

**UNIVERZITA PARDUBICE**

**Fakulta chemicko-technologická**

**BAKALÁŘSKÁ PRÁCE**

**UNIVERZITA PARDUBICE**

**Fakulta chemicko-technologická**

**Katedra biologických a biochemických věd**

**Fenylketonurie,  
genetický, biochemický a zdravotní kontext**

Kateřina Pirklová

Bakalářská práce

## ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Kateřina Pirklová**  
Osobní číslo: **C10438**  
Studijní program: **B3912 Speciální chemicko-biologické obory**  
Studijní obor: **Zdravotní laborant**  
Název tématu: **Fenylketonurie - genetický, biochemický a zdravotní kontext**  
Zadávací katedra: **Katedra biologických a biochemických věd**

### Z á s a d y p r o v y p r a c o v á n í :

Bakalářská práce by měla obsahovat:

1. stručnou anotaci, obsah, teoretický úvod do dané problematiky, závěr
2. aktuální informace zpracované formou rešerše
3. seznam literatury, seznam používaných zkratk, schémata, tabulky

Doporučení pro zpracování tématu jsou:

- a) charakterizovat fyziologii a diagnostiku fenylketonurie
- b) zhodnotit biochemické a imunologické charakteristiky
- c) objasnit způsob dědičnosti a přenosu
- d) možnosti léčby a prevence
- e) zaměřit se na postupy a pokroky v medicínském přístupu k onemocnění

Rozsah grafických prací: **dle potřeby**

Rozsah pracovní zprávy:

Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam odborné literatury:

**Podle pokynů vedoucího bakalářské práce.**


Vedoucí bakalářské práce:

**Mgr. Lucie Stříbrná, Ph.D.**


Katedra biologických a biochemických věd

Datum zadání bakalářské práce: **13. prosince 2012**

Termín odevzdání bakalářské práce: **19. července 2013**

  
prof. Ing. Petr Ložták, DrSc.  
děkan

L.S.

  
doc. RNDr. Zuzana Bílková, Ph.D.  
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 15. února 2013

Prohlašuji:

Tuto práci jsem vypracovala samostatně s využitím literárních pramenů a informací, které jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., autorský zákon, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Souhlasím s prezenčním zpřístupněním své práce v Univerzitní knihovně Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne

.....

Kateřina Pirklová

#### Poděkování:

Touto cestou bych chtěla poděkovat vedoucí bakalářské práce Mgr. Lucii Stříbrné PhD., za její rady, pomoc a trpělivost při vypracování této práce. Také bych chtěla poděkovat všem mým blízkým za nemalou pomoc a podporu při studiu.

## **ANOTACE**

Fenylketonurie je dědičně podmíněná metabolická choroba, která způsobuje neschopnost organismu zpracovat aminokyselinu fenylalanin. Tak vznikají v organismu patologické procesy, které při nedodržení léčby vedou k nevratnému poškození mozku a mentální retardaci. Práce se zabývá vznikem nemoci, její diagnostikou, léčbou a četností výskytu v České republice a zemích Evropské unie.

Klíčová slova:

Fenylketonurie, Fenylalanin, Fenylalaninhydroxyláza

## **ANNOTATION**

Phenylketonuria is inherited metabolic disease, which causes failure of amino acid phenylalanine metabolism. In this way is formed pathological process that leads to irreversible damage of brain and mental retardation if therapy fails. This thesis deals with formation, diagnosis, treatment and occurrence of this disease in Czech Republic and countries of the Europe Union.

Keywords:

Phenylketonuria, Phenylalanine, Phenylalaninehydroxylasa

## OBSAH

<b>ÚVOD</b> .....	<b>10</b>
<b>1. VLV GENETICKÉ VÝBAVY NA ORGANISMUS</b> .....	<b>11</b>
1.1 GENETICKÁ VÝBAVA .....	11
1.2 VZNIK GENETICKÝCH MUTACÍ.....	15
1.2.1 Druhy genetických mutací .....	16
1.3 GENETICKÁ MUTACE U FENYLKETONURIE.....	17
<b>2. FYZIOLOGIE METABOLISMU FENYLALANINU ZDRAVÉHO JEDINCE</b> .....	<b>19</b>
2.1 FENYLALANIN A JEHO METABOLISMUS.....	19
2.2 VÝZNAM FENYLALANINU A JEHO METABOLITŮ PRO ORGANISMUS .....	20
<b>3. PORUCHY METABOLISMU FENYLALANINU</b> .....	<b>23</b>
3.1 ROZDĚLENÍ PORUCH METABOLISMU FENYLALANINU .....	24
3.1.1 Nedostatek fenylalaninhydroxylázy.....	25
3.1.2 Poruchy metabolismu bipterinu .....	25
<b>4. FENYLKETONURIE</b> .....	<b>26</b>
4.1 CHARAKTERISTIKA A GENEALOGIE PKU.....	26
4.2 ZDRAVOTNÍ DŮSLEDKY .....	27
4.2.1 Maternální PKU .....	28
4.2.2 Psychologické dopady.....	28
<b>5. DIAGNOSTIKA A PREVENCE</b> .....	<b>30</b>
5.1 PLOŠNÝ SCREENING.....	30
5.1.1 Co je to screening? .....	30
5.1.2 Historie screeningu PKU.....	31
5.1.3 Biochemické vyšetření fenylketonurie.....	31
5.1.3.1 BH <sub>4</sub> senzitivita .....	32
5.1.4 DNA diagnostika.....	33
5.2 PREVENCE .....	35
<b>6. LÉČBA</b> .....	<b>37</b>
6.1 DIETOLOGIE .....	37
6.1.1 Defekt PAH bez BH <sub>4</sub> senzitivity.....	37
6.1.2 Potraviny a výživa.....	37
6.1.3 Defekt PAH s BH <sub>4</sub> senzitivitou .....	40
6.2 ENZYMOVÁ SUBSTITUČNÍ TERAPIE .....	40
6.3 GENOVÁ TERAPIE .....	40
<b>7. STATISTIKA PKU V ČR A EVROPSKÝCH ZEMÍCH</b> .....	<b>42</b>
<b>ZÁVĚR</b> .....	<b>43</b>
<b>8. CITOVANÁ LITERATURA</b> .....	<b>45</b>
<b>9. SEZNAM POUŽITÝCH WEBOVÝCH ZDROJŮ</b> .....	<b>48</b>
<b>10. STUDIJNÍ LITERATURA</b> .....	<b>49</b>
<b>11. SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK</b> .....	<b>50</b>
<b>12. SEZNAM OBRÁZKŮ</b> .....	<b>52</b>



<b>13. SEZNAM TABULEK .....</b>	<b>53</b>
<b>14. SEZNAM PŘÍLOH .....</b>	<b>54</b>

## ÚVOD

První zmínku o onemocnění s názvem fenylketonurie (PKU), bych ráda věnovala jejímu pojmenování. Toto označení vystihuje příznaky, které ji doprovází. U novorozenech dětí, které jsou touto dědičnou chorobou postiženy, je moč cítit charakteristickým zápachem po myších. Při zkoumání příčiny tohoto zápachu se zjistilo, že ho způsobuje zvýšené množství fenylpyruvátu a jeho ketokyselin. Název prozrazuje, že jde o fenylpyruvát v moči, tedy fenylketon-urie.

Nemoc se dědí autosomálně recesivně a postihuje svými mutacemi úsek na dlouhém raménku 12. chromosomu s informací o enzymu fenylalaninhydroxyláze.

PKU je dědičným onemocněním, defektně se projevující v metabolismu aminokyseliny fenylalaninu a způsobujícím buď snížení, nebo úplné zastavení jeho zpracování v organismu. Produkty metabolismu fenylalaninu jsou hormony a tkáňový pigment. Nedostatek pigmentu se u osob s PKU fenotypově projevuje modrýma očima a světlými vlasy. Pokud nedojde u dítěte k zachycení onemocnění screeningem nebo není dodržována přísná dieta, nezpracovaný fenylalanin a produkty jeho patologické přeměny mohou poškodit mozek a způsobit tak mentální retardaci.

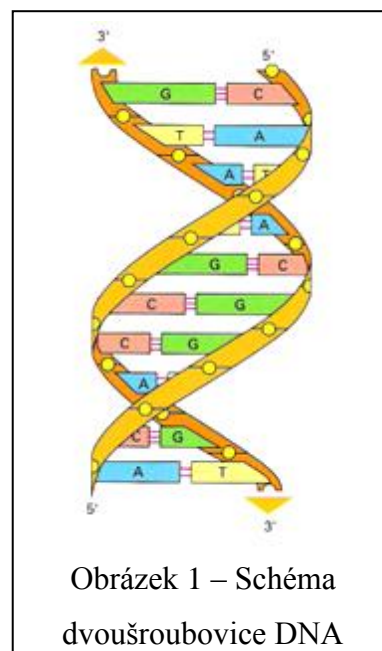
Tato práce vznikla především proto, že i když je PKU jednou z nejčastějších geneticky podmíněných metabolických poruch, je pro laickou veřejnost stále neznámou. Hlavním cílem práce bylo shrnout veškeré dostupné informace o PKU z oblasti genetiky, biochemie a medicíny do přehledu jak pro odbornou, tak pro laickou veřejnost.

## 1. VLIV GENETICKÉ VÝBAVY NA ORGANISMUS

Genetickou výbavu (genom) chápeme jako veškeré geny, které jsou obsaženy v buňkách člověka i ostatních živých organismů. Buňky v sobě mají zakódované veškeré informace o celém jedinci; jeho anatomii, funkčnosti jeho orgánů, ale i o jeho vzhledu a charakteru. Tyto informace můžeme jednoduše rozdělit podle toho, zda jsou u vedené vlastnosti vidět na první pohled či nikoli. Vlastnosti jedince udávající např. barvu vlasů, očí, velikost rtů nebo také somatický vzhled, řadíme do tzv. fenotypu. Informace týkající se funkčnosti orgánů, inteligence nebo náchylnosti k různým chorobám označujeme jako genotyp.

### 1.1 Genetická výbava

Základem, umožňujícím uchování a přenos genetické informace, je deoxyribonukleová kyselina, známá pod zkratkou DNA. DNA obsahuje dva řetězce složené ze čtyř typů nukleotidů. Nukleotid je složen ze sacharidu a fosfátu tvořícího tzv. kostru DNA a z báze, určující typ nukleotidu. Bázemi jsou purinové sloučeniny (adenin, guanin) a pyrimidinové sloučeniny (cytosin, thymín, uracil), z nichž se v DNA nevyskytuje uracil (je obsažen v RNA místo thymínu). Báze mezi sebou vytváří komplementární páry, ve kterých jsou báze vzájemně spojeny vodíkovými vazbami. Pár adeninu a thymínu je spojen pomocí dvou



Obrázek 1 – Schéma dvoušroubovice DNA

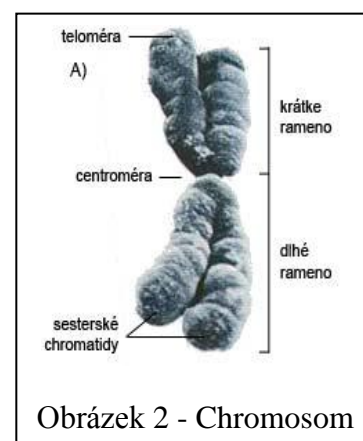
vazeb, zatímco pár cytosinu a guaninu je spojen vazbami třemi. Polaritu řetězce udává způsob uchycení nukleotidů. Touto polaritou jsou rozlišovány konce řetězce jako 3' konec, zakončen -OH skupinou sacharidu a 5' konec zakončený fosfátovou skupinou. Řetězce jsou vzájemně komplementární (vzájemně se doplňují) a jsou antiparalelně spojené (polarita jednoho řetězce je opačná k polaritě druhého). Řetězce se vzájemně obtáčejí a vytváří tak šroubovicovou strukturu.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Základy buněčné biologie: úvod do molekulární biologie buňky, Alberts, 2005, 2.vyd., str. 184-188

Obrázek 1 – Základy buněčné biologie: úvod do molekulární biologie buňky, Alberts, 2005, 2.vyd., str. 186

Řetězec DNA obsahuje dva druhy sekvencí. Sekvence kódující tvorbu bílkovin v translačním procesu se označují jako exony. Exony jsou od sebe oddělovány introny, což jsou sekvence, které se nepřekládají translací do bílkovin. Introny tvoří až 75 % lidské DNA. Často se opakující (repetitivní) introny bývají označovány jako mikrosatelitní DNA a méně se opakující introny jako minisatelitní. Introny mezi exony jsou různě dlouhé, a při tvorbě bílkovin jsou „vystříženy“, aby mohla vzniknout funkční bílkovina. Význam intronů není zcela pochopen.<sup>2</sup>

DNA tvořící vlákno se shlukuje spolu s bílkovinami (tj. histony a nehistonové bílkoviny) v chromatin, který vytváří nukleohistonový komplex označovaný jako chromosom.<sup>3</sup> Chromosomy jsou v jádře viditelné ve dvou částech buněčného cyklu, mitóze (buněčné dělení) a meióze (vznik zárodečných buněk – gamet). Během těchto fází se chromatin shlukuje do chromosomů, pro lepší rozdělení genových sad do vznikající dceřiné buňky nebo gamety.<sup>4</sup>



Chromosom v somatické buňce tvoří dvě identické (sesterské) chromatidy. Dvě chromatidy jsou označovány jako diploidní sada. Haploidní sada chromatid se vyskytuje v zárodečných buňkách (spermie, oocyty), aby po jejich splnutí a dokončení druhého meiotického dělení („promíchání“ paternální a maternální DNA), vznikl jedinec s diploidní sadou.<sup>5</sup> Chromatidy jsou spojeny v místě označovaném jako centromera. Centromera během mitózy již duplikována je, a proto lze chromatidy při anafázi (část mitotického dělení) oddělit a odtáhnout od středu jádra. Zakončení ramének je označováno jako telomera. Telomery každého chromosomu jsou stejné – obsahují tzv. telomerickou DNA. V této části se opakují stejné sekvence až stovek bazických párů.<sup>6</sup> V tomto bodu se zdroje rozcházejí, neboť v Pritchardových Základech lékařské genetiky je uváděna sekvence 5'-

<sup>2</sup> Základy lékařské genetiky, Pritchard D. J., 2007, 1.vyd., str. 20

<sup>3</sup> Molekulární biologie v medicíně, Kočárek E., 2007, 1.vyd., str. 39-40

<sup>4</sup> Základy lékařské genetiky, Pritchard D. J., 2007, 1.vyd., str. 17

Obr. 2 – Chromosom -<http://bioweb.genezis.eu/?cat=2&file=jadro> (25. 2. 2013)

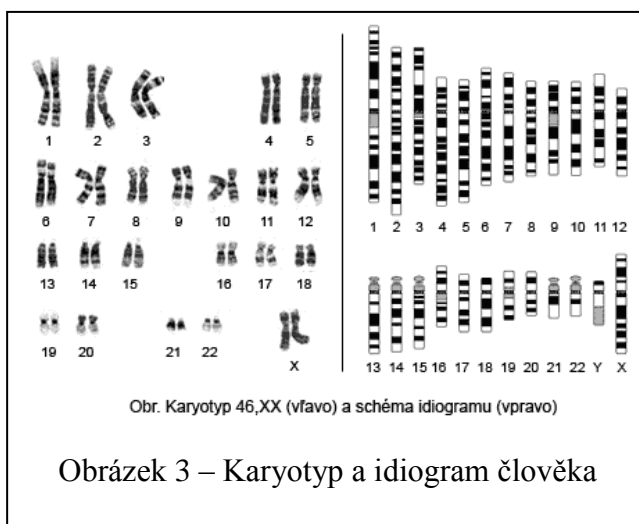
<sup>5</sup> Molekulární biologie v medicíně, Kočárek E., 2007, 1.vyd., str. 39-40

<sup>6</sup> Základy lékařské genetiky, Pritchard D. J., 2007, 1.vyd., str. 18-20 a 36

GGTTA-3', zatímco v ostatních zdrojích například v Otové nebo v člancích od Tarsounasové je sekvence od 5' konce ke 3' konci TTAGGG.<sup>7,8,9</sup>

Jak bylo řečeno výše, zakončením chromosomů jsou sekvence telomerické DNA. Na povrchu telomer se nachází molekula označovaná jako RAD51D, která vytváří „čepičku“ chránící telomery před poškozením. Telomery bývají označovány jako tzv. biologické hodiny, neboť při každém buněčném dělení se délka každé telomery zkrátí. Pokud se telomera „spotřebuje“ úplně nebo pokud je už příliš krátká, buňka začne stárnout a nakonec odumře. Výjimkou jsou rakovinné buňky, které se označují jako „nesmrtelné“. V tom jim napomáhá enzym telomeráza tím, že zpochďuje zkracování telomer. V takovém případě jde o abnormálně účinnou mutovanou telomerázu.<sup>10,11</sup>

Chromosom je centromerou rozdělen na raménka dlouhá (q-raménka) a krátká (p-raménka). Podle místa výskytu centromery na chromosomu rozděluje chromosomy



Obrázek 3 – Karyotyp a idiogram člověka

na několik druhů. Chromosomy se stejně dlouhými raménky spojenými centromerou uprostřed, označujeme jako metacentrické / mediocentrické. Pokud centromera rozděluje raménka nestejně, jedná se o submetacentrický / submediocentrický typ chromosomu. Akrocentrický typ chromosomů má satelitní p-raménka. Telocentrický typ, kterému p-raménka

zcela chybí, se u člověka nevyskytuje.<sup>12,13</sup> Chromosomy jsou podle podobnosti chromatid označovány jako homologní (stejně). Nehomologní (nestejně) chromosomy jsou pohlavní chromosomy mužů X a Y, protože je chromosom Y akrocentrický a X chromosom

<sup>7</sup> Lékařská biologie a genetika, díl I., Otová B., 2008, 1.vyd., str. 92

<sup>8</sup> Telomere Maintenance Requires the RAD51D Recombination / Repair Protein, Tarsounas M. 2004

<sup>9</sup> Medical genetics at a glance, Pritchard D. J., 2006, 3.vyd., str

<sup>10</sup> Telomere Maintenance Requires the RAD51D Recombination / Repair Protein, Tarsounas M. 2004

Obrázek 3 - <http://bioweb.genezis.eu/?cat=7&file=pojmy> (24. 3. 2013)

<sup>11</sup> Základy lékařské genetiky, Pritchard D. J., 2007, 1.vyd., str. 24

<sup>12</sup> <http://bioweb.genezis.eu/?cat=7&file=aberacie> (3. 4. 2013)

<sup>13</sup> BIOS instant notes; GENETICS, Fletcher H., 2013, str. 75

submetacentrický (viz. Obrázek idiogramu).<sup>14</sup> Chromosomy jsou číslovány podle velikosti od 1 do 22 a rozděleny do skupin podle své makrostavby (velikosti chromosomu a umístění centromery) na A až G.<sup>15</sup>

Základem pro pochopení genetiky jsou Mendelovy zákony dědičnosti o jednotce dědičnosti, dominanci, segregaci a volné kombinovatelnosti alel. Mendelovy zákony platí bez výjimky pro všechny diploidní organismy.

- Zákon o jednotce dědičnosti:  
*„Dědičné vlastnosti jsou determinovány nedělitelnými jednotkami informace (genu). Alela je jednou z forem genu.“*
- Zákon dominance:  
*„Alely se vyskytují u každého jedince v páru, ale účinek jedné alely může být překryt dominantní párovou alelou.“*
- Zákon segregace:  
*„Během tvorby gamet se každý pár alel rozejde (oddělí), takže libovolná gameta nese pouze jednu alelu z každého páru. Páry alel se obnovují při fertilizaci.“*
- Zákon volné kombinovatelnosti:  
*„Různé geny řídí rozdílné fenotypové znaky a alely různých genů se kombinují navzájem nezávisle.“*

Mendelovy zákony se nevztahují na vlivy vázané na pohlaví, mitochondriální dědičnost (maternální DNA v mitochondriích), genetickou vazbu (vazba alel těsně u sebe na chromosomu se společným přenosem na potomstvo), polygenní stavy (dědičné nemoci bez charakteristického modelu dědičnosti), neúplnou penetraci (dominantnost alely se nemusí projevit), genomový imprinting (působení maternální nebo paternální části chromosomu u některých genů) a dynamické mutace.<sup>16</sup>

Způsob, jakým se vlastnosti předávají na potomky, rozdělujeme na tzv. monogenní a polygenní dědičnost. Polygenní dědičnost je dána vlivem více genů najednou, zatímco monogenní dědičnost se váže na jeden gen. Dále dědičnost ovlivňuje druh chromosomu, na

<sup>14</sup>Základy buněčné biologie: úvod do molekulární biologie buňky, Alberts, 2005, 2.vyd., str. 247

<sup>15</sup><http://homepages.uel.ac.uk/V.K.Sieber/human.htm> (3. 4. 2013)

<sup>16</sup>Základy lékařské genetiky, Pritchard D. J., 2007, 1.vyd., str. 59

kterém se gen pro určitý znak vyskytuje. Tato dědičnost se označuje jako autosomální a gonosomální. Autosomální dědičnost je vázaná na autosomy (nepohlavní chromosomy) a gonosomální dědičnost vázaná na pohlavní chromosomy. Významným zástupcem nemoci s gonosomální dědičností je např. hemofilie, porucha krevní srážlivosti vztažená na X chromosom. Spolu s autosomální a gonosomální dědičností hraje důležitou roli i vzájemný vztah obou alel. Pokud jsou obě alely dominantní a každá z alel vytváří jinou vlastnost daného znaku, projeví se u jedince oba znaky (např. krevní skupina AB). Pokud je však alela recesivní, dominantní alela převažuje a projevuje se pouze znak dominantní alely. V případě přítomnosti obou recesivních alel se projeví znak, který dominantní alela překrývala.<sup>17</sup>

## 1.2 Vznik genetických mutací

Mutací se označují veškeré náhodné změny v DNA. Hlavním důvodem mutací v DNA může být náhodná „spontánní“ mutace, nebo může být způsobena působením mutagenu, tzv. „indukovaná“ mutace. Spontánní mutace nejsou ovlivněny vnějšími vlivy a bývají způsobeny chybným zařazením nukleotidu při replikaci (zmnožování) DNA, např. při meióze. Indukované mutace jsou vyvolány vnějším působením mutagenu, přímým či nepřímým. Přímé působení mutagenu vyvolá poškození DNA a nepřímé působení zvýší pravděpodobnost vzniku mutace. Charakter mutagenů lze rozdělit do tří skupin: fyzikálních, chemických a biologických. Fyzikální mutageny, jako UV záření, ionizující záření atd., způsobují rozrušení vazeb DNA nebo chemickou přeměnu nukleotidů. Chemické mutageny mohou chemicky přeměnit složky DNA. Biologické mutageny jsou hlavně viry, které mohou svou virovou DNA zařadit do DNA hostitele a mohou tak přerušit některý z genů. Mutace mohou poškodit genetickou výbavu v různém rozsahu. Může jít o tzv. genové mutace ovlivňující jeden gen, bodové mutace, které změňují jeden nukleotidový pár, ale může jít i o mutace, které mohou způsobit změnu struktury nebo změnu počtu chromosomu, což označujeme jako mutaci chromosomovou.<sup>18</sup>

---

<sup>17</sup> <http://www.vrozene-vady.cz/genetika/index.php?co=dedicnost> (7. 4. 2013)

<sup>18</sup> Molekulární biologie v medicíně, Kočárek E., 2007, 1. Vydání, str. 115-116

### 1.2.1 Druhy genetických mutací

Mutace na chromosomální úrovni rozdělujeme na chromosomové aberace, numerické odchylky a strukturní odchylky. Numerické odchylky lze rozlišit na polyploidie a aneuploidie. Polyploidie můžeme charakterizovat jako znásobení haploidního počtu více jak dvakrát, takže místo vzniku diploidní sady chromosomů vzniká triploidní i tetraploidní sada. Polyploidie chromosomů embrya není slučitelná se životem a zpravidla dochází k samovolným potratům. Aneuploidie je zmnožení nebo chybění jednoho chromosomu. Nejčastější aneuploidii je trisomie, tj. přítomnost nadbytečného chromosomu v páru. Trisomie vznikají na mnoha různých genech, např. trisomie chromosomu 21 je známá jako Downův syndrom, trisomie 18 jako Edwardsův syndrom apod. Méně častou aneuploidii je monosomie, kdy v chromosomovém páru jeden chromosom chybí. Známým příkladem monosomie je Turnerův syndrom, kdy dívkám chybí jeden chromosom X.

Strukturní odchylky vznikají záměnou sekvencí mezi stejnými nebo různými chromosomy, případně chybou při reparaci chromosomálních zlomů. Strukturní aberace zahrnují translokace, delecce, kruhové chromosomy, duplikace, inverze, izochromosomy a centrické fragmenty.

Translokací chápeme výměny chromosomového obsahu mezi chromosomy, které podle příčiny rozlišujeme na centrické fúze, reciproké translokace a inzerční translokace. Centrická translokace vzniká fúzí dvou chromosomů, které obsahují v okolí centromer zlomy. Centrická translokace se vyskytuje u akrocentrických chromosomů 13, 14, 15, 21 a 22 obsahujících informace pro syntézu rRNA (ribosomální RNA), které jsou obsaženy v mnoha kopiích na ostatních chromosomech. Reciproká translokace na rozdíl od centrické probíhá jen v rámci jednoho chromosomu a také se označují jako tzv. interchromosomové. Inzerční translokace je nejvzácnější a dochází při ní k přesunutí intersticiálního (vmezeřeného) segmentu na jiné místo bez jeho náhrady za jiný segment. Translokace nemá důsledky pro jedince, u kterého vzniknou, mohou však ohrozit potomstvo vytvořením nestálé chromosomální sestavy.

Delecí rozumíme úplnou ztrátu části chromosomu s geny. Proces delecce vzniká chybnou reparací dvou zlomů, nerovnoměrným crossing – overem (kombinace částí chromosomů např. při vzniku gamet) při předešlé meióze nebo jako následek translokace u rodiče. I zde se může jednat o terminální (okrajovou) nebo intersticiální (vmezeřenou) sekvenci.



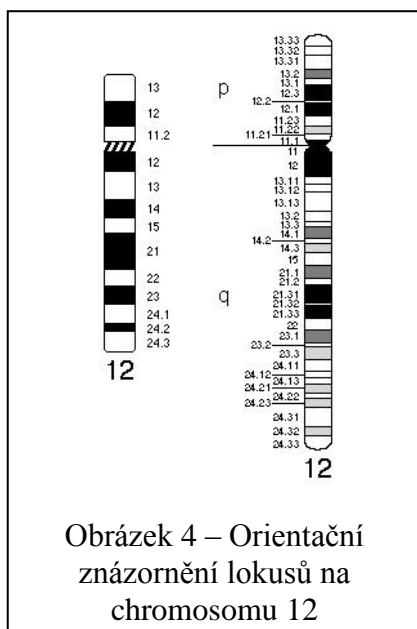
Kruhové chromosomy označované také jako „ring“ – prstencové, vznikají při delecí dvou míst na stejném chromosomu s následným propojením. Pokud kruh obsahuje centromeru, může být zachován do dalších buněčných dělení.

Duplikace v chromosomu vytváří dvě kopie určitého segmentu chromosomu, které na sebe navazují.

K inverzi (převrácení), dochází v případě, že se na chromosomu objeví dva zlomy a vzniklý segment se zpět připojí obráceně. Podle přítomnosti centromery v inverzním segmentu rozlišujeme pericentrickou (obsahuje centromeru) a paracentrickou (bez centromery) inverzi. Stejně jako u translokací může inverze způsobit vznik nebalancovaných gamet.

Poslední z výčtu strukturních odchylek je izochromosom. U chromosomů s touto vadou chybí jedno raménko, a zároveň druhé raménko je duplikované. Izochromosomy embryí jsou častou příčinou spontánních potratů. Při výskytu izochromosomu na chromosomu X vzniká stejně jako při monosomii Turnerův syndrom.<sup>19, 20</sup>

### 1.3 Genetická mutace u fenylketonurie



Vláknem DNA obsahuje velké množství genů a každý gen lze přiřadit ke konkrétnímu úseku DNA. Tento úsek se označuje jako lokus.<sup>21</sup> Chromosom 12 je velmi bohatý na lokusy spojené s různými onemocněními, kde se vyskytuje ze 487 lokusů 5,2 % známých genů nemocí. Gen, který nese informaci o enzymu fenylalaninhydroxyláze (PAH), je umístěn na q-raménku 12. chromosomu (12q22-q24).

Chromosom obsahuje 13 exonů, je kolem 90 kb (kilobáze) dlouhý a kóduje cca 2400 bází. Mutace může

<sup>19</sup> Základy lékařské genetiky, Pritchard D. J., 2007, 1.vyd., str. 51-56

<sup>20</sup> Klinická genetiky, Thomson J. S., 2004, 1. Vyd.,

<sup>21</sup> Molekulární biologie v medicíně, Kočárek E., 2007, 1.vyd., str. 39-40

Obrázek 4 - <http://www.biologia.uniba.it/rmc/2-YAC-BAC/BAC-Chromosome/ideograms/12.html> (4.3.2013)

být lokalizována na všech 13 exonech, ale i v sousedních sekvencích.<sup>22</sup> Exony PAH genu zahrnují 2,88 % genomové sekvence. Nejkratším exonem je exon 9, který obsahuje 57 bazických párů (dále jen bp). Nejdelší je exon 13 s obsahem 892 bp. Nejkratším intronem je intron 10 s 556 bp a nejdelší je intron 2 s 17874 bp.<sup>23</sup>

Osoby s deficitem PAH jsou většinou heterozygoty a mají dvě různé mutace. Forma hyperfenylalaninémie (HPA), kterou lze zmapovat na lokusu PAH, je klasická PKU a mírná PKU. Rozdíl mezi klasickou a mírnou PKU souvisí s různými alelami PAH. Další forma HPA, kterou na PAH lokusu zmapovat nelze, zahrnuje mutaci v genech kódujících enzymy na syntézu a recyklaci tetrahydrobiopterinu (BH<sub>4</sub>). Mutace v genech kódujících syntézu BH<sub>4</sub> tvoří zhruba 2 % pacientů s HPA (rozdíl klasické, mírné a PKU s deficitem BH<sub>4</sub> viz níže).<sup>24, 25</sup>

---

<sup>22</sup> Dětská neurologie, J. H. Menkes a kol., 2011, 7. vydání, str. 49

<sup>23</sup>The PAH Gene, Phenylketonuria, and a Paradigm Shift, C. R. Scriver, 2007

<sup>24</sup> Diagnostika a léčba dědičných metabolických poruch, J. Fernandes a kol., 2008, 4. Vydání, str. 259

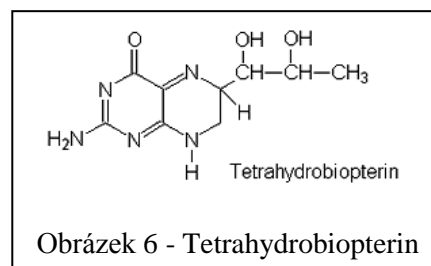
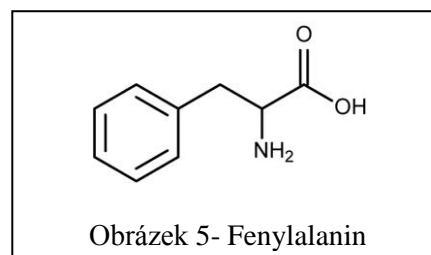
<sup>25</sup>The PAH Gene, Phenylketonuria, and a Paradigm Shift, C. R. Scriver, 2007

## 2. FYZIOLOGIE METABOLISMU FENYLALANINU ZDRAVÉHO JEDINCE

Pro vysvětlení dějů, které probíhají během nemoci je nutno nejdříve nastínit procesy, které probíhají v naprosto zdravém organismu. Hlavní roli v metabolismu aminokyselin hraje příjem bílkovin z potravy. Příjmem potravy se do organismu dostávají bílkoviny, které je nutné rozštěpit na aminokyseliny, ze kterých jsou bílkoviny složeny. Aminokyseliny jsou velmi důležitou složkou potřebnou pro metabolické děje v organismu. Většinu aminokyselin si organismus dokáže vytvořit sám, ale existují i ty, které získáme pouze z potravy. Tyto aminokyseliny označujeme jako esenciální. Do skupiny esenciálních aminokyselin patří právě fenylalanin, jehož metabolická dráha bude objasněna.

### 2.1 Fenylalanin a jeho metabolismus

Jak bylo napsáno výše, fenylalanin je esenciální aminokyselinou, kterou lidský organismus získává pouze z potravy. Fenylalanin (Phe) se pomocí enzymu fenylalaninhydroxylázy přeměňuje hydroxylací, což je proces navázání hydroxylové skupiny na aromatické jádro fenylalaninu, na aminokyselinu tyrozin (Tyr), který se v následných krocích odbourává na dopamin, melanin a katecholaminy. Zásadním krokem celého procesu je hydroxylace fenylalaninu, která je katalyzována enzymem fenylalaninhydroxylázou



(PAH).<sup>26</sup> Enzym je v játrech a ledvinách exprimován 452 aminokyselinami nejprve jako monomer, který přechází na funkční dimer a trimer.<sup>27</sup> Sama PAH potřebuje ke své správné enzymatické funkci tetrahydrobiopterin (BH<sub>4</sub>), který je jejím kofaktorem. Tetrahydrobiopterin (BH<sub>4</sub>) vzniká enzymaticky z guanosin trifosfátu (GTP).<sup>28</sup>

<sup>26</sup> Diagnostika a léčba metabolických poruch, J. Fernandes a kol., 2008, 4. Vydání, str. 258

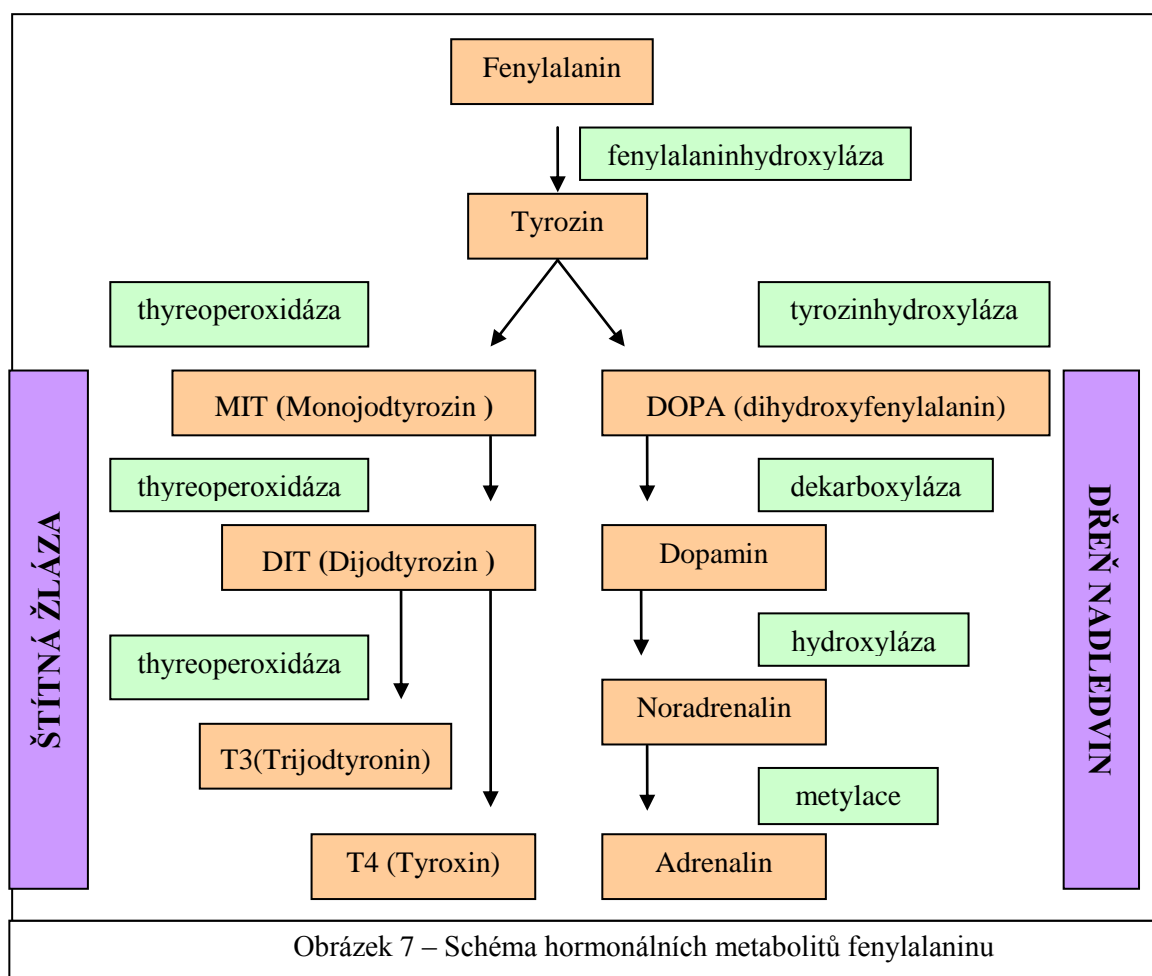
<sup>27</sup>The PAH Gene, Phenylketonuria, and a Paradigm Shift, C. R. Scriver, 2007

<sup>28</sup>Essential Physiological Biochemistry, S. Reed, 2009, str. 175

Obrázek 5 – Fenylalanin; <http://chemistry.about.com/od/imagesclipartstructures/ig/Amino-Acid-Structures/Phenylalanine.htm> (22. 4. 2012)

## 2.2 Význam fenylalaninu a jeho metabolitů pro organismus

Jak bylo uvedeno výše, fenylalanin patří do skupiny esenciálních aminokyselin. Produkty vzniklé metabolickou přeměnou označujeme jako metabolity a v případě fenylalaninu jde o tyrozin. Metabolity tyrozinu jsou velice důležité látky pro organismus. Jedná se především o hormony štítné žlázy, dřeně nadledvin a pigment melanin. Přestože se fyziologicky metabolity netýkají fenylalaninu přímo, je pro ně jeho syntéza na tyrozin podstatná.<sup>29</sup>



Katecholaminy jsou látky vznikající ve dřeni nadledvin a v centrálním i periferním nervovém systému. Jsou označovány podle své struktury a obsahu aminoskupiny jako

Obrázek 6 – tetrahydrobiopterin

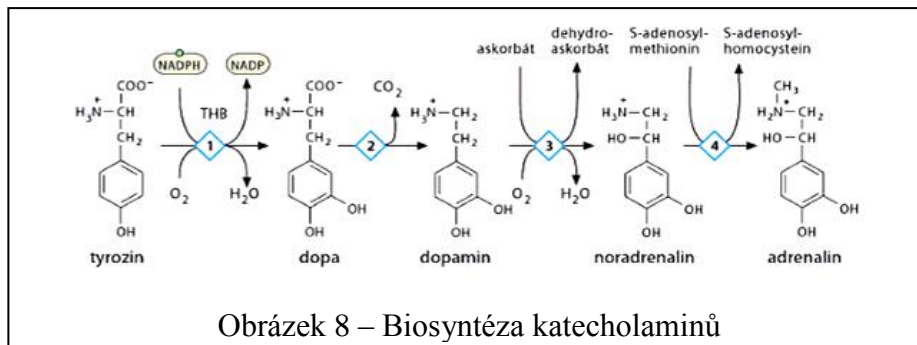
[http://www.uic.edu/classes/phar/phar332/Clinical\\_Cases/aa%20metab%20cases/PKU%20Cases/PKU%20biochem%20intro.htm](http://www.uic.edu/classes/phar/phar332/Clinical_Cases/aa%20metab%20cases/PKU%20Cases/PKU%20biochem%20intro.htm) (17. 4. 2012)

Obrázek 8 – Schéma hormonálních metabolitů fenylalaninu, Kateřina Pirklová, 2012

<sup>29</sup>Amino acid metabolism, Bender D. A., 2012, 3.vyd., Str. 324

Obrázek 9 – Biosyntéza katecholaminů, Barevný atlas biochemie, Koolman J., 2012, str. 435

biogenní aminy. Je zajímavé, že v prvním kroku syntézy z tyrozinu na produkt dihydroxyfenylalanin (DOPA), je nutná přítomnost kofaktoru  $\text{BH}_4$ , který je využíván i pro syntézu tyrozinu z fenylalaninu (viz kap. 2.1). Vznik dopaminu je podmíněn přítomností



Obrázek 8 – Biosyntéza katecholaminů

kofaktoru pyridoxalfosfátu. Dopamin je významným neurotransmiterem v CNS, ale vyskytuje se i v perifériích, kde je však jeho úloha zatím nejasná. Ve dřeni nadledvin je dopamin zabudován v sekrečních váčcích, kde je hydroxylován na noradrenalin. Po uvolnění noradrenalinu z váčků je noradrenalin methylován na adrenalin. Noradrenalin je tvořen i mimo dřen nadledvin, a to v postgangliových nervových vláknech.

Funkcí katecholaminů je přenos nervových vzruchů na synapsích nervů. Adrenalin a noradrenalin zároveň fungují jako hormony zvyšující kardiovaskulární činnost, aktivují sympatikus, uvádějí metabolickou činnost do pohotovosti (zvýšení glykémie, aktivace lipolýzy a další), stimulace uvolnění glukagonu a potlačení inzulinu. Sekreci katecholaminů vyvolávají stresové situace a vedou organismus k navození tzv. poplachové reakce.<sup>30</sup>

Další skupinou hormonů syntetizovaných z tyrozinu, jsou hormony štítné žlázy. Tyto hormony jsou jodovanými aminokyselinami, jejichž syntéza je pro organismus metabolicky náročná. Působením řady procesů dochází ještě před samotnou jodací (navázání jodu na molekulu) tyrozinu k vychytávání jodu, k jeho neutralizaci a po jodaci k následnému uvolňování podle plazmatických hladin obou hormonů štítné žlázy (T3 – trijodtyronin a T4 – thyroxin / tetrajodtyronin). Účinky hormonů štítné žlázy jsou různorodé. Podle současných studií a představ o působení T3 a T4 v organismu, je účinným hormonem štítné žlázy pouze trijodtyronin. Trijodtyronin je označován jako tzv.

<sup>30</sup> Lékařská fyziologie, Kittnar O., Grada, 1. Vyd., 2011, str. 536-537

Obrázek 8 - Lékařská fyziologie, Kittnar O., Grada, 1. Vyd., 2011, str 536

nukleární hormon (z latinského *nucleus* – jádro), protože se váže na receptory jádra uvnitř buněk a ovlivňuje tak metabolické děje v buňce. Thyroxin má významnou funkci pouze v nitroděložním vývoji, neboť vyvíjející se mozek plodu dokáže zpracovat pouze T4 (T4 následně dejoduje na T3).<sup>31</sup> Hlavními účinky hormonů štítné žlázy je ovlivnění bazálního metabolismu, zvýšení plicní ventilace, podpora produkce erythropoetinu (krvetvorba), podpora kardiovaskulárního systému a také působí na růst kostí a vývoj mozku plodu v průběhu prenatálního vývoje jedince.<sup>32</sup>

Kromě hormonálních metabolitů štítné žlázy a nadledvin (viz obrázek 7), se navíc z tyrozinu tvoří melanin. Melanin je hnědočerný pigment, který se např. vyskytuje ve vlasech a očích. Biochemicky se jedná o dusíkaté barvivo vznikající oxidací a polymerací aromatických aminokyselin.<sup>33, 34</sup> Melanin vzniká v melanocytech, v epitelu sítnice oka, vnitřního ucha, buňkách centrálního nervového systému (*Substantia nigra* a *locus coeruleus*) a dokonce u obézních lidí ve viscerálních tukových buňkách. V nervovém systému se množství melaninu zvyšuje s věkem a pravděpodobně má i vliv na patogenezi u Parkinsonovy choroby.<sup>35</sup> Z melanocytů, kde je syntetizován, je melanin transportován do kožních keratinocytů. Melanin chrání pokožku před poškozením DNA a má silný antioxidační účinek. UV záření, které je silným karcinogenem, podporuje syntézu melaninu v melanocytech epidermis. Sluneční UV záření obsahuje složky UV-A a UV-B, které se liší rozsahem vlnové délky a způsobem působení na pokožku. Další složkou je UV-C, která má největší energii, ale neprochází atmosférou. UV-A způsobuje oxidativní poškození tkáně. Oxidační procesy vedou k pigmentaci tkáně během několika minut. Mechanismus této rychlé pigmentace dosud není znám. UV-B způsobuje poškození DNA vedoucí k transkripci enzymů syntetizujících melanin. Pigmentace touto cestou vzniká během několika dnů.<sup>36</sup>

---

<sup>31</sup> Endokrinologie – interdisciplinární obor, Blahoš J., Triton, 2006, str 26 - 29

<sup>32</sup> Lékařská fyziologie, Kittnar O., Grada, str. 515

<sup>33</sup> Biochemie, Odstrčil J., 2005, str. 131

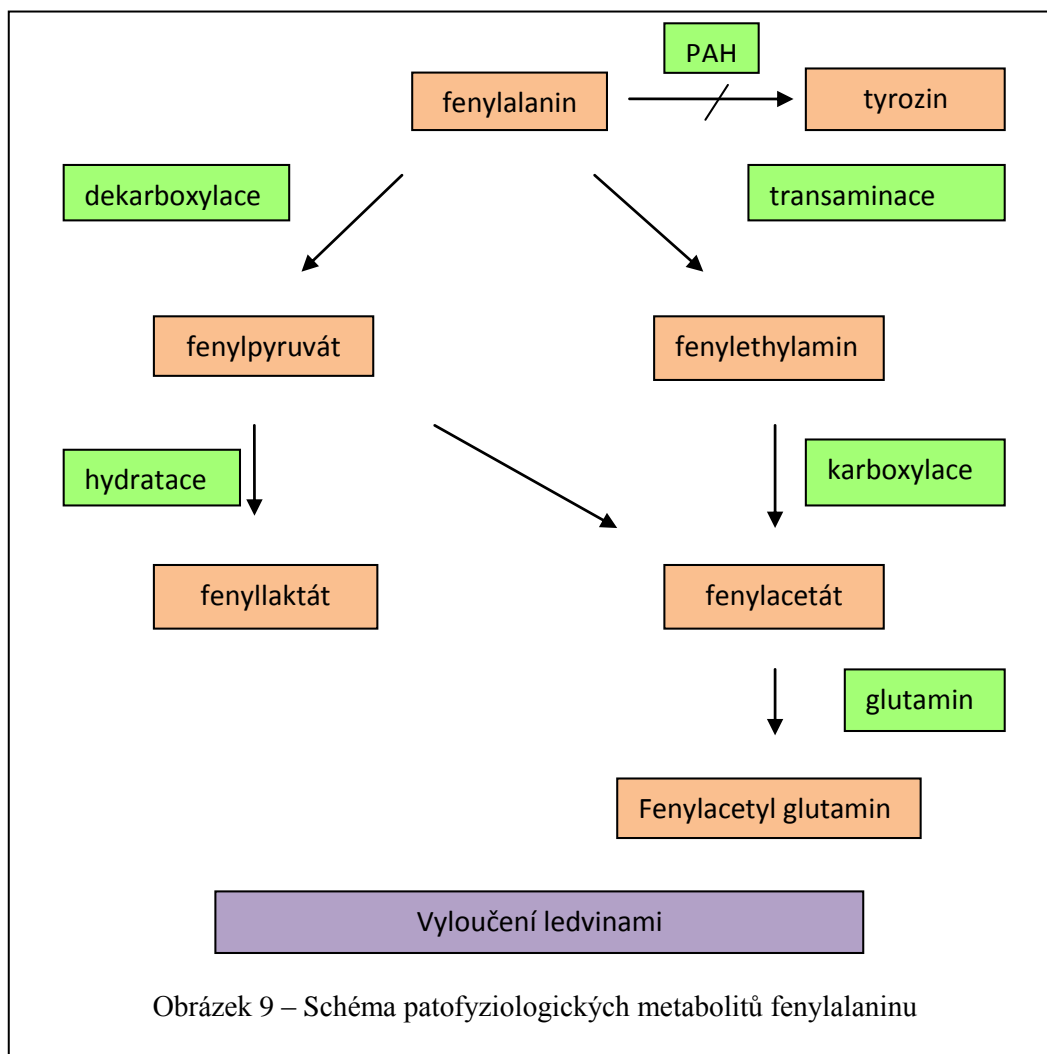
<sup>34</sup> <http://www.news-medical.net/health/Melanin-What-is-Melanin.aspx> (15. 4. 2013)

<sup>35</sup> Evidence for the ectopic synthesis of melanin in human adipose tissue, Randhawa M., 2009

<sup>36</sup> UVA Phototransduction Drives Early Melanin Synthesis in Human Melanocytes, Wicks N. L., Current Biology, 2011

### 3. PORUCHY METABOLISMU FENYLALANINU

K odbourání fenylalaninu je nezbytná přítomnost enzymu fenylalaninhydroxylázy (PAH), který ke své správné funkci potřebuje tetrahydrobiopterin.  $BH_4$  plní roli kofaktoru a funguje tak jako klíč ke spuštění enzymové aktivity. V případě, že je  $BH_4$  vadný, vzniká právě fenylketonurie. Další možností defektu je, že neprobíhá tvorba fenylalaninhydroxylázy (PAH) v játrech, nebo je PAH nefunkční. Tím, že neprobíhá hydroxylace fenylalaninu na tyrozin, se spustí druhá cesta odbourávání, která není ve zdravém organismu téměř nikdy metabolicky aktivní a místo potřebných metabolitů v organismu vzniká fenylpyruvát a další metabolity.<sup>37</sup>



<sup>37</sup>Essential Physiological Biochemistry, S. Reed, 2009, str. 175

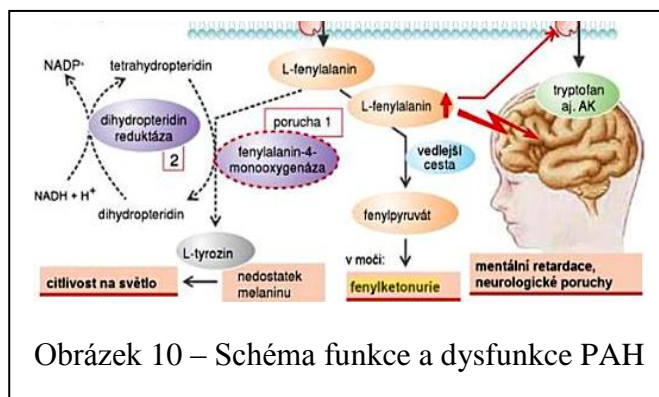
Systémové hromadění Phe v organismu vede k abnormalitám v organismu, o kterých bude pojednáno níže.<sup>38</sup>

Zásadní je vliv PKU na mozek. PKU zařazujeme mezi tzv. difuzní neurometabolické encefalopatie. Přímé poškození mozku je způsobeno třemi možnými příčinami. Jedná se o toxické vlivy nahromaděného metabolitu (v případě PKU fenylalaninu), deficit potřebných metabolitů pro vývoj mozku a poškození způsobené sekundárně – poruchou vnitřního prostředí. Projevy metabolických encefalopatií mohou být např. epileptické záchvaty, zvracení a v některých případech i poruchy vědomí. U pokročilé encefalopatie se setkáváme s poruchami motorických funkcí se sekundárními epileptickými záchvaty.<sup>39</sup>

Pro pochopení dalších charakteristik je potřeba vysvětlení pojmu „fenotyp“.

Definice fenotypu:

„Fenotyp je popis zevních charakteristik buňky, tkáně nebo organismu.“<sup>40</sup>



Obrázek 10 – Schéma funkce a dysfunkce PAH

Z definice vyplývá, že fenotyp je projev genotypu navenek. Zevnějšek fenylketonurika se nijak výrazně od zdravých lidí neliší. Charakteristickým rysem je však barva vlasů a očí. Vlivem nedostatečného množství tyrozinu (vzniklého z fenylalaninu) nevzniká dostatečné množství melaninu, což vede ke světlému typu člověka s PKU.<sup>41</sup> U jedinců s PKU je častým nálezem katarakta očí (šedý zákal).<sup>42</sup>

### 3.1 Rozdělení poruch metabolismu fenylalaninu

Poruchy metabolismu fenylalaninu mohou být způsobeny různými příčinami, podle kterých je PKU klasifikována do několika skupin. Základním rozdělením je diference

<sup>38</sup> Phenylalanineammonia – lyase modified with polyethyleneglycol: Potential therapeutic agent for phenylketonuria, K. Ikeda, a kol., 2005

<sup>39</sup> Klinická neurologie, Bednařík J., Triton, 2010, str. 751 – 753

<sup>40</sup> Kmenové buňky, biologie, medicína, filozofie, Filip S., Galen, 2006, příloha – slovník základních pojmů

<sup>41</sup> Atlas patofyziologie, Silbernagl S., Grada, 2012, str. 260

Obrázek 10 – Atlas patofyziologie, Silbernagl S., Grada, 2012, str. 261

<sup>42</sup> Oční lékařství, Kuchynka P., Grada, 2007, str. 47



podle příčin na primární (z genetických mutací – klasická PKU) a sekundární (např. při těžkém poškození jater). PKU (primární) je dále klasifikována podle defektu na defekt PAH bez BH<sub>4</sub> senzitivity a PKU s BH<sub>4</sub> senzitivitou. PKU, u které je BH<sub>4</sub> senzitivita prokázána, se dále liší podle defektní části – defekt v syntéze BH<sub>4</sub> nebo v regeneraci BH<sub>4</sub>.<sup>43</sup>

### 3.1.1 Nedostatek fenylalaninhydroxylázy

Jak bylo popsáno v předchozích kapitolách, fenylalaninhydroxyláza je enzym katalyzující přeměnu fenylalaninu na tyrozin.<sup>44</sup> PKU z nedostatku PAH je rozlišována podle procentuální funkčnosti PAH. Jako klasická PKU je charakterizována aktivita PAH pod 1 % normální aktivity, kdy je plazmatická hladina Phe vyšší než 1200 μmol/l. U mírné PKU je enzymatická aktivita PAH mezi 1 a 3 % s plazmatickou hladinou Phe mezi 600 a 1200 μmol/l. Poslední formou je mírná HPA, u které je aktivita PAH mezi 3 až 10 % s plazmatickou hladinou Phe mezi 120 až 600 μmol/l. Mírná HPA je také označovaná jako non-PKU.<sup>45, 46</sup>

### 3.1.2 Poruchy metabolismu biopterinu

Poruchy metabolismu biopterinu můžeme rozlišit podle toho, zda se jedná přímo o poruchu syntézy nebo o poruchu regenerace biopterinu. Tyto poruchy jsou cca u 2 % lidí trpících PKU. Defekt při syntéze BH<sub>4</sub> je dán dysfunkcí GTP-cyklohydrolázy nebo 6-pyruvoyl-tetrahydropterin syntetázy, což jsou enzymy, které na sebe navazují při syntéze BH<sub>4</sub>. U poruchy regenerace BH<sub>4</sub> je problém u enzymu dihydrobiopterin reduktázy, který BH<sub>2</sub> po reakci s PAH obnovuje zpět na BH<sub>4</sub>. Protože je BH<sub>4</sub> kofaktorem nejen pro PAH, ale i pro hydroxylázy tyrozinu a tryptofanu, dochází při jeho defektu k mnohem rozsáhlejším problémům. Kromě HPA v organismu dochází k nedostatku neurotransmiterů a akumulaci pterinů, což může vést až k dětské formě Parkinsonovy choroby.<sup>47</sup>

---

<sup>43</sup> Pediatrie, Muntau A. C., Grada, 1. Vyd., 2009, str 97-98

<sup>44</sup> Diagnostika a léčba metabolických poruch, J. Fernandes a kol., 2008, 4. Vydání, str. 258

<sup>45</sup> Pediatrie, Muntau A. C., Grada, 1. Vyd., 2009, str. 98

<sup>46</sup> Inborn Metabolic Diseases: Diagnosis and Treatment, Saudubray F., 2006, 4. Vyd., Str. 224

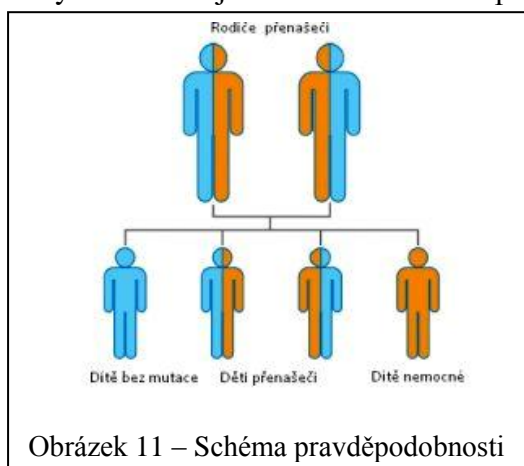
<sup>47</sup> Pediatrie, Muntau A. C., Grada, 1. Vyd., 2009, str 100

## 4. FENYLKETONURIE

Fenylketonurie je autosomálně recesivní onemocnění s deficitem PAH, tvorby a recyklace  $\text{BH}_4$  nebo poruchy pterinů, vedoucí k hyperfenylalaninémii. Poprvé byla popsána doktorem Asbjörnem Föllingem v roce 1934, který ji pojmenoval jako „*Imbecilitas phenylpyruvica*“.<sup>48</sup> Po prokázání mendelovské dědičnosti byla zařazena do katalogu Mendelovské dědičnosti u člověka (OMIM) pod označením MIM 261600.<sup>49, 50</sup>

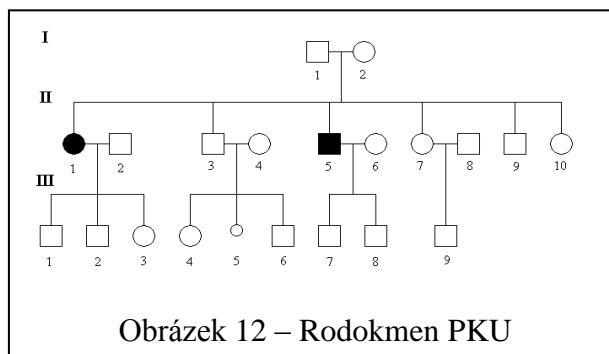
### 4.1 Charakteristika a genealogie PKU

Fenylketonurie je dědičná choroba postihující jedince, kteří po obou rodičích získali



recesivní alely s deficitem PAH. Rodiče jsou fenotypově zdraví a označují se v tomto případě jako heterozygoti, přenašeči. U rodičů se PKU neobjeví díky zdravé dominantní alele, která převažuje nad defektní recesivní alelou. Pravděpodobnost narození dítěte s PKU rodičům, kteří jsou přenašeči, je 25% pro každého potomka (viz obrázek 11).<sup>51</sup>

Základem pro genetické vysvětlení dědičných nemocí je ilustrace rodokmenu (viz genealogická schémata). Pro schémata byly navrženy symboly, které jednoduchým způsobem prezentují genotyp jedince v rámci rodiny (viz. Obrázek 12). Prostřednictvím rodokmenů lze pak snadno určit charakter dědičnosti. U autosomálně recesivních onemocnění se nemoc objevuje zpravidla ob jednu generaci.<sup>52</sup>



<sup>48</sup> Diagnostika a léčba dědičných metabolických poruch, J. Fernandes a kol., 2008, 4. Vydání, str. 259

<sup>49</sup>The PAH Gene, Phenylketonuria, and a Paradigm Shift, Scriver C. R., 2007

<sup>50</sup><http://omim.org/entry/261600?search=MIM%20261600&highlight=261600%20mim> (28. 5. 2013)

<sup>51</sup><http://www.vrozene-vady.cz/genetika/index.php?co=dedicnost> (7. 4. 2013)

Obrázek 11 - <http://www.gennet.cz/pravdepodobnosti.html> (4. 4. 2013)

Obrázek 12 - <http://www.wikiskripta.eu/index.php/Soubor:AR.png> (10. 5. 2013)

## 4.2 Zdravotní důsledky

Normální hladina fenylalaninu v plazmě zdravého člověka je nižší než 120  $\mu\text{mol/l}$ .<sup>53</sup> Úroveň hladiny fenylalaninu u neléčené PKU může vystoupat na více než 1200  $\mu\text{mol/l}$ . U mírné PKU hladina kolísá mezi 200 až 450  $\mu\text{mol/l}$ .<sup>54</sup> Hladina fenylalaninu od 360 do 600  $\mu\text{mol/l}$  může u dítěte vést k závažnému progresivnímu poškození rozvíjejícího se mozku. Od prvního do desátého roku dítěte je doporučovaná hladina fenylalaninu pod 360  $\mu\text{mol/l}$ . V období gravidity musí být hladina fenylalaninu udržována pod 360  $\mu\text{mol/l}$ , aby se zabránilo poškození plodu maternální PKU.<sup>55</sup>

Podle mutací v genu pro PAH lze rozlišit mírnou hyperfenylalaninémii (MHP nebo také non PKU), mírnou PKU a těžkou PKU. PKU s  $\text{BH}_4$  senzitivitou, která lze léčit dodáváním organismu kofaktor  $\text{BH}_4$ , obsahuje mutaci pouze v jedné alele pro syntézu  $\text{BH}_4$ . Těžká PKU, u které léčba  $\text{BH}_4$  nefunguje, je způsobena mutací na obou alelách.<sup>56</sup>

Vysoká hladina fenylalaninu u dětí vede k patologické změně mozku postihující šedou i bílou hmotu. Změny se rozlišují na ovlivnění mozkového vyhrávaní, poruchy myelinizace (izolace neuronů a přenos vzruchů) a snížení pigmentace mozku (*Substantia nigra, locus coeruleus*). Tyto patologické změny u neléčených dětí způsobují těžkou mentální retardaci a IQ těchto dětí bývá nižší než 50. Retardace postihuje hlavně řeč a nácvik hygieny. U neléčených dětí se také mohou objevit záchvaty v podobě spasmů (křeč s nadměrným stahem svalů), které mohou přejít do záchvatů tonicko-klonických křečí (napnutí svalů se záškuby, tonická extenze) podobným epileptickému záchvatu.<sup>57</sup> Přestože je pozdní diagnostikování PKU spojeno s nevratným neurologickým poškozením, je po nasazení diety možné lehké zlepšení psychických testů.<sup>58</sup> Také je popisován inhibiční vliv nadbytečného fenylalaninu na tvorbu melaninu, pigmentu tvořeného z metabolitů tyrozinu,

<sup>52</sup> <http://genetika.wz.cz/genealogie.htm> (11. 5. 2013)

Obrázek 13 - <http://genetika.wz.cz/genealogie.htm> (11. 5. 2013)

<sup>53</sup> Metabolická příručka 2012, S. Šťastná a kol., 2010, str 45

<sup>54</sup> Poruchy metabolismu a výživy, Š. Svačina, 2010, str. 85

<sup>55</sup> Dědičné metabolické poruchy, G. F. Hoffmann a kol., 2006, 1. vydání, str. 125-126

<sup>56</sup> Predicting a clinical / biochemical phenotype for PKU / MHP patients with PAH gene mutation, Kasnauskienė J., oct. 2008, Russian journal of genetics, vol. 44

<sup>57</sup> Dětská neurologie, J. H. Menkes a kol., 2011, 7. Vydání, str. 50-51

<sup>58</sup> Late - Treated Phenylketonuria and Partial Reversibility of Intellectual Impairment, Grosse S. D., Jan/Feb 2010, Child Development, volume 81

což způsobuje charakteristický fenotypový vzhled jedince s PKU. U lidí s PKU se také objevuje patofyziologický ekzém, pro který ale zatím není jasná příčina.<sup>59</sup>

#### 4.2.1 Maternální PKU

Ženy s PKU mají vysokou náchylnost ke spontánním potratům.<sup>14</sup> Dospělé ženy s PKU by před otěhotněním měly přejít na přísnou PKU dietu a měla by se jim pravidelně kontrolovat plazmatická hladina fenylalaninu. Děti žen s PKU jsou zpravidla heterozygoti a nejsou tedy PKU přímo ohroženy. Velkým nebezpečím pro plod je však vysoká hladina fenylalaninu v krvi matky. Aktivní přenos látek přes placentu, tzv. transplacentární transport, zásobuje plod potřebnými látkami ve zvýšeném množství. U fenylalaninu jde o 1,5 násobek plazmatické hladiny Phe matky. U mírné PKU, kdy je hladina fenylalaninu v plazmě kolem 400  $\mu\text{mol/l}$  není vyžadovaná léčba. Toto množství fenylalaninu v mateřské plazmě je však pro plod toxické a může vést k mentální retardaci, mikrocefalii, faciální dysmorfii a vrozeným srdečním vadám.<sup>60</sup>

#### 4.2.2 Psychologické dopady

Děti s PKU, u kterých se začalo s léčbou včas, mají přesto nižší intelekt než jejich vrstevníci. Při vzrůstu plazmatické hladiny fenylalaninu o každých 100  $\mu\text{mol/l}$  klesá inteligenční kvocient (IQ) o 1,8 až 3,8 bodu.<sup>61</sup> Přestože je poškození vývoje mozku v přímé souvislosti s plazmatickou hladinou fenylalaninu, byl ve výzkumech zjištěn psychologicky významný rozdíl v IQ mezi dětmi se stejnými hodnotami fenylalaninu v krvi. Nové důkazy vedou k závěrům, že intenzita poškození individuálně závisí na vývinu hematoencefalické bariéry.<sup>62</sup> Vývoj intelektu se zastavuje v období 10. roku věku. Ve studiích byly zjištěny i poruchy výkonových funkcí. Výkonové funkce zajišťují krátkodobou paměť, zaměření na určitý cíl, udržení pozornosti, sociální interakce atd. Porucha těchto funkcí významně přispívá k nepřizpůsobivosti dětí s PKU se o sebe starat, vyhýbat se potravinám, které nesmí, nezapomínat na bílkovinné náhražky (zpravidla v podobě nápojů) a další činnosti. Tyto faktory korelují se špatným začleněním do

---

<sup>59</sup> Obecná patologická fyziologie, Nečas E., a kol., 2005, str. 323

<sup>60</sup> Dědičné metabolické poruchy, G. F. Hoffmann a kol., 2006, 1. Vydání, str. 307

<sup>61</sup> Psychosocial aspects of PKU: Hidden disabilities – A review, Gentile J. K., 2009, Molecular genetics and metabolism

<sup>62</sup> Late – Treated Phenylketonuria and Intellectual Disability, Grose S. D., 2010, Child development

společnosti, znesnadněním vytvořením komunikačních schopností a tvorby vztahů. U 33 % dospívajících s PKU se vyskytuje více problémů ve škole než u jejich zdravých spolužáků, hlavně co se týče pozornosti, hláskování a matematiky.<sup>63</sup>

Pro identifikaci rozsahu poškození mozku slouží neuropsychologické vyšetření včetně např. vyšetření mozku pomocí zobrazovacích metod apod. Vyšetření zahrnuje popis chování, určení intelektuální výkonnosti a také stanovení možností zlepšení stavu vyšetřovaného. Tento diagnostický postup zohledňuje také věk, osobnostní faktory, momentální životní situaci a motivaci pacienta k vyšetření.<sup>64</sup>

Mnoho studií se dnes zabývá kvalitou života dětí s PKU. Ve studiích dětí s PKU ze Švýcarska bylo zjištěno, že v období s vyšší plazmatickou hladinou fenylalaninu mají děti více problémů v oblasti poznávacích procesů a zvládním vlastních emocí než u dětí s nižší hladinou fenylalaninu. V tomto období je zaznamenán i pokles sebevědomí a dobrých psychických stavů a prožitků radosti.

Podle studií lidé s PKU mívají často potíže s uplatněním v zaměstnání vzhledem ke svým problémům se studiem. Neuropsychologické testy dospělých s PKU prokázaly sníženou rychlost zpracování informací a problémy v oblasti pozornosti. Lidé s PKU mají větší sklon k depresím, úzkostným stavům a asociálnímu chování.<sup>65</sup>

---

<sup>63</sup>Psychosocial aspects of PKU: Hidden disabilities – A review, Gentile J. K., 2009, Molecular genetics and metabolism

<sup>64</sup> Klinická psychologie v praxi, Baštecká B., a kol., 2003, str. 302-304

<sup>65</sup>Psychosocial aspects of PKU: Hiddend isabilities – A review, Gentile J. K., 2009, Molecular genetics and metabolism

## 5. DIAGNOSTIKA A PREVENCE

### 5.1 Plošný screening

Screening je prováděn plošně ve všech zemích Evropské unie, zpravidla ve druhém dni života novorozenců. Postup odběru z paty novorozence viz obrázek 10. Ukázka screeningové karty viz příloha 1. a 2.

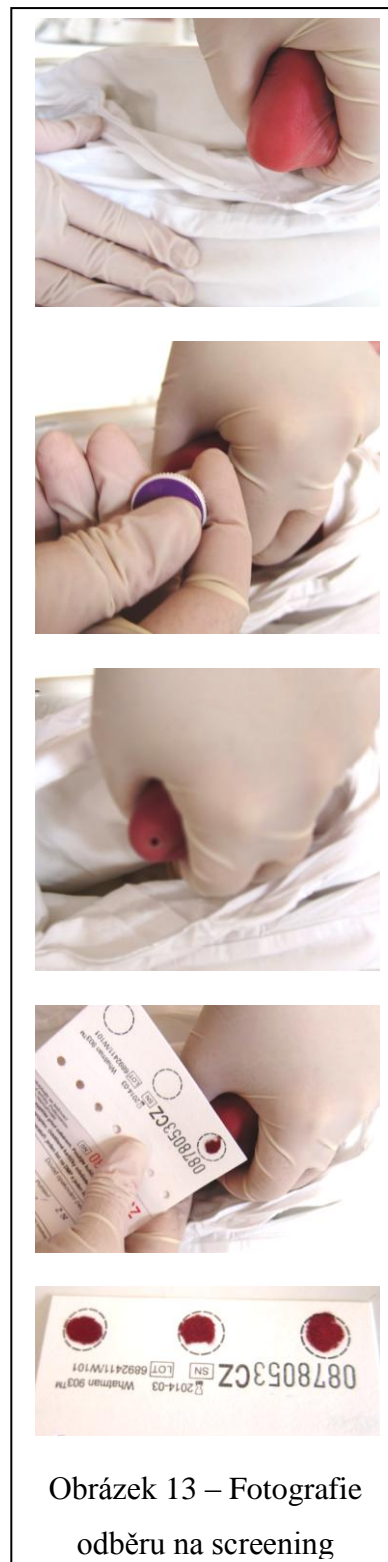
#### 5.1.1 Co je to screening?

Screeningem označujeme vyšetření, kterým se preventivně vyšetřují lidé určité věkové skupiny a umožňují tak včasný záchyt zdravotních problémů.

Definice novorozeneckého screeningu:

*„Screening je systematické cílené vyhledávání určité choroby před její klinickou manifestací se snahou předejít včas jejím možným následkům“.*<sup>66</sup>

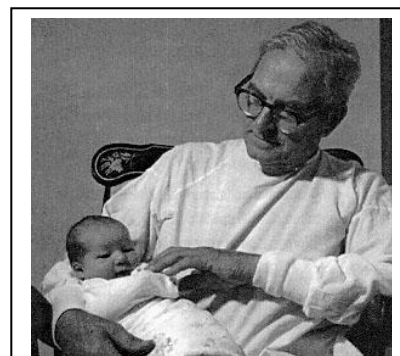
Se screeningem se můžeme setkat u vyšetření na okultní krvácení, hladinu cholesterolu, glykémii a podobně. U novorozenců se screeningem vyhledávají choroby v co nejkratší době po narození, aby se zabránilo nevratnému poškození zdraví dítěte. Kromě PKU se screeningem novorozenců vyšetřuje dalších 12 onemocnění. Ke včasnému záchytu onemocnění jsou používány tzv. screeningové testy, kterými se přímo v porodnici vyšetřují novorozenci 48 až 78 hodin po narození.<sup>67</sup> Screeningová vyšetření provádějí v České republice laboratoře novorozeneckého screeningu v Praze, Brně a Ostravě.<sup>68</sup>



Obrázek 13 – Fotografie odběru na screening

### 5.1.2 Historie screeningu PKU

Průkopníkem ve screeningu PKU a dalších metabolických chorob, byl Robert Guthrie, po kterém se screeningový test jmenuje. Guthrie použil citlivost bakterií na fenylalanin k vytvoření screeningového testu, ke kterému stačí kapka krve zaschlá na filtračním papíře. Po několika letech zavedení testů na PKU přišel Guthrie na další metabolity, které mohou stanovit další metabolické poruchy, např. homocysteinurie, galaktosemie a další.<sup>69</sup>



Obrázek 14– Robert Guthrie  
(1916 – 1995)

Původní Guthrieho test, test bakteriální inhibice (bacterial inhibition assay - BIA), je prováděn tak, že se krevní skvrna na papírku položí na agar se spori genetiky modifikovaného kmene *Bacillus subtilis*. Filtrační papírek, který je impregnovaný 2-thienylalaninem (aminokyselina vytvořená z thiofenu, kompetitivní růstový inhibitor specifický pro fenylalanin), inhibuje růst kultury za nepřítomnosti fenylalaninu. Pokud se v krevní skvrně fenylalanin vyskytuje, bakterie na agaru vyrostou. Při pozitivním výsledku (nárůst kolonií kolem papírku) se používají další metody (viz dále) k potvrzení či vyvrácení pozitivnosti výsledku.<sup>70</sup> Screening byl zahájen v 60. letech 20. století, po úspěšném zavedení dietní léčby PKU lékařem Horstem Bickelem.<sup>71</sup>

### 5.1.3 Biochemické vyšetření fenylketonurie

Biochemické analýzy jsou používány k potvrzení či vyvrácení pozitivních screeningových testů a označují se jako druhý stupeň screeningu. Biochemické vyšetření probíhá v laboratořích na analyzátoch, čímž se výrazně zvyšuje přesnost testů a snižuje se potřeba testy opakovat.<sup>72</sup>

<sup>67</sup> <http://www.labtestsonline.cz/screening/Screening-pojem.html>

<sup>68</sup> Představujeme metabolická centra v ČR a SR, Procházková Dagmar, Metabolik, 2004, č. 2, str. 3

<sup>69</sup> NEWBORN SCREENING FOR METABOLIC DISORDERS, DEBORAH MARSDEN, 2006

<sup>70</sup> Oski's pediatrics, Principles & Practice, Mc Millan J., 2006, 4. edice, str. 164

<sup>71</sup> Dědičné metabolické poruchy, G. F. Hoffmann a kol., 2006, 1. Vydání, str. 125

<sup>72</sup> NEWBORN SCREENING FOR METABOLIC DISORDERS, DEBORAH MARSDEN, 2006

Obrázek 14 - <http://www.mdch.state.mi.us/pha/bofl/divchemtox/newscreensec.htm> 20. 3. 2012

K instrumentálnímu vyšetření PKU a dalších metabolických poruch, se může také použít tandemová hmotnostní spektrometrie, kapalinová chromatografie a další.<sup>73</sup>

I přes pravidelné přezkoumávání správnosti screeningových testů, může dojít k falešně pozitivní či negativní chybě. Falešně pozitivní výsledek znamená, že vzorek krve novorozence, který byl vyhodnocen jako pozitivní, je ve skutečnosti v pořádku a dítě nemocné není. Tyto falešně pozitivní výsledky mohou být způsobeny fyziologickou změnou stanovované látky ve vzorku, enzymatické nezralosti u předčasně narozených dětí, jaterním onemocněním anebo podáváním antibiotik obsahujících dimetylpropionovou kyselinu. Falešně negativní výsledek znamená, že dítě je podle testu v pořádku, ale ve skutečnosti je nemocné. Falešně negativní výsledky mohou být způsobeny normální hodnotou analytu v době odběru nebo laboratorní chybou.<sup>74</sup> Je zajímavé, že riziko falešně pozitivního výsledku se více objevuje (statisticky) u děvčat než u chlapců až o 48 %. Při poklesu váhy dítěte o 100g se riziko falešně pozitivního výsledku zvyšuje o 4,2 %.<sup>75</sup>

#### 5.1.3.1 BH<sub>4</sub> senzitivita

Před zahájením léčby u dítěte je nutno nejdříve vyšetřit, o jak závažnou formu PKU se jedná. K vyloučení deficitu BH<sub>4</sub> se využívá metoda označovaná jako BH<sub>4</sub> zátěžový test. Dítěti je podáváno 20 mg BH<sub>4</sub> na kilogram hmotnosti rozpuštěných ve 20 až 30 ml vody. Hodnoty fenylalaninu v plazmě a moči jsou analyzovány ze vzorků odebraných před podáním, po 4, 8 a následně po 24 hodinách. Během testu je dítě normálně kojeno. Touto metodou získáváme přehled postupného zvyšování, poklesu a minimální hladiny Phe během 24 hodin.<sup>76</sup> Podle výsledků BH<sub>4</sub> zátěžového testu můžeme PKU rozdělit na to, zda jde o defekt PAH bez BH<sub>4</sub> senzitivity nebo o defekt PAH s BH<sub>4</sub> senzitivitou. Pokud jde o PKU s BH<sub>4</sub> senzitivitou, poškození se vyskytuje v oblasti syntézy a regenerace BH<sub>4</sub>. U zátěžového testu se BH<sub>4</sub> senzitivita prokáže poklesem koncentrace Phe v plazmě až o 30 %.<sup>77</sup>

---

<sup>73</sup><http://www.labtestsonline.cz/screening/Screening-pojem.html>

<sup>74</sup>NEWBORN SCREENING FOR METABOLIC DISORDERS, DEBORAH MARSDEN, 2006

<sup>75</sup>Neonatal birth parameters of positive newborns at PKU screening as predictors of false positive results at recall testing, Zaffanello M, Journal of medicine screening, 2003

<sup>76</sup>Inborn metabolic disease, John Fernandes, (4. Vydání) 2006, str. 66-67

<sup>77</sup>Pediatric, A. C. Muntau, 2009, vydání 4., str. 99



#### 5.1.4 DNA diagnostika

Molekulární testování je dnes používáno jako sekundární testování vzorků častěji než výše zmíněné biochemické testy.<sup>78</sup>

V současnosti je základní používanou diagnostickou metodou polymerázová řetězová reakce (PCR). PCR je prováděna v termocyklerech, které dokáží v relativně krátkém časovém intervalu měnit a následně udržet stabilní teplotu. U PCR se používají tyto hodnoty teplot: 50, 70 a 95 °C. Metoda také vyžaduje DNA sekvenci (primer), podle které bude PCR probíhat. Vzhledem k náročnosti syntézy primerů, jsou tyto sekvence komerčně dodávány specializovaným laboratořím, které PCR provádí. Pro funkčnost metody je nutná přítomnost DNA polymerázy, která je schopná udržet svoji funkci i při vysokých teplotách. Pro tento případ je používána termostabilní *Taq* DNA-polymeráza, extrahovaná z bakterie *Thermus aquaticus*. Kromě primeru a polymerázy jsou k PCR potřeba nukleotidy, základní stavební jednotky DNA.

Principem PCR je amplifikace (zmnožení) DNA sekvence, kterou právě určujeme. Po úvodní denaturaci (95 °C) dvouvláknové DNA získáme jedno vlákno původní DNA, které označujeme jako templát. V dalším kroku (55 °C) se na templát váže primer. Prostřednictvím navázaného primeru a enzymu *Taq* DNA-polymerázy dojde k navazování nukleotidů a tedy k prodlužování vlákna (při 70 °C). Cykly jsou opakovány až třicetkrát. Na konci PCR lze získat detekovatelné množství produktu, které lze určit např. pomocí elektroforézy.<sup>79, 80</sup>

Další možností DNA diagnostiky je hybridizace. U hybridizačních metod se používá tzv. sonda, komplementární s hledanou sekvencí, která je značena např. fluoreskující nebo radioaktivní látkou. Pomocí restriční endonukleázy (enzym štěpící DNA vlákno) se DNA rozštěpí na určité fragmenty. Naštěpené fragmenty se elektroforeticky rozdělí a sonda vázaná na membráně se naváže a zviditelní tak hledanou sekvenci.<sup>81</sup>

---

<sup>78</sup>NEWBORN SCREENING FOR METABOLIC DISORDERS, DEBORAH MARSDEN, 2006

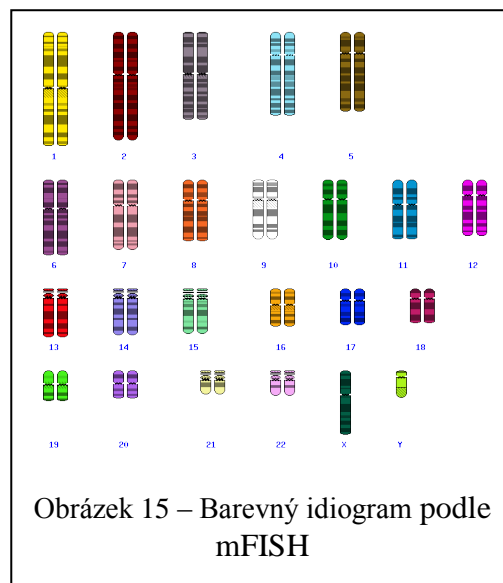
<sup>79</sup>Molecular Biology: Understanding the Genetic Revolution, Clark D. P., 2013, 2. Vyd., str. 162 - 191

<sup>80</sup><http://www.generi-biotech.com/real-time-pcr-sondy-kvantitativni-real-time-pcr/> (12. 5. 2013)

<sup>81</sup><http://www.lf2.cuni.cz/projekty/prusa-DNA/newlook/defa4.htm> (13. 5. 2013)

Hybridizace se využívá i v metodice označované jako *in situ*. *In situ* doslova znamená „na svém místě“. Jedná se o cytogenetickou metodiku, u které jsou zvýrazněny přímo místa na chromosomech. Sondy se vážou na denaturované vlákno DNA přímo v chromosomu. Dnes jsou komerčně dostupné tzv. lokus specifické sondy, kterými lze přímo označit zkoumaný lokus na chromosomu. Značení sondami probíhá buď přímo, nebo nepřímo. Přímé sondy se komplementárně připojují bezprostředně na chromosom a intenzitu barvy nelze nijak zesílit. U nepřímých sond se využívá antigenu zvaného haptenu (malá částice schopná vyvolat imunitní odpověď pouze při vazbě na látku větší molekulové hmotnosti<sup>82</sup>), který je navázán na sondě. Na haptenu se následně vážou značené protilátky. Na rozdíl od přímého značení sondami, lze u této metody barevnou intenzitu zesílit. Nejvýznamnější metodou v *in situ* hybridizaci je FISH (Fluorescent in situ hybridization) – fluorescenční *in situ* hybridizace.<sup>83</sup>

Kombinací FISH metody se sondami různých haptenu vznikla, tzv. mnohobarevná FISH (mFISH). Pomocí až sedmi různých sond lze rozlišit každý jednotlivý pár chromosomů. Filtry na kameře rozliší jednotlivé malovací sondy označené fluorochromy. Počítačovým programem se k chromosomovým párům přiřadí barvy klasické nebo doplňující „pseudobarvy“. Z výsledku lze zjistit všechny chromosomové změny prostřednictvím druhé barvy na chromosomu. Podobný princip barvení



Obrázek 15 – Barevný idiogram podle mFISH

chromosomů je používán u metody mnohobarevného pruhování, tzv. mBAND (multicolor chromosome banding) - mnohobarevné chromosomální pruhování. U této metody se nepoužívají chromosom specifické sondy, ale lokus specifické. Chromosom se obarví několika barvami, podle přítomnosti daných lokusů.

<sup>82</sup> <http://medical-dictionary.thefreedictionary.com/hapten> (29. 5. 2013)

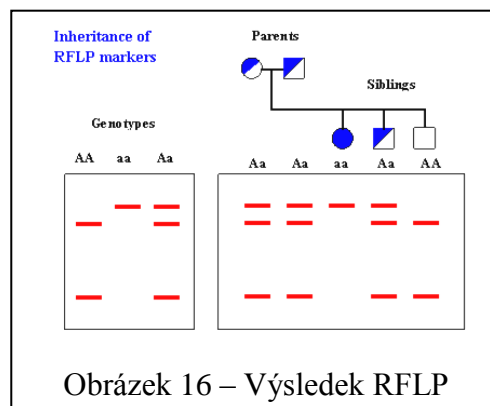
<sup>83</sup> Molekulární biologie v medicíně, Kočárek E., 2007, str. 218

Obrázek 15 -

[http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/sky/skyquery.cgi?clone\\_display=1&form\\_type=cell\\_page&kar\\_display=2969&karyo\\_display=SKYGRAM](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/sky/skyquery.cgi?clone_display=1&form_type=cell_page&kar_display=2969&karyo_display=SKYGRAM) (23. 5. 2013)

Další příklad diagnostických metod využívá polymorfismus DNA s využitím PCR.

Jedná se o metodu RFLP (restriction fragment length polymorphism) – délkový polymorfismus restričních fragmentů. Tato metoda se využívá převážně u rodin s anamnézou autosomálně dědičných chorob, ať už dominantních nebo recesivních. U postižených rodin se RFLP využívá k určení přenosu mutovaných alel na děti. Princip metody je založen na „rozstříhání“ DNA v okolí



sledovaného genu restričním enzymem na několik fragmentů. Vzniklé fragmenty jsou hybridizovány extragenovou sondou. Po elektroforéze vzniknou linie jednotlivých fragmentů, z nichž lze určit, zda se jedná např. o heterozygotního jedince.

Metod používaných pro DNA diagnostiku je velké množství. Vyjmenované metody jsou jedny z nejčastěji používaných.<sup>84, 85</sup>

## 5.2 Prevence

K preventivním krokům kromě screeningových testů novorozenců patří i určitá míra informovanosti obyvatelstva, kterou zajišťuje Ministerstvo zdravotnictví. Pro rozmezí let 2012 až 2014 schválilo Ministerstvo zdravotnictví spolu s vládou tzv. „NÁRODNÍ AKČNÍ PLÁN PRO VZÁCNÁ ONEMOCNĚNÍ NA LÉTA 2012 – 2014“, ve kterém se kromě podpory vědy a výzkumu, zahraniční spolupráce v oblasti vzácných onemocnění zavázalo i ke zlepšení informovanosti obyvatelstva, zlepšení prevence, screeningu a diagnostiky.<sup>86</sup> V rámci mezinárodní asociace pro vzácná onemocnění byl stanoven na 29. února Světový den vzácných onemocnění (mimo přestupný rok na 28. únor). Na tento den jsou pořádány akce, které poukazují na situaci pacientů a jejich rodin. Světové dny vzácných onemocnění jsou organizovány ve 24 zemích EU neziskovou organizací EURORDIS.<sup>87, 88, 89</sup>

<sup>84</sup> Lékařská biologie a genetika, Kohoutová M., 2012, str. 89 - 91

Obrázek 16 - [http://drugline.org/img/term/rflp-12939\\_1.gif](http://drugline.org/img/term/rflp-12939_1.gif) (23. 5. 2013)

<sup>85</sup> Současné trendy klasické a molekulární cytogenetiky v hematologii a onkologii, Michalová K., Postgraduální medicína, 2002

<sup>86</sup> NÁRODNÍ AKČNÍ PLÁN PRO VZÁCNÁ ONEMOCNĚNÍ NA LÉTA 2012 – 2014, ČR, 2012

<sup>87</sup> <http://vzacna-onemocneni.cz/informace-o-onemocneni/den-vzacnych-onemocneni/> (8. 5. 2013)

Preventivní programy pro nemocné s PKU probíhají i v rámci výzkumů a různých studií. Jedná se především o prevenci zachování nízké hladiny fenylalaninu v krvi a tím i zábranu dalšího poškození mozku. S rozvíjením internetové sítě a zefektivnění dostupnosti online informací vznikla v Nizozemí studie s názvem „My PKU“. Této studii se zúčastnilo 68 pacientů různého věku po dobu 10 měsíců. Prostřednictvím osobních webových stránek a online informací z laboratoře o jejich hladině Phe z předchozích dnů, si pacienti upravovali stravu a mohli vidět přímou souvislost mezi jejich chováním (dodržování diety, psychika nebo nemoc) a hladinou fenylalaninu. Podle věku byly vzorky krevních skvrn odesílány do laboratoře každý týden, po 2 týdnech a po měsíci. Na webových stránkách byl kromě výstupních hodnot umístěn i graf ukazující pokles či vzestup Phe v rámci celé doby studie s možností dotazů. Pacienti si tento systém velmi pochvalovali. Pokud by tento systém začal fungovat i v praxi, mohli by si pacienti s PKU v relativně rychlém čase zkorigovat své stravování podle relativně aktuálních informací o hladině Phe v krvi.<sup>90</sup>

---

<sup>88</sup> <http://www.rarediseaseday.org/article/about-rare-disease-day> (8. 5. 2013)

<sup>89</sup> <http://www.eurordis.org/who-we-are> (8. 5. 2013)

<sup>90</sup> “MY PKU”: increasing self - management in patients with phenylketonuria. A randomized controlled trial, Hoedt A. E., Orphanet journal of rare disease, 2011

## 6. LÉČBA

V dnešní době je jedinou možnou léčbou v závislosti na podstatě příčiny PKU finančně nákladná dieta potravinami s nízkým obsahem fenylalaninu, která musí být dodržována po celý život, nejdůsledněji však v dětství a dospívání. V ČR zajišťuje léčbu a sledování pacientů s PKU Ústav metabolických poruch a Klinika dětského a dorostového lékařství Všeobecné fakultní nemocnice v Praze, Fakultní nemocnice Královské Vinohrady v Praze a Fakultní nemocnice Brno.<sup>91</sup>

### 6.1 Dietologie

Dietní režim sleduje specialista na výživu, tedy lékař zabývající metabolickými chorobami a rodiče, kteří ručí za dodržování diety dítěte. Kontroly hladiny fenylalaninu se provádí v prvním půlroku života 2 krát týdně, později 2 krát měsíčně.<sup>92</sup> Typ diety závisí na druhu PKU a na míře závažnosti nemoci.

#### 6.1.1 Defekt PAH bez BH<sub>4</sub> senzitivity

V tomto případě se používá dieta výživou, která neobsahuje žádný fenylalanin. Dieta se označuje jako eliminační. Po zjištění PKU u dítěte se musí co nejdříve zavést dieta, k co nejúčinnějšímu snížení hladiny Phe v plazmě. Po ustálení plasmatické hladiny fenylalaninu pod 600  $\mu\text{mol/l}$  se zavádí dieta chudá na Phe; strava fenylalanin obsahuje, ale jen v malém množství. Individuálně pak lze dítě krmit malým množstvím mateřského mléka nebo dětskými výživami. Ve starším věku musí být z jídelníčku vyloučeny potraviny bohaté na bílkoviny.<sup>93</sup>

#### 6.1.2 Potraviny a výživa

Jak bylo již řečeno výše, u diety se musí vyloučit potraviny s vysokým obsahem bílkovin. Lidské mateřské mléko je na Phe relativně chudé, děti s PKU mohou být kojeny spolu s dokrmováním přípravky bez Phe. Přirozené potraviny s nízkým obsahem Phe jsou např. sacharidy, některé druhy zeleniny a ovoce. Z pohledu zdravých lidí nemohou

---

<sup>91</sup> Metodický návod k zajištění celoplošného novorozeneckého laboratorního screeningu a následné péče, Věstník MZ ČR, 2009

<sup>92</sup> Dětská neurologie, J. H. Menkes a kol., 2011, 7. Vydání, str. 55

<sup>93</sup> Pédiatrie, A. C. Montau, 2009, vydání 4., str. 99

fenylketonurici jíst téměř nic. Kromě masa, obilovin, ořechů a luštěnin musí lidé s PKU odmítnout i většinu zeleniny a nápoje s obsahem aspartamu (umělá sladidla).<sup>94</sup> Dieta u dětí s PKU je individuální. Kromě prvních měsíců života je denní příjem fenylalaninu tolerován na 12 – 24 mg na kilogram hmotnosti. Různý obsah fenylalaninu v potravinách je znázorněn v tabulce č. 1 a v Příloze č. 5.<sup>95</sup> Seznam potravin, které jsou vhodné pro dietu, lze nalézt v brožurkách, které dostávají rodiče od lékaře po diagnóze PKU nebo na internetových stránkách určených pro nemocné PKU a jejich okolí, např. <http://www.espku.cz/>, <http://www.nspku.cz/>, <http://www.pku-dieta.cz/>, <http://www.pku.com/> a další.<sup>96</sup>

Potravina (100g)	Obsah Phe (mg)
<b>Mléko kravské / mléko mateřské</b>	<b>150 / 55</b>
<b>Vejce</b>	<b>754</b>
<b>Brambory</b>	<b>86</b>
<b>Jablko</b>	<b>15</b>
<b>Chléb</b>	<b>450</b>
<b>Vepřové maso</b>	<b>604</b>

Tabulka 1 – Ukázka obsahu fenylalaninu v potravinách

Potravinami určenými pro speciální diety se zabývá Zákon o potravinách. Speciálně o fenylalaninu pojednává Vyhláška č. 54/2004 Sb. Definicí potravin neobsahujících fenylalanin se zabývá v této vyhlášce § 16.

*„Potravinami bez fenylalaninu se rozumějí potraviny vyrobené zvláštním technologickým postupem tak, aby obsah fenylalaninu nebyl vyšší než 20 mg ve 100 g nebo 100 ml potraviny ve stavu určeném ke spotřebě. U potravin vyrobených ze surovin přirozeně neobsahujících fenylalanin musí být jeho obsah nulový.“*

<sup>94</sup> Diagnostika a léčba dědičných metabolických poruch, J. Fernandes a kol., 2008, 4. Vydání, str. 260-261

<sup>95</sup> Výživa v dětském věku, J. Nevorál a kol., 2003, str. 359-360

Tabulka 1 - Výživa v dětském věku, J. Nevorál a kol., 2003, str. 360

Příloha č. 5 - <http://www.espku.cz/vyziva-hospitalizovaneho-pacienta-s-fenylketonuri/> (27. 5. 2013)

<sup>96</sup> Pediatrie, A. C. Montau, 2009, vydání 4., str. 99

*„Potraviny bez fenylalaninu jsou určeny pro osoby s vrozenou, geneticky podmíněnou poruchou metabolismu fenylalaninu.“<sup>97</sup>*

O potravinách určených pro zvláštní výživu a o způsobu jejich použití hovoří § 17. Podle § 17 vyhlášky musí být potravina bez Phe používána na základě doporučení lékařem, na obalu potravin musí být napsána energetická hodnota, obsah Phe ve 100g potraviny, obsah vitamínů a minerálů atp.<sup>98</sup>

Pro dodání potřebných aminokyselin, především tyrozinu, vitamínů a minerálů, jejichž příjem může být dietou snížen, jsou vyráběny produkty, které potřebné látky dodávají.<sup>99</sup> Ve státech Evropské unie vyjdou bílkovinné náhrady pro děti (2, 4 a 8 let) a pro dospělé na 4273 € až 21590 € ročně (což je při kurzu 25 Kč / 1€ je 539750 Kč ročně). Proteinové náhrady jsou v některých zemích EU plně hrazeny pojišťovnou, např. v Itálii a Anglii, na rozdíl od Polska, Španělska a Nizozemí, kde finanční podpora neprobíhá (Španělsko a Nizozemí finančně podporuje nezaměstnané). U dalších zemí jsou příspěvky limitovány. Podle průzkumu v EU z roku 2011 je uvedeno, že nejlevnější proteinová náhrada je v Turecku a s nejvyššími výdaji se setkáme ve Španělsku. Ceny nízkoproteinových potravin se liší. V EU je například cena nízkoproteinového chleba od 0,04 do 1,60 € za 100 kcal.<sup>100</sup> Bílkovinné náhrady jsou označovány jako potraviny pro zvláštní léčebné účely. Potraviny pro zvláštní léčebné účely jsou většinou objednávané prostřednictvím metabolické kliniky a je částečně nebo úplně proplácena z veřejného zdravotního pojištění. Zdravotní pojišťovny neproplácí nízkoproteinové potraviny.<sup>101</sup> Nulový příspěvek pro nákup potravin na dietu a snižující se sociální podpora rodin s dětmi od 1 roku do 7 let, které potřebují neustálou péči (z původních 7600 Kč na 3000 Kč nebo až dokonce zrušení), přivádí mnoho rodin do problémů.<sup>102</sup>

---

<sup>97</sup><http://eagri.cz/public/web/mze/potraviny/legislativa/zakon-o-potravinach/provade-ci-predpisy-mzd/100064896.html> (23. 5. 2013)

<sup>98</sup><http://eagri.cz/public/web/mze/potraviny/legislativa/zakon-o-potravinach/provade-ci-predpisy-mzd/100064897.html> (23. 5. 2013)

<sup>99</sup> Pediatrie, A. C. Montau, 2009, vydání 4., str. 99

<sup>100</sup> Diet in phenylketonuria: A snapshot of special dietary costs and reimbursement systems in 10 international centers, Béalabger - Quintana A., 2011

<sup>101</sup><http://www.novorozeneckyscreening.cz/index.php?pg=verejnost--pri-prokazane-nemoci--pece-o-dite-s-fenylketonurii-nebo-hyperfenylalaninemi> (8. 5. 2013)

<sup>102</sup><http://vzacna-onemocneni.cz/pdf/prezentace-lhotakova-22-5-2012.pdf> (8. 5. 2013)

### 6.1.3 Defekt PAH s BH<sub>4</sub> senzitivitou

V případě špatné syntézy BH<sub>4</sub> je léčba v mnohém snazší. Stačí dodávat BH<sub>4</sub> v denní dávce 10 – 15 mg na kilogram hmotnosti nemocného.<sup>103</sup> Farmakem s BH<sub>4</sub> je například Kuvan, který byl evropskou komisí schválen a registrován v roce 2008 pro celou EU. V ČR je dostupný od 1. 9. 2012. Léčivou látkou je sapropterin dihydrochlorid, který je syntetickou kopií BH<sub>4</sub>. Tablety se podávají perorálně (ústí).<sup>104</sup> Kvůli poruše metabolismu pterinů může dojít k problému v metabolismu aminů v centrálním nervovém systému, což se řeší dodáváním neurotransmiterů.<sup>105</sup>

## 6.2 Enzymová substituční terapie

V dnešní době probíhá řada studií umělého dodávání enzymů. U PKU se jedná o náhradu enzymem fenylalaninaminolyázou (PAL). PAL je enzym mnohem jednodušší a stabilnější než PAH a nevyžaduje žádný kofaktor. Tento enzym odštěpí z fenylalaninu amino skupinu a vznikne kyselina skořicová, která je pro organismus bezpečná a vyloučí se močí. PAL pochází z řasy rodu *Anabaena variabilis* (patří mezi vláknité Cyanobakterie), který je odolnější proti proteolytickým pochodům. V klinických testech nebyly zaznamenány vedlejší účinky a zatím probíhají studie o bezpečnosti a účinnosti opakovaného dodávání enzymu. Zkoumá se orální podávání a subkutánní injekce (pod kůží).<sup>106</sup>

## 6.3 Genová terapie

V dnešní době je rozvoj genetiky a genové terapie nadějí pro mnoho nemocí. Největší část pokusů o genovou terapii zastupují nádorová onemocnění, monogenní choroby, infekční nemoci a kardiovaskulární choroby. Podle typu modifikovaných buněk rozlišujeme zárodečnou nebo somatickou genovou terapii. Zárodečná genová terapie je v mnoha zemích zakázána, vzhledem k etickým rozporům a nejasným důsledkům zákroku na gametě či zygotě. Veškeré genové terapie člověka se provádí formou modifikovaných somatických buněk. Modifikace somatických buněk mohou probíhat několika způsoby.

<sup>103</sup> Pediatrie, A. C. Montau, 2009, vydání 4., str. 99

<sup>104</sup> <http://www.sukl.cz/modules/medication/detail.php?code=0500870&tab=info> (14. 2. 2013)

<sup>105</sup> Diagnostika a léčba dědičných metabolických poruch, J. Fernandes a kol., 2008, 4. Vydání, str. 259

<sup>106</sup> Up to date knowledge on different treatment strategies for phenylketonuria, A. Bélanger - Quintana, 2011



Buňky mohou být odebrány od pacienta a po modifikaci se vrátí do organismu (*ex vivo* terapie). Buňky, které jsou vhodné pro genovou terapii, mají dlouhou životnost, proliferují a dají se snadno získat (např. kmenové buňky). Samotná modifikace buněk probíhá prostřednictvím vektorů s cizím genem. Jako vektory jsou nejčastěji používány viry. Významné jsou vektory z retrovirů, které díky reverzní transkriptáze přepíší svou RNA do DNA. Dalším typem virových vektorů je adenovirus, adeno-asociovaný virus a lentivirus. Kromě virových vektorů jsou zkoumány i neviróvé vektory. Nejvíce studované neviróvé vektory jsou liposomy, uměle vytvořené částice s fosfolipidovou dvouvrstvou a inzertovanou DNA uvnitř. Oproti virovým vektorům však mají velmi malou účinnost.<sup>107</sup>

Ve fázi výzkumu je léčba zavedením PAH genu do jaterních buněk, který by „obnovil“ enzymatickou tvorbu. Adeno-asociovaný virus (AAV), vhodný pro genetickou terapii, není patogenní, nezánětlivý a jeho zavedení by mělo vyvolávat imunitní reakci jen minimálně. AAV s lidským PAH genem zavedený do myších jater přechází do buněčného jádra, kde je přepsán do DNA. Myším s PKU byl injekcí do portální žíly dodán genový vektor (sérotyp 8). U myši byla prokázána fenotypová změna, kdy došlo k pigmentaci srsti už od 2 týdne léčby a také došlo k výraznému snížení plazmatického Phe na normální hladinu na déle jak jeden rok. Testy jater zkoumaných myši prokázaly, že nedochází k rakovinnému bujení či známkám toxicity.<sup>108</sup> Přestože byly výsledky na myších velmi dobré, genová terapie nevede k trvalému odstranění problému nízké aktivity PAH. Genový vektor není integrován v jaterní DNA a postupnou regenerací jaterních hepatocytů dochází k vymizení účinků vektoru. Opětovné dodání stejného sérotypu není účinné, protože v organismu dojde k imunitní odpovědi a jeho následnému zničení.<sup>109</sup> Možnost léčby metabolických onemocnění jater pomocí buněk kostní dřeně prokázala i studie na myších s genetickým defektem vedoucím k tyrozinémii.<sup>110</sup>

---

<sup>107</sup> Lékařská biologie a genetika, Kohoutová M., 2012, str. 101 - 106

<sup>108</sup> Long - term correction of murine phenylketonuria by viral gene transfer: liver versus muscle, Thöny Beat, 2009

<sup>109</sup> Up to date knowledge on different treatment strategies for phenylketonuria, Bélanger - Quintana A., a kol., 2011

<sup>110</sup> Kmenové buňky; Biologie, medicína, filozofie, Filip S, Mokřý J., Hruška I., Galén, 1.vyd., 2006, str. 82

## 7. STATISTIKA PKU V ČR A EVROPSKÝCH ZEMÍCH

V rozmezí mezi 1. 1. 2002 a 31. 12. 2006 se v České republice narodilo 492 177 dětí, přičemž u 56 dětí se potvrdila diagnóza PKU. Výskyt dětí s PKU v tomto období je narození 1 postiženého dítěte na 8789 zdravých dětí.<sup>111</sup> V České republice je PKU nejčastěji způsobena mutací označovanou jako R408W (z 60 %). Tato zkratka udává číslo kodonu (408) a záměnu sekvence pro arginin (R) za sekvenci pro tryptofan (W). Další vyskytující se mutací je R158Q, u které se na kodonu 158 zaměnila sekvence argininu za glycin (Q).<sup>112</sup>

Ve 41 evropských zemích, kde je zaveden screening, je průměrná prevalence výskytu PKU 1 : 8000. Screening se neprovádí na Maltě a ve Finsku z důvodu nízké prevalence. Z genetického hlediska je rozmanitost alel PAH vidět v rámci regionální populace např. v Evropě nebo mezi rasami (bělochy, asiaty,...). Analýza 9000 evropských chromosomů dokázala 29 různých mutací, z nichž se vyskytuje každá s relativní četností nad 3%. Různé sady alel fenotypu pro HPA není náhodně rozdělena, což ukazuje na regionální asociaci. Všechny závěry naznačují rozmanitý původ PKU v Evropě. Žádná samostatná mutace ve všech evropských populacích nepřevládá.<sup>113</sup> V některých lokalitách zemí EU je výskyt PKU mnohem vyšší. Jedná se např. o region Katalánska (Španělsko), kde je prevalence 1 : 6600, nebo v západním Skotsku a Irsku, kde je prevalence dokonce 1 : 5000.<sup>114</sup>

---

<sup>111</sup>Novorozenecký screening v České republice a v Evropě, Votava F., ČESKOSLOVENSKÁ PEDIATRIE, 2008

<sup>112</sup>Lékařská biologie a genetika, Kohoutová M., 2012, str. 72

<sup>113</sup>Novorozenecký screening v České republice a v Evropě, Votava F., ČESKOSLOVENSKÁ PEDIATRIE, 2008

<sup>114</sup>Genotype – phenotype correlations analysis of mutations in the phenylalaninehydroxylase (PAH) gene, Bercovich D., Journal of Human Genetics, 2008

## ZÁVĚR

Cílem bakalářské práce bylo shrnout dostupné informace o fenylketonurii a uspořádat je do dílčích kapitol z hlediska genetického, biochemického a z pohledu zdravotních aspektů, které toto onemocnění provází. Spolu s diagnostickými metodami, dále metodami prevence a léčby byla zpracována i statistická část zaměřená na prevalenci výskytu PKU v ČR a ostatních zemích Evropské unie.

Poprvé byla fenylketonurie popsána v roce 1934 Asbjörnem Föllingem jako *Imbecilitas phenylpyruvica* podle charakteristického zápachu fenylpyruvátu v moči pacientů. Fenylketonurie (PKU) je charakterizována jako difúzní neurometabolická encefalopatie. Příčinou poškození mozku je toxický vliv nadbytku fenylalaninu v CNS. Další ireverzibilní patologické změny jsou způsobené nedostatkem metabolitů fenylalaninu a následně dochází i k porušení homeostázy. Nadbytečné množství Phe v mozku je mimo jiné způsobeno nedostatečně vyvinutou hematoencefalickou bariérou u dětí. Vysoká hladina fenylalaninu u dětí způsobuje výrazný pokles IQ až pod 50.

PKU se řadí mezi autosomálně recesivní onemocnění (AR), způsobené mutací na dlouhém raménku 12. chromosomu v lokusu 22 až 24. Mutace v tomto lokusu způsobuje defekt syntézy fenylalaninhydroxylázy, enzymu zpracovávající přeměnu aminokyseliny fenylalaninu na tyrozin. Podle charakteru mutace lze PKU rozlišit na klasickou, u které lze mutaci zmapovat na lokusu a stejných alelách; mírnou, která se od klasické liší rozdílnými alelami a zvláštní typ PKU, kterou na lokusu zmapovat nelze. V rodinách s anamnézou PKU je výskyt dědičného onemocnění zpravidla ob jednu generaci.

PKU je dále diferencována (kromě detekce na alelách) podle funkčnosti PAH. Při aktivitě enzymu nižší než 1 % normy je označována PKU jako klasická. Dalším typem je mírná PKU s aktivitou enzymu mezi 1 – 3 % a non PKU (neboli mírná HPA) s aktivitou enzymu, která se pohybuje mezi 3 až 10 %. Porucha syntézy či regenerace  $BH_4$  často vyústí v závažnější klinické obtíže, způsobené nedostatkem metabolitů tyrozinu a tryptofanu, což vede k deficitu neurotransmiterů, akumulaci pterinů v organismu a nakonec až tzv. dětské formě Parkinsonovy choroby.

K syntéze enzymu fenylalaninhydroxylázy je nezbytná přítomnost kofaktoru  $BH_4$  syntetizovaného z GTP.  $BH_4$  je kofaktorem i pro metabolické dráhy tyrozinu a tryptofanu. V organismu nasyntetizovaná aminokyselina tyrozin slouží k tvorbě hormonů štítné žlázy,

katecholaminů a melaninu. Nedostatek melaninu se fenotypově projevuje charakteristickým vzhledem pacientů s PKU – světlé vlasy a modré oči. Melanin se kromě kožního pigmentu vyskytuje i v nervové soustavě.

Léčba PKU vychází z přísné nízkoproteinové diety, jejímž prostřednictvím se plazmatická hladina Phe udržuje v relativně nízké koncentraci. Největším rizikem je vysoká hladina Phe pro děti, protože může dojít k tomu, že se fenylalanin a jeho patologické metabolity začnou ukládat v mozku. Dalším rizikovým obdobím v životě člověka s PKU je období těhotenství, kdy vyšší hladina Phe v plazmě matky může poškodit plod díky transplacentárnímu přenosu.

Diagnostika PKU probíhá prostřednictvím novorozeneckého screeningu, kdy se ze vzorku suché kapky krve určí koncentrace Phe v krvi. Nejvíce používanými metodami diagnostiky PKU je hmotnostní spektrometrie, kapalinová chromatografie a z metod DNA diagnostiky např. RFLP.

V online katalogu Mendelovských dědičností u člověka (Online – Katalog Mendelian Inheritance in Man – OMIM) je PKU zařazena pod zkratkou MIM 261600. Podle statistických dat se v České republice rodí jedno dítě s PKU na 8789 zdravých dětí, což je mnohem nižší výskyt než v ostatních zemích EU, kde je udávána hodnota prevalence výskytu 1 : 8000. Prevalence PKU je vyšší v přirozeně ohraničených oblastech (ostrovy, regiony ohraničené pohořími...), např. Katalánsko, Skotsko a Irsko. Až na výjimky probíhá ve 41 zemích EU celoplošný novorozenecký screening pro včasné odhalení vrozených chorob.

## 8. CITOVANÁ LITERATURA

1. ALBERTS, B., *Základy buněčné biologie: úvod do molekulární biologie buňky*, 2.vyd., Ústí nad Labem, Espero, 2005, ISBN 80-902906-2-0
2. BEDNAŘÍK J., *Klinická neurologie*, Triton, Praha, 2010, ISBN 978-80-7387-389-9
3. BÉLANGER-QUINTANA, A., *Up to date knowledge on different treatment strategies for phenylketonuria*, Molecular Genetics and Metabolism, Srpen 2011, vol. 104, page S19-S25, ISSN 1096-7192
4. BÉLANGER - QUINTANA, A., *Diet in phenylketonuria: A snapshot of special dietary costs and reimbursement systems in 10 international centers*, Molecular Genetics and Metabolism, listopad 2011, vol. 105, page 390-394, ISSN 1096-7192
5. BENDER D. A., *Amino acid Metabolism*, 3.vyd., Sussex, UK, Wiley - Blackwell, 2012, ISBN 978-0-470-66151-2
6. BLAHOŠ J., *Endokrinologie – interdisciplinární obor*, Triton, Praha, 2006, ISBN 80-7254-788-7
7. BERCOVICH D., *Genotype – phenotype correlations analysis of mutations in the phenylalaninehydroxylase (PAH) gene*, Journal of Human Genetics, březen 2008, col. 105, page 390 – 394, ISSN 1096-7192
8. CLARK P. D., *Molecular Biology: Understanding the Genetic Revolution*, Elsevier Inc., Oxford, 2. Vyd., 2013, ISBN 978-0-12-378594-7
9. ČESKÁ REPUBLIKA, *Metodický návod k zajištění celoplošného novorozeneckého laboratorního screeningu*, Věstník Ministerstva zdravotnictví, 2009, č. 6, str. 7-14, dostupný online na webových stránkách ministerstva zdravotnictví:  
[http://www.mzcr.cz/Legislativa/dokumenty/vestnik\\_3620\\_1772\\_11.html](http://www.mzcr.cz/Legislativa/dokumenty/vestnik_3620_1772_11.html)
10. ČESKÁ REPUBLIKA, *Národní akční plán pro vzácná onemocnění na léta 2012 – 2014*, Usnesení vlády ČR ze dne 29. srpna 2012 č. 633, ke stažení na <http://vzacna-onemocneni.cz/>
11. FERNANDES, J. *Diagnostika a léčba metabolických poruch*, 4.vyd. Praha, Triton, 2008. ISBN 978-80-7387-096-6
12. FILIP, S., *Kmenové buňky; Biologie, medicína, filozofie*, 1.vyd., Praha, Galén, 2006, ISBN 80-7262-401-6
13. FLETCHER H., *BIOS instant notes; Genetics*, 4.vyd., New York, Garland science, 2013, ISBN 978-0-4156-9314-1
14. GROSSE, S. D., *Late – Treated Phenylketonuria and Partial Reversibility of Intellectual Impairment: Child development*, leden / únor 2010, vol. 81, issue 1, s. 200-211, ISSN 1467-8624
15. GENTILE, J. K., *Psychosocial aspects of PKU: Hidden disabilities – A review*, Molecular Genetics and Metabolism, vol. 99, s 64–67, říjen 2009, ISSN 1096-7192
16. HOEDT A. E., *“MY PKU”: increasing self - management in patients with phenylketonuria. A randomized controlled trial*, Orphanet journal of rare disease, 2011
17. HOFFMANN, G. F., *Dědičné metabolické poruchy*, 1.vyd. Praha, Grada, 2006, ISBN 80-247-0831-0

18. IKEDA, K. *Phenylalanineammonia – lyase modified with polyethyleneglycol: Potential therapeutic agent for phenylketonuria*, Amino Acids, listopad 2005, vol. 29, no. 3, s. 283-287, ISSN 1438-2199
19. KASNAUSKIENÉ J., *Predicting a clinical / biochemical phenotype for PKU / MHP patients with PAH gene mutation*, Russian journal of genetics, říjen 2008, vol. 44, issue 1212-1218, ISSN 1608-3369
20. KITTNAR O., *Lékařská fyziologie*, 1.vyd., Praha, Grada, 2011, ISBN 978-80-247-3068-4
21. KOČÁREK, E., *Molekulární biologie v medicíně*, 1. Vyd., Brno, Národní centrum ošetrovatelství a nelékařských oborů, 2007, ISBN 978-80-7013-450-4
22. KOOLMAN J., *Barevný atlas biochemie*, 1. vyd., Praha, Grada, 2012, ISBN 978-80-247-29977-0
23. KUCHYNKA P., *Oční lékařství*, 1. Vyd., Praha, Galen, 2007, ISBN 978-80-247-1163-8
24. LEBL a kol., *Preklinická pediatrie*, 2. Vyd., Praha, Galen, 2007, ISBN 978-80-7262-438-6
25. LOEBER J. G., *Neonatal screening in Europe; the situation in 2004*, Journal of Inherited Metabolic Disease, červenec 2007, vol. 30, s. 430-438, ISSN 1573-2665
26. MARSDEN, D. *Newborn screening for metabolic disorders*, The Journal of Pediatrics, květen 2006, vol. 148, issue 4, s. 577-584, ISSN 0022-3476
27. Mc MILLAN, J.A., *Oski's pediatrics, Principles & Practice*, 4.vyd., Philadelphia, LIPPINCOTT WILLIAMS & WILKINS, 2006, ISBN 0-7817-3894-6
28. MENKES, J. H., *Dětská neurologie*, 7.vyd. Praha, Triton, 2011, ISBN 978-80-7387-341-7
29. MICHALCOVÁ K., *Současné trendy klasické a molekulární cytogenetiky v hematologii a onkologii*, Postgraduální medicína, ročník 4., 5. Vyd., 2002, str. 552 – 559, ISSN 1212-4184
30. MUNTAU, A.C., *Pediatrie*, 1. České vyd. Praha: Grada, 2009, ISBN 978-3-437-43391-7
31. NEČAS, E., *Obecná patologická fyziologie*, Praha, Karolinum, 2005, ISBN 80-246-0051-X
32. NEVORAL J. a kol, *Výživa v dětském věku*, Jihlava, Nakladatelství H&H Vyšehradská s.r.o., 1.vyd., 2003, ISBN 80-86-022-93-5
33. ODSTRČIL J., *Biochemie*, Brno, Národní centrum ošetrovatelství a nelékařských zdravotnických oborů v Brně, 2005, ISBN 80-7013-425-9
34. OTOVÁ, B., *Lékařská biologie a genetika 1. díl*, Praha, Karolinum, 2008, 1.vyd, ISBN 978-80-246-1594-3
35. PRITCHARD D. J., *Základy lékařské genetiky*, Praha, Galén, 1.vyd., 2007, ISBN 978-80-7262-449-2
36. PRITCHARD D. J., *Medical genetics at a Glance*, India, Replika Press, 3.vyd., 2006, ISBN 978-0-632-06372-7
37. PROCHÁZKOVÁ, D., *Představujeme metabolická centra v ČR a SR*, Metabolík, 2004, č. 2, s. 3, ISSN 1214-3057
38. RANDHAWA M., *Evidence for the ectopic syntesis of melanin in human adipose tissue*, The FASER Journal, březen 2009, vol. 23, s. 3835-3843, ISSN 0892-6638 (online ISSN: 1530-6860)

39. REED, S. *Essential Physiological Biochemistry*, 1.vyd. Singapore: Markono Print Media Pte Ltd., 2009, ISBN 978 0 470 02635 9
40. ROSENTHAL, M., D., *Medical biochemistry: human metabolism in health and disease*, 2.vyd., USA, nakl. Wiley, 2009, ISBN 978-0-470-12237-2
41. SAUDUBRAY, J. M., *Inborn metabolit diseases: Diagnosis and treatment*, 5.vyd. Würzburg: Springer Medizin Verlag Heidelberg, 2006, ISBN 978-3-642-15719-6
42. SCRIVER, C. R., *The PAH Gene, Phenylketonuria, and a Paradigm Shift*, Human mutation, duben 2007, vol. 28, issue 9, ISSN 1098-1004
43. SILBERNAGL S., *Atlas patofyziologie*, Praha, Grada, 2012, 2. Vyd., ISBN 978-80-247-3555-9
44. SVAČINA, Š., *Poruchy metabolismu výživy*, 1.vyd. Praha, Galén, 2010, ISBN 978-80-7262-676-2
45. ŠŤASTNÁ, S., *Metabolická příručka 2010*, Praha, Všeobecná fakultní nemocnice v Praze a 1. Lékařská fakulta Univerzity Karlovy, ISBN 978-80-254-6659-9
46. TARSOUNAS, M., *Telomere Maintenance Requires the RAD51D Recombination / Repair Protein*, CELL, duben 2004, vol. 117, p 337-347, ISSN 0092-8674
47. THOMPSON, J. S., *Klinická genetika*, Praha, Triton, 2004, ISBN 80-7254-475-6
48. THÖNY, B., *Long – term correction of murine phenylketonuria by viral gene transfer: liver versus muscle*, JOURNAL OF INHERITED METABOLIC DISEASE, únor 2010, vol. 33, numb. 6, ISSN 1573-2665
49. VOTAVA, F., *Novorozenecký screening v České republice a v Evropě*, ČESKO-SLOVENSKÁ PEDIATRIE, 2008, ročník 63, s. 95-105, ISSN 0069 – 2328
50. WICKS N. L., *UVA Phototransduction Drives Early Melanin Synthesis in Human Melanocytes*, Current Biology, listopad 2011, vol. 21, issue 22, s. 1906 – 1911, ISSN 0960-9822
51. ZAFFANELLO M., *Neonatal birth parameters of positive newborns at PKU screening as predictors of false positive results at recall testing*, Journal of medical screening, 2003, vol. 10, s. 181-183, ISSN 1475-5793

## 9. SEZNAM POUŽITÝCH WEBOVÝCH ZDROJŮ

1. <http://bioweb.genezis.eu/?cat=2&file=jadro> – obrázek č. 2 a č. 3 (25. 2. 2013)
2. <http://www.biologia.uniba.it/rmc/2-YAC-BAC/BAC-Chromosome/ideograms/12.html> - obrázek č. 4 (4. 3.2013)
3. <http://chemistry.about.com/od/imagesclipartstructures/ig/Amino-Acid-Structures/Phenylalanine.htm>- obrázek č. 5(22. 4. 2012)
4. [http://www.uic.edu/classes/phar/phar332/Clinical\\_Cases/aa%20metab%20cases/PKU%20Cases/PKU%20biochem%20intro.htm](http://www.uic.edu/classes/phar/phar332/Clinical_Cases/aa%20metab%20cases/PKU%20Cases/PKU%20biochem%20intro.htm) – obrázek č. 6(17. 4. 2012)
5. <http://www.gennet.cz/pravdepodobnosti.html> - obrázek č. 11 (4. 4. 2013)
6. <http://genetika.wz.cz/genealogie.htm> - text a obrázek č. 12 (11. 5. 2013)
7. <http://www.mdch.state.mi.us/pha/bofl/divchemtox/newscreensec.htm>- obrázek č. 14 (20. 3. 2012)
8. [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/sky/skyquery.cgi?clone\\_display=1&form\\_type=cell\\_page&kar\\_display=2969&karyo\\_display=SKYGRAM](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/sky/skyquery.cgi?clone_display=1&form_type=cell_page&kar_display=2969&karyo_display=SKYGRAM) – obrázek č. 15 (23. 5. 2013)
9. [http://drugline.org/img/term/rflp-12939\\_1.gif](http://drugline.org/img/term/rflp-12939_1.gif) - obrázek č. 16 (23. 5. 2013)
10. <http://www.labtestsonline.cz/screening/Screening-pojem.htm> (29. 3. 2012)
11. <http://www.sukl.cz/modules/medication/detail.php?code=0500870&tab=info> (14. 2. 2013)
12. <http://www.mdch.state.mi.us/pha/bofl/divchemtox/newscreensec.htm> (20. 3 2012)
13. <http://www.sukl.cz/modules/medication/detail.php?code=0500870&tab=info> (11. 10. 2012)
14. <http://bioweb.genezis.eu/?cat=7&file=aberracie>(3. 4. 2013)
15. <http://homepages.uel.ac.uk/V.K.Sieber/human.htm> (3. 4. 2013)
16. <http://www.vrozene-vady.cz/genetika/index.php?co=dedicnost>(7. 4. 2013)
17. <http://www.news-medical.net/health/Melanin-What-is-Melanin.aspx> (15. 4. 2013)
18. <http://vzacna-onemocneni.cz/informace-o-onemocneni/den-vzacnych-onemocneni/> (8. 5. 2013)
19. <http://www.rarediseaseday.org/article/about-rare-disease-day> (8. 5. 2013)
20. <http://www.eurordis.org/who-we-are> (8. 5. 2013)
21. <http://www.novorozeneckyscreening.cz/index.php?pg=verejnost--pri-prokazane-nemoci--pece-o-dite-s-fenylketonurii-nebo-hyperfenylalaninemii> (8. 5. 2013)
22. <http://www.generi-biotech.com/real-time-pcr-sondy-kvantitativni-real-time-pcr/> (12. 5. 2013)
23. <http://www.lf2.cuni.cz/projekty/prusa-DNA/newlook/defa4.htm> (13. 5. 2013)
24. [http://drugline.org/img/term/rflp-12939\\_1.gif](http://drugline.org/img/term/rflp-12939_1.gif) (23. 5. 2013)
25. <http://eagri.cz/public/web/mze/potraviny/legislativa/zakon-o-potravinach/provadeci-predpisy-mzd/100064897.html> (23. 5. 2013)
26. <http://eagri.cz/public/web/mze/potraviny/legislativa/zakon-o-potravinach/provadeci-predpisy-mzd/100064896.html> (23. 5. 2013)
27. <http://omim.org/entry/261600?search=MIM%20261600&highlight=261600%20mi> (28. 5. 2013)
28. <http://medical-dictionary.thefreedictionary.com/hapten> (29. 5. 2013)
29. <http://www.espku.cz/vyziva-hospitalizovaneho-pacienta-s-fenylketonurii/> - Příloha č. 3, 4,5 (27. 5. 2013)



## 10. STUDIJNÍ LITERATURA

1. KAPRAS, KOHOUTOVÁ, OTOVÁ, *Kapitoly z lékařské biologie a genetiky I., II., III.*, Karolinum, 1996 a 2005, ISBN 80-7184-322, 80-7184-581-7, 80-246-0001-3
2. KŘIVOHLAVÝ J., *Psychologie nemoci*, Grada, 1.vyd., Praha, 2002, ISBN 80-247-0179-0
3. MURRAY R. K., *Harperova biochemie*, Nakladatelství H+H, Jihlava, 2002, 4. České vyd., ISBN 80-7319-013-3
4. MASOPUST J., a PRŮŠA R., *Patobiochemie metabolických drah*, 1. vydání. Praha, Karolinum, 1999, ISBN 80-238-4589-6.

## 11. SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

AAV	Adeno-asociovaný virus
AR	autosomálně recesivní
Bp	bazické páry
BH <sub>4</sub>	tetrahydrobiopterin
DNA	deoxyribonukleová kyselina
DOPA	dihydrofenylalanin
FISH	fluorescenční in situ hybridizace
GTP	guanosintrifosfát
CNS	centrální nervová soustava
IQ	intelligenční kvocient
mBAND	mnohobarevné chromosomální pruhování
mFISH	mnohobarevná fluorescenční in situ hybridizace
MHP	mírná hyperfenylalaninémie
MIM 261600	katalogové číslo PKU podle OMIM
Non PKU	mírná hyperfenylalaninémie
OMIM	katalog mendelovské dědičnosti u člověka
PAH	fenylalaninhydroxyláza
PAL	fenylalaninaminolyáza
PCR	polymerázová řetězová reakce
Phe	fenylalanin
PKU	fenylketonurie
R158Q	typ nejčastější mutace PKU v ČR
R408W	typ 2. nejčastější mutace PKU
RAD51D	označení molekuly ovlivňující telomerickou délku

RFLP	délkový polymorfismus restrikčních fragmentů
RNA	ribonukleová kyselina
rRNA	ribosomální ribonukleová kyselina
T3	trijodtyronin
T4	tetrajodtyronin / thyrozin
UV	ultrafialové záření
UV-A	ultrafialové záření, složka A
UV-B	ultrafialové záření, složka B
UV-C	ultrafialové záření, složka C

## 12. SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1 – Schéma dvoušroubovice DNA .....	11
Obrázek 2 - Chromosom.....	12
Obrázek 3 – Karyotyp a idiogram člověka .....	13
Obrázek 4 – Orientační znázornění lokusů na chromosomu 12 .....	17
Obrázek 5- Fenylalanin.....	19
Obrázek 6 - Tetrahydrobiopterin .....	19
Obrázek 7 – Schéma hormonálních metabolitů fenylalaninu .....	20
Obrázek 8 – Biosyntéza katecholaminů.....	21
Obrázek 9 – Schéma patofyziologických metabolitů fenylalaninu .....	23
Obrázek 10 – Schéma funkce a dysfunkce PAH .....	24
Obrázek 11 – Schéma pravděpodobnosti.....	26
Obrázek 12 – Rodokmen PKU .....	26
Obrázek 13 – Fotografie odběru na screening .....	30
Obrázek 14 – Robert Guthrie (1916 – 1995) .....	31
Obrázek 15 – Barevný idiogram podle mFISH .....	34
Obrázek 16 – Výsledek RFLP .....	35

### **13. SEZNAM TABULEK**

Tabulka 1 – Ukázka obsahu fenylalaninu v potravinách .....	38
--	----

## **14. SEZNAM PŘÍLOH**

Příloha 1 – Screeningový test

Příloha 2 – Testovací zóna screeningového testu

Příloha 3 – Seznam nežádoucích potravin s vysokým obsahem fenylalaninu

Příloha 4 – Seznam vhodných potravin s nízkým obsahem fenylalaninu

Příloha 5 – Tabulka potravin s obsahem fenylalaninu

# PŘÍLOHA1: SCREENINGOVÝ TEST

Nedotýkejte se testovací zóny a terčíky. Poškozenou kartičku nepoužívejte.

Kartičku vyplňte před odběrem. Použijte kuličkové pero a dostatečný tlak k samoprůpisu. Oddělené kartičky odešlete po odběru na adresy příslušných laboratoří: jeden list na DMP a jeden list na KH+CAH+CF.

SN **0878023CZ**




Odběr první:  Důvod opakování (rescreeningu):  
Opakovaný:

Novorozenec Jméno + Příjmení Pohlaví **Ž**  **M**


Rodné číslo <small>Dávejte nebo mačky - nutno vyplnit!</small>	Pojistovna	Porodní hmotnost <small>g</small>	Gest věk <small>tydny</small>
Datum a čas narození <small>DD MM RRRR - HH MM</small>	Datum a čas odběru <small>DD MM RRRR - HH MM</small>		
Kódové číslo odběru <small>000 odběrů (AAA) + pořadí odběru (XXX) - AAAXXX</small> <b>AYL</b>	Praktický dětský lékař <small>Jméno, telefon, město</small>		
Matka novorozence <small>Jméno + Příjmení</small>			
Telefon matky (rodiny)	Adresa matky (pobytu)		
Odesílatel vzorku <small>Čitelné razítko, jmenovka, podpis</small>			

68  
002  
308

LITOMYŠLSKÁ  
NEMOCNICE, a.s.  
J.E. Purkyně 652, 570 14 Litomyšl  
DĚTSKÉ ODDĚLENÍ - NOVOROZENCŮ  
prim. MUDr. Jana Šilera  
tel.: 461 653 268

CE   EC REP  
REF 10539735 Rev AE IVD 

GE Healthcare Ltd  
Forest Farm Industrial Estate  
Carroll, CF14 7YU, UK

 GE Healthcare  
Bio-Sciences Corp  
14 Innovation Drive  
Buckingham, MA  
01561-1075, USA

## PŘÍLOHA 2: TESTOVACÍ ZÓNA SCREENINGOVÉHO TESTU





### **PŘÍLOHA 3: SEZNAM NEŽÁDOUCÍCH POTRAVIN S VYSOKÝM OBSAHEM FENYLALANINU <sup>(29)</sup>**

Maso a masné výrobky (drůbeží, králík, vepřové, hovězí, telecí, skopové, zvěřina, ryby, vnitřnosti, sójové maso, uzeniny)

Vejce (celá vejce, bílky, žloutky, sušené druhy)

Luštěniny (čočka, fazole, hrách, cizrna, sója)

Mléko a mléčné výrobky (sýry, tvaroh, jogurty, sušená mléka, zmrzliny)

Pečivo, toustový tmavý i světlý chléb, sladké pečivo

Cukrovinky (mléčná i hořká čokoláda a čokoládové bonbóny, želatinové bonbóny, sušenky, oplatky)

Ořechy

Ovoce čerstvé a sušené (mandarinky, meruňky, švestky, pomeranče, banány, ananas, kokos)

Obiloviny (mouka (pšeničná, žitná, sójová, ovesná, kukuřičná, rýžová), ovesné vločky, krupice, vaječné i bezvaječné těstoviny, Cornflakes a jiné cereální výrobky, knedlíky z prášku (houskové i bramborové)

Nápoje slazené umělým sladidlem aspartamem

## **PŘÍLOHA 4: SEZNAM VHODNÝCH POTRAVIN S NÍZKÝM OBSAHEM FENYLALNINU <sup>(29)</sup>**

Cukr a cukrovinky (med, džem, ovocné želé, fondán, tvrdé kyselé bonbóny, ovocná lízátká, ovocné lípo, žvýkačky slazené cukrem)

Nápoje (šťávy, džusy slazené cukrem, sirupy)

Ovoce (jablka, hrušky, meloun, ananas, hroznové víno)

Ovocné výrobky (přesnídávky, kompoty, džemy, ovocné nemléčné zmrzliny, děně)

Zelenina (salátová okurka, hlávkový salát)

Tuky (máslo, sádlo, margaríny, rostlinné oleje)

Speciální nízko-bílkovinné potraviny (mouky, pečivo, těstoviny, rýže, mléko, vaječná náhražka, piškoty, sušenky, vafle, lp-flakes, čokoláda, strouhanka, krupice, majonéza)

## PŘÍLOHA 5: TABULKA POTRAVIN S OBSAHEM FENYLALNINU

(29)

Druh potravin (100 g)	Obsah Phe (mg)
Čerstvé ovoce	27
Čerstvá zelenina	35
Čerstvé houby	29
Brambory a výrobky z nich	49
Mléko a mléčné výrobky	51
Pečivo	58
Vepřové maso	44
Hovězí maso	48
Uzeniny	46
Ryby	43
Ořechy	51
Obilí	55
Žloutek	49
Bílek	69
<b>Ovoce</b>	
Banán	65
Broskev	18
Hruška	14
Jablko	22
Jablko letní	9
Kiwi	35
Mandarinka	49
Meruňky	32
Nektarinka	21
Pomeranč	42
Ovocná přesnídávka (pouze z čistého ovoce)	10
Ovocné džemy	15
Ovocné kompoty	10
<b>Zelenina</b>	
Kedlubna	54
Mrkev	40
Okurka salátová	14
Okurka sterilovaná	20
Paprika syrová	54
Rajče	47
Řepa červená sterilovaná	69
Salát hlávkový	54
Kečup rajský (průměr)	50

Rajčatový protlak	50
<b>Upravené potraviny</b>	
Vařené brambory (průměr)	100
Dušená rýže	115
Dušená mrkev	45 – 50
Dušená mrkev s hráškem	25 – 30
Dušené hlávkové zelí	50 – 60
Dušené kysané zelí	45 – 50
Dušená máchovská zelenina	30 – 40
Dušená kapusta	50 – 60