



**UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE**  
**3. LÉKAŘSKÁ FAKULTA**



Klinika dětí a dorostu 3.LF a FNKV

**Eva Havlíková**

**Prevence poškození zdraví u  
hyperfenylalaninémie – jedné z nejčastějších  
metabolických poruch**

*Prevention of health complications in  
hyperphenylalaninemia – one of the most common  
metabolic disorders*

Diplomová práce

Praha, květen 2010

Autor práce: Eva Havrlíková

Studijní program: Všeobecné lékařství

Vedoucí práce: **MUDr. Renata Pazdírková**

Pracoviště vedoucího práce: **Klinika dětí a dorostu 3.LF a  
FNKV**

Datum a rok obhajoby: 8. 6. 2010

## **Prohlášení**

Prohlašuji, že jsem předkládanou práci zpracovala samostatně a použila jen uvedené prameny a literaturu. Současně dávám svolení k tomu, aby tato diplomová práce byla používána ke studijním účelům.

V Praze dne 24.května 2010

Eva Havrlíková

## **Poděkování**

Na tomto místě bych ráda poděkovala MUDr. Renatě Pazdírkové z Kliniky dětí a dorostu 3. LF a FNKV za její rady, spolupráci, ochotu a trpělivost při vedení mé diplomové práce.

# Obsah

1. ÚVOD.....	5
2. PATOGENEZE ONEMOCNĚNÍ.....	6
2.1 Fenylalanin.....	6
2.2 Role BH4.....	7
2.3 Příčiny hyperfenylalaninémie.....	8
3. HISTORIE OBJEVU FENYLKETONURIE.....	9
3.1 Historie screeningu a léčby v českých zemích.....	11
4. DEFICIT FENYLALANINHYDROXYLÁZY.....	16
4.1 Dědičnost onemocnění.....	16
4.2 Klinické projevy.....	18
4.3 Diagnostické testy.....	19
4.3.1 Screening.....	19
4.3.2 Metodika screeningu.....	21
4.3.3 Molekulárně-genetické vyšetření.....	21
4.3.4 Prenatální a preimplantační diagnostika.....	21
4.3.5 Zátěžový test s L-fenylalaninem.....	23
4.3.6 BH4 test.....	23
4.4 Léčba.....	24
4.4.1 Monitorování léčby.....	25
4.4.2 Individuální tolerance fenylalaninu.....	26
4.4.3 Složení diety.....	27
4.4.4 Léčba PKU v dospělosti.....	30
4.4.5 Limity dietní léčby.....	33
4.4.6 Alternativní léčba a experimentální studie.....	34
4.4.6.1 Léčba sapropterinem.....	34
4.6 Mateřská fenylketonurie.....	36
4.6.1 Patogeneze.....	36
4.6.2 Klinické studie.....	37
4.6.3 Prekoncepční příprava.....	39
4.6.4 Léčba v těhotenství.....	40
4.6.5 Porod a kojení.....	42
4.7 Péče o pacienty s PKU.....	42
4.7.1 Národní sdružení PKU a jiných dědičných metabolic- kých poruch.....	43
5. PORUCHY METABOLISMU BIOPTERINU.....	44
5.1 Dědičnost.....	45
5.2 Klinické projevy.....	45
5.3 Diagnostické testy.....	46
5.3.1 Vyšetření pterinů v moči nebov krvi a stanovení aktivity DHPR v krvi.....	46
5.3.2 Test s BH4.....	46
5.3.3 Neurotransmitery v likvoru.....	47
5.3.4 Prenatální diagnostika.....	47
5.4 Léčba a prognóza.....	47
6. ZÁVĚR.....	50
7. SOUHRN.....	54
8. SUMMARY.....	56
9. SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....	58

## ÚVOD

Fenylketonurie (PKU) patří do skupiny dědičných metabolických onemocnění, které jsou významnou příčinou mortality i morbidity ve všech věkových kategoriích, zvláště u dětí. Porucha vzniká změnou genetické informace, kauzální terapie tedy v současné době není možná.(2) Toto onemocnění přesto patří do skupiny léčitelných poruch, u kterých včasná diagnostika a adekvátní léčba jsou prevencí závažného poškození zdraví pacienta a tím zcela mění jeho budoucnost.

Téma své diplomové práce „Prevence poškození zdraví u hyperfenylalaninémie – jedné z nejčastějších metabolických poruch“ jsem si vybrala na základě svého zájmu o tuto problematiku, který ve mne vyvolaly stáže na dětské klinice FNKV. Cílem mé diplomové práce je shrnout současné poznatky o této chorobě, dále se zaměřit na možnosti jejího vyhledávání, léčby a komplexní péče o pacienty s PKU. Na všech těchto úrovních je možné ovlivnit prognózu tohoto onemocnění.

## 2. PATOGENEZE ONEMOCNĚNÍ

Fenylketonurie je dědičné metabolické onemocnění. Příčinou onemocnění je deficit enzymu (fenylalaninhydroxylázy) či jeho kofaktoru (tetrahydrobiopterinu). Důsledkem je hromadění substrátu (fenylalaninu) a nedostatečná tvorba produktu (tyrozinu), což vede k systémovým projevům nemoci. Vážně tedy přeměna fenylalaninu na tyrozin a fenylalanin se hromadí se v tělesných tekutinách. Tento stav se nazývá hyperfenylalaninémie a je definována jako zvýšení koncentrace L-fenylalaninu v krvi nad 120  $\mu\text{mol/l}$ . Neléčená hyperfenylalaninémie u dítěte s fenylketonurií způsobuje těžká tělesná i psychická poškození již několik měsíců po narození. V současné době je známo několik biochemicky a klinicky odlišných forem hyperfenylalaninémie, fenylketonurie je jednou z nejčastějších forem.

### 2.1 Fenylalanin

Fenylalanin (2-amino-3-fenylpropionát -  $\text{NH}_2\text{CH}(\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5)\text{COOH}$ ,  $\text{C}_9\text{H}_{11}\text{O}_2\text{N}$ ) je aromatická glukoplastická i ketoplastická aminokyselina, tvořící přibližně 5% obsahu bílkovinné potravy. Je metabolizovaná hlavně v játrech systémem fenylalaninhydroxylázy na tyrozin. Fenylalanin je esenciální aminokyselina, tzn. nelze ji v organismu syntetizovat, je získávána především potravou nebo štěpením tkáňových bílkovin. Fenylalanin je spolu s tyrozinem prekurzorem pro biosyntézu hormonů adrenalinu (dřeň nadledvin), thyroxinu a trijodthyroninu (štítná žláza), dále pro biosyntézu melaninů (pigmentů kůže, vlasů, vousů, očí). V dětském věku je asi polovina fenylalaninu přijatého potravou metabolizována na tyrozin a druhá polovina, nezbytná pro růst a obnovu tkání. Ve stravě je nejvíce fenylalaninu obsaženo v mase, mléčných výrobcích, vejcích, obilninách, luštěninách, ořechách, sóje a čokoládě. Tvoří také součást umělého sladidla aspartam, hojně používaného např. jako sladidlo u limonád a žvýkaček bez cukru.

Přijímá-li člověk normální stravu, přináší krev z jeho zažívacího traktu do jater ke zpracování každý den 3000-3500 miligramů fenylalaninu. Člověk

s fenylketonurií ale nedokáže ve svých játrech fenylalanin zpracovat. Přijímá-li normální stravu, fenylalanin v ní obsažený není v játrech zachycen a zpracován a vrací se zpět do krve. S každou porcí normální stravy tak přibývá v krvi člověka s fenylketonurií další množství fenylalaninu a brzy dosáhne jeho koncentrace až dvacetinásobku toho, co je obvyklé. Z krve se fenylalanin dostává do extracelulární tekutiny. Složení extracelulární tekutiny musí být stále a zdravý organismus dokáže tuto stálost dokonale udržovat. Při fenylketonurii je složení extracelulární tekutiny narušené. Fenylalanin, jinak aminokyselina tělu vlastní, působí v tomto vysokém množství na buňky organismu jako toxin.(8)

Přesná patogeneze postižení mozku není zcela známa. Tyrozin se stává semiesenciální aminokyselinou se sníženými hladinami v krvi, které vedou k poruše syntézy dalších biogenních aminů včetně melaninu, dopaminu a noradrenalinu. Zvýšené hladiny fenylalaninu v krvi způsobují dysbalanci ostatních dlouhých neutrálních aminokyselin v mozku, což vede ke zvýšené koncentraci tyrozinu a serotoninu v mozku. Poměr hladin fenylalaninu v krvi/v mozku je kolem 1:4. Vedle vlivu na transport aminokyselin do mozku fenylalanin poškozují hydroxylaci tyrosinu na dopamin a dekarboxylaci tryptofanu na serotonin. Fenylketony - fenylpyruvát, fenylacetát a fenyllaktát nejsou patologické metabolity, ale objevují se ve zvýšených koncentracích a jsou vylučovány močí.(1)

## **2.2. Role BH4**

Prvním krokem v přeměně fenylalaninu je hydroxylace na tyrosin, kterou katalyzuje fenylalaninhydroxyláza (fenylalanin 4-monooxygenáza), vyžadující jako kofaktor aktivní pterin – tetrahydrobiopterin (BH4), který se tvoří ve třech krocích z GTP. Během hydroxylace je BH4 přeměněn na neaktivní pterin 4a-karbinolamin. Regenerace BH4 probíhá cestou q-dihydrobiopterinu (qBH2) a účastní se jí několik enzymů.

BH4 je také obligátní kofaktor pro tyrosinhydroxylázu a tryptofanhydroxylázu, a tak je nutný pro tvorbu dopaminu, katecholaminů,



melaninu, serotoninu a pro syntézu oxidu dusnatého. Poruchy fenylalaninyhydroxylázy tak vedou nejen k hyperfenylalaninémii, ale rovněž k deficitu tyrozinu, L-dopy, dopaminu, melaninu, katecholaminů a 5-hydroxytryptofanu. Je-li omezená hydroxylace na tyrozin, fenylalanin je transaminován na fenylpyruvát (keton vylučovaný ve zvýšeném množství v moči – odtud termín „fenylketonurie“) a dále redukován a dekarboxylován.(1)

### **2.3 Příčiny hyperfenylalaninémie**

Mutace v genu pro jaterní enzym fenylalaninyhydroxylázu (vedoucí k deficitu tohoto enzymu) nebo pro enzymy, které se účastní metabolismu pterinů, jsou spojeny se vznikem hyperfenylalaninémie.

Fenylketonurie je způsobena těžkým deficitem aktivity fenylalaninhydroxylázy – při tzv. klasické fenylketonurii (nebo jen fenylketonurii), kdy je hladina fenylalaninu v krvi vyšší než 1200  $\mu\text{mol/l}$  a reziduální aktivita PAH je  $< 1\%$ , jsou-li pacienti na normálním příjmu bílkovin. Mezi další diagnostická kritéria patří normální či snížená hladina tyrozinu a normální koncentrace metabolitů tetrahydrobiopterinu. Mírnější poruchy, spojené s hladinami mezi 600 až 1200  $\mu\text{mol/l}$  a reziduální aktivitou PAH 1-5%, se nazývají mírná PKU a hladiny nižší než 600  $\mu\text{mol/l}$  s reziduální aktivitou PAH  $> 5\%$  se nazývají mírná hyperfenylalaninémie (HPA). Toto rozdělení je možné využít při indikaci dietní léčby.(1)

Poruchy metabolismu pterinů (poruchy tvorby nebo recyklace tetrahydrobiopterinu) se dříve nazývaly maligní PKU. Tyto poruchy také vedou kromě hyperfenylalaninémie k poruchám metabolismu biogenních aminů v centrálním nervovém systému a vyžadují léčbu perorálním tetrahydrobiopterinem a neurotransmitery.

### 3. HISTORIE OBJEVU FENYLKETONURIE

Fenylketonurie byla poprvé popsána profesorem Asbjornem Föllingem (norským lékařem specializovaným na biochemii) v roce 1934. Od roku 1932 působil na lékařské fakultě Univerzity v Oslu. Na profesora Föllinga se roku 1934 obrátila mladá žena se svými dvěma dětmi, které se jevily duševně opožděné a dosud se nenašel žádný lékař, který by objasnil příčinu jejich handicapu. V rámci vyšetření, na kterém se podílel i mladý student Kaar Closs, byla dětem odebrána moč a následně podrobena zkouškám. Fölling a Closs společně došli k závratnému zjištění, kdy po přidání chloridu železitého namísto očekávaného červenohnědého zbarvení moč zezelenala. Tento překvapující fakt vedl Föllinga k následujícímu zkoumání látky, která reakci způsobila. Nejprve ji izoloval a poté se ji snažil blíže určit, předpokládal totiž, že je příčinou mentální retardace obou pacientů. Za podpory rodiny dětí bylo vedeno další zkoumání a rozbory moči. Během několika týdnů se podařilo neznámou látku identifikovat - jednalo se o kyselinu fenylpyrohroznovou a porucha proto byla v roce 1934 pojmenována „Imbecilitas phenylpyruvica“. Biochemik Seymour Kaufman v roce 1939 prokázal deficit fenylalaninhydroxylázy v játrech u Föllingových pacientů a ozřejmil, že deficit tohoto enzymu je podstatou klasické fenylketonurie. Později také objevil funkci tetrahydrobiopterinu (BH<sub>4</sub>) jako kofaktoru tohoto enzymu a existenci dalších mutací alterujících metabolismus BH<sub>4</sub> způsobujících hyperfenylalaninémii.

Po této události pokračovat Fölling v bádání. Provedl vyšetření stejného charakteru u dalších 430 dětí z ústavů sociální péče. Kyselinu fenylpyrohroznovou našel v moči osmi dětí. Výsledky a poznatky pramenící z jeho výzkumů shrnul v publikaci, pojednávající o nově objevené poruše látkové přeměny.

Necelých dvacet let po objevu byla nemoc dobře známá ve vědecké společnosti jako porucha trávení bílkovin, která mohla být regulována

speciální dietou. Dosud však neexistoval způsob, jak postiženým dětem pomoci.

Přišel rok 1951 a s ním i poprvé v historii zavedená léčebná dieta pro pacienty s PKU, založená na sníženém obsahu proteinů a tím i fenylalaninu ve stravě. První pokus v historii léčby fenylketonurie byl založen na předpokladu, že poškození mozku jedinců s PKU je zapříčiněno nahromaděním fenylalaninu v krvi a mozkomíšním moku.

Lionel Penrose též významně přispěl časnému porozumění PKU. Měl trvalý zájem o případy mentální retardace a domníval se, že tak zvaná „slabomyslnost“ ve stádiu neléčené PKU, měla endogenní chemické příčiny. Penrose byl jeden z prvních, kdo uvažoval o možnosti, že modifikace výživy může neutralizovat škodlivý efekt PKU.

Obrovský pokrok k hlubšímu proniknutí do problematiky fenylketonurie přinesl lékař a německý profesor Horst Bickel. Působil v dětské nemocnici v Birminghamu a jako první léčil dítě s diagnózou fenylketonurie. Svá zjištění a závěry zveřejnil v renomovaném lékařském časopise Lancet v říjnu roku 1953. O čtvrt roku později v lednovém čísle časopisu Acta Paediatrica podává detailnější informace v článku Vliv příjmu fenylalaninu na biochemické nálezy a chování dítěte s fenylketonurií (The Influence of Phenylalanine Intake on the Chemistry and Behavior of a Phenylketonuric Child), na němž se spolu s ním podílel J. Gerrard a E. M. Hickmansová.

Nutnost rozpoznání fenylketonurie v presymptomatickém stádiu vedla k úvahám o plošném novorozeneckém screeningu, jakmile to umožnil rozvoj analytických metod.

První novorozenecký screeningový program s cílem prevence oligofrenie u dětí s fenylketonurií byl vyvinut v 60. letech 20. století v USA. V té době se zakladateli screeningu, profesoru Robertu Guthriemu, podařilo

vyvinout metodiku, která dovoľovala stanovovat fenylalanin v suché krevní kapce na filtračním papírku. Screening fenylketonurie se stal prvním a dosud je nejmasověji rozšířeným novorozeneckým screeningem na světě.

Postupné zavádění screeningu fenylketonurie v různých zemích světa navazovalo na zkušenosti USA a postupně dalších zemí. Před rokem 1970 začínaly zavádět screening Polsko, Maďarsko, tehdejší NDR a Jugoslávie.

### **3.1 Historie screeningu a léčby v českých zemích**

V našem státě byl také jako první novorozenecký screening zaveden screening fenylketonurie. Příprava a spuštění tohoto screeningu jsou spojeny se jmény doc. MUDr. Bohunky Blehové, CSc. (1917-1996) a prof. MUDr. Josefa Hyánka, DrSc. (narozen 1933). Poznatky a bohaté klinické zkušenosti shrnula doc. Blehová v monografii "Oligofrenie a demence v pediatrické praxi" (1968), jejímž spoluautorem je britský neuropatolog Leonard Crom. Publikace se snažila poukázat na důležitost včasné detekce pacientů s PKU.

Vyhledávání dětí postižených fenylketonurií v Čechách zahájila doc. Blehová na Klinice dětí a dorostu FNKV již v roce 1958. V té době byl jediným dostupným vyšetřením klasický Föllingův močový test s chloridem železitým. Nejprve bylo třeba zjistit, zda test nedává falešně pozitivní reakce. Bylo proto vyšetřeno 5011 zdravých dětí ze škol. Falešně pozitivní reakce nebyla zjištěna. Vyšetření pak pokračovala mezi oligofrenními pacienty v psychiatrických léčebnách. V Opařanech bylo vyšetřeno 714 dětí s 8 pozitivními nálezy, v Dobřanech 1478 dospělých, mezi nimiž byli nalezeni dva pacienti s fenylketonurií. V dalších ústavech a mezi příbuznými známých pacientů byli pomocí testu s chloridem železitým nalezeni další nemocní.

V roce 1960 vyšel v časopise Československá pediatrie apel na pediatrickou obec, jehož autorkou byla opět doc. Blehová, aby bylo započato s vyšetřováním novorozenců. Při rozvinuté síti pediatrické péče bychom se

tak patrně byli stali prvním státem na světě, který by celoplošné vyšetřování uskutečnil. Doc. Blehová vydala informační brožuru (1963), na schůzích krajských pediatriů opakovala výzvy k vyšetřování dětí a prováděla instruktáže o vyšetřeních. V roce 1965 ale děti stále nebyly vyšetřovány. V roce 1966 bylo v evidenci kliniky 62 pozdě diagnostikovaných pacientů s fenylketonurií. Po léta trvajících marných snahách o celoplošné zavedení močového screeningového testu (prováděl se ve 4-6 týdnech života) se pozornost soustředila na krevní test s použitím Guthrieho metody, protože krevní vzorek bylo možné odebrat ještě před propuštěním dítěte z porodnice. Metoda byla na klinice v roce 1966 vyzkoušena a shledána jako vhodnou, protože potřebovala minimální vybavení laboratoře. Kromě toho byla velmi výhodná pro kontrolu hladin fenylalaninu u léčených dětí, které bydlely ve větší vzdálenosti od kliniky.

V roce 1964 zavedl prof. Hyánek chromatografický test na aminokyseliny podle prof. Efronové z Bostonu, který byl víceúčelový a dovoľoval detekci zvýšených hladin 6-10 aminokyselin v krvi. Během jednoho roku prof. Hyánek ověřil na vzorku 1000 novorozenců výsledky prof. Efronové a od r. 1966 zahájil fakultativní screeningový test na dědičné metabolické poruchy aminokyselin včetně fenylketonurie na většině novorozeneckých oddělení v Praze a pražském kraji. Současně probíhal selektivní screening všech dětí a adolescentů z azylových ústavů, psychiatrických léčeben a zvláštních škol s cílem odhalit počet nerozpoznaných fenylketonuriků a přimět odpovědné zdravotnické orgány k přijetí celoplošného novorozeneckého screeningu fenylketonurie. Detekováno bylo tehdy 260 nepoznaných pacientů s fenylketonurií, 5 pacientů s homocystinurií, 4 s tyrosinózou, 15 cystinurií aj. Návrh zákona pro obligatorní screening fenylketonurie byl na ministerstvu zdravotnictví ČR připraven pod vedením prof. MUDr. Houšťka. V roce 1968 byl doporučen k realizaci, ale pro důležitější události Pražského jara byl odsunut.

V Československu zavedení screeningu před rokem 1970 naráželo na nutnost dovážet za konvertibilní měny jak vyšetřovací soupravy pro stanovení fenylalaninu, tak aminokyselinové přípravky nezbytné k léčbě.

Prioritním požadavkem tehdejší doby bylo vyvinout tuzemskou českou výrobu a vyhnout se dovozu ze zahraničí. Proto byl jako screeningová metoda vybrán mikrobiologický test podle Guthrieho, který v té době využívalo 15 států světa. Metodika umožňovala sériová stanovení fenylalaninu a dovozovala časnou diagnostiku již v prvních dnech po narození. Odběr suché krevní kapky se tak mohl uskutečnit ještě před propuštěním dítěte z porodnice a screeningu neunikalo žádné z narozených dětí. Docentka Blehová spolu s Ing. Židlickým z Výzkumného ústavu pro farmacii a biochemii v Praze vypracovali vlastní postup pro výrobu testovacích souprav a v roce 1970 test připravili pro výrobu. Té se ujala firma Imuna v Šarišských Michalanech. Tento test bez závislosti na dovozu surovin umožnil úspěšně provádět screening Guthrieho metodou.

Zkušební ověřování vlastních souprav pro Guthrieho test začalo v roce 1970. Pilotní studie proběhla v letech 1970-1972 na vinohradské Klinice dětí a dorostu. V suterénu kliniky vznikla laboratoř, jejíž inventář byl získán s pomocí Výzkumného ústavu pro farmacii a biochemii (VÚFB). Testovací soupravy zpočátku dodával bezplatně VÚFB a později jejich výrobce Imuna v době záběhu výroby. Studie proběhla v některých ústavech v Praze a ve Středočeském kraji, které posílaly poštou na adresu kliniky filtrační papírky se suchými krevními kapkami, odebranými novorozencům. Došlé vzorky byly ihned testovány. V případě pozitivního výsledku byl neprodleně telefonicky informován obvodní pediatr nebo ústav, kteří zařídili co nejrychlejší přijetí matky s novorozencem na kliniku na další vyšetření. Do studie se postupně zapojovaly další české kraje. V prvním roce pilotní studie, v roce 1970, bylo vyšetřeno 16 578 vzorků a zachyceni 3 nemocní fenylketonurií. U všech byla neprodleně zavedena léčba. V roce 1971 prošlo vyšetřením již 60 969 novorozenců a mezi nimi bylo prokázáno 8 případů klasické fenylketonurie.

Během pilotní studie bylo vyšetřeno celkem 138 259 novorozenců a prokázáno 16 případů fenylketonurie. Do screeningu se do konce studie zapojilo 93 novorozeneckých oddělení ze všech českých krajů, některá však účast v té době ještě odmítala. Pro zajištění budoucího celostátního screeningu byly v laboratoři kliniky provedeny instruktáže pracovníků ze Slovenska a Moravy.

Pilotní studie byla završena v roce 1972. Jednoznačně prokázala efekt novorozeneckého screeningu fenylketonurie.

Od 1.1. 1975 byl screening fenylketonurie zaveden Věstníkem MZ ČR na celém území republiky. Vyšetřováním byly pověřeny čtyři laboratoře s přímou návazností na klinická pracoviště, která zajišťovala léčbu a sledování dětí: FN Ostrava, Výzkumný ústav zdraví dítěte v Brně (od května 2002 pak FN Brno, Pracoviště dětské medicíny), FN Královské Vinohrady (používaly mikrobiologickou metodiku Guthrieho) a Oddělení klinické biochemie (od roku 1982 Centrum pro dědičné metabolické poruchy - DMP) VFN Praha, které využívalo chromatografickou metodiku prof. Efronové. Regionální uspořádání, časování odběru suché kapky i zásady léčby se staly obsahem prvního metodického opatření ministerstva zdravotnictví z téhož roku.

Prof. Josef Hyánek v Centru pro DMP VFN Praha také diagnostikoval řadu poškozených dětí s mikrocefalií. Ta byla způsobena vysokou hladinou fenylalaninu u jejich matek během těhotenství. Současně se zavedením novorozeneckého screeningu proto zahájil na výzkumné bazi i preventivní program vyhledávání mateřských hyperfenylalaninemií. Tento program spočíval ve vyšetření krve matky při první návštěvě těhotenské poradny (Maternal Hyperphenylalaninemia Preventive Program 1975). Tento screening probíhal intenzivně pouze v pražském regionu a v selektivní formě pokračuje dodnes.(9)

Významným technologickým pokrokem v novorozeneckém screeningu bylo zavedení metodiky tzv. tandemové hmotnostní spektrometrie ve druhé polovině 90. let 20. století. Tato metoda je založena na komplexním rozboru celého spektra analytů rozdělených dle hmotnostního čísla jedním analytickým úkonem. Spektrum analytů umožňuje zachytit až několik desítek dědičných metabolických poruch včetně fenylketonurie. V Čechách byla tato metoda zavedena 1.10.2009 - nahradila Guthrieho metodu.



## **4. DEFICIT FENYLALANINHYDROXYLÁZY**

### **4.1 Dědičnost onemocnění**

Deficit fenylalaninhydroxylázy je autozomálně recesivní porucha. Gen pro fenylalaninhydroxylázu (PAH) je lokalizován na dlouhém raménku 12. chromozomu (v oblasti q22-24.1). Rozsah genu je více než 100 kb, obsahuje 13 exonů. V PAH genu bylo dosud popsáno více než 500 různých mutací, především bodových, které zahrnují delece, inserce, missense a nonsense mutace (<http://www.pahdb.mcgill.ca>).<sup>(16)</sup> Většina osob s deficitem fenylalaninhydroxylázy jsou složeni heterozygoti se dvěma různými mutacemi. I když není jedna prevalentní mutace, některé jsou běžnější v různých etnických populacích. Například mutace R408W tvoří přibližně 30% alel mezi Evropany s fenylketonurií (je také nejčastější mutací v České republice - vyskytuje se u více než 50% pacientů) zatímco u orientálních populací je nejčastější mutace R243Q, která tvoří 13% alel.<sup>(1, 10)</sup>

Dostane-li dítě od obou svých rodičů chromozom s mutovaným genem, dojde u něj k rozvoji onemocnění (je homozygotem). Riziko narození potomka postiženého fenylketonurií je u dvou heterozygotů 25 %. Rodiče mohou přivést na svět další potomky – potenciální přenašeče PKU (50 %) a nositele zdravého genu (25 %), u nichž není riziko přenosu ani možnost projevu nemoci. Pokud mají oba rodiče PKU, všechny děti tohoto páru budou mít PKU. Riziko onemocnění, které má běžná populace, činí 0,01%.

Pokud má jeden z rodičů PKU a druhý je zdravý, mohou nastat následující situace : pokud zdravý rodič není přenašečem mutace, potomci tohoto páru budou pouze přenašeči jedné z mutací, kterou získali od rodiče s PKU. Pokud je však zdravý rodič přenašečem, může svým dětem předat buď mutovaný nebo zdravý gen – tento pár má 50% možnost narození dítěte s PKU, jestliže získá mutovaný gen od obou rodičů a 50% možnost narození zdravého dítěte, které je ale přenašečem mutace. Jelikož současnými metodami vyšetřování DNA není možné zjistit všechny známé

mutace pro PKU/HPA, zůstává velmi malé riziko nepoznané mutace u zdravého rodiče, proto je důležité vyšetřit dítě po porodu.(11)

Sourozenec dítěte s PKU, který sám PKU nemá, může být jak přenašečem mutovaného genu (67% možnost), tak nositel zdravého genu (33%ní možnost).(11)

Jestliže rodiče mají PKU nebo jsou přenašeči genu, mohou využít metody prenatální diagnostiky fenylketonurie DNA analýzou genu PAH z odebraných choriových klků z biopsie ve 13. týdnu těhotenství nebo ze vzorku plodové vody z amniocentézy od 16. týdne těhotenství. Předem je vhodné znát mutace u rodičů. Genetické vyšetření buněk plodové vody trvá několik dní až 2 – 3 týdny. Existuje také metoda preimplantační diagnostiky, které se provádí ve specializovaném reprodukčním centru při oplodnění metodou asistované reprodukce.

Prevalence deficitu fenylalaninhydroxylázy se liší v různých populacích. Celková globální prevalence ve vyšetřovaných populacích je přibližně 1:12 000 s předpokládanou frekvencí přenašečů 1:55 a v Čechách 1:40. Nejvyšší prevalence je v Turecku – 1:4200 a v Irsku a nejnižší je ve Finsku 1:1000 000, v Čechách 1 : 7969 (údaj platný ke dni 31.12.2009). V populaci je přibližně každý čtyřicátý člověk bez PKU nositelem mutace, aniž by o tom věděl. V současné době je v České republice léčeno přibližně 500 pacientů s fenylketonurií. Genotyp dobře koreluje s biochemickým fenotypem, hladinou fenylalaninu před léčbou a tolerancí fenylalaninu. Díky mnoha dalším faktorům, které ovlivňují klinický fenotyp, však není korelace mezi mutacemi a neurologickými, intelektovými a behaviorálními projevy onemocnění jednoznačná. Analýza mutací má tedy v klinické praxi jen omezené praktické použití.(1)

## **4.2 Klinické projevy**

Příznaky onemocnění nastupují obvykle kolem 6 měsíců věku, ale je zde možná určitá variabilita. Pozvolná mentální retardace, která začíná po porodu, obvykle není zjevná před 6.měsícem věku a není proto poznána ani všímavým rodičem či lékařem. Přirozený průběh choroby bez léčby u postižených jedinců zahrnuje progresivní ireverzibilní neurologické postižení v kojeneckém věku a v dětství, u neléčených pacientů se rozvine mentální postižení, poruchy chování, postižení neurologické a somatické. Mozek pacientů s fenylketonurií neléčenou v dětství má sníženou arborizaci dendritů, postiženou synaptogenezi a porušenou myelinizaci. Nejčastějšími projevy jsou již zmíněná těžká mentální retardace ( $IQ \leq 50$ ) se zápachem připomínajícím myšinu (je důsledkem vylučování fenylacetátu, nemusí se ale objevit až do hladiny fenylalaninu  $1500\mu\text{mol/l}$ ), ekzém (20-40%), menší pigmentace vlasů, kůže a duhovky (důsledek snížené tvorby melaninu - typicky modré oči, světlé vlasy a bledá kůže) na rozdíl od ostatních členů rodiny, menší vzrůst, mikrocefalie a neurologické postižení (80% abnormální EEG s komplexy vln a hrotů, 30% tremor, 25% epilepsie, 5% spasticita končetin). Další neurologické nálezy, které se mohou u postižených objevit, zahrnují pyramidové příznaky se zvýšením svalového tonu, hyperreflexii, parkinsonské symptomy, poruchy chůze, tiky a poruchu exprese řeči. Téměř všichni neléčení pacienti mají poruchy chování, které zahrnují hyperreaktivitu, mimovolní pohyby, stereotypie, agresivitu, anxieta a sociální izolaci. Klinický fenotyp koreluje s výškou fenylalaninu v krvi, odpovídající stupni deficitu fenylalaninyhydroxylázy a tomu, jak dlouho byl mozek vystavený zvýšené hladině fenylalaninu.

Léčené onemocnění probíhá bez mentální retardace, ale děti mohou mít specifické problémy v učení. Proto je přísná kontrola hladin fenylalaninu nyní doporučována pro všechny pacienty. Při porušování diety se sníženým obsahem fenylalaninu dochází k poklesu IQ a k dalším příznakům onemocnění jako jsou poruchy chování a soustředění, poruchy školních dovedností, syndrom ADHD, snížení reakční rychlosti, psychické obtíže, které

se mohou rozvinout až do obrazu psychózy, ekzém a výjimečně se mohou se i křeče na podkladě epilepsie.(1, 9) V dospělosti může být nedodržování diety spojeno s agresivitou, poruchou koncentrace, náladovostí, neschopností udržet si zaměstnání, úzkostnou poruchou, migrénou, poruchou spánku, pyrománií a impotencí u mužů. Je pozorována také obezita s poruchou metabolismu tuků, u jiných naopak nechtěné hubnutí, změny kostní denzity (osteopenie, osteoporóza), na magnetické rezonanci jsou popisovány změny v oblasti bílé hmoty, leukodystrofie, vyvíjí se častěji astma.(7)

### **4.3 Diagnostické testy**

#### **4.3.1 Screening**

Hladina fenylalaninu v krvi je u novorozenců při narození normální, ale rychle roste během prvních dnů života. Ve většině vyspělých zemí je fenylketonurie detekována novorozeneckým populačním screeningem. Novorozenecký screening je součástí sekundární prevence a slouží ke zjištění poruchy dříve, než se projeví a nezvratně poškodí zdraví dítěte.

Existují rozdíly mezi různými zeměmi a centry v době, kdy se screening provádí (1.-10.den), v použité metodologii (Guthrieho mikrobiální inhibiční test s použitím bakteriálního kmene *Bacillus subtilis*, enzymatické techniky, HPLC nebo tandemová hmotnostní spektrometrie) a v hladině fenylalaninu v krvi, která je hodnocena jako nejasný výsledek, vyžadující další vyšetření (v ČR 120 – 239  $\mu\text{mol/l}$ , ale v některých laboratořích také poměr fenylalanin/tyrozin  $> 1,6$ ). Jako pozitivní výsledek se v ČR označuje hladina fenylalaninu v krvi nad 240  $\mu\text{mol/l}$  a poměr fenylalanin/tyrozin  $> 1,6$ . Poruchy v metabolismu kofaktoru BH4 musí být vyloučeny vyšetřením metabolitů pterinů.(1)

V Čechách je za informování zákonných zástupců-rodiců dítěte o principu a účelu novorozeneckého screeningu zodpovědný lékař, v jehož péči se v době odběru novorozenec nachází nebo registrující praktický lékař pro

děti a dorost, pokud se dítě v době odběru nachází mimo zdravotnické zařízení. Stejně jako u každého jiného zdravotnického úkonu musí rodič dát jednoznačným způsobem najevo souhlas s odběrem. Forma tohoto souhlasu není Metodickým návodem MZ ČR nijak definována a záleží na vnitřních předpisech každého jednotlivého zdravotnického zařízení - nejčastěji v praxi to bude zřejmě pouhé slovní vyjádření souhlasu či přikývnutí. Za vyjádření souhlasu lze považovat i fakt, že rodič "předá" svého novorozence k odběru, ale vnitřní předpisy některých zdravotnických zařízení mohou skutečně vyžadovat i písemnou, podepsanou formu souhlasu.(9)

*Následující tabulka shrnuje přehled výsledků celoplošného screeningu PKU v České republice za období 1.1.2002 – 31.12.2009 : (9)*

Labo- ratoř	Počet vyš. novor.	Metoda	Cut-off ( $\mu\text{mol/l}$ )	Počet zá- ch- y- tů (n)	Preval. záchy- tů	Počet faleš. pozit.	PPV	Počet re- callů (n)	Preval. recallů	FPR (%)	Klas. PKU (n)	Mil- d PKU (n)	non- PKU HPA (n)	Jin- é HPA (n)	Pre- val. klas.+ mild PKU
Praha 10	441939	BI-EIA	120 - 210	70	1:6313	17	0,805	260	1:1699	0,063	52	8	3	7	1: 7365
Praha 2	115752	C-MS/ MS	120	20	1:5788	15	0,571	166	1:697	0,156	18	1	0	1	1: 6092
Olomouc	7903	MS/MS	120	1	1:7903	1	0,500	6	1:1317	0,088	0	0	0	1	-
Brno	158867	BI-EIA	120 - 210	16	1:9929	20	0,444	180	1:883	0,126	11	0	5	0	1: 14442
Ostrava	153666	BI-EIA	120 - 210	19	1:8087	3	0,864	206	1:746	0,136	15	1	3	0	1: 9604
Celá ČR	<b>878127</b>			<b>126</b>	<b>1:6704*</b>	<b>56</b>	<b>0,692</b>	<b>818</b>	<b>1:1034*</b>	<b>0,104</b> *	<b>96</b>	<b>10</b>	<b>11</b>	<b>9</b>	<b>1:7969*</b>

#### *Použité zkratky :*

BI=bakteriální inhibiční (Guthrieho) metoda

EIA=enzymoimunoesej

MS/MS=tandemová hmotnostní spektrometrie

PPV=pozitivně prediktivní hodnota

FPR=četnost (%) falešně pozitivních nálezů

Recall rate=četnost (%) nejasných nálezů vyžadujících opakování odběru suché kapky

Klas.PKU=počet potvrzených klasických fenylketonurií (=koncentrace fenylalaninu při dg. >1200  $\mu\text{mol/l}$  + průkaz mutace klasické PKU)

Mild PKU=počet potvrzených mírných fenylketonurií (=koncentrace fenylalaninu při dg. 600 -1200  $\mu\text{mol/l}$  + průkaz mutace pro mírnou PKU)

nonPKU HPA=počet potvrzených případů mírné HPA (=koncentrace fenylalaninu při dg. 120-600  $\mu\text{mol/l}$  + průkaz mutace pro mírnou HPA)

Jiné HPA= počet jiných typů hyperfenylalaninemií i tranzitorních

\*=tato prevalence je vztažena na počet živě narozených ve sledovaném období (tj. 844724 novorozenců) dle Ústavu zdravotnických informací MZ ČR

### **4.3.2 Metodika screeningu**

Novorozenci se odebere ve věku 48-72 hodin po narození (mezi 2. – 3. dnem po narození) několik kapek kapilární krve z patičky na filtrační papírek na novorozenecké screeningové kartičce – tzv.metoda suché kapky.

Dobře omytá, prokrvená kůže na vnitřním či zevním okraji patičky novorozence se očistí alkoholem a nechá uschnout. Poté se provede drobná incize do hloubky max. 2 mm sterilním kopíčkem ručně či lancetou (speciální automatické zařízení určené pro tento účel). První kapka krve se setře suchým sterilním tamponem a po vytvoření dostatečně velké další kapky se jemně přiloží filtrační papírek screeningové kartičky, tak aby se krev nasávala a úplně zaplnila předtištěný terčík a filtrační papír byl viditelně nasáklý z obou stran. Patička se nesmí mačkat či ždímat, aby nedošlo k příměsi tkáňového moku, terčík musí být nasáknut najednou z jedné kapky, nesmí se vrstvit kapky do jednoho terčíku, je zapotřebí krví nasáknout všechny terčíky na novorozenecké screeningové kartičce. Filtračního papírku je zakázáno se dotýkat a je nutno zabránit i kontaktu krevních kapek s jakýmkoliv předmětem. Po odběru necháme krev zaschnout v horizontální poloze kartičky po dobu nejméně 3 hodin při pokojové teplotě (nejlépe ve speciálním stojánku na sušení kartiček).(15)

Kapka zaschlé krve na filtračním papírku není považována za nakažlivou látku a je možné ji zasílat bez speciálního označení na screeningové kartičce se všemi potřebnými údaji běžnou poštou do screeningové laboratoře. Doporučuje se, aby v den oděru byl již novorozenec alespoň dva dny na mléčné výživě.(14) Laboratorní vyšetření dědičných poruch metabolismu metodou tandemové hmotnostní spektrometrie provádí Všeobecná fakultní nemocnice (Ke Karlovu 2, 128 08 Praha 2, Ústav dědičných metabolických poruch) a Fakultní nemocnice Olomouc (I.P.Pavlova, 775 20 Olomouc, Laboratoř dědičných metabolických poruch, OKBL).

Screeningové laboratoře prohlášení o normálním nálezu nevydávají. Sama skutečnost, že laboratoř rodiče nekontaktovala, znamená, že žádná nemoc nebyla zachycena.

Při pozitivním nálezu zvýšené hodnoty fenylalaninu nad 240  $\mu\text{mol/l}$  a poměru fenylalanin/tyrozin  $> 1,6$ ) je pravděpodobnost HPA vysoká a příslušný lékař kontaktuje neprodleně rodinu a u novorozence se zajistí hospitalizace. Analýza fenylalaninu a tyrozinu v plazmě potvrdí nebo vyloučí diagnózu PKU/HPA, 24-hodinový test s tetrahydrobiopterinem za hospitalizace a vyšetření pterinů v moči ve specializovaném centru potvrdí či vyloučí případnou poruchu metabolismu pterinů.

Přetrvávající hyperfenylalaninémie může být někdy zjištěna u nezralých a nemocných dětí, zvláště po parenterální výživě obsahující směs aminokyselin a u dětí s jaterními chorobami (kde jsou obvykle také zvýšené koncentrace methioninu, tyrosinu, leucinu/isoleucinu a fenylalaninu).(12) Mírná tranzitorní hyperfenylalaninémie v novorozeneckém věku bývá způsobena nezralostí jaterních enzymatických systémů, které se podílejí na metabolismu fenylalaninu. Nejčastěji ji nacházíme u nedonošených dětí, mizí s dosažením zralosti novorozence. Je možná některá z mírných mutací v genu pro PAH.(10)

#### **4.3.3 Molekulárně-genetické vyšetření**

Molekulárně genetické vyšetření genu pro fenylalaninhydroxylázu (PAH gen) provádí FN Brno, IHOK, Centrum molekulární biologie a genové terapie. DNA mutační analýzy mohou být užitečné k predikci závažnosti PKU či pro určení heterozygotů pro účely prenatální diagnostiky.(9) V současné době lze vyšetřit až 96% mutací pro hyperfenylalaninémii v PAH genu.

#### **4.3.4 Prenatální a preimplanční genetická diagnostika**

Onemocnění lze diagnostikovat již prenatálně z analýzy z choriových klků ve 13. týdnu těhotenství nebo ze vzorku z amniocentézy od 16.týdne

těhotenství nebo ze vzorku z amniocentézy od 16. týdne těhotenství výše pomocí DNA mutační analýzy genu PAH.

Existuje také metoda preimplantační diagnostiky, kterou lze provést pouze v rámci asistované reprodukce a je úzce spjata s metodou in vitro fertilizace (IVF) a nebo intracytoplasmatické injekce spermii (ICSI). Jedná se o genetické vyšetření jedné nebo dvou buněk odebraných ze tří denního 8-10 buněčného embrya. V České republice se tato metoda používá od roku 2000. Díky propojení genetického vyšetření a kontroly vývoje zárodku pak dojde k přenosu embrya, ze kterého se s největší pravděpodobností vyvine zdravý potomek. V některých zemích se provádí preimplantační diagnostika z pólového tělíska vajíčka, avšak tato metoda má diagnostické limity, a proto se běžně nepoužívá.

Všechny tyto metody jsou ale zatíženy určitým rizikem pro plod.

#### **4.3.5 Zátěžový test s L-fenylalaninem**

Tento test slouží k určení heterozygotů před plánovaným početím potomka, má 80% spolehlivost.(10) Dnes se používá pouze v zemích, kde není možnost molekulárně-genetického vyšetření.

#### **4.3.6 BH4 test**

Test s BH4 je funkční test, který se provádí u novorozenců s hyperfenylalaninemií k vyloučení deficitu tetrahydrobiopterinu (BH4). Tento test je také indikován ke zjištění BH4-senzitivity u pacientů s primárním deficitem PAH. Pro diagnostiku deficitu BH4 je nejlepším postupem provedení testu okamžitě po zjištění hyperfenylalaninémie a předtím, než je zahájena dieta s omezením fenylalaninu. Jednoduchý test s BH4 může být proveden, je-li hladina fenylalaninu v plazmě vyšší než 400  $\mu\text{mol/l}$ . Před provedením testu by měla být odebrána krev a moč pro následující vyšetření: fenylalanin a tyrosin v plazmě nebo séru, krevní skvrny na



filtračním papíru k vyšetření aktivity dihydropteridinreduktázy a pteriny v moči.

Jednoduchý test s BH4 se provádí tak, že BH4 (20 mg/kg) rozpuštěný ve 20–30 ml vody či mléka je podán v láhvi asi 30 minut před obvyklým krmením z láhve. Vzorky krve 2, 3 a 4 jsou odebrány 4, 8 a 24 hodin po podání BH4. Vzorky moči by měly být chráněny před světlem a teplem.

Kombinovaný test s fenylalaninem se provádí u pacientů s HPA při fenylalaninémii 120 – 400  $\mu\text{mol/l}$  k určení rezpozivity na léčbu pomocí BH4 tak, že L-fenylalanin (100 mg/kg) rozpuštěný v ovocném džusu je podán 3 hodiny před podáním BH4. Moč a krev je odebrána ve stejných časových intervalech po podání BH4 jako při jednoduchém testu.

U pacientů s poruchou metabolismu pterinů dojde k významnému poklesu hladiny fenylalaninu v krvi během 4–8 hodin po podání BH4. Pomalejší pokles hladiny fenylalaninu, dosahující minimálních hodnot 24 hodin po podání BH4, je považován za projev BH4 senzitivity. Je pozorován zejména u pacientů s mírnou PKU nebo mírnou hyperfenylalaninemií. Hlavní kritérium pro definici BH4 rezpozivity je pokles hladiny fenylalaninu v krvi o 30 % a více v BH4 testu.(12)

#### **4.4 Léčba**

Hladina fenylalaninu v krvi je primárně funkcí reziduální aktivity PAH a příjmu fenylalaninu. Ještě před několika lety existovala pouze jediná možnost, jak PKU účinně léčit, a tou byla nízkobílkovinná dieta. U některých pacientů s PKU však může být aktivita PAH změněna, a tím se otevřela nová možnost léčby pomocí sapropterinu. Ostatní způsoby léčby jsou ve stádiu výzkumu nebo mají nepřesvědčivý účinek.

S dietou je třeba začít co nejdříve po narození a měla by být dodržována přísně, důsledně a doživotně.(5)

Indikaci k léčbě určuje hladina fenylalaninu v krvi při stravě s normálním obsahem bílkovin, s určitými malými rozdíly v hranicích vztažených k věku (např. Velká Británie > 400 μmol/l, Německo > 600 μmol/l, USA > 400 – 600 μmol/l a v ČR > 36 – 400 μmol/l).

Cílem dietoterapie je snížení hladiny fenylalaninu v krvi k hodnotám, které jsou pro daný věk z medicínského hlediska bezpečné, a kterých je možné dietními zásahy dosáhnout. Ve FNKV je to 120-240 μmol/l u novorozenců, 120-400 μmol/l u kojenců a dětí předškolního věku, 120-600 μmol/l u školních dětí od 6 do 10 let, 120-600 μmol/l u starších školních dětí a 120-900 μmol/l u dospělých pacientů nad 18 let. (10) Guidelines pro léčbu neexistují, a proto mohou být cílové hodnoty v různých zemích odlišné.

*Cílové hladiny fenylalaninu v μmol/l v krvi dle různých doporučení : (1)*

	Německo	UK	USA
0-2 roky	40-240	120-360	120-360
3-6 let	40-240	120-360	120-360
7-9 let	40-240	120-480	120-360
10-12 let	40-900	120-480	120-360
13-15 let	40-900	120-700	120-600
adolescenti a dospělí	40-1200	120-700	120-600

#### **4.4.1 Monitorování léčby**

Léčba musí být monitorována zejména kvůli riziku nutričního deficitu. V ambulanci se pravidelně kontroluje výše hladiny fenylalaninu v krvi, ale i příjem stravy a celkový zdravotní stav. Frekvence kontrolních návštěv pro monitorování léčby a klinické sledování pacientů s fenylketonurií je individuální, jednotná guidelines neexistují.

Kritériem používaným pro posuzování zdravotního stavu a správné výživy dítěte v kojeneckém věku je pravidelný nárůst hmotnosti. V prvním

půlroce života by měl kojenec přibývat 150-300 g týdně, ve druhé polovině roku 70-150 g týdně.(5) Klinicky sledujeme kromě hmotnosti a výšky sledujeme i vývoj obvodu hlavy, celkového zdravotního stavu a je třeba monitorovat neurologický, somatický, intelektový a behaviorální vývoj.(1)

Toto však při PKU dietě nestačí a je vhodné provádět podrobnější laboratorní vyšetření, kterými jsou např. stanovení krevní hladiny aminokyselin, lipidů, minerálů, vitamínů, stopových prvků, ukazatelů kostního metabolismu a krevního obrazu.

#### **4.4.2 Individuální tolerance fenylalaninu**

Při nízkobílkovinné dietě, která je základem léčby hyperfenylalaninémie, se stravou přichází do organismu jen takové množství fenylalaninu, které organismus dokáže využít. Toto množství je označováno jako individuální tolerance fenylalaninu. Ta je u každého člověka s fenylketonurií trochu jiná, ale ve všech případech přibližně desetkrát nižší než u lidí, kteří touto poruchou netrpí. Jestliže například člověk, který nemá fenylketonurii, dokáže denně zpracovat i více než 5000 miligramů fenylalaninu a přesto mu nestoupne jeho hladina v krvi, člověk s fenylketonurií dokáže zpracovat obvykle pouze 200-500 miligramů (má toleranci 200-500 miligramů). Pacienti s mírnou HPA mají toleranci vyšší – např. 50% bílkovinného příjmu. U nejlehčích forem mírné HPA je dokonce možné jen mírné dietní omezení či normální strava a sledování. Nepřekračuje-li denní příjem fenylalaninu ve stravě individuální toleranci, fenylalanin se v krvi nehromadí, funkce buněk nejsou narušovány a zabrání se tak neuropatologickým účinkům.

Individuální tolerance fenylalaninu je základem pro propočítávání a sestavování diety. Dává informaci o tom, jaké množství přirozených bílkovin (a v nich obsaženého fenylalaninu) může člověk zařadit do svého jídelníčku, aby si udržel nízkou hladinu fenylalaninu v krvi. Obvykle je to pouze 10-20% obvyklého příjmu bílkovin zdravých osob. Aby při dietě s nízkým obsahem

fenylalaninu nechyběly člověku bílkoviny, jsou přidávány ke stravě ve formě aminokyselinových směsí bez fenylalaninu – tyto dietní léčebné přípravky jsou tedy hlavním zdrojem bílkovin ve výživě člověka s PKU a dodávají také další důležité látky (vitamíny, minerály a stopové prvky). Jídelníček musí být vyvážený nejen pokud jde o bílkoviny a další živiny, ale je potřebné, aby měl i správnou energetickou hodnotu.

#### **4.4.3 Složení diety**

Nízkobílkovinná dieta je sestavována individuálně pro každého pacienta podle pohlaví, tělesné hmotnosti, potřeby kalorií, bílkovin, sacharidů, tuků a individuální tolerance fenylalaninu.

V době, kdy dítě přichází s podezřením na PKU do nemocnice, je buď kojené nebo živené uměle počátečním mlékem. V té době má hladinu fenylalaninu v krvi již velmi vysokou, často více než desetinásobně přesahující normu. Jakmile je diagnóza HPA potvrzena, začíná se s léčbou podle indikačního kritéria. Nejprve je třeba snížit hladinu fenylalaninu v krvi. Léčba je zahajována tím, že se na dobu 2-5 dnů omezuje kojení nebo podávání počátečního mléka a místo nich dostává dítě mléko „speciální“, dietní léčebný přípravek pro kojence, který obsahuje všechny živiny mimo fenylalanin. Přitom je pravidelně sledována hladina fenylalaninu v jeho krvi. Když hladina poklesne a dosáhne se terapeutického optima, zavádí se do stravy dítěte opět kojení nebo počáteční mléko v kombinaci s dietními léčebnými přípravky. Doporučené množství mateřského nebo počátečního mléka je ale třeba pořesně dodržet – nevhodné je jeho překračování, ale i snižování.(5) Mateřské mléko má relativně nízký obsah fenylalaninu.(8) O možnosti kojit děti s PKU byly provedeny různé studie. Jejich výsledky shodně poukazují na to, že i kojené děti s PKU mohou být výborně metabolicky kompenzovány a zároveň mít veškeré výhody, které výživa mateřským mlékem přináší.

Složení semisyntetické PKU diety je tedy následující :

- 1) volnější příjem přirozených potravin s velmi nízkým obsahem fenylalaninu, např. sacharidy (cukr, sirup, med, džemy, sladké nápoje), rostlinné oleje, máslo, sádlo, minerálka, zeleninový bujón, některé cukrovinky, ovoce a některé druhy zeleniny, speciální nízkobílkovinné potraviny (např. speciální chléb, NB těstoviny, NB pečivo, NB mouka, NB mléko, NB corn-flakes)
- 2) vypočtené množství vybraných přirozených a vyrobených jídel se středním obsahem fenylalaninu > 30mg/100 mg, např. brambory a výrobky z nich, špenát, rýže, brokolice, vodová zmrzlina, kečup, hořčice, majonéza. Obsah fenylalaninu v různých potravinách lze orientačně vypočítat s použitím poznatku, že 1g přirozené bílkoviny představuje obsah přibližně 50 mg fenylalaninu. K přesnějšímu výpočtu se používají tabulky uvádějící obsah fenylalaninu v závislosti na druhu analyzované potraviny. Existují také dvě speciální kuchařky pro fenylketonuriky, která usnadňuje přípravu pokrmů.
- 3) vypočtené množství směsi aminokyselin bez fenylalaninu nebo s minimálním obsahem – existuje několik typů pro každý věk; směs může být podána ve formě prášku rozpuštěného v tekutině, tablet, kapslí, tyčinek nebo již hotového nápoje, může být ochucen nebo bez příchuti. Všechny přípravky obsahují nezbytné množství minerálů, vitamínů a stopových prvků a směs pro nejmenší obsahuje navíc i potřebné množství sacharidů a tuků. Správné ředění dietních přípravků rozhoduje o jejich snášenlivosti a stravitelnosti. Přípravky se obvykle ředí vodou o pokojové teplotě, mohou být ochuceny cukrem nebo ovocnou příchutí, možné je také ředění džusem s vodou. Důležité je množství použité tekutiny. Není-li dostatečné, je roztok příliš koncentrovaný, má vysokou osmolalitu a nadměrně zatěžuje žaludek. Může způsobovat nevolnost a různé dyspeptické obtíže. Koncentrovaná tekutina se příliš pomalu vyprazdňuje ze žaludku. Návod ke správnému ředění uvádějí výrobci pouze na některých přípravcích. Při ředění přípravků pro

starší děti, dospívající a dospělí se doporučuje používat alespoň 120-150 ml ředící tekutiny na každých 10g přípravku. Pro ředění lze s výhodou používat uzavřenou nádobku (šejkr) a protřepávat po dobu 10-15 vteřin. Hotové roztoky se nevaří. Připravený roztok lze uchovávat v uzavřené nádobce v ledničce, ale nejdéle 24 hodin. Pro malé děti se však připravují vždy čerstvé. Před požitím, případně i během konzumace je třeba roztok řádně protřepat. Nejvýhodnější je podávání po každé porci stravy - pacient tedy dostává směsi ve 3-5 denních dávkách. Tím se každý původně nízkobílkovinný chod obohatí o bílkovinu a poměr živin v každé porci se tak přiblíží normální stravě. Jestliže je dietní léčebný přípravek konzumován ve dvou či dokonce jediné denní dávce, nemůže být správně využit a navíc nadměrně zatěžuje játra a ledviny, vede k dehydrataci a může být příčinou únavy. Chybou je také užívat přípravek jako samostatný chod stravy.(5)

Tyto tři složky 1), 2) a 3) by měly být podávány co nejrovnoměrněji během dne.

Dieta je nízkoenergetická, takže musí být doplněna olejem, cukrem a maltodextrinem (škrob, zvyšující kalorickou hodnotu jídla pro pocit nasycení). U pacientů na přísné dietě jsou občas zjišťovány deficity vitaminů a minerálních látek včetně selenu, zinku, železa, retinolu, vit.B12, folátu a polynenasycených mastných kyselin. Bývá popisována také osteopenie nejasné příčiny.(12)

Jídla s vysokým obsahem fenylalaninu by měla být zcela vyloučena – např. maso, ryby, mléčné výrobky, sýry, mléko, jogurt, vejce, zmrzlina, obilniny (pečivo, sušenky, piškoty, těstoviny, zákusky), luštěniny, ořechy, sója, čokoláda, sušené ovoce, želatinové bonbóny. Fenylalanin obsahují tak výrobky s náhradním sladidlem aspartamem (E 951, L-aspartyl-L-

fenylalaninmetylester – např. žvýkačky a nápoje bez cukru), který obsahuje 50% fenylalaninu – pacienti by se mu proto měli raději vyhýbat.

Délka dodržování diety byla dříve doporučována minimálně do doby ukončení vývoje mozku, tedy okolo 15 let věku. U dívek je vhodné nepřerušovat dietu do porodu všech dětí. Podle nejnovějších poznatků je dieta doporučována celoživotně (tzv. diet for life).

#### **4.4.4 Léčba PKU v dospělosti**

O návratu k dietě uvažují jednak lidé, kteří mají nějaké zdravotní problémy, jednak ti, kteří žádné problémy nemají, ale uvědomují si zodpovědnost za své zdraví. Příznaky, které mohou souviset s dlouhodobě špatnou kompenzací fenylketonurie v dospělosti, bývají dosti nespecifické a často jsou přisuzovány rychlému životnímu tempu, velkým požadavkům na pracovní výkonnost, tlaku životních situací. Symptomy, jako jsou např. únava, malá výkonnost, nervozita, psychické obtíže, je těžké odlišit od běžných problémů zdravých lidí, a proto někdy nezbyvá než zkusit zavést dietní omezení a vyčkat, zda se problémy zmírní či odezní.(4) Mezi další kognitivní a psychické problémy způsobené vyššími hladinami fenylalaninu u dospělých patří deprese, fobie, úzkostná porucha doprovázená neschopností vytvářet vztahy a udržet si práci, náladovost, agresivita, porucha spánku, poruchy exekutivních funkcí a někdy může vzniknout až psychotická porucha osobnosti.(2)

Při návratu k dietě se poskytuje dospělým poradenství – znovu se jim vysvětlí podstata onemocnění, učí se propočítávat a plánovat jídelníček. Dieta se zavádí většinou ve dvou fázích : zprvu mírnější, a pokud ji pacient zvládá dodržovat, zkusí se přejít na přísnější. Doporučují se častější odběry a kontroly v ambulanci a chybějící živiny se doplňují speciálními přípravky bez fenylalaninu.

První fáze zavedení diety spočívá v omezení potravin a jídel s vysokým obsahem fenylalaninu (maso, luzeniny, vejce, luštěniny, tvrdé sýry) a zavedení nízkobílkovinných potravin. Doporučený průměrný příjem fenylalaninu je 1700 mg/den (u normální stravy je 3 500 - 4 000 mg/den) a 30 - 40 g aminokyselinového přípravku bez fenylalaninu denně.

Ve druhé fázi se omezí další potraviny s vyšším a středním obsahem fenylalaninu (mléko a mléčné výrobky, pečivo). Doporučený průměrný příjem fenylalaninu se snižuje na 1 000 mg/den a denní doplněk aminokyselinového přípravku 70 - 90 g/den.

Někteří pacienti ovšem preferují rovnou návrat k přísnější dietě.

Důležitou součástí správné dietní léčby je provedení analýzy jídelníčku nutričním terapeutem. Propočítává se zejména příjem fenylalaninu a základních živin (bílkoviny, sacharidy, tuky, energie). Podle výsledku analýzy je možno nastavit další optimální postup v dietě „ušitý pacientovi na míru“. (4)

#### **4.4.5 Limity dietní léčby**

Přes veškeré úsilí o zvýšení kvality aminokyselinových léčebných přípravků, rozšíření sortimentu nízkobílkovinných potravin, zlepšení lékařské, nutriční a edukační péče metabolických center zůstává PKU dieta umělou náhražkou přirozené stravy. (2)

Navzdory snaze rodičů a později samotných pacientů o udržení bezpečné hladiny fenylalaninu dochází opakovaně k jejím vzestupům způsobeným katabolismem organismu např. během infektů, nechtěnými dietními omyly či úmyslnými chybami. Dodržování diety je komplikováno výrazným omezením normálních potravin, potřebou plánování a propočítávání diety, zařazováním speciálních drahých nízkobílkovinných potravin, nutností pravidelně se stravovat a užívat aminokyselinový přípra -



vek nevábne chuti a vůně jako doplněk každého hlavního jídla.(2)

K výkyvům hladin fenylalaninu občas dochází z výše uvedených důvodů u většiny dobře kompenzovaných pacientů, a i když je jejich zdravotní stav dobrý, často se u nich projevují změny v oblasti bílé hmoty mozku.(2)

Při interkurentním onemocnění mohou být pacienti neschopni přijímat doporučenou stravu. Během tohoto období by měl být podáváno dostatečné množství energie k zastavení katabolismu tělesných bílkovin, který vede k dekompenzaci onemocnění.

Složité řešení nastane například při průjmovém onemocnění. Je nejprve nutné zajistit léčbu pomocí rehydratačního roztoku - nabízí se dítěti k pití po dobu 4 hodin (přípravek Kulíšek). V té době nedostává dítě stravu. Následuje časná obnova normální výživy. Po ukončení podávání rehydratačního roztoku se lze opět vrátit k běžné PKU stravě. Včasnost tohoto návratu urychlí obnovu nemocí poškozených střevních buněk a průjem pak obvykle rychle ustupuje. Obtíže by se mohly vyskytnout v době návratu k obvyklému jídelníčku u dětí, které dostávají koncentrované aminokyselinové přípravky. Tyto přípravky je proto třeba pečlivě rozdělit do co největšího počtu denních porcí, rozpustit je v dostatečném množství tekutiny a podávat je zásadně po jídle. Tím se sníží riziko návratu průjmu v důsledku jejich možného osmotického působení. V době do obnovení chuti k jídlu se může stát, že dítě přípravky odmítne. V tom případě je možné krátkodobě jejich dávku snížit na polovinu až třetinu a po obnově chuti k jídlu se vrátit k plné dávce. Je třeba postupovat individuálně a citlivě, aby se předešlo pozdějšímu dlouhodobějšímu odmítání přípravků. Průjmová onemocnění jsou často provázena krátkodobou ztrátou chuti k jídlu. V té době se stává, že dítě nesní ani doporučené množství fenylalaninu v normální stravě. Trvá-li tato situace krátce, tj. 1 - 2 dny, není třeba se zneklidňovat. V době nemoci získává organizmus energii z vlastních vnitřních

zdrojů zpracováním svalové a tukové tkáně. Přitom se současně uvolňuje větší množství fenylalaninu a jeho hladina v krvi stoupá. Vzestup je ale mírný a krátkodobý. V období nechutenství může dítě získat určité množství energie ze sladkých nápojů, ovocného kompotu nebo přesnídávky. Ty je možné nabízet dle chuti. Po obnovení příjmu stravy hladina fenylalaninu rychle klesá k původním hodnotám. V době nemoci není proto vhodné provádět kontrolní odběry krve na stanovení hladiny fenylalaninu.(8)

#### **4.4.6 Alternativní léčba a experimentální studie**

Genová léčba je ve stádiu výzkumu. U myši s deficitem PAH byly vyzkoušeny různé metody genového přenosu. Zahrnovaly nevirové vektory, rekombinantní adenovirový vektor, rekombinantní retrovirový vektor a rekombinantní adeno-associated vektor. Dosud žádný z těchto experimentů nevedl k trvalé fenotypové korekci buď pro špatnou účinnost vneseného genu, tvorbu neutralizujících protilátek nebo nedostatek kofaktoru v mimojaterních cílových orgánech. Než budou možné klinické studie u lidí, je nutný vývoj bezpečného a úspěšného přenosového faktoru pro gen.

Transplantace jater zcela upravuje deficit PAH, ale rizika transplantace a posttransplantační imunosupresivní léčby jsou příliš vysoká na to, aby byla realistickou alternativou k dietní léčbě.

Byly provedeny pokusy na zvířatech s enzymem nesavčího původu – fenylalaninamoniumlyázou (PAL), která katalyzuje rozklad fenylalaninu na méně škodlivou sloučeninu, kyselinu transcinamovou. U myši s deficitem PAH vedlo enterální podání a intraperitoneální injekce rekombinantních buněk E.coli exprimujících PAL k signifikantnímu poklesu hladin fenylalaninu v krvi. Lepšího účinku bylo dosaženo pegylací. Nyní běží klinická studie na dospělých pacientech.

Velké neutrální aminokyseliny (LNAA - fenylalanin, tyrosin, tryptofan, leucin, isoleucin a valin) kompetují o stejný transportní mechanismus

(přenašeč L-aminokyselin) přes hematoencefalickou bariéru. Studie na myším modelu a u pacientů popsaly pokles hladin fenylalaninu v mozku po enterálním podání velkých neutrálních aminokyselin (kromě fenylalaninu) – tato léčba je již používána u dospělých pacientů v USA a Dánsku. Její účinnost je ale stále předmětem diskuzí.

#### **4.4.6.1 Léčba sapropterinem**

Nedávno bylo prokázáno, že u určitých pacientů může perorální léčba tetrahydrobiopterinem (5-20 mg/kg váhy) snížit hladiny fenylalaninu v krvi až do terapeutického rozmezí. Až 2/3 pacientů s mírnou fenylketonurií jsou potenciální BH4-responzivní a mohou profitovat z léčby tímto kofaktorem. PAH je homotetramerický enzym, kde každý homomér má regulační, katalytickou a oligomerizační doménu. Podle Blaua a Erlandsena jsou čtyři předpokládané mechanismy pro BH4 responzivitu. Léčba s BH4 může zvýšit vazebnou afinitu mutované PAH k BH4, ochránit aktivní tetramer před degradací, zvýšit aktivitu a snížit degradaci BH4 a zvýšit expresi PAH. Účinek je multifaktoriální, BH4 funguje jako chaperon. Dlouhodobá aplikace BH4 nemá žádné významné vedlejší účinky.(1) Přestože byl analog BH4 již schválen a používá se pro léčbu deficitu BH4 i v České republice, pro nemocné s PKU či hyperfenylalaninemií se vzhledem k vysoké ceně čeká na schválení výše úhrady zdravotními pojišťovnami.(3) Terapie pomocí syntetické formy BH4 – tablety pro přípravu perorálního roztoku sapropterin-dihydrochloridu (přípravek Kuvan) – je v současné době zaváděna do praxe v zemích Evropské unie včetně České republiky. Rozhodnutí o registraci pro přípravek bylo uděleno Evropskou komisí v prosinci 2008.(3) V USA se s úspěchem užívá již tři roky. V řadě mezinárodních klinických studií byla prokázána jeho účinnost a bezpečnost. Přípravek zlepšuje funkci poškozeného enzymu PAH a tím nabízí možnost zvýšení příjmu fenylalaninu ve stravě u jednotlivých pacientů až čtyřnásobně. Účinnost se uvádí asi u 30% pacientů, častěji u mírnějších forem PKU/HPA. Po nastavení léčby zůstávají nemocní na volnější dietě s potřebným přídatkem aminokyselinové směsi.(2) Udává se, že spotřeba aminokyselin bez fenylalaninu může být

snížena asi o 25%.<sup>(3)</sup> U některých jedinců může tato léčba vést k ukončení diety a možnosti normálního stravování. U dospělých s již vzniklými problémy se dá očekávat zlepšení jejich neuropsychického stavu. Strava s vyšším obsahem přirozených bílkovin získá na kvalitě a pozitivně ovlivní stavbu těla.<sup>(2)</sup> Léčba probíhá podle algoritmu, kdy je pacient po zátěžovém testu s BH4 (20 mg/kg) označen jako respondér či non-respondér na léčbu BH4. Respondér po této dávce reaguje poklesem hladiny fenylalaninu v krvi minimálně o 30%. V současné době je léčba doporučena pro pacienty od 4 let věku. Zatím se tato léčba nedoporučuje v období plánování gravidity, během ní ani během kojení, u pacientů nad 65 let a u pacientů s onemocněním jater či ledvin.<sup>(3)</sup> Opatrnost při užívání je doporučena, pokud je sapropterin používán u pacientů s predispozicí ke křečím. V klinických studiích u pacientů s deficitem BH4 léčených přípravkem obsahujícím sapropterin-4dihydrochlorid byly pozorovány křeče a exacerbace křečí. Sapropterin by měl být používán s opatrností u pacientů, kteří jsou současně léčeni levodopou, protože kombinovaná léčba sapropterinem může zvýšit dráždivost a vznětlivost. BH4 je kofaktorem syntetázy oxidu dusnatého. Opatrnost je proto doporučena během současného použití přípravku Kuvan se všemi látkami, které vyvolávají vazodilataci, včetně lokálně aplikovaných produktů, ovlivněním metabolismu nebo účinku oxidu dusnatého, včetně klasických donorů oxidu dusnatého (např. glycerol trinitrát, isosorbid dinitrát, nitroprusid sodný, molsidomin), inhibitory fosfodiesterázy typu 5 a minoxidil. Sapropterin by měl být podáván s jídlem v jedné denní dávce ve stejnou denní dobu, přednostně ráno. Sapropterin je k dispozici jako 100 mg tablety. Denní dávka se vypočítává podle tělesné hmotnosti pacienta. Úvodní dávka přípravku u dospělých a dětí s PKU je 10 mg/kg tělesné hmotnosti v jedné denní dávce. Dávku upraví lékař obvykle v rozmezí od 5 do 20 mg/kg/den pro dosažení a udržení odpovídajících hladin fenylalaninu v krvi. Úvodní dávka přípravku u dospělých a dětí s deficitem BH4 je 2 až 5mg/kg tělesné hmotnosti v jedné denní. Dávky mohou být upraveny až do 20 mg/kg/den. Pro optimalizaci terapeutického účinku může být nutné rozdělit celkovou denní dávku na 2 až 3 dílčí dávky, které jsou

podávány v průběhu dne. Předepsaný počet tablet by měl být vložen do sklenice nebo šálku s vodou o objemu 120 až 240 ml, kde se mícháním rozpustí. Hladiny fenylalaninu v krvi by měly být kontrolovány před zahájením léčby a po 1 týdnu léčby v doporučené úvodní dávce. Pokud je pozorováno neuspokojivé snížení hladin fenylalaninu v krvi či nedostatečný vzestup tolerance fenylalaninu, pak může být dávka zvýšena týdně na maximální dávku 20 mg/kg/den s pokračujícím týdenním monitorováním hladin fenylalaninu v krvi po dobu jednoho měsíce. Příjem fenylalaninu v potravě by měl být během této fáze udržován na konstantní úrovni. Uspokojivá odpověď je definována jako  $\geq 30\%$  snížení hladin fenylalaninu v krvi nebo dosažení terapeutických cílových hladin fenylalaninu v krvi definovaných individuálně pro každého pacienta ošetřujícím lékařem nebo alespoň dvojnásobný vzestup tolerance fenylalaninu. U pacientů, kteří nedosáhnou této úrovně odpovědi během popsané jednoměsíční testovací fáze, by měla být jejich rezpozivita přehodnocena. Jakmile je stanovena schopnost reagovat na léčbu, může být dávkování upraveno v rozmezí od 5 do 20 mg/kg/den podle odpovědi na léčbu. Je doporučeno, aby byly hladiny fenylalaninu v krvi vyšetřeny jeden nebo dva týdny po každé úpravě dávkování a aby byly poté často monitorovány. Pacienti léčení sapropterinem většinou musí dále dodržovat PKU dietu, ale v mírnější formě a musí podstupovat pravidelné klinické hodnocení (jako je monitorování hladiny fenylalaninu a tyrozinu v krvi, příjmu živin a psychomotorického vývoje). Mezi nejčastější nežádoucí účinky patří bolest hlavy a rhinorrhea.(6)

## **4.6. Mateřská fenylketonurie**

### **4.6.1 Patogeneze**

Skutečnost, že teratogenní poškození plodu v době nitroděložního vývoje je způsobeno vysokou koncentrací fenylalaninu v krvi matky, byla zjištěna před 40 lety, ale teprve v roce 1980 byl uznán maternální PKU syndrom po zveřejnění diplomové práce autorů Lenkeho a Levyho.(1)

Abnormálně vysoká množství fenylalaninu se z krve matky dostávají aktivním transportem přes placentu do těla plodu a narušují jeho vývoj. Tento stav je v současné odborné literatuře uváděn pod pojmem syndrom mateřské fenylketonurie (Maternal PKU Syndrome). K poškození dochází v době vývoje dítěte v děloze působením vysokých hladin fenylalaninu. V krvi plodu je 1,5 – 2x vyšší hladina fenylalaninu než u matky. Jestliže má matka v krvi nepřiměřeně velké množství fenylalaninu, fenylalanin působí jako teratogen. Fenylalanin kompetuje o placentární transport s ostatními dlouhými neutrálními mastnými kyselinami a ovlivňuje fetální vývoj různými, dosud neznámými způsoby. Vysoká hladina fenylalaninu je přítomna v jeho krvi i mimobuněčné tekutině. Tato situace nastává vždy bez ohledu na to, zda dosud nenarozené dítě má či nemá fenylketonurii. Těhotenství je obdobím, kdy z jedné zárodečné buňky vyroste dítě s miliony buněk. V tomto období, kdy z oplozeného vajíčka vznikají jednotlivé orgány a tělesné systémy a dítě intenzivně roste, je nesmírně důležité, aby každá buňka měla to nejlepší prostředí a tím podmínky pro správné fungování. Pouze tak se může narodit zdravé dítě. Vysoká hladina fenylalaninu naopak plod poškozuje.(1)

Dodržováním přísné diety s nízkým obsahem fenylalaninu ale nelze ovlivnit to, zda dítě bude či nebude mít fenylketonurii.(1)

#### **4.6.2 Klinické studie**

V řadě zemí světa probíhá dlouhodobě shromažďování poznatků o těhotenstvích žen fenylketonuriček a o jejich narozených dětech. Vyhodnocováním velkého množství informací se stále zdokonaluje poznání o tom, jak co nejlépe pečovat o ženy s fenylketonurií v době, kdy zakládají rodiny a připravují se na těhotenství. V současné době jsou nejvíce citovány výsledky mezinárodní studie, do níž se zapojily USA, Kanada a SRN. Studie začala v roce 1984. Jejím cílem bylo vyhodnotit vliv léčby, při níž je dosahováno hladin fenylalaninu 2-6 mg/dl (120-360  $\mu$ mol/l), na výsledek těhotenství. Do studie bylo k roku 2000 zahrnuto 468 těhotenství, z nichž se

narodilo 331 dětí. Bylo prokázáno, že zavedení diety s nízkým obsahem fenylalaninu před otěhotněním a její dodržování po celou dobu těhotenství s dosažením fenylalaninémie 120-360  $\mu\text{mol/l}$  přináší pozitivní výsledky. Byl prokázán negativní účinek maternálního fenylalaninu na plod – nízká porodní váha, malý obvod hlavy, vrozené vývojové anomálie a porucha neurologického vývoje jsou ve vztahu k jeho koncentracím v mateřské krvi a době, po kterou je plod vystaven těmto koncentracím. I u žen s mírnou HPA zůstává riziko úměrné hladinám fenylalaninu nad doporučeným rozmezím. Lepších výsledků bylo dosaženo u těch těhotenství, která byla sledována v centrech s většími zkušenostmi. Na druhou stranu nízké koncentrace fenylalaninu mohou omezit dostatečnou syntézu bílkovin, což je pro vyvíjející se organismus škodlivé. Proto je nutné se zaměřit na dosažení fenylalaninémie v bezpečném rozmezí. Podle severoamerických dat se bezpečné hladiny fenylalaninu pohybují mezi 120-360  $\mu\text{mol/l}$ , kdežto ve Velké Británii je to 100 – 250  $\mu\text{mol/l}$ . (1, 8) V ČR je toto optimum 120 - 240  $\mu\text{mol/l}$ .

U žen s fenylketonurií, které nebyly v těhotenství léčeny dietou, častěji docházelo ke spontánním potratům nebo se jim rodily děti s vrozenými vadami. U dětí se vyskytovala nízká porodní hmotnost dítěte, měly menší velikost hlavy, faciální dysmorfii (připomínající rysy u fetálního alkoholového syndromu s malými očními štěrbinami, epikanty, dlouhým filtrem a tenkým horním rtem), opoždování duševního vývoje, pomaleji rostly a vyskytovaly se u nich daleko častěji závažné vrozené vývojové vady, zvláště srdeční. Tato postižení se dotýkala až 90% dětí narozených matkám, u nichž hladiny fenylalaninu v době těhotenství přesahovaly 20 mg/dl (1200  $\mu\text{mol/l}$ ). Také další malformace se mohou objevit ve vyšší než očekávané frekvenci – např. skeletální vady, rozštěp rtu a patra, atrézie jícnu, tracheozofageální píštěl, malrotace střeva, exstrofie močového měchýře a oční defekty.(1, 8)

V americké studii z roku 2001 se vrozené srdeční vady objevily u 34 dětí z celkového počtu 235 ve studii (14%), do které byly zahrnuty matky s bazální hladinou fenylalaninu  $\geq 15$  mg/dL ( $\geq 900$   $\mu$ mol/l) a perzistující hladinou  $\geq 10$  mg/dL ( $\geq 600$   $\mu$ mol/l) od 8.gestačního týdnu. V kontrolní zdravé skupině žen se vyskytl 1 případ z 99 celkových (1%). Výskyt kaortkace aorty (20%) a hypoplazie levého srdce (11%) byl vyšší než je očekávaný výskyt v běžné populaci.(16)

#### **4.6.3 Prekoncepční příprava**

U ženy s fenylketonurií je důležité již přípravné období předcházející těhotenství (předkoncepční příprava). V té době si ženy obnovují své teoretické znalosti o fenylketonurii a její léčbě v těhotenství a učí se praxi diety. Nejdůležitější je právě nabytí potřebných praktických dovedností.

Příprava na těhotenství znamená návrat k velmi přísné dietě. Cílem je co nejrychleji snížit hladinu fenylalaninu v krvi k hodnotám 2-6 mg/dl (120 - 360  $\mu$ mol/l) a tuto hladinu dlouhodobě udržet. Prostředkem k dosažení cíle je výcvik v těchto hlavních dovednostech:

- sestavit si vlastní dietní jídelníček s pomocí kuchařky nebo tabulek. Jídelníček musí obsahovat především správné množství fenylalaninu a energie, současně měl by být co nejpestřejší a nejpříjemnější.
- seznámit se s nabídkou dietních potravin na trhu
- naučit se péci pečivo z nízkobílkovinné mouky a vařit z dietních surovin
- vhodně rozdělit potřebnou dávku aminokyselinových doplňků a zvykat si na jejich pravidelný příjem (např. P-AM Maternal, Lophlex, PKU3 Advanta, X-PHE Advance)
- zvyknout si na pravidelné odběry krevních vzorků – pravidelné monitorování, umožňující úpravy diety, které je nutné zvažovat během interkurentního onemocnění, při zvracení a ve 2. a 3.trimestru; u některých žen může být významné kolísání v souvislosti s jejich menstruačním cyklem – Medical Research Council guidelines navrhují



monitorování krve 2x týdně před koncepcí a 3x týdně během těhotenství.(1)

Doporučená doba přípravy na těhotenství je tři měsíce a je obdobím úzké spolupráce ženy s metabolickým centrem. Po celou dobu prekoncepční přípravy posílá žena pravidelně jedenkrát týdně suchou krevní kapku či dojížď na odběr krve ke kontrole hladin fenylalaninu. V edukačních kurzech zaměřených na mateřskou fenylketonurii mohou potřebné znalosti i jistotu v přípravě diety získat jak budoucí matky, tak jejich partneři.(8) Hladina fenylalaninu v krvi před koncepcí by se měla stabilizovat na úrovni 200-240  $\mu\text{mol/l}$ .(10) Pokud se koncepce nedaří i přes dobrou metabolickou kontrolu, mělo by být zváženo relativně časně odeslání na pracoviště reprodukční medicíny (např. po šesti měsících bez antikoncepce), aby byla žena i její partner vhodným způsobem vyšetřeni.(1)

Situaci, kdy žena otěhotní neplánovaně při normální stravě a při vyšších hladinách fenylalaninu, je třeba považovat za akutní stav a neprodleně konzultovat odborníky metabolického centra a nečekat, až bude těhotenství pokročilé.(8) Je-li metabolické kontroly dosaženo během 10 – 12 týdnů, může být vývoj plodu uspokojivý.(1) U těhotných žen s prokázanou hladinou fenylalaninu nad 400  $\mu\text{mol/l}$  bývá z genetické indikace doporučeno ukončení těhotenství. Těhotenství se ukončuje interrupcí vždy se souhlasem pacientky.(10)

#### **4.6.4 Léčba v těhotenství**

Výživa žen s fenylketonurií v těhotenství vyžaduje výběr živin bez fenylalaninu. Ženy s takovou dietou by byly ohroženy např. nedostatkem bílkovin, železa, kalcia, vitamínu B12, folátu, selenu a zinku. Proto vyžaduje léčba v těhotenství individuální plán a pravidelné sledování, aby nedocházelo k výživovým poruchám. Ty by postihovaly nejen těhotnou ženu, ale i plod. Většinu potřebných nutrientů získává z aminokyselinového přípravku. Role

suplementace tyrozinu v pokračujícím těhotenství není jasná, ale jeho podávání je v některých centrech doporučováno.(1)

Na péči o těhotnou ženu s fenylketonurií úzce spolupracuje metabolický tým příslušného odborného centra s ošetřujícím gynekologem v místě bydliště. Při návštěvách metabolického centra jsou sledovány hladiny aminokyselin a výživové ukazatele, v péči gynekologa prochází žena obvyklým systémem prohlídek v těhotenství.(8) Návštěvy v metabolickém centru by měly proběhnout 1x za 1 – 2 měsíce. Po celou dobu těhotenství většinou posílá žena pravidelně jedenkrát týdně suchou krevní kapku na kontrolu hladin fenylalaninu. Genetické těhotenské ultrazvukové vyšetření plodu se provádí ve 12., 20. a 32. týdnu těhotenství.

Dobré podmínky pro začátek i průběh těhotenství jsou v situaci, kdy žena zvládla všechny potřebné dovednosti a udržuje si hladiny fenylalaninu v rozmezí 120-240  $\mu\text{mol/l}$ . Prostředkem k dosažení stabilních hladin fenylalaninu a co nejvýhodnější situace v látkové přeměně jsou:

- dodržení předepsaného množství fenylalaninu
- pravidelný příjem předepsaného množství aminokyselinových přípravků rozděleného do 4-5 denních dávek
- dostatečná energetická hodnota stravy

Ve druhé polovině těhotenství se do látkové přeměny budoucí matky postupně zapojuje i rostoucí plod, a tak je možné pozorovat po 20.-22.týdnu pozvolný vzestup tolerance fenylalaninu – proto lze obvykle postupně mírně zvyšovat jeho příjem. ke konci těhotenství toleruje většina žen s PKU příjem kolem 800 mg fenylalaninu denně.(5)

I přes nejlepší přípravu a optimální hladinu fenylalaninu v krvi je těhotenství pacientek s PKU nejisté. Na začátku gravidity může přes nejlepší dodržování diety dojít k lehčímu zvýšení fenylalaninu v krvi. Důvodem je hormonální nerovnováha, nevolnost, nechutenství. V této situaci by se měl

denní příjem fenylalaninu snížit o jednu třetinu až polovinu plánovaného množství.

Důvodem k akutní kontrole těhotné s fenylketonurií v metabolickém centru, případně k jejímu přijetí na lůžkové oddělení nemocnice, jsou stavy spojené se zvracením, nedostatečným hmotnostním přírůstkem ženy či opakovaně zvýšenými hladinami fenylalaninu.

I přes důkazy o pozitivních vlivech dietní léčby u maternální PKU zůstává otázek nezodpovězená. Patří mezi ně vliv zavedení diety v různých fázích těhotenství, bezpečné cílové koncentrace fenylalaninu v krvi, zda jsou nebo nejsou dietní vlivy stejně důležité jako vliv fenylalaninu, význam fetálního a maternálního fenotypu a vlivy postnatálního prostředí. Je zajímavé, že některým dětem z neléčených těhotenství se daří překvapivě dobře, zatímco některým ze zdánlivě dobře vedených těhotenství mají problémy.(1)

#### **4.6.5 Porod a kojení**

Žena s fenylketonurií nepotřebuje zvláštní podmínky kolem porodu a ani bezprostředně po něm. Po porodu se může opět vrátit k volnějšímu jídelníčku, na který byla dlouhodobě zvyklá. I při volném jídelníčku může ovšem zcela normálně kojit. U jejího narozeného dítěte je vždy vyšetřena hladina fenylalaninu a jen v případě, že by u dítěte byla zjištěna fenylketonurie, bylo by nutné kojení omezit a dítě převést na PKU dietu.(8)

#### **4.7 Péče o pacienty s PKU**

Klinické sledování, monitorování léčby a úpravy jídelníčku dítěte s PKU jsou úkolem pracovníků metabolického centra, lékaře a dietní sestry.(5) Léčbu a sledování pacientů s PKU a HPA zajišťují v ČR tato specializovaná pracoviště (15) :

- Fakultní nemocnice Královské Vinohrady, Šrobárova 50, 100 34 Praha 10, Klinika dětí a dorostu. Toto centrum také pořádá speciální edukační kurzy pro pacienty a jejich rodiny.
- Všeobecná fakultní nemocnice, Ke Karlovu 2, 128 08 Praha 2, Ústav dědičných metabolických poruch a Klinika dětského a dorostového lékařství
- Fakultní nemocnice Brno, Černopolní 9, 613 00 Brno, pracoviště Dětská nemocnice

#### ***4.7.1 Národní sdružení PKU a jiných dědičných metabolických poruch***

Národní sdružení PKU a jiných DMP je podpůrná nezisková organizace sdružující pacienty s fenylketonurií a obdobnými dědičnými metabolickými poruchami z celé ČR, jehož cílem je těmto pacientům a jejich rodinám pomáhat ve všech ohledech každodenního života, spolupůsobit při zlepšování jeho kvality a zmírňovat nepříznivé sociální i zdravotní důsledky těchto onemocnění. K dosažení těchto cílů pro své členy organizuje aktivity spojené s výměnou zkušeností jednotlivých členů v oblasti dodržování léčebných postupů a diety (víkendové pobyty dětí, víkendové pobyty dospělých, Mikulášské besídky), vydává informační čtvrtletník *Metabolík*, ve spolupráci s metabolickými centry spoluorganizuje edukační kurzy vaření nízkobílkovinných jídel, dále v rámci svých finančních možností zajišťuje analýzy fenylaninu, methioninu a jiných aminokyselin v potravinách s cílem zvýšení kvality života pacientů s PKU a jinými DMP a v neposlední řadě provádí hájení zájmů těchto pacientů vůči státu a poskytuje aktuální informace a poradenskou činnost.(14)

## 5. PORUCHY METABOLISMU BIOPTERINU

Hyperfenylalaninémie z deficitu tetrahydrobiopterinu (BH4) se objevuje u 1-2% dětí s hyperfenylalaninemií. Hyperfenylalaninémie tohoto typu byla dříve označována jako maligní PKU. I přes často nevýrazné zvýšení fenylalaninu může vést k závažnému psychomotorickému opoždění dítěte.(10) Bez léčby pacienti často umírají před dosažením jednoho roku věku.(16)

Do deficitu BH4 patří skupina poruch, které vznikají v důsledku mutací nebo delecí genů kódujících jeden z pěti enzymů účastnících se biosyntézy nebo recyklace BH4. V obou případech nemůže být fenylalanin účinně transformován na aminokyselinu tyrosin (stějně jako v případě PKU), což vede k zvýšení hladin fenylalaninu v krvi.(12)

Poruchy metabolismu tetrahydrobiopterinu (BH4), spojené s hyperfenylalaninemií a deficitem biogenních aminů, zahrnují deficit GTP cyklohydrolázy I (GTPCH), deficit 6-pyruvoyltetrahydropterinsyntázy (PTPS), deficit dihydropteridinreduktázy (DHPR) a deficit pterin-4a-karbinolamindehydratázy (PCD, primapterinurie). Dopa-responzivní dystonie (DRD), dominantní forma deficitu GTPCH a deficit sepiapterinreduktázy (SR) také vedou k deficitu biogenních aminů v centrálním nervovém systému, ale jsou spojeny s normální hladinou fenylalaninu v krvi (i když se HPA může objevit u DRD po zátěži fenylalaninem).(1)

Poruchy syntézy nebo regenerace pterinů jsou spojeny se sníženou aktivitou PAH, tyrosinhydroxylázy, tryptofanhydroxylázy a syntázy oxidu dusnatého. Stupeň hyperfenylalaninémie z deficitu PAH je vysoce variabilní s koncentracemi fenylalaninu v krvi v rozmezí od normálních hodnot do > 2 000 μmol/l. Deficit biogenních aminů v centrálním nervovém systému je nejčastěji hluboký a zodpovědný za klinické příznaky. Snížená koncentrace kyseliny homovanilové v likvoru je projevem sníženého obratu dopaminu a

podobně deficit 5-hydroxyindoloctové je projevem sníženého metabolismu serotoninu.(1)

### **5.1 Dědičnost**

Všechny poruchy jsou dědičné autozomálně recesivně. Popis příslušných genů a databáze mutací jsou dostupné na [www.bh4.org](http://www.bh4.org).(1)

### **5.2 Klinické projevy**

Klinický průběh může mít tři různé podoby :

1. Asymptomatický – zde je novorozeneckým screeningem zjištěno, že dítě má zvýšenou hladinu fenylalaninu a poté je vyšetřováno z hlediska poruch metabolismu pterinů.
2. Symptomatický s neurologickým postižením v kojeneckém věku i přes dietu s nízkým obsahem fenylalaninu. To se stane, pokud nejsou po zjištění HPA v novorozeneckém screeningu provedena další vyšetření a je mylně předpokládán deficit HPA.
3. Symptomatický s neurologickým postižením v kojeneckém věku na normální stravě. To se stane, buď když nebyl proveden novorozenecký screening HPA, nebo jsou hladiny fenylalaninu dostatečně nízké na to, aby nevedly k záchytu screeningu.

Symptomy mohou být v novorozeneckém období mírné a nemusí být zřejmé až do věku několika měsíců. Všechny poruchy kromě deficitu PCD jsou spojeny s patologickým a variabilním svalovým tonem, abnormálními pohyby, dráždivostí a letargií, křečemi, špatnou kontrolou teploty, progresivním opožděním vývoje a mikrocefalií. U deficitu DHPR se může objevit atrofie mozku a kalcifikace v mozku. U deficitu PCD jsou symptomy mírné a přechodné.(1)

### 5.3 Diagnostické testy

#### 5.3.1 Vyšetření pterinů v moči nebo v krvi a stanovení aktivity DHPR v krvi

U všech dětí, u nichž byla novorozeneckým screeningem zjištěna HPA, by mělo být provedeno vyšetření aktivity DHPR v krvi a pterinů v moči nebo v krvi pro upřesnění typu poruchy.

*Interpretace výsledků vyšetření u poruch metabolismu biopterinu: (1)*

Deficit	Hladiny Phe v krvi ( $\mu\text{mol/l}$ )	Biopterin v krvi či v moči	Neopterin v krvi či v moči	Primapterin v krvi či v moči	5HIAA a HVA v likvoru	Aktivita DHPR v krvi
PAH	> 120	↑	↑	-	norm.	norm.
GTPCH	90-1200	↓↓	↓↓	-	↓	norm.
PTPS	240-2500	↓↓	↑↑	-	↓	norm.
DHPR	180-2500	↓↓	norm. či ↑	-	↓	↓
PCD	180-1200	↓	↑	↑↑	-	norm.

*Použité zkratky :*

DHPR – dihydropterinreduktáza  
GTPCH – guanosintrifosfátcyklohydroláza 1  
5 HIAA – kyselina 5-hydroxyindolactová  
HVA – kyselina homovanilová  
PAH – fenylalaninhydroxyláza  
PCD – pterin-4a-karbinolamindehydratáza  
Phe – fenylalanin  
PTPS – 6-pyruvoyltetrahydropterinsyntáza

#### 5.3.2 Test s BH4

BH4 je podán v dávce p.o. 20 mg/kg přibližně 30 minut před krmením. Vzorky krve na stanovení koncentrace fenylalaninu a tyrosinu jsou odebrány v čase 0, 4, 8 a 24 hodin. Test je pozitivní, klesne-li hladina fenylalaninu v plazmě k normálním hodnotám (obvykle po osmi hodinách), spolu s průvodním vzestupem hladin tyrosinu. Rychlost poklesu hladin fenylalaninu může být pomalejší u deficitu DHPR. Krev na vyšetření pterinů po čtyřech hodinách potvrdí, že BH4 byl podán a vstřebal se.(1)

### **5.3.3 Neurotransmitery v likvoru**

Stanovení kyseliny homovanilové a 5-hydroxyindolactové je základní součástí diagnostického vyšetření a následně je také požadováno pro monitorování substituční léčby aminy L-dopa a 5-hydroxytryptofanem (5HT). Likvor musí být zamražen v tekutém dusíku ihned po odběru a uchováván do analýzy při -70°C. Je-li ve vzorku příměs krve, měl by být vorek okamžitě centrifugována supernatant poté zamražen. Referenční rozmezí hodnot obou kyselin se liší dle věku.(1)

### **5.4 Prenatální diagnostika**

Prenatální diagnostika může být provedena v 1.trimestru po biopsii choriových klků mutační analýzou, jsou-li již známy mutace u probanda. Analýza neopterinu a biopterinu v plodové vodě je pro všechny poruchy dostupná ve 2.trimestru. Enzymatické vyšetření může být provedeno u deficitu DHPR a deficitu PTPS ve fetálních erytrocytech nebo v amniocytech. Jedině GTPCH je exprimovaná ve fetální jaterní tkáni.(1)

### **5.5 Léčba a prognóza**

U deficitu GTPCH, deficitu PTPS a deficitu DHPR je cílem léčby upravit HPA a korigovat deficit biogenních aminů v likvoru. U deficitu DHPR je také nutná léčba folátem k prevenci deficitu folátu v mozku. Deficit PCD obvykle nevyžaduje léčbu, i když může být v úvodu použit BH4, je-li dítě symptomatické.(1)

U deficitu PTPS a deficitu GTPCH odpovídají hladiny fenylalaninu v krvi na léčbu perorálním BH4. U deficitu DHPR může být při snižování hladiny fenylalaninu v krvi BH4 také účinný, ale mohou být potřebné vyšší dávky než u deficitu GTPCH nebo deficitu PTPS, které mohou vést k hromadění BH4 a k možnému zvýšení rizika deficitu folátu v centrálním nervovém systému. U deficitu DHPR se proto obvykle doporučuje, aby HPA byla korigována dietou a BH4 nebylo podáváno.(1)



Substituční léčba deficitu biogenních aminů v centrálním nervovém systému je podávána jako perorální L-dopa s carbidopou (obvykle 1:10, ale je dostupná také v poměru 1:4). Carbidopa je inhibitor dopa-karboxylázy, který snižuje periferní přeměnu dopy na dopamin, a tak snižuje vedlejší účinky a umožňuje, aby byly účinné nižší dávky L-dopa. Na počátku léčby mohou být pozorovány vedlejší účinky (nauzea, zvracení, průjmy, dráždivost). Z tohoto důvodu může být zahájena léčba L-dopa a 5HT v nízké dávce. Další úprava dávek závisí na výsledcích hladin kyseliny homovanilové a 5-hydroxyindolactové v likvoru. Monitorování hladin biogenních aminů v likvoru by mělo probíhat jednou za tři měsíce v prvním roce, jednou za šest měsíců v časném dětství a jednou ročně později. Kde je to možné, měl by být odběr likvoru proveden před podáním léků.(1)

Jako důsledek deficitu dopaminu se objevuje hyperprolaktinémie. Měření hladiny prolaktinu v séru může být použito jako metoda monitorování léčby, kde normální hodnoty znamenají přiměřenou léčbu.(1)

Selegilin (L-deprenyl), inhibitor monoaminoxidázy B, je používán jako doplněk k substituční léčbě aminy. Mohl by vést ke snížení dávky L-dopa a 5HT a ke zlepšení klinických symptomů.(1)

Nedávno byl také publikována léčba entacaponem, inhibitorem katechol-O-methyltransferázy (COMT) (který je také schválen pro použití jako doplněk k co-beneldopa nebo co-careldopa pro pacienty s Parkinsonovou chorobou, u kterých se objevilo „end-of-dose“ postižení), který vedl ke snížení požadavků na L-dopa až o 30%.(1)

Bez léčby je přirozený průběh deficitu GTPCH, PTPS a DHPR špatný s progresivním neurologickým postižením a časnou smrtí. Při léčbě prognóza závisí na věku při stanovení diagnózy a závažnosti postižení. Většina dětí s deficitem GTPCH a PTPS má určitý stupeň problémů s učením i přes uspokojivé monitorování. Pacienti s deficitem DHPR, je-li zahájena léčba

dietou, substituční léčba deficitu biogenních aminů a léčba foláty během prvních měsíců života, mohou mít normální vývoj a růst.(1)

## 6. ZÁVĚR

Prevenčí poškození zdraví u pacientů s hyperfenylalaninemií je včasné odhalení jejich onemocnění prenatalně či časně antenatálně pomocí celoplošného novorozeneckého screeningu a následná adekvátní léčba.

Při plánování dalšího potomka v rodinách s PKU v anamnéze lze využít genetického poradenství a v době gravidity také molekulárně-genetické analýzy známých mutací u plodu z biopsie choriových klků ve 13.týdnu těhotenství nebo v kultivovaných amniocytech od 16.týdne těhotenství výše. Pomocí DNA analýzy lze prokázat 96% známých mutací v PAH genu. Předem je vhodné znát genetickou informaci rodičů. Pokud by těhotenství plánovala pacientka s BH4 deficitem, bylo by vhodné enzymatické vyšetření fetálních erytrocytů či vyšetření metabolitů BH4 z plodové vody. Při potvrzení PKU plodu lze přerušit tuto graviditu až do 24.týdne těhotenství, ale z etických důvodů je na zvážení, zda doporučit ukončení, protože PKU je léčitelné onemocnění. Nově existuje také možnost preimplantační genetické diagnostiky PKU v rámci asistované reprodukce, kterou lze provést genetickým vyšetřením 1-2 buněk odebraných z vyvíjejícího se embrya před jeho transferem do dělohy.

Screening PKU je součástí novorozeneckého screeningu, který od 1.října 2009 dokáže v ČR zachytit spolu s PKU celkem 13 dědičných onemocnění. Provádí se analýzou kapilární krve z patičky novorozence již mezi 2.-3. dnem po narození.

S dietou při PKU je třeba začít co nejdříve po narození, nejpozději do 10. dne života a měla by být dodržována přísně a důsledně. Podle nejnovějších poznatků je doporučována celoživotně. Tato dieta je specifická svým složením.

- Léčebné aminokyselinové přípravky plně hradí zdravotní pojišťovny, ale dietní nízkobílkovinné (NB) potraviny jsou plně hrazeny rodinou a dieta je proto finančně náročná – tím více, čím je přísnější.

Přínosem pro pacienty by mohl být finanční příspěvek například ve formě sociálních dávek nebo poukázek pro zakoupení speciálních nízkobílkovinných potravin či jejich plná nebo alespoň částečná úhrada zdravotními pojišťovnami. Na rozdíl od ČR je v některých zemích západní Evropy pacientům plně hrazen preparát i náklady na základní potraviny, jako jsou NB mouka, NB chléb, NB těstoviny a NB mléko, ze zdravotního pojištění.

- Dieta je sestavována individuálně pro každého pacienta, musí se počítat obsah fenylalaninu v potravinách. Přínosem by proto bylo více analýz potravin s nižším množstvím bílkovin a možnost uvedení obsahu fenylalaninu na etiketách těchto analyzovaných výrobků.

- Vzhledem k malé poptávce je dostupnost speciálních NB potravin nesnadná. Bylo by proto vhodné zvýšit jejich dostupnost, například zavedením těchto potravin do sítě prodejen se zdravou výživou.

- Léčebné přípravky jsou nevábné chuti a zápachu, a proto by bylo vhodné zlepšit jejich organoleptické vlastnosti.

- Pro správné zvládnutí problematiky léčby jsou velmi vítány edukační kurzy pro celé věkové spektrum pacientů, kurzy vaření a také tábory, které vedou školní děti k samostatnosti.

- Nutriční terénní konzultant by mohl pacientům pomáhat se získáním dovedností pro přípravu pokrmů, která se liší od běžného vaření, protože NB potraviny obsahují více škrobů a mohl by také poskytovat poradenství v domácích podmínkách.

- Pro pacienty by bylo přínosné také větší množství edukačních materiálů, zejména v tištěné podobě.

- Kontrolu léčby by mohl zjednodušit domácí monitoring hladin fenylalaninu v krvi.

Prevenčí poškození plodu u pacientek s PKU je dieta prekoncepční i po celou dobu gravidity. Příslušné metabolické centrum jim poskytuje poradenství s dietou, pomáhá se k ní vrátit po jejím přerušení a monitoruje hladinu fenylalaninu.

- Dieta těhotných pacientek s PKU mnohdy představuje velkou finanční zátěž, protože je ve většině případů ještě přísnější než v období dětství. Jakákoliv forma finančního příspěvku od státu či úhrada NB potravin zdravotními pojišťovnami by jim proto byla velmi nápomocná.

- Pacientky by měly o svém onemocnění informovat gynekologa a praktického lékaře.

- Zároveň by se měla zvýšit informovanost odborné veřejnosti o problematice tohoto onemocnění.

V současné době je pro některé pacienty s PKU schválena nová léčba pomocí sapropterinu, který snižuje hladiny fenylalaninu v krvi a tím umožňuje zvýšení příjmu fenylalaninu ve stravě až čtyřnásobně. Účinnost se uvádí asi u 30% pacientů, častěji u mírnějších forem PKU/HPA. Vede ke zlepšení compliance pacienta, zamezuje výkyvům hladin fenylalaninu, předchází nutričním deficitům a přibližuje stravu normě. Po nastavení léčby zůstávají pacienti na volnější dietě s potřebným přídatkem aminokyselinové směsi. Tato léčba může dokonce u některých pacientů vést k ukončení diety a k možnosti normálního stravování. Nyní je k dispozici i v ČR, ale je finančně nákladná a výše úhrady zdravotními pojišťovnami se zatím projednává.

Hyperfenylalaninémie z poruch metabolismu kofaktoru PAH tetrahydrobiopterinu (BH4) se objevuje pouze u 1-2% dětí s hyperfenylalaninemií. Prevencí poškození organismu u této poruchy je úprava hyperfenylalaninémie a korekce deficitu biogenních aminů v likvoru, a proto se tyto poruchy léčí perorálním podáváním L-dopy s carbidopou a selegilin spolu s entacaponem jsou používány jako doplňky léčby. Deficit PTPS a GTPCH odpovídají na léčbu perorálním BH4. U deficitu DHPR je navíc nutná léčba folátem k prevenci jeho deficitu v mozku. Deficit PCD obvykle nevyžaduje léčbu, i když může být v úvodu použit BH4, je-li dítě symptomatické.

Pokud pacienti s PKU/HPA dodržují léčebný režim a řídí se všemi zásadami a doporučenými lékaře, mají naději na plnohodnotný život bez zdravotního postižení. Nezbytnou součástí péče o tyto pacienty by měla být výše jmenovaná opatření, která ve svém důsledku usnadní řešení problematiky související s tímto onemocněním.

## 7. SOUHRN

Fenylketonurie (PKU) je vrozená metabolická porucha postihující metabolismus esenciální aromatické aminokyseliny fenylalaninu. Je dědičná autozomálně recesivně. Téměř všechny případy jsou způsobeny mutací genu kódujícího fenylalaninhydroxylázu a její deficiencí, která byla zmapována na 12. chromozomu. Bylo identifikováno více než 500 mutací, nejčastější mutace v České republice a v Evropě je mutace R408W. Jaterní enzym fenylalaninhydroxyláza (PAH) katalyzuje přeměnu fenylalaninu na tyrozin. Kompletní chybění enzymu způsobuje klasickou PKU, při které hladina fenylalaninu v plazmě převyšuje 20 mg/dl (1200  $\mu$ mol/l). Zbytková aktivita PAH způsobuje mírnou PKU (koncentrace fenylalaninu 10-20 mg/dl, 600-1200  $\mu$ mol/L) a mírnou hyperfenylalaninémii (HPA, koncentrace fenylalaninu 2,5-10 mg/dl, 120-600  $\mu$ mol/l). Koncentrace tyrozinu je normální nebo téměř normální. Tetrahydrobiopterin (BH4) je kofaktor nutný pro aktivitu PAH. Poruchy metabolismu BH4 tvoří přibližně 1-2% pacientů se zvýšenou hladinou fenylalaninu. U neléčených je charakteristickým znakem mentální retardace a jiné neurologické a psychické příznaky včetně epilepsie, ale kvůli široce rozšířenému novorozeneckému screeningu jsou dnes raritní. Běžná je světlá pigmentace a pacienti mohou mít ekzém. Tělo a moč mohou mít specifický zápach po „myšíně“ díky zvýšené koncentraci metabolitu – kyseliny fenylpyrohroznové. Diagnóza HPA je založena na zjištěné zvýšené koncentraci sérového fenylalaninu spolu s normální či téměř normální koncentrací tyrozinu. Nejužívanější laboratorní metodou pro novorozenecký screening je tandemová hmotnostní spektrometrie. Celoplošný novorozenecký screening byl v Čechách zaveden dne 1.1.1975. Molekulárně-genetická analýza v periferních leukocytech může být užitečná v potvrzení mutací PAH genu nebo pro prenatální diagnostiku v rodinách se známou mutací. Pacienti s klasickou PKU a mírnou hyperfenylalaninémií vyžadují restrikcii fenylalaninu ve stravě, což vyžaduje užívání aminokyselinových přípravků bez fenylalaninu jako doplňků stravy. Tato restriktivní dieta přináší riziko nutričního deficitu a zátěž pro pacienty a jejich rodiny. Léčba by měla být zahájena co nejdříve, obvykle během prvního týdne života a koncentrace

fenylalaninu v krvi by měly být pravidelně kontrolovány, zejména v dětství. Před zahájením léčby by měly být vyloučena porucha metabolismu BH4. Diagnóza deficiencie BH4 se provádí na základě BH4 testu a měření zvýšených koncentrací biopterinu a neopterinu v krvi, v moči nebo likvoru a aktivity DHPR v suché krevní kapce. Také se měří metabolity neurotransmiterů v likvoru. Některé typy deficiencie BH4 se také léčí dietou chudou na fenylalanin a navíc suplementací biologicky aktivní syntetickou formou BH4 a prekurzory neurotransmiterů L-dopou, carbidopou a selegilinem. Kyselina listová se suplementuje při deficienci DHPR. Zvýšené sérové koncentrace fenylalaninu během časného těhotenství u matek s PKU či hyperfenylalaninemií mohou způsobit poškození plodu zahrnující intrauterinní růstovou retardaci, mentální postižení, mikrocefalii a vrozené vady, zvláště srdeční. Riziko abnormalit závisí na koncentraci fenylalaninu a není závislé na genotypu plodu (heterozygotičtě či homozygotičtě pro PKU) – to je důvod, proč by ženy měly dosáhnout nízké koncentrace dietní restrikcí fenylalaninu ideálně nejméně tři měsíce před koncepcí a udržet ji během těhotenství pod 4 mg/dl (240  $\mu$ mol/l).



## 8. SUMMARY

Phenylketonuria (PKU) is a metabolic disorder affecting the metabolism of essential aromatic amino acid phenylalanine. The mode of inheritance for PKU is autosomal recessive. Nearly all cases are caused by mutations in the gene encoding PAH and its deficiency, which has been mapped to chromosome 12. More than 500 have been identified, the most common mutation in The Czech Republic and in The Europe is R408W. The hepatic enzyme phenylalanine hydroxylase (PAH) catalyzes the conversion of phenylalanine to tyrosine. Complete enzyme deficiency results in classical PKU, in which serum phenylalanine concentration exceeds 20 mg/dL (1200 micromol/L) and levels are elevated in the urine. Residual enzyme activity causes mild PKU (phenylalanine concentration 10 to 20 mg/dL, 600 to 1200 micromol/L) and mild hyperphenylalanemia (mild HPA, phenylalanine concentration 2.5 to 10 mg/dL, 150 to 600 micromol/L). Tyrosine concentration is normal or nearly normal. Tetrahydrobiopterin (BH4) is a cofactor required for PAH activity. Defects in BH4 metabolism account for approximately 1-2 percent of patients with elevated phenylalanine levels. In untreated patients, the hallmark of the disease is mental retardation and other neurological and psychical symptoms including epilepsy, but because of widespread neonatal screening, overt clinical manifestations of PKU are rare. Light pigmentation is common, and patients may have an eczematous rash. The body and urine may have a specific "mousy" odor due to the increased concentration of the metabolite phenylacetic acid. Diagnosis of PKU is based upon the finding of an elevated serum concentration of phenylalanine together with low to low-normal tyrosine concentration. The most useful laboratory method for newborn screening is tandem mass spectrometry. Full-area newborn screening in the Czech country was established 1st January in 1975. Molecular analysis can be used to demonstrate mutations at the PAH locus in peripheral blood leukocytes or for carrier detection or prenatal diagnosis in families in whom the mutation is known. Patients with both classic and mild phenylketonuria require lifelong a dietary restriction of phenylalanine. This requires the use of medical foods

including phenylalanine-free protein substitutes (amino acid mixtures). This restrictive diet is associated with a risk of nutritional deficiencies and represents a burden for the patients and their families. Treatment should be initiated as soon as possible, usually before one week of age and blood concentrations of phenylalanine should be monitored frequently, especially during infancy. BH4 deficiency should be excluded before the treatment. Diagnosis of BH4 deficiency is made by measurement of elevated concentrations of biopterin or neopterin in blood, urine, or cerebrospinal fluid and DHPR in a dry drop of blood. Neurotransmitter metabolites also are measured in cerebrospinal fluid. Some types of BH4 deficiency is treated with a diet low in phenylalanine and also supplementation with a biologically active synthetic form of BH4 and the neurotransmitter precursors L-dopa, carbidopa and selegilin. Folinic acid supplementation is given in DHPR deficiency. Elevated serum phenylalanine concentration during early pregnancy in a mother with PKU or hyperphenylalanemia can result in phenylalanine embryopathy includes intrauterine growth restriction, mental retardation, microcephaly, and malformations, mainly congenital heart defects. The risk of abnormalities depends upon the maternal blood phenylalanine concentration and is independent from the fetal genotype (heterozygosity or homozygosity for PKU) – that's why women should reach for low maternal phenylalanine concentrations by dietary restriction of phenylalanine ideally at least three months before conception and keep it up during pregnancy <4 mg/dL (240 micromol/L).

## 9. SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- (1) FERNANDEZ, J. a WALTER, J.H. : Diagnostika a léčba dědičných metabolických poruch. Praha : Triton, 2008, s. 258-267.
- (2) PAZDÍRKOVÁ, R. : Léčba fenylketonurie v současnosti. *Zdravotnické noviny*, 2009, roč. 58, č. 42 , s. 11.
- (3) PROCHÁZKOVÁ, D. : ICIEM naznačil nové postupy v léčbě fenylketonurie. *Zdravotnické noviny*, 2009, roč. 58, č. 42, s. 10.
- (4) PAZDÍRKOVÁ, R. : Návrat dospělých k PKU dietě. *Dieta při fenylketonurii, dieta na celý život*, informační brožura SHS International.
- (5) KOMÁRKOVÁ, J. A HEJCMANOVÁ, L. : Vaříme zdravě a chutně pro fenylketonuriky II. Praha : Uniprint, 2004. 281 s., ISBN 80-239-2877-5.
- (6) Merckserono: Souhrn údajů o přípravku. [on-line]. [cit.4.5.2010]. Dostupnost z www : <<http://www.ema.europa.eu/humandocs/PDFs/EPAR/kuvan/H-943-PI-cs.pdf>>
- (7) DVD : PROCHÁZKOVÁ, D. Fenylketonurie-dokument. 2007[CD-ROM].
- (8) HEJCMANOVÁ, L. : Mateřská fenylketonurie. [on-line]. Praha, 2009 [cit.4.5.2010]. Dostupnost z www : < <http://www.espku.cz>>
- (9) Novorozenecký screening – portál Ministerstva zdravotnictví České republiky. [on-line]. Praha, 2009 [cit.4.5.2010]. Dostupnost z www : <<http://www.novorozeneckyscreening.cz>>
- (10) Vybrané kapitoly z klinické genetiky – sborník textů Ústavu dědičných metabolických poruch VFN a 1. LF UK. [on-line]. Praha, 2008 [cit.4.5.2010], s.5-7. Dostupnost z www : <<http://docs.google.com/>>
- (11) PAZDÍRKOVÁ, R. A KOMÁRKOVÁ, J. : Fenylketonurie a mateřství. Praha, 2010. s.11-14.
- (12) Medicabaze.cz : Deficit fenylalaninhydroxylázy. [on-line]. Praha, 2007, [cit.4.5.2010]. Dostupnost z www : <<http://www.medicabaze.cz>>
- (13) Vitalion: Fenylketonurie. [on-line]. Praha, 2010, [cit.4.5.2010]. Dostupnost z www : <<http://nemoci.vitalion.cz/fenylketonurie/>>
- (14) Národní sdružení PKU a jiných dědičných metabolických poruch. [on-line]. Praha, 2009 [cit.4.5.2010]. Dostupnost z www : <<http://nspku.cz/>>
- (15) JURÁSKOVÁ, D. Věstník Ministerstva zdravotnictví ČR 6/2009 [online]. Praha, 2009. s.7-13. Poslední revize 2009 [cit.4.5.2010]. Dostupnost z www : <[http://www.udmp.cz/ns/ns\\_files/6\\_2009.pdf/](http://www.udmp.cz/ns/ns_files/6_2009.pdf/)>

(16) BODAMER, O. : Overview of phenylketonuria. 2009 [cit.4.5.2010]. Dostupnost z www : <<http://www.uptodate.com/home/store/index.do/>>