οδηγιών.

Αναλυτικότερα, η δημιουργία της συγκεκριμένης κατευθυντήριας γραμμής που μελετήθηκε, είχε σαν στόχο την ανασκόπηση της ισχύος της ιατρικής βιβλιογραφίας για τη θεραπεία της ανεπάρκειας της υδροξυλάσης της φαινυλαλανίνης και την ανάπτυξη συστάσεων για τη διάγνωση και τη θεραπεία της, και έγινε από το Εθνικό Ινστιτούτο Υγείας (NIH) και τον Οργανισμό Έρευνας και Ποιότητας Υγείας (AHRQ). Από μια ομάδα συνταχθείσα από το Αμερικανικό Κολλέγιο Ιατρικής Γενετικής και Γονιδιωματικής εξετάστηκαν πάνω από 80 αναφορές, ενώ για τη διατύπωση των συστάσεων εξετάστηκε κάθε στοιχείο της κατευθυντήριας γραμμής ξεχωριστά και η συναινετική σύσταση για τις κατευθυντήριες οδηγίες έγινε με βάση τη συμφωνία του 75% της ομάδας. Το επίπεδο των αποδεικτικών στοιχείων και οι συστάσεις εκχωρήθηκαν σύμφωνα με το SIGN (Scottish Intercollegiate Guidelines Network/ Σκοτσέζικο Διασυλλογικό Κατευθυντήριο Δίκτυο) [11].

Οι Ευρωπαϊκές κατευθυντήριες γραμμές για τη φαινυλκετονουρία που χρησιμοποιήθηκαν στη συγκεκριμένη βιβλιογραφική ανασκόπηση, αναπτύχθηκαν σύμφωνα με τη μέθοδο AGREE (Appraisal of Guidelines for Research and Evaluation) από επαγγελματίες από δέκα διαφορετικές ευρωπαϊκές χώρες. Χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος SIGN και για τα διαθέσιμα ή καθόλου στοιχεία η μέθοδος Delphi και διατυπώθηκαν 70 δηλώσεις [15].

Δεδομένα αντλήθηκαν και από ένα άρθρο που αποτελεί συνοδευτικό της κατευθυντήριας οδηγίας του Αμερικανικού Κολλεγίου Ιατρικής Γενετικής και Γονιδιωματικής για τη θεραπεία της υδροξυλάσης της φαινυλαλανίνης, με κύρια βάση δεδομένων την PubMed [19].

### **4.2. Δεδομένα από ανασκοπήσεις.**

Η μεταφορά των μεγάλων ουδέτερων αμινοξέων δια του αιματεγκεφαλικού φραγμού γίνεται μέσω του μεταφορέα LAT1 ή αλλιώς SLCA7A5 και έχει προταθεί ότι υπάρχει ανταγωνισμός μεταξύ των LNAA που χορηγούνται μέσω συμπληρωμάτων και της υπάρχουσας φαινυλαλανίνης για τη δέσμευση σε αυτόν, με πιθανό επακόλουθο τη διόρθωση της εγκεφαλικής ανισορροπίας σε αμινοξέα [17,23,24]. Αυτή η υπόθεση για μείωση της

εγκεφαλικής φαινυλαλανίνης μέσω της αυξημένης συγκέντρωσης των LNAA στο αίμα, έχει εξεταστεί σε αρουραίους με υπερφαινυλαλανιναιμία, στους οποίους η φαινυλαλανίνη στον εγκέφαλο ήταν σημαντικά μειωμένη σε σχέση με αρουραίους που δεν είχαν λάβει LNAA, έχοντας παρόμοιες συγκεντρώσεις φαινυλαλανίνης στο αίμα [23,24]. Έχουν γίνει μελέτες σε ασθενείς με φαινυλκετονουρία με συγκεκριμένα μεγάλα ουδέτερα αμινοξέα, όπως η βαλίνη, η λευκίνη και η ισολευκίνη, που επέφεραν μια ελαφρά βελτίωση στη νευροψυχολογική λειτουργία, και άλλες μελέτες για τη δια στόματος χορήγηση των LNAA που επέφεραν μείωση της εγκεφαλικής φαινυλαλανίνης [23]. Έχει προταθεί η χορήγηση συμπληρωμάτων LNAA, χωρίς φαινυλαλανίνη, σε υψηλότερες συγκεντρώσεις από τις κανονικές με σκοπό να ξεπεραστεί ο ανταγωνισμός και να εισέλθουν και αυτά στον εγκέφαλο. Μάλιστα σαν πιο αποτελεσματική στη μείωση της εισόδου της φαινυλαλανίνης στον εγκέφαλο, έχει προταθεί συγκεκριμένα η λευκίνη ή και η ισολευκίνη [22,24].

Άλλη θεραπευτική στρατηγική αφορά στη χρήση συμπληρώματος συγκεκριμένα τυροσίνης και τρυπτοφάνης με στόχο την αύξηση της σύνθεσης νευροδιαβιβαστών του εγκεφάλου, αλλά και συμπλήρωμα LNAA για τη μείωση της φαινυλαλανίνης αίματος και την αύξηση των συγκεντρώσεων εγκεφαλικών αμινοξέων. Όσον αφορά στη μείωση των συγκεντρώσεων της αιματικής φαινυλαλανίνης μέσω των LNAA, βρέθηκε 50% μείωσή της με 0,5-1g/kg/d συμπληρώματος μεγάλων ουδέτερων αμινοξέων, υποδηλώνοντας ότι τακτική τους χρήση μπορεί να επιφέρει μείωση της απορρόφησης της φαινυλαλανίνης στο γαστρεντερικό σωλήνα, βασισόμενη στη σκέψη ότι η μεταφορά τους πραγματοποιείται και στον εντερικό-αιματικό φραγμό. Όσον αφορά στη χρήση τους για την αύξηση των συγκεντρώσεων των εγκεφαλικών αμινοξέων, μέσω των ανασκοπήσεων έχουν βρεθεί μειωμένες συγκεντρώσεις των LNAA στον εγκέφαλο ποντικών με φαινυλκετονουρία, ενώ σε εγκεφαλικό ιστό ανθρώπου έπειτα από νεκροψία έχουν βρεθεί μειωμένες συγκεντρώσεις τυροσίνης, και στηρίζεται και πάλι στο κοινό σύστημα μεταφοράς των μεγάλων ουδέτερων αμινοξέων και της φαινυλαλανίνης στον εγκέφαλο [23].

### **4.3. Δεδομένα από μελέτες σε ζώα.**

Από υποστηρικτικές μελέτες σε ποντίκια έχει φανεί ότι τα LNAA μειώνουν σε σημαντικό βαθμό την εγκεφαλική φαινυλαλανίνη, μειώνουν τις ανεπάρκειες του εγκεφάλου σε μεγάλα ουδέτερα αμινοξέα και οδηγούν σε βελτίωση του νευροδιαβιβαστή μονοαμίνης [24]. Σε μοντέλο ποντικών με φαινυλαλανίνη τα συμπληρώματα μεγάλων ουδέτερων αμινοξέων (χαμηλά όμως σε θρεονίνη) μείωσαν τη φαινυλαλανίνη στον εγκέφαλο κατά 26% εν συγκρίσει με εκείνα που καταλάωναν κανονική τροφή και ανακούφισαν τις εγκεφαλικές ανεπάρκειες σε τρυπτοφάνη, αλλά όχι σε τυροσίνη. Επιπλέον αύξησαν τις συγκεντρώσεις της σεροτονίνης από 35% σε 71% και της νορεπινεφρίνης από 57% σε 86%, αλλά όχι της

ντοπαμίνης. Ακόμα, σε ποντίκια με φαινυλκετονουρία που λάμβαναν τροφή με κανονική περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη, μείωσαν τη φαινυλαλανίνη αίματος κατά 33%. Από μια τυχαιοποιημένη ελεγχόμενη δοκιμή και μια ανοιχτή σε ασθενείς, συμπλήρωμα μεγάλων ουδέτερων αμινοξέων 0,5-1 γραμμάρια/κιλό/ημέρα, επέφερε μείωση της φαινυλαλανίνης αίματος κατά 39% και 50% αντίστοιχα [16].

Σε μοντέλο ποντικίου με φαινυλκετονουρία, αξιολογήθηκαν 114 ποντίκια Pah-Enu2 με διαφορετικές ομάδες διατροφικής θεραπείας, για τις συγκεντρώσεις αμινοξέων στο αίμα, της εγκεφαλικής φαινυλαλανίνης και των επιπέδων μονοαμινεργικών νευροδοαβιβαστών κάνοντας χρήση πολλαπλών αναλύσεων γραμμικής παλινδρόμησης, με σκοπό τη διερεύνηση της σχέσης μεταξύ της βιοχημείας του εγκεφάλου και της φαινυλαλανίνης στο πλάσμα, αλλά και για το εάν τα LNAA στο αίμα θα μπορούσαν να εξηγήσουν τα επίπεδα εγκεφαλικής φαινυλαλανίνης και μονοαμινεργικών νευροδοαβιβαστών, από το Ινστιτούτο Εξελικτικών Επιστημών της Ζωής Groningen (GELIFES) και το Πανεπιστημιακό Ιατρικό Κέντρο Groningen(UMCG). Να σημειωθεί ότι η σύγκριση των χαρακτηριστικών μεταφοράς των LNAA δια του αιματοεγκεφαλικού φραγμού σε ανθρώπους και αρουραίους έδειξε ότι οι απόλυτες τιμές μεταξύ των δύο ειδών διαφέρουν, αλλά οι τιμές Km μεμονωμένων μεγάλων ουδέτερων αμινοξέων έδειξαν ισχυρή συσχέτιση, δείχνοντας ότι τα δεδομένα αυτά των ποντικών, μπορούν να αντικατοπτρίζουν την ανθρώπινη κατάσταση [25].

#### **4.4. Δεδομένα από μελέτες σε ανθρώπους.**

Από δύο μελέτες της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Emory, Τμήμα Ανθρώπινης Γενετικής σε άνδρες και γυναίκες διαφόρων ηλικιών, προστέθηκαν άτομα με φαινυλκετονουρία 4 ετών και άνω, που είχαν εισαχθεί στην σαπροπερίνη. Έτσι, σε 34 άνδρες και 30 γυναίκες(53% άνδρες) ηλικίας 4,6-47 ετών με φαινυλκετονουρία διαγνωσμένοι με νεογνικό προσυμπτωματικό έλεγχο, από τους οποίους οι 37 ήταν παιδιατρικοί ασθενείς (<18 ετών), έγινε εξέταση των τιμών των αμινοξέων στο πλάσμα και ανάλυση αρχείων τροφής 3 ημερών από εγγεγραμμένο διαιτολόγο του Πανεπιστημίου Emory χρησιμοποιώντας το Σύστημα Διατροφικών Δεδομένων για Έρευνα(NDSR). Βάσει των επιπέδων της φαινυλαλανίνης στο αίμα (συνιστώμενο εύρος 120-360  $\mu\text{mol/L}$ ), έγινε προσδιορισμός για το εάν οι ασθενείς συμμορφώνονται με τη διατροφή για φαινυλκετονουρία, με τους άνω των 360  $\mu\text{mol/L}$  να κατηγοριοποιούνται ως «μη συμμορφούμενοι», ενώ για να προσδιοριστεί η τήρηση της συνταγογραφούμενης ιατρικής τροφής, η αναφερόμενη πρόσληψη αφαιρέθηκε από τη συνταγογραφούμενη και μετατράπηκε στο ποσοστό πρόσληψης κάτω από τη συνταγή και για τη συμμόρφωση με τη διατροφική φαινυλαλανίνη, η συνταγογραφούμενη διατροφική φαινυλαλανίνη αφαιρέθηκε από την αναφερόμενη πρόσληψη φαινυλαλανίνης και

μετατράπηκε σε ποσοστιαία πρόσληψη πάνω από τη συνταγή. Έτσι, σε μια δευτερεύουσα αναδρομική μελέτη (cohort), με έγκριση από το Institutional Review Board (IRB) του πανεπιστημίου της Γεωργίας, διερευνήθηκε η σχέση ανάμεσα στην αναλογία φαινυλαλανίνη/τυροσίνη (καθώς έχει βρεθεί ότι μακροπρόθεσμα σχετίζεται με την εκτελεστική λειτουργία, το άγχος και τον κίνδυνο κατάθλιψης) των μεγάλων ουδέτερων αμινοξέων πλάσματος και των προτύπων διατροφικής πρόσληψης, ώστε να προσδιοριστεί ο ρόλος των LNAA από τα ιατρικά τρόφιμα και από ανέπαφα τρόφιμα σε αυτή την αναλογία. Στο εργαστήριο γενετικής Emory αναλύθηκαν τα αμινοξέα του πλάσματος χρησιμοποιώντας ποσοτική ιοντοανταλλακτική χρωματογραφία, ενώ τα αναφερόμενα μεγάλα ουδέτερα αμινοξέα του πλάσματος περιλάμβαναν τη φαινυλαλανίνη, την τυροσίνη, τη βαλίνη, τη λευκίνη, την ισολευκίνη, τη μεθειονίνη, τη θρεονίνη και την ιστιδίνη. Για μια υποκοόρτη στη μελέτη αναφέρθηκε επίσης η τρυπτοφάνη. Για την αξιολόγηση των σχέσεων μεταξύ των μεγάλων ουδέτερων αμινοξέων πλάσματος, της αναλογίας φαινυλαλανίνη:τυροσίνη πλάσματος, της πρόσληψης μεγάλων ουδέτερων αμινοξέων από διατροφικές πηγές και την προσκόλληση στα ιατρικά τρόφιμα, χρησιμοποιήθηκαν το στατιστικό τεστ Kendall t και η πολυπαραγοντική παλινδρόμηση ενώ όλες οι στατιστικές αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν με SPSS (έκδοση 24.0). Στον Πίνακα 2 φαίνονται κάποια από τα χαρακτηριστικά της μελέτης σχετικά με τον αριθμό των ασθενών. Η μέση πρόσληψη πρωτεΐνης ανά κιλό σωματικού βάρους για όλη την ομάδα μελέτης ήταν 1,30 g/kg ( $\pm 0,64$ ), ενώ μετά την υποδιαίρεση ανά πηγή πρωτεΐνης, η μέση διαιτητική πρόσληψη άθικτης πρωτεΐνης ήταν 0,41 ( $\pm 0,32$ ) g/kg και 0,89 ( $\pm 0,62$ ) g/kg για την πρόσληψη πρωτεΐνης από ιατρικά τρόφιμα. Από τους 61 συμμετέχοντες που λάμβαναν ιατρικά τρόφιμα, σε έναν συνταγογραφήθηκε ένα προϊόν γλυκομακροπεπτιδίου (GMP), ενώ στους άλλους ένα συνθετικό ιατρικό τρόφιμο αμινοξέων χωρίς φαινυλαλανίνη. Μεταξύ αυτών που λάμβαναν το συνταγογραφούμενο ιατρικό τρόφιμο, 43 (70%) ανέφεραν ότι κατανάλωσαν την πλήρη συνταγογραφούμενη ποσότητα, ενώ το διάμεσο ποσοστό διατροφικής πρωτεΐνης από ιατρικά τρόφιμα ήταν 73,9%. Από τους 59 συμμετέχοντες με αναφερόμενο διατροφικό περιορισμό φαινυλαλανίνης (59 και όχι 64 γιατί για 3 άτομα η ιατρικά συνιστώμενη πρόσληψη φαινυλαλανίνης δεν ήταν διαθέσιμη λόγω της μεγάλης διάρκειας εκτός δίαιτας και 2 άτομα είχαν ήπια υπερφαινυλαλανιναιμία και επομένως δεν είχαν περιορισμό στη φαινυλαλανίνη), το 81% (δηλαδή 52 ασθενείς) είχε πρόσληψη τουλάχιστον 5% πάνω από τη συνιστώμενη, με 43 άτομα να υπερβαίνουν τη σύσταση πρόσληψης φαινυλαλανίνης περισσότερο από 20%. Η μη τήρηση του διαιτητικού περιορισμού της φαινυλαλανίνης ήταν μεγαλύτερη στους ενήλικες, με τη διάμεση πρόσληψή της 61,3% πάνω από τη συνιστώμενη, ενώ στους παιδιατρικούς ασθενείς η διάμεση υπερβάλλουσα πρόσληψη ήταν 26,3% πάνω από τη συνιστώμενη.

**Πίνακας 2.** Χαρακτηριστικά της μελέτης.

	αριθμός ασθενών	μέσος όρος ± τυπική απόκλιση
φύλο	34 άνδρες 30 γυναίκες	
ηλικιακή ομάδα	37 παιδιατρικοί ασθενείς 27 ενήλικες	
πρόσληψη φαινυλαλανίνης πάνω από τη συνιστώμενη (από 59 ασθενείς)	34 παιδιατρικοί ασθενείς 25 ενήλικες	27 ασθενείς (79,4%) 20 ασθενείς (80%)
πρόσληψη ιατρικού τροφίμου κάτω από τη συνταγογραφούμενη (από 64 ασθενείς)	37 παιδιατρικοί ασθενείς 27 ενήλικες	10 ασθενείς (27%) 10 ασθενείς (48%)

Large neutral amino acids in association with P:T ratio and diet in adult and pediatric patients with phenylketonuria, *Journal of Inherited Metabolic Disease*

Αποτελέσματα της συγκεκριμένης μελέτης για:

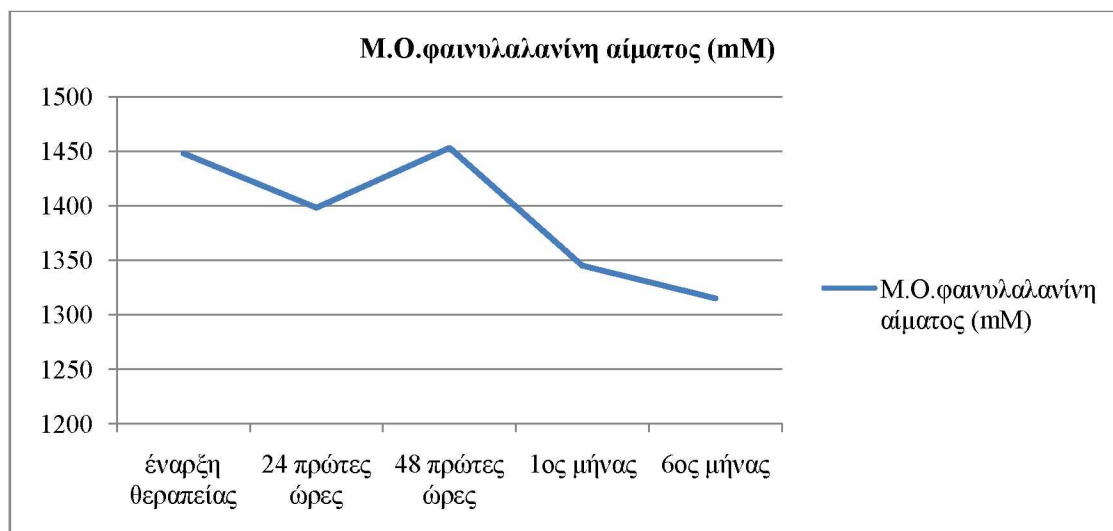
- διατροφικούς παράγοντες που επηρεάζουν την αναλογία φαινυλαλανίνης:τυροσίνη στο πλάσμα: όσον αφορά στα διατροφικά μεγάλα ουδέτερα αμινοξέα (g), δε βρέθηκε συσχέτιση με την αναλογία φαινυλαλανίνης:τυροσίνη στις ξεχωριστές ηλικιακές ομάδες. Όσον αφορά στους παιδιατρικούς ασθενείς, επίσης δε βρέθηκε συσχέτιση μεταξύ της πρόσληψης πρωτεΐνης (g, g/kg), της ενέργειας (kcal, kcal/kg) και της αναλογίας ιατρικών τροφίμων προς την ανέπαφη πρωτεΐνη με την αναλογία φαινυλαλανίνης:τυροσίνης στο πλάσμα. Συσχέτιση και μάλιστα αντίστροφη βρέθηκε στους ενήλικες ασθενείς, μεταξύ της πρόσληψης ολικής πρωτεΐνης (g/kg) και πρωτεΐνης από ιατρικά τρόφιμα με την αναλογία φαινυλαλανίνης:τυροσίνη, το οποίο δείχνει τη σημασία της διατροφικής προσκόλλησης/ τήρησης στο μεταβολικό έλεγχο. Όταν έγινε έλεγχος της ηλικίας η αναλογία αυτή συσχετίστηκε αντιστρόφως με τη διατροφική πρόσληψη (g) του άθροισματος των μεγάλων ουδέτερων αμινοξέων, ενώ από τη μελέτη φάνηκε και ισχυρή συσχέτιση της αναλογίας αυτής με την πρόσληψη ιατρικών τροφίμων και τη συνολική πρόσληψη πρωτεΐνης.
- διατροφικούς παράγοντες που επηρεάζουν τα μεγάλα ουδέτερα αμινοξέα του πλάσματος: Έγινε αξιολόγηση των συσχετίσεων μεταξύ της ατομικής διατροφικής πρόσληψης μεγάλων ουδέτερων αμινοξέων (g) και των επιπέδων τους στο πλάσμα και βρέθηκαν συνολικά σημαντικές θετικές συσχετίσεις με τις αθροιστικές τιμές LNAA και στους παιδιατρικούς ασθενείς με την ισολευκίνη και τη βαλίνη. Στους ενήλικες, βρέθηκαν θετικές συσχετίσεις με τη βαλίνη και με το άθροισμα των LNAA. Τόσο για τους ενήλικες όσο και για τους παιδιατρικούς, η διαιτητικό τυροσίνη συσχετίστηκε με τη βαλίνη πλάσματος μαζί με το άθροισμα LNAA πλάσματος, ενώ

για τους παιδιατρικούς η διατροφική τυροσίνη συσχετίστηκε και με την ισολευκίνη του πλάσματος και την τρυπτοφάνη. Κατόπιν όμως διορθώσεων, οι μόνες σημαντικές συσχετίσεις ήταν με τη βαλίνη στην παιδιατρική ομάδα και μεταξύ του διατροφικού άθροίσματος LNAA και του LNAA του πλάσματος (με τρυπτοφάνη) στους ενήλικες. Δεν βρέθηκαν σημαντικές συσχετίσεις μεταξύ των LNAA του πλάσματος και των μετρήσεων πρόσληψης διαιτητικής φαινυλαλανίνης, πρωτεΐνης από ιατρικά τρόφιμα, άθικτης πρωτεΐνης, ολικής πρωτεΐνης ή φύλου σε οποιαδήποτε ηλικιακή ομάδα.

- την αλληλεπίδραση των μεγάλων ουδέτερων αμινοξέων με την φαινυλαλανίνη και την τυροσίνη πλάσματος και την αναλογία τους: σε όλη τη μελέτη, ελεγχόμενη για την ηλικία, η φαινυλαλανίνη πλάσματος συσχετίστηκε αντιστρόφως με το άθροισμα των LNAA του πλάσματος και με μεμονωμένα αποτελέσματα των LNAA εκτός από τη βαλίνη, την ισολευκίνη και τη λευκίνη που δεν ήταν στατιστικά σημαντικά, ενώ τη τυροσίνη πλάσματος είχε σημαντικές θετικές συσχετίσεις με τα αποτελέσματα των LNAA εκτός από τη μεθειονίνη και την ιστιδίνη πλάσματος. Τόσο για τους παιδιατρικούς ασθενείς όσο και για τους ενήλικες η αναλογία P:T πλάσματος είχε σημαντικές αντίστροφες συσχετίσεις με τη θρεονίνη, την ιστιδίνη και το άθροισμα των LNAA του πλάσματος (αφαιρέθηκε η τυροσίνη) [24].

Μια έρευνα χρησιμοποίησε τα αποτελέσματα από το Παιδικό Νοσοκομείο του Los Angeles που με χρήση Φασματοσκοπίας Μαγνητικού Συντονισμού (MRS) αξιολόγησε τις συγκεντρώσεις εγκεφαλικής φαινυλαλανίνης και φαινυλαλανίνης αίματος χρησιμοποιώντας θεραπεία με μεγάλα ουδέτερα αμινοξέα δια στόματος (PreKUnil). Αναλυτικότερα στην έρευνα συμμετείχαν τέσσερις γυναίκες και δύο άντρες ηλικίας 20-34 ετών, οι οποίοι υποβλήθηκαν σε MRS και λήφθηκαν αμινοξέα πλάσματος (χρησιμοποιώντας έναν αναλυτή αμινοξέων Hitachi 8800) τις πρώτες 24 και 48 ώρες μετά την έναρξη της θεραπείας, στον πρώτο μήνα και στους έξι μήνες, σε κάθε επίσκεψη λαμβάνονταν και αναλύονταν (με αναλυτή αμινοξέων) αρχεία διατροφής, ενώ από το Ινστιτούτο John F. Kennedy στο Glostrup έγιναν αναλύσεις μετάλλαξης στο γονίδιο της υδροξυλάσης φαινυλαλανίνης και ταξινομήθηκαν όλοι με κλασσική φαινυλκετονουρία, με σοβαρές μεταλλάξεις. Σε κάθε άτομο δόθηκαν δισκία PreKUnil στα 0,4 γραμμάρια/ κιλό σωματικού βάρους, η σύνθεση των οποίων αποτελούνταν από L τυροσίνη, τρυπτοφάνη, λευκίνη, ισολευκίνη, ιστιδίνη, θρεονίνη, βαλίνη, μεθειονίνη και αργινίνη, με μέση δόση τα δέκα δισκία, τα οποία έπρεπε να λαμβάνουν πριν από κάθε γεύμα (τρεις φορές την ημέρα). Η διατροφή τους έπρεπε να είναι χαλαρή, πλούσια σε φρούτα, λαχανικά και δημητριακά, με μικρές ποσότητες τυριών και γαιουρτιού και εάν το επιθυμούσαν έως δύο μερίδες κρέατος ανά βδομάδα. Επίσης τους δόθηκαν δισκία με βιταμίνες και μέταλλα καθώς και συμπλήρωμα ασβεστίου, ενώ η μέση

πρόσληψη πρωτεΐνης όπως φάνηκε από τα αρχεία διατροφής, κυμαινόταν από 0,6 έως 1,0 g/kg τη μέρα. Η κατά την έναρξη μέση τιμή για τη φαινυλαλανίνη και για τα έξι άτομα ήταν 1448mM ενώ οι μέσοι όροι που προέκυψαν μετά την έναρξη της θεραπείας ήταν 1398mM τις πρώτες 14 ώρες, 1453mM στις 48 ώρες, 1345mM στον πρώτο μήνα και 1315mM στο εξάμηνο θεραπείας (διάγραμμα 1).

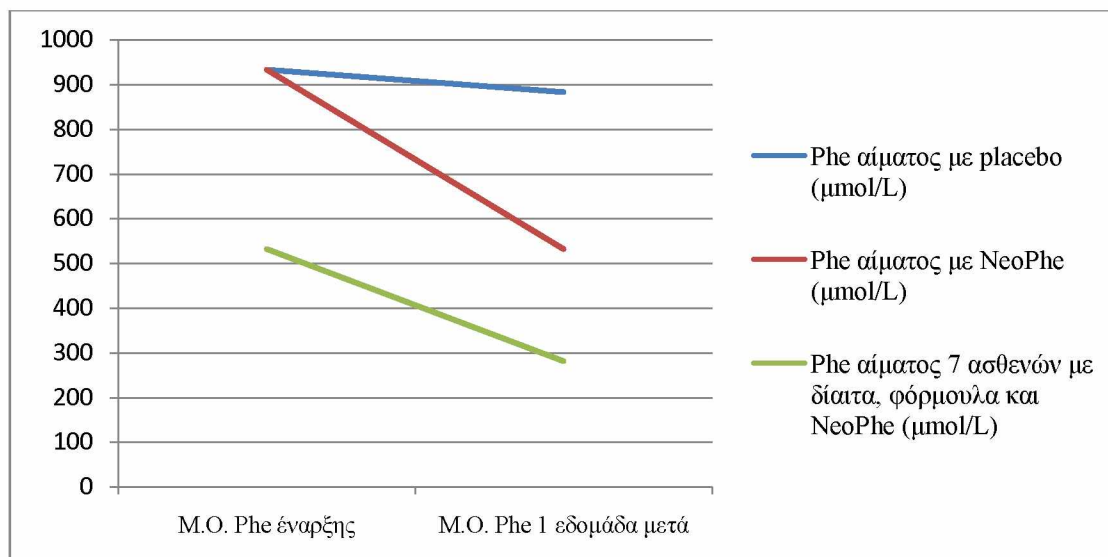


**Διάγραμμα 1.** Μέσοι όροι φαινυλαλανίνης αίματος μετά από έναρξη θεραπείας με PreKUnil.

Η απόκριση της τρυπτοφάνης και της τυροσίνης αίματος, που κατά την έναρξη ήταν σε χαμηλά ή ανεπαρκή επίπεδα, ήταν διαφορετικές από αυτή της φαινυλαλανίνης, εμφανίζοντας με την πάροδο της θεραπείας μια σταδιακή αύξηση από τις αρχικές τους τιμές: από 0,030 (0,72 mg/dl) έως 0,073 mM (1,8 mg/dl) και 0,033 (0,5 mg/dl) έως 0,081 mM (1,3 mg/dl) αντίστοιχα. Είναι πολύ πιθανό η κατάθλιψη που παρατηρείται στη φαινυλαλανινοουρία να σχετίζεται με τα χαμηλά επίπεδα σεροτονίνης και ντοπαμίνης εγκεφάλου που οφείλονται στις χαμηλές συγκεντρώσεις τυροσίνης και τρυπτοφάνης στο αίμα. Όσον αφορά στις συγκεντρώσεις φαινυλαλανίνης στον εγκέφαλο, παρουσίασαν μείωση κατά τη διάρκεια των έξι μηνών θεραπείας από 0,452 mM της αρχικής τιμής σε 0,265 mM. Μείωση κατά μέσο όρο από 44,5 σε 15,1 σημειώθηκε και στην αναλογία φαινυλαλανίνη προς τυροσίνη, ενώ σε δύο άτομα των οποίων η λευκίνη και η ισολευκίνη ήταν σε ανεπαρκή επίπεδα, κανονικοποιήθηκαν μετά από 48 ώρες θεραπείας με PreKUnil. Με ένα από τα άτομα για άγνωστους λόγους χάθηκε η επαφή για την παρακολούθηση μετά τους τρεις μήνες, δύο που είχαν κατάθλιψη σημείωσαν κλινική βελτίωση, γενικά όλα τα άτομα ανέφεραν ότι ένιωθαν καλύτερα και είχαν περισσότερη ενέργεια ενώ βρίσκονταν στο PreKUnil, ενώ δεν προέκυψαν ανεπιθύμητα κλινικά συμπτώματα και το προϊόν ήταν καλά ανεκτό από όλους [26].



Πραγματοποιήθηκε διπλή τυφλή μελέτη 20 ατόμων από διαφορετικές χώρες, με κλασσική φαινυλκετονουρία (με εξαίρεση έναν ασθενή) από έξι διαφορετικά κέντρα, ηλικίας 11 με 32 χρόνων, στους οποίους δόθηκαν είτε δισκία μεγάλων ουδέτερων αμινοξέων (NeoPhe, από το Prekulab, Korsor, Δανία) είτε εικονικό πανομοιότυπο φάρμακο (placebo) της ίδιας εταιρίας που περιείχε μονοϋδρική λακτόζη, μικροκρυσταλλική κυτταρίνη και κολλοειδές ένυδρο πυρίτιο. Αναλυτικότερα, οι 8 ήταν άνδρες και οι 12 γυναίκες, εκ των οποίων τέσσερις ασθενείς ήταν από τις ΗΠΑ, πέντε από την Ουκρανία, ένας από το Μιλάνο, δύο από την Πάντοβα, δύο από τη Βραζιλία, και έξι από τη Ρωσία. Η δόση τόσο του LNAA όσο και του placebo ήταν 0,5 g/kg την ημέρα σε τρεις διαιρεμένες δόσεις (περίπου ένα δισκίο ανά kg την ημέρα) που έπρεπε να λαμβάνονται με τα γεύματα, ενώ η οδηγία ήταν να συνεχίσουν τη διατροφή τους κανονικά, όπως και πριν την συμμετοχή τους. Είχε προσδιοριστεί η αρχική φαινυλαλανίνη πριν τη συμμετοχή στη μελέτη, ενώ μετά τη χορήγηση των χαπιών η αιματική φαινυλαλανίνη προσδιορίστηκε δύο φορές την εβδομάδα, με το κάθε κέντρο να παίρνει αίμα την ίδια ώρα για κάθε επίσκεψη, που ήταν συνήθως δύο ώρες μετά τα γεύματα. Οι ασθενείς είχαν περίοδο έκπλυσης μίας εβδομάδας πριν από την επόμενη εβδομάδα της διπλής-τυφλής δοκιμής διασταύρωσης και η φαινυλαλανίνη αίματος προσδιορίστηκε ξανά στην αρχή και δύο φορές την εβδομάδα κατά τη διάρκεια της δεύτερης φάσης. Για την αξιολόγηση των αλλαγών από τις βασικές μετρήσεις χρησιμοποιήθηκαν ζεύγη t-τεστ με στατιστικό λογισμικό SAS. Σημειώθηκε σημαντική πτώση της συγκέντρωσης της φαινυλαλανίνης αίματος και στους 20 ασθενείς κατά τη διάρκεια λήψης 0,5 g/kg LNAA (NeoPhe) την ημέρα. Η μέση συγκέντρωση της φαινυλαλανίνης στο αίμα κατά την έναρξη, που ελήφθη σε τρεις διαφορετικές περιπτώσεις, ήταν 932,9  $\mu\text{mol/L}$ , ενώ κατά τη διάρκεια της εβδομάδας λήψης του NeoPhe, μειώθηκε στα 568,4  $\mu\text{mol/L}$ , που αντιστοιχεί σε 39% πτώση, η οποία στατιστικά είναι πολύ σημαντική ( $p < 0.0001$ ) (διάγραμμα 2). Επτά ασθενείς ακολουθούσαν διατροφή χωρίς πρωτεΐνη και λάμβαναν φόρμουλα φαινυλκετονουρίας, συμμετείχαν στη θεραπεία και έλαβαν το NeoPhe, εμφάνισαν επίσης πτώση της φαινυλαλανίνης στο αίμα από την αρχική τιμή 531,6  $\mu\text{mol/L}$  σε 281,5  $\mu\text{mol/L}$ , μείωση δηλαδή της φαινυλαλανίνης αίματος 47%, που είναι στατιστικά σημαντική (διάγραμμα 2). Από την άλλη, τα αποτελέσματα της δοκιμής με το placebo, έδειξαν τη μέση συγκέντρωση φαινυλαλανίνης στο αίμα να αλλάζει από 932,9  $\mu\text{mol/L}$  σε 882,66  $\mu\text{mol/L}$ , μείωση δηλαδή κατά 5,4%, που στατιστικά δεν είναι σημαντική ( $p = 0.07$ ) (διάγραμμα 2) [27].



**Διάγραμμα 2.** Μέση τιμή φαινυλαλανίνης αίματος πριν την έναρξη, μία εβδομάδα μετά τη θεραπεία με NeoPhe, και μετά τη χρήση εικονικού φαρμάκου.

Από το τμήμα Κληρονομικών Μεταβολικών Νοσημάτων του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου της Πάντοβα της Ιταλίας έγινε επιλογή δώδεκα ενηλίκων ασθενών, εκ των οποίων οι πέντε ήταν γυναίκες και οι επτά άνδρες, με κλασική φαινυλκετονουρία, ηλικίας 19-38 χρόνων, προς διεξαγωγή μελέτης δώδεκα μηνών, με στόχο της αξιολόγησης της φαινυλαλανίνης, της τυροσίνης και της αναλογίας τους στο πλάσμα υπό τη θεραπεία με νέο σκεύασμα μεγάλων ουδέτερων αμινοξέων (NeutrAfenil Micro R (PIAM)), το οποίο είναι εγγεγραμμένο στην Ιταλία για τη θεραπεία της φαινυλκετονουρίας με ιατρική συνταγή, συνδυασμένο με διατροφή χαμηλής περιεκτικότητας σε φαινυλαλανίνη. Αναλυτικότερα, οι ασθενείς είχαν διαγνωστεί με τον προσυμπτωματικό νεογνικό έλεγχο, με έλλειψη ανταπόκρισης στη διυδροχλωρική σαπροπτερίνη, είχαν υποβληθεί σε θεραπεία με διαίτα με περιορισμένη φαινυλαλανίνη από τη γέννηση, ακολουθούσαν ήδη διατροφή με περιορισμό της φαινυλαλανίνης και λάμβαναν συμπληρώματα αμινοξέων που κάλυπταν το 80% της συνολικής πρόσληψης πρωτεΐνης. Η επιλογή τους για τη συμμετοχή στη μελέτη έγινε λόγω της επίμονης χαμηλής συμμόρφωσής τους στη διατροφή λόγω της άρνησής τους να λάβουν συμπληρώματα με μείγμα αμινοξέων. Λόγω της μεγάλης περιόδου της θεραπείας κατά τη μελέτη, δεν καταγράφηκε η διατροφική πρόσληψη των ασθενών, ενώ καθώς προϊόν δεν περιέχει βιταμίνες ή μέταλλα, όλοι οι ασθενείς λάμβαναν τακτικά συμπλήρωμα με πολυβιταμίνες και μέταλλα. Η σύνθεση των μεγάλων ουδέτερων αμινοξέων ήταν σε μορφή μικροκόκκων επικαλυμμένοι με μεθυλοκυτταρίνη για να αποτραπεί οποιαδήποτε δυσάρεστη γεύση, μπορούσε εύκολα να καταποθεί με κάποιο υγρό, λόγω του αλγινικού νατρίου, ως υδρόφιλου φορέα που παρέχει φυσιολογική απορρόφηση παρόμοια με αυτή της φυσικής

πρωτεΐνης είχε παρατεταμένη αποδέσμευση, ενώ σε σχέση με άλλα προϊόντα είχε υψηλή συγκέντρωση σε τυροσίνη (πίνακας 3). Οι ασθενείς λάμβαναν το συμπλήρωμα LNAA τρεις φορές την ημέρα (πρωινό, μεσημεριανό και βραδινό), σε δόση 1 g/kg σωματικού βάρους, ενώ δεν τους δόθηκε κανένα άλλο μείγμα αμινοξέων και δεν έγιναν αλλαγές στη χαμηλής περιεκτικότητας σε φαινυλαλανίνη διαίτά τους. Οι μετρήσεις των επιπέδων Phe και Tyr έγιναν σε ξηρές κηλίδες αίματος νηστείας που συνέλεξαν οι ασθενείς στο σπίτι κάθε δύο εβδομάδες το πρωί πριν πάρουν το σκεύασμα μεγάλων ουδέτερων αμινοξέων, χρησιμοποιώντας υγρή χρωματογραφία/διαδοχική φασματομετρία μάζας και υπολογίστηκε η αναλογία Phe/Tyr. Η κατανάλωση LNAA υπολογιζόταν από διαιτολόγο κάθε έξι μήνες, ενώ όλοι οι ασθενείς δήλωσαν ότι γενικά γευμάτιζαν εκτός σπιτιού με υψηλή πρόσληψη σε φαινυλαλανίνη (3–4 φορές της προβλεπόμενης τιμής). Προς σύγκριση των δεδομένων πριν και μετά την έναρξη της θεραπείας με τα μεγάλα ουδέτερα αμινοξέα, χρησιμοποιήθηκε το ζεύγος T-test Wilcoxon. Σε γενικές γραμμές το θεραπευτικό προφίλ της θεραπείας με τα μεγάλα ουδέτερα αμινοξέα ήταν σταθερό κατά τη διάρκεια των 12 μηνών, ενώ οι ασθενείς συχνά αρνούσαν την πρόσληψη των μιγμάτων αμινοξέων-ιατρικών τροφών. Κατά την περίοδο δώδεκα μηνών πριν την εισαγωγή των μεγάλων ουδέτερων αμινοξέων, η μέση τιμή για τη φαινυλαλανίνη κυμαινόταν από  $628 \pm 148$  έως  $1033 \pm 198$   $\mu\text{mol/L}$ , για την τυροσίνη από  $32 \pm 7$  έως  $87 \pm 35$   $\mu\text{mol/L}$  και η μέση αναλογία φαινυλαλανίνης/ τυροσίνης από  $9,7 \pm 2,2$  έως  $19,9 \pm 2,8$   $\mu\text{mol/L}$  (Πίνακας 4). Τη δοκιμή ολοκλήρωσαν και οι 12 ασθενείς, δεν είχαν κάποια σημαντική διαφορά στο βάρος και στο Δείκτη Μάζας Σώματος πριν και μετά, ενώ η προσκόλληση στο συμπλήρωμα μεγάλων ουδέτερων αμινοξέων ήταν καλή. Κατά τη διάρκεια της δωδεκάμηνης θεραπείας η μέση τιμή για τη φαινυλαλανίνη κυμαίνονταν από  $736 \pm 93$  έως  $1269 \pm 265$   $\mu\text{mol/L}$ , για την τυροσίνη από  $59 \pm 15$  έως  $108 \pm 35$   $\mu\text{mol/L}$ , ενώ η μέση αναλογία φαινυλαλανίνης/ τυροσίνης από  $8 \pm 1,4$  σε  $20,6 \pm 7,6$   $\mu\text{mol/L}$  (Πίνακας 4). Τα μέσα επίπεδα φαινυλαλανίνης ήταν παρόμοια πριν και μετά τη θεραπεία των δώδεκα μηνών με τα μεγάλα ουδέτερα αμινοξέα (Διάγραμμα 3), τα επίπεδα της τυροσίνης αυξήθηκαν σημαντικά στους 11 από τους 12 ασθενείς (92%) (Διάγραμμα 4), ενώ η μέση αναλογία φαινυλαλανίνης/τυροσίνης μειώθηκε σημαντικά στους 10 από τους 12 ασθενείς (83%) (Διάγραμμα 5).

**Πίνακας 3.** Μεγάλα ουδέτερα αμινοξέα (LNAA): διατροφικές πληροφορίες ανά 100g.

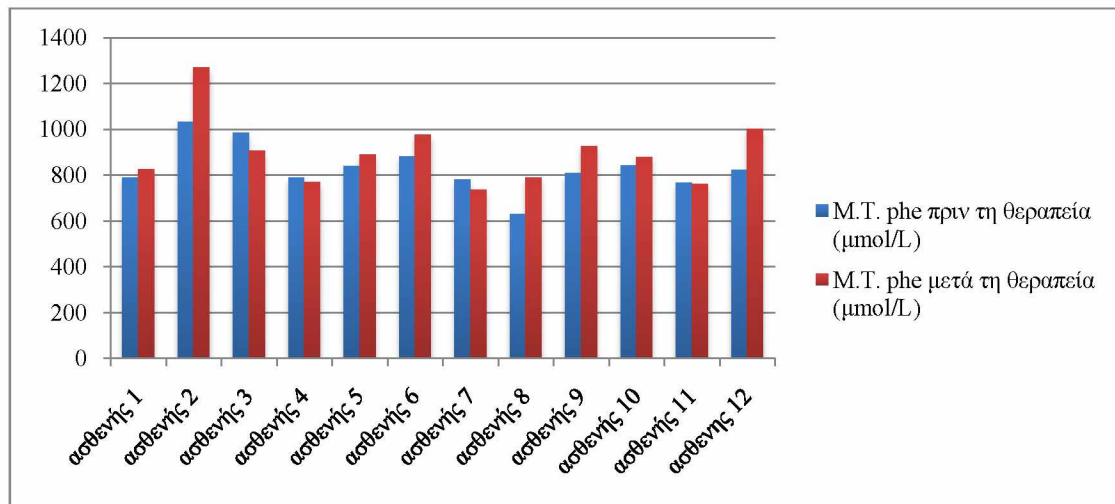
Ενέργεια	1686kJ 399 kcal
Λιπαρά εκ των οποίων κορεσμένα	5.3g 5.3g
Υδατάνθρακες εκ των οποίων σάκχαρα	12g 0g
Ίνες	5.8g
Ισοδύναμα πρωτεΐνης	70.79g
Αλάτι	1.6g
L-Αργινίνη	1.92
Ασπαρτικό οξύ	4.95
L-Φαινυλαλανίνη	0g
L-Ισολευκίνη	10g
L-Ιστιδίνη	3.36g
L-Λευκίνη	12g
L-Λυσίνη	5.44g
L-Μεθειονίνη	2.72g
L-Τυροσίνη	24g
L-Θρεονίνη	5.56g
L-Τρυπτοφάνη	8g
L-Βαλίνη	10g

Large Neutral Amino Acid Therapy Increases Tyrosine Levels in Adult Patients with Phenylketonuria: A Long-Term Study, *Nutrients*

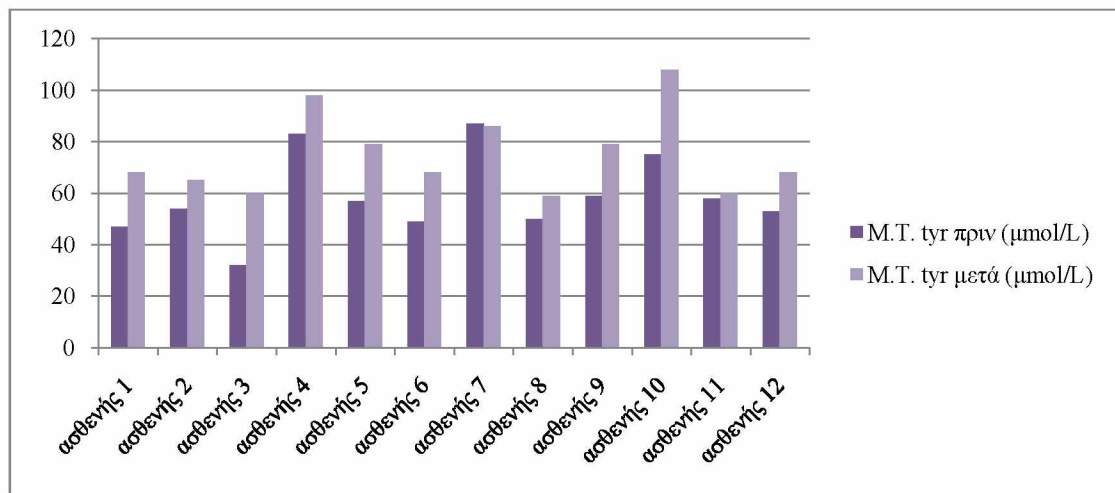
**Πίνακας 4.** Μέση τιμή φαινυλαλανίνης, τυροσίνης και αναλογίας τους κατά την περίοδο 12 μηνών πριν από την εισαγωγή της θεραπείας με μεγάλα ουδέτερα αμινοξέα και κατά τη διάρκεια της δωδεκάμηνης περιόδου θεραπείας για το συνολικό πληθυσμό ασθενών.

Συνολικός ασθενών	πληθυσμός	12 μήνες πριν τη θεραπεία με μεγάλα ουδέτερα αμινοξέα	12 μήνες με τη θεραπεία με μεγάλα ουδέτερα αμινοξέα
μέση φαινυλαλανίνη ( $\mu\text{mol/L}$ )		752	894
μέση τυροσίνη ( $\mu\text{mol/L}$ )		59	75
μέση αναλογία φαινυλαλανίνης/ τυροσίνης		16	13

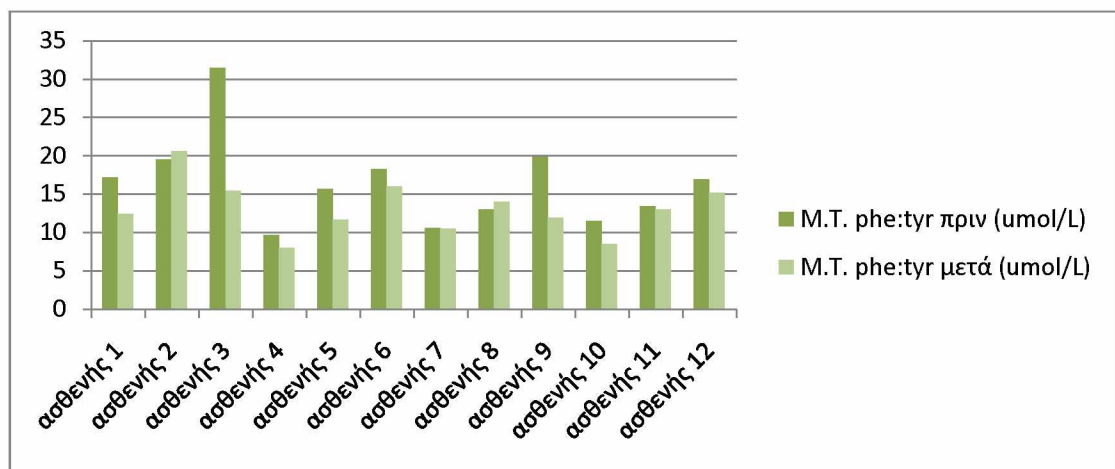
Large Neutral Amino Acid Therapy Increases Tyrosine Levels in Adult Patients with Phenylketonuria: A Long-Term Study, *Nutrients*



**Διάγραμμα 3.** Μέση τιμή φαινυλαλανίνης 12 μήνες πριν την έναρξη και μετά τη θεραπεία με μεγάλα ουδέτερα αμινοξέα για κάθε ασθενή.



**Διάγραμμα 4.** Μέση τιμή τυροσίνης 12 μήνες πριν την έναρξη και μετά τη θεραπεία με μεγάλα ουδέτερα αμινοξέα για κάθε ασθενή.



**Διάγραμμα 5.** Μέση αναλογία φαινυλαλανίνης:τυροσίνη 12 μήνες πριν την έναρξη και μετά τη θεραπεία με μεγάλα ουδέτερα αμινοξέα για κάθε ασθενή.

Η ίδια μελέτη, εκτός από τα δεδομένα για μετά τους δώδεκα μήνες, αναφέρει και δεδομένα για τα επίπεδα φαινυλαλανίνης και τυροσίνης κατά την έναρξη και μετά από έξι μήνες (βραχυπρόθεσμα) θεραπείας με τα μεγάλα ουδέτερα αμινοξέα (Πίνακας 5), απ' όπου φαίνεται ότι εν συγκρίσει με τις αρχικές τιμές, η φαινυλαλανίνη σημείωσε σημαντική μείωση τους πρώτους έξι μήνες, αλλά το δεύτερο εξάμηνο της θεραπείας, αυξήθηκε σημαντικά. Το γεγονός αυτό πιθανών να οφείλεται σε ένα πιο αυστηρό σχήμα διατροφής κατά την αρχική περίοδο θεραπείας των έξι μηνών με αποτέλεσμα τη μείωση των επιπέδων της φαινυλαλανίνης στους έξι μήνες και σε πιθανή χαλάρωση των διατροφικών περιορισμών στους δώδεκα μήνες που προκάλεσε και την αύξησή τους, χωρίς όμως να έχει καταγραφεί η διατροφική πρόσληψη κατά τη διάρκεια της μελέτης. Από την άλλη, τα επίπεδα της τυροσίνης έτειναν να είναι σταθερά με την πάροδο του χρόνου, χωρίς σημαντική αύξηση ούτε στη βραχυπρόθεσμη περίοδο ούτε από τους 6 έως τους 12 μήνες, υποδηλώνοντας ότι η κατανάλωση του νέου σκευάσματος των μεγάλων ουδέτερων αμινοξέων ήταν συνεπής.

**Πίνακας 5.** Τιμές φαινυλαλανίνης και τυροσίνης στην έναρξη, 6 μήνες και 12 μήνες μετά την περίοδο θεραπείας με μεγάλα ουδέτερα αμινοξέα για το συνολικό πληθυσμό των ασθενών.

Συνολικός πληθυσμός ασθενών	12 μήνες πριν τη θεραπεία	6 μήνες θεραπείας	12 μήνες θεραπείας
Μέση φαινυλαλανίνη (μmol/L)	752	645	894
Μέση τυροσίνη (μmol/L)	59	65	75

Large Neutral Amino Acid Therapy Increases Tyrosine Levels in Adult Patients with Phenylketonuria: A Long-Term Study, *Nutrients*

Οι περιορισμοί της συγκεκριμένης μελέτης αφορούν στο μικρό αριθμό μη συμμορφούμενων ενηλίκων ασθενών με φαινυλκετονουρία για μεγάλο χρονικό διάστημα που την καθιστά δύσκολα συγκρίσιμη με άλλες δημοσιευμένες μελέτες ασθενείς που είναι παιδιά ή ενήλικες αλλά που διεξάγονται σε σύντομο χρονικό διάστημα. Επιπλέον η πρόσληψη τροφής και η συμμόρφωση δεν καταγράφηκαν τακτικά, ενώ περιορισμό αποτελεί και η έλλειψη τυποποίησης της δειγματοληψίας αίματος που λαμβανόταν μέσω αυτο-συμπληρωμένων δειγμάτων αίματος [28].

Προς αξιολόγηση ενός καινούριου ιατρικού τροφίμου με μεγάλα ουδέτερα αμινοξέα, του PheLNAA (που παράγονται από την MOVISCOM στη Ρώμη, Πίνακας 6) για την αποτελεσματικότητά του στη μείωση της συγκέντρωσης της φαινυλαλανίνης αίματος και τη βελτίωση της συμμόρφωσης, επιλέχθηκαν από το Τμήμα Παιδιατρικής του Πανεπιστημίου του Catanzaro της Ιταλίας 16 άτομα με ήπια ή κλασσική φαινυλκετονουρία διαγνωσμένη με νεογνικό προσυμπτωματικό έλεγχο, που ακολουθούσαν διαιτητική θεραπεία από τον πρώτο

μήνα ζωής έως την ηλικία των 8 ετών ή μεγαλύτερη, με αρχική συγκέντρωση αιματικής φαινυλαλανίνης >6 mg/dl (>360 μmol /l) και πηλίκο νοημοσύνης στο κανονικό εύρος. Ως κριτήρια αποκλεισμού ορίστηκαν η παρουσία άλλων ασθενειών, η δυσαπορρόφηση ή οι γυναίκες που μπορεί να μείνουν έγκυος. Τέσσερις ασθενείς εγκατέλειψαν μετά την πρώτη εβδομάδα λόγω μη συμμόρφωσης με το πρωτόκολλο της μελέτης, με το τελικό δείγμα να αποτελείται από 12 ασθενείς (Πίνακας 7). Τρεις εβδομάδες πριν την έναρξη της μελέτης, καθορίστηκαν οι βασικές τιμές, με τα εβδομαδιαία επίπεδα της φαινυλαλανίνης και τυροσίνης στο αίμα να λαμβάνονται 2 ώρες μετά το γεύμα και η διατροφική πρόσληψη να καταγράφεται για 3 ημέρες πριν από την αιμοληψία. Ο ίδιος τρόπος συνεχίστηκε και κατά τη διάρκεια της μελέτης (διαγράμματα 6,7). Η συνολική διατροφική πρόσληψη υπολογίστηκε από διαιτολόγο και καταγράφηκαν η διαιτητική πρόσληψη φαινυλαλανίνης, τυροσίνης, πρωτεΐνης και ενέργειας, αλλά και τα αποτελέσματα της αιματικής φαινυλαλανίνης και τυροσίνης. Επιπλέον, τόσο στην αρχή όσο και μετά από 4 εβδομάδες θεραπείας εξακριβώθηκαν τα δεδομένα ανάπτυξης και η χημεία του αίματος (ηλεκτρολύτες, BUN, ολική πρωτεΐνη και λευκωματίνη). Συνολικά 0,5 g/kg/ημέρα PheLNAA χωρίστηκαν σε τρεις δόσεις και χορηγήθηκαν πριν από τα κύρια γεύματα για 4 εβδομάδες, ενώ στους ασθενείς δεν χορηγήθηκαν άλλα ειδικά συμπληρώματα. Στους μη ανταποκρινόμενους αρχικά στην περίοδο θεραπείας των 4 εβδομάδων συνεχίστηκε η λήψη του προϊόντος για 2 εβδομάδες επιπλέον ώστε να ελεγχθεί εάν μια μεγαλύτερη θεραπεία θα είχε κάποιο αποτέλεσμα. Το πρωτεύον τελικό προκείμενο ήταν η μείωση των επιπέδων της φαινυλαλανίνης σε 7 ασθενείς κατά 30% ή περισσότερο από τη βασική τιμή και στη συνέχεια η μείωση της αναλογίας Phe/Tyr μετά από 4 εβδομάδες σε αυτούς που ανταποκρίνονταν από την αρχή ή μετά από 6 εβδομάδες θεραπείας γι' αυτούς που δεν ανταποκρίθηκαν από την αρχή. Για την αξιολόγηση των διακυμάνσεων μεταξύ των δύο χρόνων, εφαρμόσαμε το στατιστικό τεστ βάσει βαθμών για ζεύγος δεδομένων Wilcoxon και οι αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν με το πρόγραμμα SPSS Statistics. Η συγκέντρωση της φαινυλαλανίνης στο αίμα μειώθηκε, από έναν μέσο όρο 15,15 της βασικής φαινυλαλανίνης σε 11,15 μετά από 4 εβδομάδες θεραπείας, με μέση ποσοστιαία διακύμανση -31,38% (Πίνακας 7). Επιπλέον, η διαφορά μεταξύ βασικής φαινυλαλανίνης και φαινυλαλανίνης 4 εβδομάδες μετά τη θεραπεία έδωσε στατιστικά σημαντικά αποτελέσματα. Όσον αφορά στη συγκέντρωση της τυροσίνης, η βασική μέση τιμή ήταν 1,14 μέση τιμή μετά από 4 εβδομάδες θεραπείας 1,63. Η μέση ποσοστιαία διακύμανση αυξήθηκε κατά 45,31%, και επίσης σε αυτήν την περίπτωση η διαφορά μεταξύ τους ήταν στατιστικά σημαντική (Πίνακας 7). Ανάλυση έγινε και στην αναλογία μεταξύ των βασικών επιπέδων φαινυλαλανίνης και τυροσίνης και μετά από 4 εβδομάδες και παρατηρήθηκε μείωση αυτής της αναλογίας. Η μέση ποσοστιαία διακύμανση ήταν -39,18%. Η διαφορά μεταξύ των αποτελεσμάτων των δύο αναλογιών ήταν στατιστικά σημαντική, ενώ δεν



παρατηρήθηκε συσχέτιση μεταξύ της σοβαρότητας των μεταλλάξεων και της ανταπόκρισης στη συμπλήρωση PheLNAA

**Πίνακας 6.** Σύνθεση PheLNAA για 100 g σκόνης.

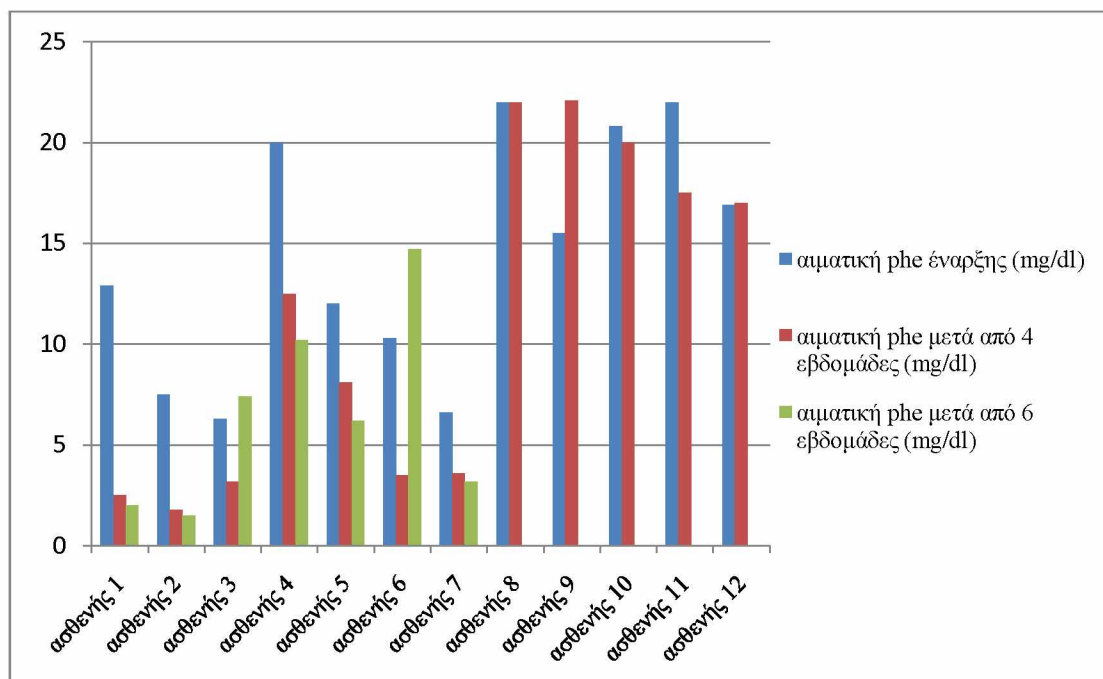
<b>ενέργεια</b>	293,50 kcal 1241,26 kJ	<b>Βιταμίνες</b>		<b>Μέταλλα</b>	
<b>ισοδύναμα πρωτεΐνης</b>	48,94g	<b>A</b>	1300mcg	<b>ασβέστιο</b>	1600mg
<b>υδατάνθρακες</b>	15,74g	<b>D3</b>	15,5mcg	<b>χλώριο</b>	40mcg
<b>σάκχαρα</b>	12,46g				
<b>λιπίδια</b>	2,58g	<b>E</b>	20mg	<b>χαλκός</b>	1,5mg
<b>DHA</b>	610mg				
<b>Αμινοξέα (g)</b>		<b>K1</b>	113mcg	<b>ιώδιο</b>	200mcg
<b>αργινίνη</b>	61,73	<b>C</b>	100mg	<b>σίδηρος</b>	20mg
<b>ασπαρτικό οξύ</b>	2,79	<b>B1</b>	1,5mg	<b>μαγνήσιο</b>	500mg
<b>γλουταμίνη</b>	2,36	<b>B2</b>	1,8mg	<b>μαγγάνιο</b>	3mg
<b>ισολευκίνη</b>	3,52	<b>B6</b>	5,4mg	<b>μολυβδαίνιο</b>	90mcg
<b>λευκίνη</b>	3,33	<b>B12</b>	9mcg	<b>φώσφορος</b>	1250mg
<b>λυσίνη</b>	9,79	<b>βιοτίνη</b>	150mg	<b>σελήνιο</b>	75mg
<b>μεθειονίνη</b>	5,70	<b>χολίνη</b>	650mg	<b>νάτριο</b>	40mg
<b>προλίνη</b>	0,97	<b>ινοσιτόλη</b>	125mg	<b>ψευδάργυρος</b>	15mg
<b>θρεονίνη</b>	3,45	<b>νιασίνη</b>	20mg		
<b>τρυπτοφάνη</b>	3,15	<b>φολικό οξύ</b>	750mcg		
<b>τυροσίνη</b>	3,33	<b>παντοθενικό οξύ</b>	8,8mg		
<b>βαλίνη</b>	18,79				
<b>ιστιδίνη</b>	1,21			<b>Λουτεΐνη</b>	12mg

*European Journal of Clinical Nutrition*

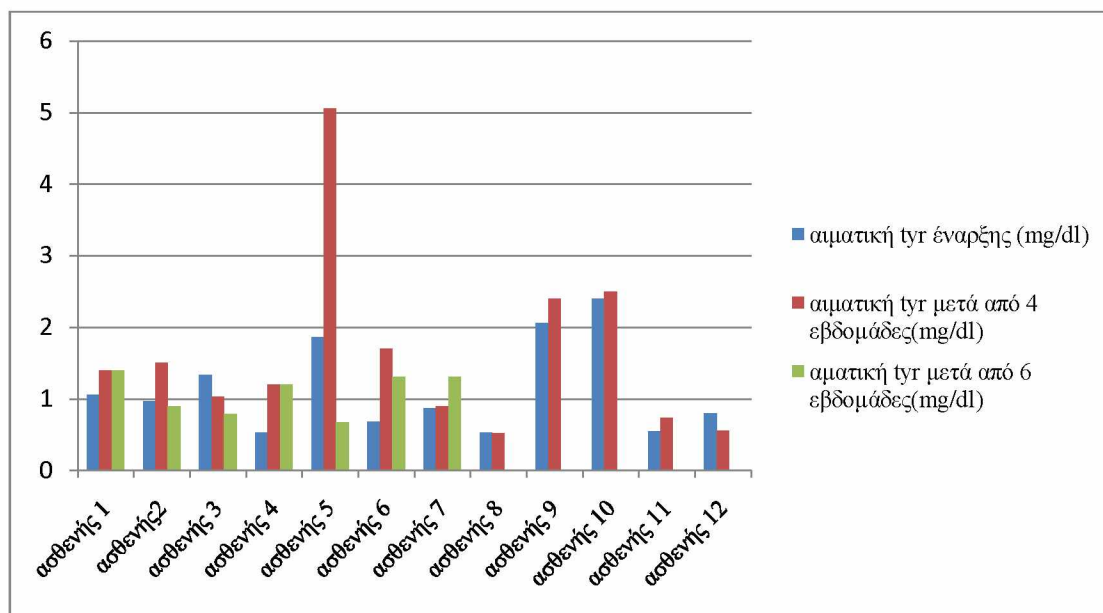
**Πίνακας 7.** Περιγραφική ανάλυση των επιπέδων Phe και Tyr στο αίμα

	μέση τιμή
<b>βασική phe</b>	15,15
<b>phe 4 εβδομάδες μετά τη θεραπεία</b>	11,15
<b>% διακύμανση βασικής phe / phe 4 εβδομάδες μετά τη θεραπεία</b>	-38,38%
<b>βασική tyr</b>	1,14
<b>tyr 4 εβδομάδες μετά τη θεραπεία</b>	1,63
<b>%διακύμανση βασικής tyr / tyr 4 εβδομάδες μετά τη θεραπεία</b>	45,31%
<b>βασική phe / βασική tyr</b>	18,18
<b>phe 4 εβδομάδες μετά / tyr 4 εβδομάδες μετά τη θεραπεία</b>	11,45
<b>% διακύμανση βασικώνphe/tyr και4 εβδομάδες μετά τη θεραπεία</b>	-39,18%





**Διάγραμμα 6.** Τιμές αρχικής φαινυλαανίνης, μετά από 4 και μετά από 6 εβδομάδες θεραπείας μεPheLNA.



**Διάγραμμα 7.** Τιμές αρχικής τυροσίνης, μετά από 4 και μετά από 6 εβδομάδες θεραπείας μεPheLNA.

Κατά τη διάρκεια της μελέτης, δεν παρουσιάστηκε δυσανεξία ή ασθένεια σε κανέναν ασθενή και η ανάπτυξη παρέμεινε φυσιολογική για όλα τα παιδιά. Οι ηλεκτρολύτες, η ολική πρωτεΐνη και η λευκοματίνη παρέμειναν φυσιολογικά πριν και στο τέλος των 4 εβδομάδων θεραπείας [29].

## Κεφάλαιο 5. Συζήτηση-Συμπεράσματα

### 5.1. Συζήτηση

Από τις ανασκοπήσεις φαίνεται ότι η θεραπευτική πρόταση χρήσης των συμπληρωμάτων των LNAA για τον ανταγωνισμό με τη φαινυλαλανίνη στον κοινό μεταφορέα τους από και προς τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό, δεν είναι επαρκώς ανεπτυγμένη και αγνοεί τους άλλους, εξαρτώμενους από το νάτριο μεταφορείς αμινοξέων που υπάρχουν στη μεμβράνη των ενδοθηλιακών τριχοειδών κυττάρων του εγκεφάλου, που έχουν μεγάλη συγγένεια με τα LNAA και ίσως να μπορούν να αντλούν από τον εγκέφαλο αμινοξέα πίσω στην κυκλοφορία του αίματος. Επίσης, η χρήση της λευκίνης (ή της ισολευκίνης) δεν αντιμετωπίζει όλη την παθογένεση τη εγκεφαλικής δυσλειτουργίας που υπάρχει στη φαινυλκετονουρία και εγκυμονεί κίνδυνο για άλλα εγγενή σφάλματα του μεταβολισμού από τις αυξημένες συγκεντρώσεις της που μπορεί να συμβούν. Επομένως γίνεται λόγος για τη σημαντικότητα της προσεκτικής σύνθεσης των συμπληρωμάτων των μεγάλων ουδέτερων αμινοξέων [17,22]. Οι διαφορές στην έκβαση της χρήσης των συμπληρωμάτων των μεγάλων ουδέτερων αμινοξέων μπορεί να σχετίζονται με την σύνθεση, την οδό χορήγησης, τη δοσολογία και τη διάρκεια συμπληρωματικής χρήσης τους [23]. Επιπλέον έχει αναφερθεί στη βιβλιογραφία το συμπλήρωμα τυροσίνης και τρυπτοφάνης για την αύξηση της σύνθεσης των νευροδιαβιβαστών του εγκεφάλου, με το σκεπτικό αυτό να αντανακλάται από τις μειωμένες συγκεντρώσεις νευροδιαβιβαστών σε εγκέφαλο ποντικού με φαινυλκετονουρία και τις μειωμένες συγκεντρώσεις σεροτονίνης, ντοπαμίνης και των μεταβολιτών τους σε εγκεφαλικό ιστό και στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό ασθενών με φαινυλκετονουρία, με τα εν λόγω συμπληρώματα να δείχνουν ότι βελτιώνουν το μεταβολισμό των νευροδιαβιβαστών. Αυτή η πρόταση είχε υποστηριχθεί επιπλέον από τη θεωρία δυσλειτουργίας του προμετωπιαίου λοβού, σύμφωνα με την οποία ο συγκεκριμένος λοβός επηρεάζεται περισσότερο από τη μείωση της ντοπαμίνης και εξαρτάται από αυτή, καθώς οι ντοπαμινεργικοί νευρώνες του έχουν σχετικά υψηλά επίπεδα δραστηριότητας και υψηλό κύκλο εργασιών ντοπαμίνης. Όμως, παλαιότερες μελέτες δεν είχαν δείξει τα θετικά αποτελέσματα που αναμένονταν σε μεγάλες δόσεις τυροσίνης ή L-dopa, φαίνεται δηλαδή να μην διορθώνουν επαρκώς τις βιοχημικές και νευροψυχολογικές ανωμαλίες. Όσον αφορά στη μειωμένη απορρόφηση της φαινυλαλανίνης στο έντερο, στην οποία βασίζεται η μείωσή της στο αίμα, δεν αναφέρεται από όλους τους συγγραφείς σαν αποτέλεσμα, μπορεί η χρήση συμπληρώματος θρεονίνης να είναι επαρκής και να μη χρειάζονται όλα τα μεγάλα ουδέτερα αμινοξέα, ή ενδέχεται να οφείλεται κατά ένα μέρος τουλάχιστον σε αυξημένη πρωτεϊνοσύνθεση λόγω αυξημένης διαθεσιμότητας βασικών αμινοξέων στην περίπτωση που υπήρχαν ανεπάρκειες σε βασικά αμινοξέα, γεγονός

που δεν είναι γνωστό στη συγκεκριμένη μελέτη, ενώ έχει προταθεί ότι ενδέχεται να ήταν απλά θέμα χρόνου της δειγματοληψίας [23]. Για το σκεπτικό της συμπληρωματικής χρήσης τους στην αύξηση των συγκεντρώσεων των μεγάλων ουδέτερων αμινοξέων στους ασθενείς με φαινυλκετονουρία σε συνδυασμό με την άνευ περιορισμού πρόσληψη φυσικής πρωτεΐνης, το οποίο βασίζεται πάλι στο ότι μοιράζονται τον ίδιο μεταφορέα για τον εγκέφαλο, έχει φανεί ότι υπάρχει σημαντική αρνητική σχέση ανάμεσα στις συγκεντρώσεις της φαινυλαλανίνης πλάσματος και της πρωτεϊνικής σύνθεσης στον εγκέφαλο. Όμως το εύρημα αυτό δεν κάνει διαφοροποίηση ανάμεσα στην επίδραση της αυξημένης συγκέντρωσης της φαινυλαλανίνης στον εγκέφαλο και των μειωμένων συγκεντρώσεων των υπόλοιπων μεγάλων ουδέτερων αμινοξέων στην εγκεφαλική πρωτεϊνοσύνθεση και μένει να μελετηθεί μελλοντικά. Από τη συγκεκριμένη πηγή έγινε σαφές ότι αν και όταν αναφερόμαστε στη θεραπεία με LNAA θεωρούμε ότι μιλάμε για μία συγκεκριμένη μέθοδο, ωστόσο μπορεί να αναφέρεται σε διαφορετικές στρατηγικές όπως για παράδειγμα πρόσληψη φυσικής πρωτεΐνης σύμφωνα με τα RDA με συμπλήρωμα LNAA ή συμβατική διατροφική θεραπεία με συμπλήρωμα LNAA, ενώ επιπρόσθετα η θεραπεία με τη χρήση τους μπορεί να αναφέρεται σε συμπλήρωση συγκεκριμένων αμινοξέων πχ λευκίνη και απαιτείται επομένως περαιτέρω διερεύνηση του ρόλου, της δοσολογίας και της σύνθεσης των συμπληρωμάτων μεγάλων ουδέτερων αμινοξέων στη φαινυλκετονουρία [23].

Από μελέτες σε ζωικά μοντέλα με φαινυλκετονουρία, φαίνεται ότι η συμπληρωματική χρήση των μεγάλων ουδέτερων αμινοξέων μείωσε τις συγκεντρώσεις της εγκεφαλικής και αιματικής φαινυλαλανίνης και αύξησε εκείνες της σεροτονίνης και της νορεπινεφρίνης, αλλά όχι τη ντοπαμίνη. Επιπλέον φαίνεται να ανακούφισε και τις ανεπάρκειες κάποιων αμινοξέων στον εγκέφαλο όπως είναι η τρυπτοφάνη. Δοκιμές τους σε ανθρώπους επέφεραν μείωση της φαινυλαλανίνης αίματος. Η χρήση τους όμως εξετάζεται κυρίως για μεγαλύτερους ασθενείς που δεν μπορούν να τηρήσουν την απαιτούμενη προσκόλληση στην απαιτητική διατροφή. Δε μας είναι γνωστή η βέλτιστη σύνθεση των συγκεκριμένων συμπληρωμάτων. Ίσως να μην επιφέρουν κανένα επιπλέον όφελος σε ασθενείς που ακολουθούν τη συνιστώμενη διατροφή και λαμβάνουν τακτικά συμπλήρωμα 1-αμινοξέων χωρίς φαινυλαλανίνη. Δεν είναι ελεγμένα για χρήση σε παιδιά μικρότερα των έντεκα χρόνων, ενώ αντενδείκνυται στην περίοδο της εγκυμοσύνης αφού δεν υπάρχουν διαθέσιμα δεδομένα ασφάλειάς τους [16]. Από το μοντέλο ποντικού με φαινυλκετονουρία έχει επιβεβαιωθεί βελτίωση από τη χρήση των συμπληρωμάτων των μεγάλων ουδέτερων αμινοξέων μέσω τριών μηχανισμών: μείωσης των επιπέδων της φαινυλαλανίνης στον εγκέφαλο, αύξησης των επιπέδων άλλων, εκτός της φαινυλαλανίνης μεγάλων ουδέτερων αμινοξέων στον εγκέφαλο και αύξησης των νευροδιαβιβαστών, με εξαίρεση την ντοπαμίνη [22]. Επιπλέον, από μελέτη στο μοντέλο Pah-Enu2, προέκυψε ότι κάποιες παράμετροι αμινοξέων πλάσματος δείχνουν ισχυρές συσχετίσεις με τα επίπεδα της εγκεφαλικής

φαινυλαλανίνης και των μονοαμινεργικών νευροδιαβιβαστών, όμως η προσθήκη άλλων δεικτών πλάσματος πέραν της φαινυλαλανίνης δεν βοηθά ιδιαίτερα στην επεξήγηση της βιοχημείας του εγκεφάλου αυτών των ποντικών. Αναλυτικότερα, βρέθηκε ότι οι συγκεντρώσεις φαινυλαλανίνης πλάσματος και εγκεφάλου συσχετίζονται ισχυρά, ότι ίσως η ντοπαμίνη να επηρεάζεται λιγότερο απ' όσο πιστεύεται και χρήζει περαιτέρω διερεύνησης, ενώ στο ερώτημα εάν τα άνευ φαινυλαλανίνης μεγάλα ουδέτερα αμινοξέα μπορούν να εξηγήσουν καλύτερα την εγκεφαλική βιοχημεία απ' ότι η φαινυλαλανίνη πλάσματος, φαίνεται ότι καλύτερη συσχέτιση έχει η φαινυλαλανίνη πλάσματος [25].

Από μελέτες σε ενήλικες και παιδιά, και συγκεκριμένα από τη μελέτη Πανεπιστημίου Emory, βρέθηκε μια σαφής αντίστροφη συσχέτιση μεταξύ της αναλογίας φαινυλαλανίνης:τυροσίνης πλάσματος και πολλών LNAA πλάσματος αλλά και του συνόλου τους. Έτσι μια κακή διατήρηση της αναλογίας αυτής στο πλάσμα ίσως να έχει μεγαλύτερη σημασία από ότι μόνο η φαινυλαλανίνη στο πλάσμα για την ισορροπία των LNAA, μετριάζοντας δυννητικά τα οφέλη από τα αυξημένα διατροφικά μεγάλα ουδέτερα αμινοξέα. Το γεγονός ότι τα μεγάλα ουδέτερα αμινοξέα εκτός της φαινυλαλανίνης στη διατροφή είχαν μεγάλη επίδραση στην αναλογία P:T και στις συγκεντρώσεις των LNAA υποδηλώνει την ανταγωνιστική μεταφορά μεταξύ αυτών και της φαινυλαλανίνης στο έντερο. Έτσι, χωρίς φυσικά να υποκαθιστά τον διαιτητικό έλεγχο της φαινυλαλανίνης, περισσότερα μεγάλα ουδέτερα αμινοξέα στη διατροφή είναι αποτελεσματικά συνδυαστικά με μια θεραπευτική προσέγγιση που προάγει τη σωστή αναλογία φαινυλαλανίνης:τυροσίνης στο αίμα. Άξιο λόγου είναι η συσχέτιση ειδικά της βαλίνης, τόσο με τα μεγάλα ουδέτερα αμινοξέα πλάσματος και τα διατροφικά, όσο και με την αναλογία φαινυλαλανίνη προς τυροσίνη να ξεχώρισε, υποδηλώνοντας ότι η βαλίνη μπορεί να αποτελέσει δείκτη της κατάστασής τους, της διατροφικής συμμόρφωσης και του μεταβολικού ελέγχου στη φαινυλκετονουρία, χωρίς όμως να γνωρίζουμε το λόγο. Η αναλογία φαινυλαλανίνης:τυροσίνη συνδέεται σημαντικά με τα διαιτητικά LNAA πλάσματος και να μπορεί να αποτελέσει, όπως και η βαλίνη, κλινικό δείκτη για τον προσδιορισμό τη μεταβολικής ισορροπίας των LNAA και της ποιότητας των LNAA της διαίτας στη φαινυλκετονουρία[24].

Από τη μελέτη στην οποία έγινε χρήση PreKUnil, η θεραπευτική προσέγγιση που προτείνεται είναι η εξισορρόπηση των αναλογιών των αμινοξέων αίματος, καθώς η επίδραση που έχει αυτή σε εκείνα του εγκεφάλου είναι σημαντική προς διατήρηση της νευρολογικής υγείας, αλλά και της κατάθλιψης που είναι συνήθης στη φαινυλκετονουρία. Με δεδομένο λοιπόν ότι πολλοί έφηβοι και ενήλικες δεν έχουν την απαιτούμενη προσκόλληση στη διαίτα ή δεν την ακολουθούν καθόλου, θα ήταν συνετό να προσφέρουμε θεραπεία με LNAA, αφού έχει φανεί ότι βελτιώνει το προφίλ των αμινοξέων και αυξάνει την τρυπτοφάνη και την τυροσίνη που είναι πρόδρομες της σεροτονίνης και της ντοπαμίνης, ενώ υποδεικνύεται ότι μειώνονται και τα επίπεδα της εγκεφαλικής φαινυλαλανίνης [26].

Τα συμπεράσματα που εξάγονται από τη μελέτη με τη χρήση NeoPhe είναι ότι τα μεγάλα ουδέτερα αμινοξέα μπορούν να μειώσουν την αιματική φαινυλαλανίνη σε όλους τους ασθενείς με φαινυλκετονουρία, εν αντιθέσει με τη θεραπεία με τετραϋδροβιοπτερίνη, στην οποία η ανταπόκριση είναι κυρίως σε άτομα με ήπια ή άτυπη PKU, γεγονός που τα καθιστά νέα μέθοδο θεραπείας της φαινυλκετονουρίας στην περίπτωση που η θεραπεία ρουτίνας με διατροφή χωρίς πρωτεΐνη και φόρμουλα PKU δεν είναι επιτυχής στο να μειώσει τις συγκεντρώσεις της αιματικής φαινυλαλανίνης. Είναι απαραίτητες μακροχρόνιες μελέτες με LNAA (NeoPhe) για τη διαπίστωση της ασφάλειας, της μακροπρόθεσμης αποτελεσματικότητας και της μακροπρόθεσμης συμμόρφωσης, καθώς ο αριθμός των χαπιών φαίνεται να είναι υψηλός, ενώ θα πρέπει να μπορεί να χορηγηθεί σε μορφή σκόνης ή σε μασώμενες μορφές και να γίνει πιο εύγευστο, έτσι ώστε η λήψη τους να είναι πιο αποδεκτή από τους ασθενείς [27].

Από τη μελέτη με το σκεύασμα NeutrAfenil Micro R, αντανακλάται ότι στη σύνθεσή του έχει υψηλή ποσότητα τυροσίνης σε σύγκριση με άλλα διαθέσιμα προϊόντα, καθώς τα επίπεδά της στο αίμα των ασθενών ήταν σημαντικά αυξημένα για όλη τη διάρκεια της μελέτης, ακόμα και βραχυπρόθεσμα. Οι αλλαγές στα επίπεδα της επιβεβαιώθηκαν επίσης από τη μείωση της αναλογίας φαινυλαλανίνη/ τυροσίνη σε όλες τις περιόδους της μελέτης. Αντίθετα, τα επίπεδα της φαινυλαλανίνης αίματος δεν άλλαξαν σημαντικά τους 12 μήνες πριν από την έναρξη της θεραπείας με μεγάλα ουδέτερα αμινοξέα και την περίοδο 12 μηνών μετά την έναρξη της θεραπείας. Υπήρξε μια μείωση των επιπέδων της στους έξι μήνες, δηλαδή βραχυπρόθεσμα, αλλά στο τέλος αυτής της μελέτης, τα επίπεδά της ξανά έγιναν υψηλά στο 75% των ασθενών. Αυτό το αποτέλεσμα είναι αντιφατικό με ορισμένες άλλες μελέτες, που ωστόσο, πραγματοποιήθηκαν σε πολύ σύντομα χρονικά διαστήματα (λιγότερο από 12 μήνες), ενώ οι ασθενείς στην τρέχουσα μελέτη έλαβαν θεραπεία για περίοδο 12 μηνών. Πράγματι, σε λιγότερο από 6 μήνες (βραχυπρόθεσμα), ανιχνεύθηκε μείωση των επιπέδων φαινυλαλανίνης, αλλά επέστρεψαν στα βασικά επίπεδα για την πλειονότητα των ασθενών μέχρι το τέλος της περιόδου θεραπείας των 12 μηνών. Ένας άλλος πιθανός παράγοντας που συμβάλλει στη μη σημαντική μείωση των επιπέδων φαινυλαλανίνης είναι η ηλικία των ασθενών. Στην συγκεκριμένη μελέτη ήταν όλοι ενήλικες, ενώ άλλες αφορούν σε παιδιατρικούς ασθενείς που παρουσιάζουν καλύτερη συμμόρφωση στη θεραπεία. Η ίδια πηγή αναφέρει ότι μελέτες που έχουν αξιολογήσει τα μεγάλα ουδέτερα αμινοξέα σε ασθενείς με PKU είναι σχετικές και δεν κατάφεραν να παρουσιάσουν σαφές πλεονέκτημα όσον αφορά στη μείωση των συγκεντρώσεων της φαινυλαλανίνης στον εγκέφαλο, με τα δεδομένα για τα επίπεδα της φαινυλαλανίνης στον εγκέφαλο σε ασθενείς που έλαβαν θεραπεία με μεγάλα ουδέτερα αμινοξέα να είναι σπάνια. Υπάρχουν περιορισμένα δεδομένα σχετικά με τις τιμές της τυροσίνης και την αναλογία Phe/Tyr σε ασθενείς που λαμβάνουν συμπλήρωμα με μεγάλα ουδέτερα αμινοξέα, ενώ τα υψηλά επίπεδα της τυροσίνης μπορεί να προάγουν αυξημένη

συγκέντρωση των μονοαμινεργικών νευροδιαβιβαστών του εγκεφάλου. Τα αποτελέσματα της συγκεκριμένης μελέτης υποδηλώνουν ότι η περίοδος βιοχημικής και κλινικής παρακολούθησης θα πρέπει να αυξηθεί, ενώ είναι πιθανό και οι 12 μήνες μελέτης δεν είναι αρκετοί για μια χρόνια πάθηση όπως είναι η φαινυλκετονουρία [28].

Από μια μελέτη σε ανθρώπους, έγινε χρήση του νέου φαρμακευτικού τροφίμου PheLNAA, το οποίο εν συγκρίσει με άλλα ιατρικά τρόφιμα για τη φαινυλκετονουρία περιέχει αυξημένες συγκεντρώσεις μεγάλων ουδέτερων αμινοξέων, περισσότερες βιταμίνες και άλλα θρεπτικά συστατικά όπως βιταμίνη B12, η βιοτίνη, το DHA και η λουτεΐνη που μπορεί να είναι ελλιπή σε μια διατροφή για φαινυλκετονουρία. Και εδώ αναφέρεται ότι τα μεγάλα ουδέτερα αμινοξέα μπορούν να βοηθήσουν στην επίτευξη των επιπέδων φαινυλαλανίνης στο αίμα στο εύρος στόχο, εμποδίζοντας μέρος της μεταφοράς της στον γαστρεντερικό σωλήνα και μέσω του αιματοεγκεφαλικού φραγμού. Σε επτά από τους δώδεκα ασθενείς μετά το τέλος της θεραπείας των τεσσάρων εβδομάδων, παρατηρήθηκε βελτίωση των επιπέδων αιματικής φαινυλαλανίνης με μείωσή της μεταξύ 32 και 90% από την αρχική τιμή καθ' όλη τη διάρκεια της μελέτης. Αυτό υποδεικνύει ότι η αυξημένη συγκέντρωση των μεγάλων ουδέτερων αμινοξέων στο PheLNAA ανέστειλε σε μεγάλο βαθμό τη μεταφορά της φαινυλαλανίνης στο γαστρεντερικό σωλήνα και στον αιματοεγκεφαλικό φραγμό σε αυτούς τους ασθενείς. Από τους άλλους πέντε ασθενείς της μελέτης, δύο πέτυχαν μείωση των επιπέδων αιματικής φαινυλαλανίνης αλλά ήταν μικρότερη από τον πρωταρχικό τελικό στόχο του 30%, ενώ οι άλλοι τρεις σημείωσαν αύξηση στα επίπεδά της. Οι ασθενείς που ανταποκρίθηκαν λιγότερο στη θεραπεία ήταν τα μεγαλύτερης ηλικίας παιδιά (τα δεδομένα δεν εμφανίζονται) και γίνεται η υπόθεση ότι ακολουθούν ασυνάρτητα τη διαίτα τους, ενώ τα μικρότερα παιδιά τη βοήθεια των γονέων μπορούν να ακολουθήσουν τη διατροφή τους με πιο αυστηρό τρόπο. Η έλλειψη τήρησης της διαίτας εφόρου ζωής στη θεραπεία της φαινυλκετονουρία προκαλεί ανησυχία, ενώ η Εθνική Συναινετική Επιτροπή του NIH των Ηνωμένων Πολιτειών για τη θεραπεία της φαινυλκετονουρίας, συνέστησε πιο πρόσφατα στόχο για τις συγκεντρώσεις αιματικής φαινυλαλανίνης <6 mg/dl (360 μmol/l) για όλες τις ηλικίες. Το συγκεκριμένο ιατρικό τρόφιμο κατατάχθηκε ότι έχει καλύτερη γεύση σε σχέση με άλλα δοκιμασμένα ιατρικά τρόφιμα, ενώ ιδανικά η ιατρική τροφή θα πρέπει να ξεκινά σε μικρότερη ηλικία για να μετριαστεί το πρόβλημα της μη συμμόρφωσης. Εάν τα παιδιά εξοικειωθούν περισσότερο με τη γεύση της ιατρικής τους τροφής σε μικρότερη ηλικία, μπορεί να τους είναι πιο εύκολο να την αποδεχτούν και να τηρήσουν τη διατροφή τους μακροπρόθεσμα [29].

Από τις κατευθυντήριες οδηγίες προκύπτει ότι απαιτούνται μεγαλύτερες δοκιμές προς τεκμηρίωση του ευρήματος μιας μεμονωμένης κλινικής δοκιμής που έδειξε μείωση κατά 40% της αιματικής φαινυλαλανίνης έπειτα από αντικατάσταση της τυπικής χαμηλής σε φαινυλαλανίνη ιατρικής τροφής με συμπλήρωμα LNAA 0,5-1g/kg/d και πρέπει να καθοριστεί η μακροχρόνια ασφάλειά τους. Προς το παρόν η χρήση τους γίνεται σε

μεγαλύτερους ασθενείς, με αποφυγή τους κατά την εγκυμοσύνη καθώς δε γνωρίζουμε τις επιπτώσεις τους στην ανάπτυξη και το κεντρικό σύστημα του εμβρύου, αλλά και επειδή δε μειώνει επαρκώς την αιματική φαινυλαλανίνη σε ασφαλές για την ανάπτυξη εύρος[11,16]. Δεν είναι εύκολη η παρακολούθηση της καλής έκβασης της θεραπείας με τη χρήση τους και αυτό γιατί οι συγκεντρώσεις φαινυλαλανίνης στο αίμα μένουν υψηλές και δεν είναι πρακτική η μέτρησή τους στον εγκέφαλο [11]. Τα μεγάλα ουδέτερα αμινοξέα παρέχουν το 35 με 50% στα άνευ φαινυλαλανίνης συμπληρώματα Λαμινοξέων, με δύο τυχαιοποιημένες ελεγχόμενες δοκιμές να δείχνουν ότι μειώνουν σημαντικά την αιματική φαινυλαλανίνη, ενώ διασχίζουν το βλεννογόνο του εντέρου με μια πρωτεΐνη φορέα παρόμοια με εκείνη του αιματεγκεφαλικού φραγμού. Συγκεκριμένα η λυσίνη, η λευκίνη, η ισολευκίνη, η ιστιδίνη και η τυροσίνη προκαλούν σημαντική μείωση της μεταφοράς της φαινυλαλανίνης στο εντερικό επιθήλιο, όπως φαίνεται από *in vitro* μελέτες, υποδηλώνοντας ότι ο ανταγωνισμός μεταφοράς μπορεί να επιτευχθεί από υψηλές συγκεντρώσεις LNAA και κατιονικών αμινοξέων και στο έντερο, εκτός δηλαδή από τον αιματεγκεφαλικό φραγμό[15]. Χορήγησή τους σε μεγάλες ποσότητες μέσω του ανταγωνισμού με τη φαινυλαλανίνη, μπορεί να μειώσει την είσοδό της στον εγκέφαλο και να αυξήσει τις συγκεντρώσεις του νευροδιαβιβαστή του εγκεφάλου και των εγκεφαλικών βασικών αμινοξέων. Εμφανίζονται να βελτιώνουν τις εκτελεστικές λειτουργίες στη φαινυλκετονουρία, ιδιαίτερα τη λεκτική, ενώ σε ποντίκια με φαινυλκετονουρία αναφέρεται και εδώ ότι συμπλήρωμα μεγάλων ουδέτερων αμινοξέων, χαμηλό σε θρεονίνη, μείωσε κατά 26% τη φαινυλαλανίνη στον εγκέφαλο εν συγκρίσει με την κανονική τροφή και ανακούφισε κάποιες εγκεφαλικές ανεπάρκειες (τρυπτοφάνη), αύξησε τις εγκεφαλικές συγκεντρώσεις σεροτονίνης και νορεπινεφρίνης, αλλά όχι της ντοπαμίνης [16].

## 5.2.Συμπεράσματα

Η γενική θεωρία που επικρατεί στη βιβλιογραφία είναι ότι τα μεγάλα ουδέτερα αμινοξέα, είτε ως αυτούσιο συμπλήρωμα είτε σε υψηλότερες συγκεντρώσεις ως συστατικά ιατρικών τροφίμων, θα μπορούσαν να επιφέρουν όφελος στη φαινυλκετονουρία [24]. Η θεραπεία με τη χρήση τους λοιπόν, θεωρείται εναλλακτική και ενισχυτική της συμβατικής διαιτητικής θεραπείας αλλά, ενώ συνήθως αναφέρεται ως μία συγκεκριμένη μέθοδος θεραπείας, οι στρατηγικές που χρησιμοποιούνται είναι πολλές [23]. Η βέλτιστη σύνθεση για τα συμπληρώματα μεγάλων ουδέτερων αμινοξέων δεν έχει ακόμη αποσαφηνιστεί, ενώ μπορεί να μην προσφέρουν κανένα επιπλέον όφελος σε εκείνους που είναι προσκολλημένοι σε μεγάλο βαθμό στη δίαιτα και χρησιμοποιούν ήδη συστηματικά συμπληρώματα L-αμινοξέων χωρίς φαινυλαλανίνη. Παραμένουν μη ελεγμένα για τις ηλικίες κάτω των 11 χρόνων, υπάρχει αντένδειξή τους για την περίοδο της εγκυμοσύνης και η χρήση τους γενικά εξετάζεται κυρίως για μεγαλύτερους ηλικιακά ασθενείς που δε μπορούν να διατηρήσουν την απαιτούμενη προσκόλληση στη διατροφή [16]. Περισσότερες κλινικές μελέτες, καλά μεθοδολογικά σχεδιασμένες είναι αναγκαίες για την καλύτερη εφαρμογή των συμπληρωμάτων των μεγάλων ουδέτερων αμινοξέων στη θεραπεία της νόσου της φαινυλκετονουρίας, τους πιθανούς ρόλους σε αυτή, αλλά φυσικά και της σύνθεσης και της δοσολογίας τους [23,24,27,28].



## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΑΝΑΦΟΡΕΣ

1. Moller N, Meek S, Bigelow M, et al, The kidney is an important site for in vivo phenylalanine-to-tyrosine conversion in adult humans: A metabolic role of the kidney, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2000, 97(3): 1242–1246.
2. Williams R A, Mamotte C, Burnett J, Phenylketonuria: An Inborn Error of Phenylalanine Metabolism, *The Clinical Biochemist Reviews*, 2008, 29: 31-41.
3. Evers R.A.F, van Wegberg A.M.J, Ahring K, et al, Defining tetrahydrobiopterin responsiveness in phenylketonuria: Survey results from 38 countries, *Molecular Genetics and Metabolism*, 2021, 132, 4: 215-219.
4. Ilgaz F, Pinto A, Gökmen-Özel H, et al, Long-Term Growth Phenylketonuria: A Systematic Review and Meta-Analysis, *Nutrients*, 2019, 11(9): 2070.
5. Brown J. E, Isaacs J. S, Krinke U. B, et al, Η Διατροφή πριν τη Σύλληψη, Η Διατροφή στον Κύκλο της Ζωής, 5<sup>η</sup> έκδοση, 2015, Αθήνα, Ιατρικές Εκδόσεις Λαγός Δημήτριος.
6. Babich O, Dyshlyuk L, Prosekov A, et al, Study of the Potential of the Capsule Shell Based on Natural Polysaccharides in Targeted Delivery of the L-Phenylalanine Ammonia-Lyase Enzyme Preparation, *Pharmaceuticals*, 2020, 13: 63.
7. Hoang L, Byck S, Prevost L, et al, PAH Mutation Analysis Consortium Database: A Database for Disease-Producing and Other Allelic Variation at the Human PAH Locus, *Nucleic Acids Research*, 1996, 24: 127-131.
8. Scala I, Riccio M.P, Marino M, et al, Large Neutral Amino Acids (LNAAs) Supplementation Improves Neuropsychological Performances in Adult Patients with Phenylketonuria, *Nutrients*, 2020, 12: 1092.
9. Waisbren S, Burton B.K, Feigenbaum A, et al, Long- term preservation of intellectual functioning in sapropterin-treated infants and young children with phenylketonuria: A seven-year analysis, *Molecular Genetics and Metabolism*, 2021, 132(2): 119-127.
10. Lichter-Konecki U and Vockley J, Phenylketonuria: Current treatments and future developments, *Drugs*, 2019, 79: 495-500.
11. Vockley J, Andersson H.C, Antshel K.M, et al, The American College of Medical Genetics and Genomics Therapeutic Committee, Phenylalanine hydroxylase deficiency: diagnosis and management guideline, *Genetics in Medicine*, 2014, 16(2): 188-200.

12. Ζαμπέλας Α., Ενδογενή μεταβολικά νοσήματα, Κλινική διαιτολογία και διατροφή με στοιχεία παθολογίας, Κύπρος, Εκδόσεις Π.Χ. Πασχαλίδης-BrokenHillPublishersLTD, 2011.
13. Harding C. O. and Blau N, Advances and challenges in phenylketonuria, *Journal of Inherited Metabolic Disease*, 2010, 33, 6: 645-648.
14. PubChem, Phenylalanine, *National Institutes of Health*.
15. van Wegberg A.M.J, MacDonald A, Ahring K, et al, The complete European guidelines on phenylketonuria: diagnosis and treatment, *Orphanet Journal of Rare Diseases*, 2017, 12: 162.
16. Rocha J.C and MacDonald A, Dietary intervention in the management of phenylketonuria: current perspectives, *Pediatric Health, Medicine and Therapeutic*, 2016, 7: 155-163.
17. van Spronsen F.J, Blau N, Harding C, et al, Phenylketonuria, *National Library of Medicine*, 2021, 7(1): 36.
18. Gokmen Ozel H, Ahring K, Belanger-Quintana A, et al, Overweight and obesity in PKU: The results from 8 centers in Europe and Turkey, *Molecular Genetics and Metabolism Reports*, 2014, 1: 483-486.
19. Singh R.H, Rohr F, Frazier D, et al, Recommendations for nutrition management of phenylalanine hydroxylase deficiency, *Genetics in Medicine*, 2014, 16(2): 121-131.
20. Bernstein L.E, Rohr F and Helm J.R, Nutrition Management of Inherited Metabolic Diseases, *Springer*, 2015.
21. Pena M. J, Almeida M. F, van Dam E, et al, Special low protein foods for phenylketonuria: availability in Europe and an examination of their nutritional profile, *Orphanet Journal of Rare Diseases*, 2015, 10: 162.
22. MacDonald A, Singh R. H, Rocha J. C, et al, Optimising amino acid absorption: essential to improve nitrogen balance and metabolic control in phenylketonuria, *Nutrition Research Reviews* 111, 2019, 32(1): 70-78.
23. van Spronsen F. M, de Groot M. J, Hoeksma M, et al, Large neutral amino acids in the treatment of PKU: from theory to practice, *Journal of Inherited Metabolic Disease*, 2010, 33(6): 671-676.
24. Douglas T. D, Nucci A. M, Berry A. M, et al, Large neutral amino acids in association with P:T ratio and diet in adult and pediatric patients with phenylketonuria, *Journal of Inherited Metabolic Disease*, 2019, 50(1): 50-59.
25. Dijkstra A. M, van Vliet N, van Vliet D, et al, Correlations of blood and brain biochemistry in phenylketonuria: Results from the Pah-enu2 PKU mouse, *Molecular Genetics and Metabolism*, 2021, 134, 3: 250-256.

26. Koch R, Moseley K. D, Yano S, et al, Large neutral amino acid therapy and phenylketonuria: a promising approach to treatment, *Molecular Genetics and Metabolism*, 2003, 79: 110-113.
27. Matalon R, Michals-Matalon K, Bhatia G, et al, Double blind placebo control trial of large neutral amino acids in treatment of PKU: Effect on blood phenylalanine, *Journal of Inherited Metabolic Disease*, 2007, 30:153–158.
28. Burlina A. P, Cazzorla C, Massa P, et al, Large Neutral Amino Acid Therapy Increases Tyrosine Levels in Adult Patients with Phenylketonuria: A Long-Term Study, *Nutrients*, 2019, 11, 2541.
29. Conolino D, Mascaro I, Moricca M. T, et al, Long-term treatment of phenylketonuria with a new medical food containing large neutral amino acids, *European Journal of Clinical Nutrition*, 2017, 71(1): 51–55.
30. Patrawala M, Kuruvilla M and Li H, Successful desensitization of Pegvaliase (Palynziq) in a patient with phenylketonuria, *Molecular Genetics and Metabolism Reports* , 2020, 23: 100575.
31. Aryal M, Lau K, Boyer R, et al, Achieving efficacy in subjects with sustained pegvaliase-neutralizing antibody responses, *Molecular Genetics and Metabolism*, 2021, 134, 3: 235-242.