

UNIVERZITA PARDUBICE

FAKULTA CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

2025

Erika Khorelová

Univerzita Pardubice  
Fakulta chemicko-technologická

Fenylketonurie a hyperfenylalaninémie  
Bakalářská práce

University of Pardubice  
Faculty of Chemical Technology

Phenylketonuria and Hyperphenylalaninemia  
Bachelor Thesis

Univerzita Pardubice  
Fakulta chemicko-technologická  
Akademický rok: 2024/2025

# ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Erika Khorelová**  
Osobní číslo: **C22204**  
Studijní program: **B0914P360019 Laboratorní diagnostika ve zdravotnictví**  
Téma práce: **Fenylketonurie a hyperfenylalaninémie**  
Téma práce anglicky: **Phenylketonuria and Hyperphenylalaninemia**  
Zadávací katedra: **Katedra biologických a biochemických věd**

## Zásady pro vypracování

1. Vypracovat teoretickou rešerši týkající se vrozených metabolických poruch fenylalaninu.
2. V úvodních kapitolách stručně popsat metabolismus aromatických aminokyselin.
3. Další kapitoly věnovat charakteristice vrozených metabolických poruch fenylalaninu, klinickým projevům a diagnostice onemocnění.
4. V závěru uvést možnosti léčby a prevalenci onemocnění v České republice a ve světě.

Rozsah pracovní zprávy: **25 s.**  
Rozsah grafických prací: **dle potřeby**  
Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam doporučené literatury:

Podle pokynů vedoucího bakalářské práce.

Vedoucí bakalářské práce: **Mgr. Šárka Štěpánková, Ph.D.**  
Katedra biologických a biochemických věd

Datum zadání bakalářské práce: **20. prosince 2024**  
Termín odevzdání bakalářské práce: **1. července 2025**

**prof. Ing. Petr Němec, Ph.D. v.r.**  
děkan

L.S.

**prof. RNDr. Tomáš Roušar, Ph.D. v.r.**  
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 28. února 2025

Prohlašuji:

Práci s názvem Fenylketonurie a hyperfenylalaninémie jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, 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., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon), ve znění pozdějších předpisů, 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.

Beru na vědomí, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a směrnicí Univerzity Pardubice č. 7/2019 Pravidla pro odevzdávání, zveřejňování a formální úpravu závěrečných prací, ve znění pozdějších dodatků, bude práce zveřejněna prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne 1. 7. 2025

Erika Khorelová

## **PODĚKOVÁNÍ**

Ráda bych touto cestou poděkovala vedoucí své bakalářské práce Mgr. Šárce Štěpánkové, Ph.D. za odborné vedení, cenné rady a trpělivost při konzultacích. Děkuji také za vstřícnost a čas, který mi věnovala.

## **ANOTACE**

Bakalářská práce se zabývá fenylketonurií, dědičným onemocněním způsobeným poruchou metabolismu fenylalaninu. Stěžejní část je věnována diagnostice a možnostem léčby fenylketonurie, zejména nízkobílkovinné dietě, terapii sapropterinem, glykomakropeptidem enzymové a genové terapii. Práce dále popisuje vznik onemocnění, jeho genetické příčiny a důsledky neléčení, včetně poškození nervového systému a poruch vývoje. Cílem je shrnout aktuální poznatky o této poruše a přístupech k její léčbě.

## **KLÍČOVÁ SLOVA**

Fenylketonurie, fenylalaninhydroxyláza, fenylalanin, tyrosin, tetrahydrobiopterin

## **TITLE**

Phenylketonuria and Hyperphenylalaninemia

## **ANNOTATION**

This bachelor's thesis focuses on phenylketonuria, a hereditary disorder caused by a defect in phenylalanine metabolism. The introductory part deals with the origin of the disease, particularly the defect of phenylalanine hydroxylase. The main part is devoted to the diagnosis and treatment of phenylketonuria, especially low-protein diet, glycomacropeptide therapy, sapropterin therapy, enzyme therapy, and gene therapy. The thesis also describes the genetic causes of the disease and the consequences of untreated phenylketonuria, including damage to the nervous system and developmental disorders. The aim of the thesis is to summarize current knowledge about this disorder and approaches to its treatment.

## **KEYWORDS**

Phenylketonuria, phenylalanine-hydroxylase, phenylalanine, tyrosine, tetrahydrobiopterine

## SEZNAM ZKRATEK A ZNAČEK

|                       |  |
|-----------------------|--|
| AA                    | dominantní homozygot   |
| Aa                    | heterozygot  |
| aa                    | recesivní homozygot  |
| AAV                   | adeno-asociované viry (adeno-associated viruses)                             |
| BH <sub>4</sub>       | tetrahydrobiopterin  |
| q-BH <sub>2</sub>     | dihydrobiopterin chinonoid   |
| 4a-OH-BH <sub>4</sub> | pterin-4a-karbinolamin   |
| B6                    | pyridoxal  |
| CoA                   | koenzym A (coenzyme A)   |
| CNS                   | centrální nervový systém (central nervous system)                            |
| DHPR                  | dihydropteridinreduktáza (dihydropteridine reductase)                        |
| EST                   | enzymová substituční terapie   |
| FAD                   | flavinadenindinukletotid (flavin adenin dinucleotide)                        |
| FMN                   | flavinmononukleotid (flavin mononucleotide)                                  |
| GMP                   | glykomakropeptid (glycomacropeptide)   |
| GTP                   | guanosintrifosát (guanosine triphosphate)                                    |
| HMG-CoA               | 3-hydroxy-3-methylglutaryl-koenzym A (3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A) |
| HPA                   | hyperfenylalaninémie (hyperphenylalaninemia)                                 |
| IQ                    | intelligenční kvocient (intelligence quotient)                               |
| QoL                   | kvalita života (quality of life)   |
| ICHS                  | ischemická choroba srdeční   |
| L-DOPA                | levorotatorní 3,4-dihydroxyfenylalanin (L-3,4-dihydroxyphenylalanine)        |
| LNAA                  | velké neutrální aminokyseliny (large neutral amino acids)                    |
| LNP                   | lipidové nanočástice (lipid nanoparticles)                                   |
| LAT1                  | L-tyr transportér aminokyselin 1 (L-type amino acid transporter 1)           |
| MPKU                  | maternální fenylketonurie (maternal phenylketonuria)                         |
| MRI                   | magnetická rezonance (magnetic resonance imaging)                            |
| mRNA                  | mediátorová RNA (messenger RNA)  |
| MS/MS                 | tandemová hmotnostní spektrometrie (tandem mass spectrometry)                |

|                     |  |
|---------------------|--|
| NAD <sup>+</sup>    | nikotinamidadenindinukleotid (nicotinamide adenine dinucleotide)                 |
| NAD(P) <sup>+</sup> | nikotinamidadenindinukleotidfosfát (nicotinamide adenine dinucleotide phosphate) |
| NLS                 | novorozenecký laboratorní screening  |
| PAH                 | fenylalaninhydroxyláza (phenylalanine hydroxylase)                               |
| PAL                 | fenylalanin-amoniak-lyáza (phenylalanine ammonia-lyase)                          |
| Phe                 | fenylalanin (phenylalanine)  |
| PKU                 | fenylketonurie (phenylketonuria)   |
| Q <sub>10</sub>     | koenzym Q <sub>10</sub>  |
| TH                  | tyrosinhydroxyláza (tyrosine hydroxylase)  |
| TPH                 | tryptofanhydroxyláza (tryptophan hydroxylase)                                    |
| Trp                 | tryptofan (tryptophan)   |
| Tyr                 | tyrosin (tyrosine)   |

## SEZNAM OBRÁZKŮ

|  |    |
|--|----|
| <b>Obrázek 1</b> Pravděpodobnost vzniku PKU u dítěte, pokud jsou oba rodiče heterozygoté .....                 | 15 |
| <b>Obrázek 2</b> Struktura PAH.....  | 16 |
| <b>Obrázek 3</b> Schéma metabolismu fenylalaninu .....   | 18 |
| <b>Obrázek 4</b> Odběr krve z paty novorozence .....   | 23 |
| <b>Obrázek 5</b> Správně odebraný vzorek krve.....   | 23 |
| <b>Obrázek 6</b> MRI snímky pacientky s PKU se zvýšenou intenzitou signálu v periventrikulární bílé hmotě..... | 27 |
| <b>Obrázek 7</b> Dítě diagnostikované s PKU .....  | 29 |

## SEZNAM TABULEK

|   |    |
|---|----|
| <b>Tabulka 1</b> Shrnutí rozdílů mezi HPA a PKU .....   | 20 |
| <b>Tabulka 2</b> Průměrný obsah Phe v různých druzích potravin .....  | 35 |
| <b>Tabulka 3</b> Porovnání tolerance Phe a celkové potřeby bílkovin u osob s PKU lišící se podle věku ..... | 36 |

# OBSAH

|   |    |
|---|----|
| ÚVOD.....   | 13 |
| 1    DEFINICE FENYLKETONURIE.....                               | 14 |
| 1.1 Dědičnost onemocnění.....                                   | 14 |
| 1.2 Fenylalaninhydroxyláza.....                                 | 15 |
| 1.2.1 Fenylalaninový hydroxylázový systém.....                  | 15 |
| 1.2.2 Struktura enzymu PAH.....                                 | 16 |
| 2    KATABOLISMUS BÍLKOVIN A AMINOKYSELIN .....                 | 17 |
| 2.1 Obecný metabolismus aminokyselin .....                      | 17 |
| 2.1.1 Transaminace .....  | 17 |
| 2.1.2 Oxidační deaminace.....                                   | 17 |
| 2.1.3 Dekarboxylace .....                                       | 17 |
| 2.2 Metabolismus aromatických aminokyselin.....                 | 18 |
| 2.2.1 Fenylalanin, Tyrosin .....                                | 18 |
| 2.2.2 Tryptofan.....  | 19 |
| 3    HYPERFENYLALANINÉMIE .....                                 | 20 |
| 4    DIAGNOSTIKA FENYLKETONURIE .....                           | 21 |
| 4.1 Historie poznání fenylketonurie.....                        | 21 |
| 4.2 Novorozenecký screening.....                                | 22 |
| 4.3 Gutrieho test.....  | 24 |
| 4.4 Tandemová hmotnostní spektrometrie.....                     | 24 |
| 4.5 BH <sub>4</sub> senzitivita ve stanovení PKU .....          | 24 |
| 5    PATOGENEZE FENYLKETONURIE.....                             | 26 |
| 5.1 Klinické projevy fenylketonurie .....                       | 28 |
| 5.1.1 Mentální retardace a opožděný psychomotorický vývoj ..... | 28 |
| 5.1.2 Poruchy pigmentace.....                                   | 29 |
| 5.1.3 Kožní problémy pacientů s PKU .....                       | 30 |
| 5.2 Maternální fenylketonurie.....                              | 30 |
| 5.2.1 Počátek diagnostiky MPKU.....                             | 30 |

|       |  |    |
|-------|--|----|
| 5.2.2 | MPKU .....                                 | 31 |
| 5.3   | Přechodná PKU.....                         | 31 |
| 5.4   | Vliv PKU na vývoj a kvalitu života.....    | 32 |
| 6     | LÉČBA PKU .....                            | 34 |
| 6.1   | Nízkobílkovinná dieta.....                 | 34 |
| 6.2   | Léčebné potraviny - Glykomakropeptid ..... | 38 |
| 6.3   | Léčba Sapropterinem .....                  | 39 |
| 6.4   | Enzymová substituční terapie .....         | 39 |
| 6.5   | Genová terapie .....                       | 41 |
| 7     | PREVALENCE ONEMOCNĚNÍ.....                 | 43 |
|       | ZÁVĚR.....                                 | 44 |
|       | POUŽITÁ LITERATURA .....                   | 45 |

## ÚVOD

Fenylketonurie je vzácné dědičné metabolické onemocnění způsobené poruchou enzymu fenylalaninhydroxylázy, který za normálních okolností přeměňuje aminokyselinu fenylalanin na tyrosin. Při nedostatečné funkci tohoto enzymu dochází k hromadění fenylalaninu v organismu, což může vést k závažnému poškození mozku a mentální retardaci. Onemocnění se dědí autozomálně recesivně a jeho projevy se objevují brzy po narození, pokud není včas diagnostikováno a léčeno.

Klíčovým nástrojem pro záchyt onemocnění je novorozenecký screening, který umožňuje zahájit léčbu ještě před vznikem klinických příznaků. Diagnostika zahrnuje nejen stanovení hladin fenylalaninu v krvi, ale i genetické testování, které pomáhá určit typ mutace a závažnost onemocnění. Patogeneze fenylketonurie je komplexní – kromě samotné toxicity zvýšeného fenylalaninu se na poškození CNS podílí také snížená syntéza neurotransmiterů v důsledku nedostatku tyrosinu.

Základem léčby je celoživotní dieta s nízkým obsahem fenylalaninu a podávání speciálních aminokyselinových směsí. Dietní režim představuje pro pacienty i jejich rodiny značnou zátěž, a proto se v posledních letech objevují alternativní terapeutické přístupy. Mezi ně patří použití glykomakropeptidu jako alternativního bílkovinného zdroje, podávání sapropterinu (BH<sub>4</sub>) ke zvýšení aktivity enzymu fenylalaninhydroxylázy a enzymová substituční terapie pomocí pegvaliázy.

Nejnovější výzkumy se zaměřují na genovou terapii, která by mohla nabídnout kauzální řešení PKU. Přestože se zatím nachází ve fázi klinických studií, představuje nadějnou možnost, jak pacientům do budoucna umožnit život bez dietních omezení.

# 1 DEFINICE FENYLKETONURIE

## 1.1 Dědičnost onemocnění

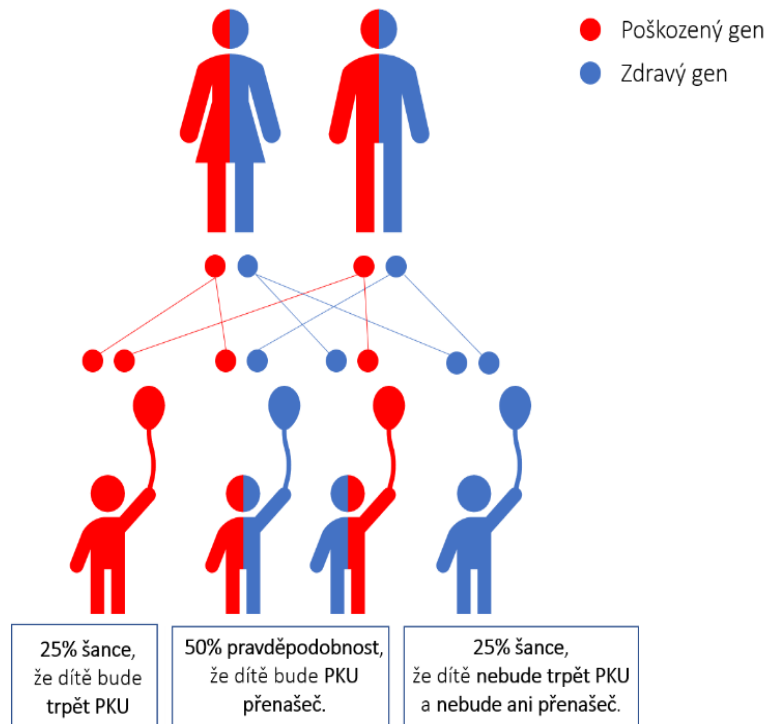
Fenylketonurie (PKU) je onemocnění, které se řadí mezi dědičné metabolické poruchy a je způsobeno mutací genu pro fenylalaninhydroxylázu (PAH). PAH je jaterní enzym, u zdravých jedinců přeměňuje hydroxylací fenylalanin na tyrosin pomocí kofaktoru tetrahydrobiopterinu (BH<sub>4</sub>). U osob s PKU však fenylalaninhydroxyláza buď zcela chybí nebo má jen nízkou aktivitu [1].

Gen pro PAH je lokalizován na dlouhém raménku 12. chromozomu (12q22-q24.1). Má velikost asi 90 kb a obsahuje 13 exonů kódujících 451 aminokyselin pro syntézu. V genu pro PAH bylo zaznamenáno více než 500 mutací, z nichž většina jsou bodové, mezi něž patří inserce, delece, nonsense a missence mutace. Většina missence mutací má za následek abnormální skládání proteinu PAH, zvýšený obrat proteinu anebo sníženou aktivitu [2, 3, 4].

PKU se dědí autozomálně recesivně, což znamená že postihuje geny umístěné na nepohlavních chromozomech autozomech. Tento typ dědičnosti sleduje přenos znaku, který je podmíněn recesivní alelou [5].

Fenotyp se projeví pouze u recesivních homozygotů (aa). U heterozygotů (Aa) nedochází k žádnému klinickému projevu a není možné je fenotypově odlišit od dominantních homozygotů (AA). Pravděpodobnost přenosu mutované alely a narození potomka s fenylketonurií je u heterozygotů (Aa) 25 %. Rodiče mohou mít další potomky, kteří budou potenciálními přenašeči PKU (50 %) nebo nositeli zdravého genu (25 %), u nichž nehrozí přenos ani projev nemoci (viz obr. 1). Pokud se zkříží recesivní homozygot (aa) s heterozygotem (Aa) pravděpodobnost vzniku onemocnění se zvýší na 50 % [5].

Těžké fenotypy jsou klasická PKU s hladinou Phe v krvi vyšší než 1 200 μmol/l, méně závažné formy deficitu PAH jsou středně závažná PKU s koncentrací Phe 900–1 200 μmol/l, mírná PKU 600–900 μmol/l, mírná hyperfenylalaninémie (HPA) 300–600 μmol/l nebo benigní HPA [6].



**Obrázek 1** Pravděpodobnost vzniku PKU u dítěte, pokud jsou oba rodiče heterozygoté; převzato z [7]

## 1.2 Fenylalaninhydroxyláza

Fenylalaninhydroxyláza (PAH) je enzym, jenž katalyzuje hydroxylaci aromatického postranního řetězce fenylalaninu, čímž vzniká tyrosin. Lokalizován je primárně v játrech a v menší míře v ledvinách, u savců je důležitý pro regulaci koncentrace fenylalaninu [8].

PAH patří mezi tři členy hydroxyláz aromatických aminokyselin včetně tyrosinhydroxylázy (TH) a tryptofanhydroxylázy (TPH) závislých na biopterinu, které jsou součástí rodiny monooxygenáz. Mají podobné katalytické mechanismy, ale odlišné regulační vlastnosti [8].

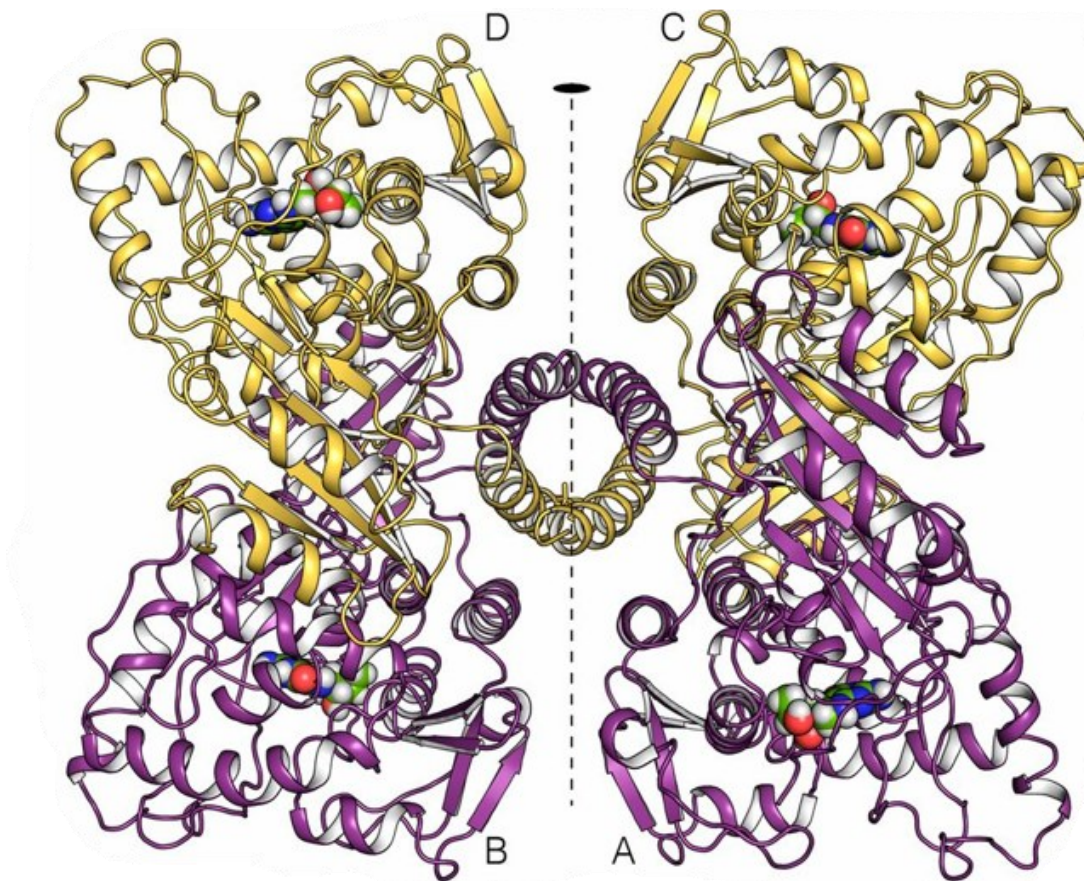
### 1.2.1 Fenylalaninový hydroxylázový systém

Tyto enzymy využívají  $\text{BH}_4$ , pteridinový kofaktor a nehemové železo k provedení katalýzy. Během této reakce dojde k heterolytickému štěpení molekulárního kyslíku, přičemž jeden atom kyslíku je postupně zakomponován do  $\text{BH}_4$ . Tetrahydrobiopterin je syntetizován z guanosintrifosfátu (GTP) v několika tkáních včetně jater. PAH katalyzuje hydroxylaci svého substrátu inkorporací jednoho atomu kyslíku do aromatického kruhu, přičemž druhý atom kyslíku je redukován na vodu pomocí dvou elektronů dodávaných kofaktorem  $\text{BH}_4$ . Tento kofaktor slouží jako ko-substrát a je hydroxylován při každé reakci na pterin-4a-karbinolamin ( $4a\text{-OH-BH}_4$ ), který se následně disociuje od enzymu. Pterinkarbinolamin dehydratáza katalyzuje dehydrataci  $4a\text{-OH-BH}_4$  na dihydrobiopterin chinonoid ( $q\text{-BH}_2$ ), zatímco redukce

zpět na  $\text{BH}_4$  je prováděna NADH-dependentní dihydropteridin reduktázou. Tyto dva enzymy tvoří součást systému PAH, což znamená, že degraduje L-Phe. Pokud se  $\text{q-BH}_2$  přeskupí na  $\text{BH}_2$ , může být redukce zpět na  $\text{BH}_4$  katalyzována dihydrofolátreduktázou [4, 8].

### 1.2.2 Struktura enzymu PAH

PAH je homo-tetramerní enzym s 50 kDa podjednotkami. Každá podjednotka je složena z N-terminální regulační domény, která obsahuje aminokyselinové zbytky, centrální katalytické domény, ta je zodpovědná za veškerou enzymatickou aktivitu enzymu, a C-terminální oligomerizační domény. Podjednotky také obsahují atom železa, nezbytný pro katalytickou aktivitu. Aktivní místo PAH je tvořeno atomem železa, který je umístěný pod povrchem proteinu. Kofaktor  $\text{BH}_4$  a substrát Phe se váží v aktivním místě v blízkosti atomu železa [6, 8]. Stužkový model lidské PAH v komplexu s  $\text{BH}_4$  je znázorněn (viz obr. 2).



Obrázek 2 Struktura PAH; převzato z [9]

## 2 KATABOLISMUS BÍLKOVIN A AMINOKYSELIN

Trávení bílkovin začíná v žaludku, kde pepsin způsobí jejich denaturaci, čímž se stanou dostupnější pro proteolytické enzymy v tenkém střevě (například trypsin, chymotrypsin, elastáza), které štěpí vnitřní peptidové vazby. Bílkoviny jsou následně hydrolyzovány na krátké peptidy a aminokyseliny a ty se vstřebávají do tkání. Resorbované aminokyseliny jsou transportovány portálním oběhem do jater, kde dochází k jejich metabolizaci [10].

Výjimku tvoří rozvětvené aminokyseliny (valin, leucin, isoleucin), které procházejí játry téměř nezměněny a jsou využívány mozkiem a svaly. Aminokyseliny po rozkladu na  $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}$  a  $\text{NH}_3$ , slouží jako zdroj energie k syntéze tělu vlastních bílkovin nebo k přeměně na jiné látky. Tryptofan a fenylalanin se řadí mezi esenciální aminokyseliny, lidské tělo si je nedovede samo syntetizovat a musí se přijímat v potravě [11].

### 2.1 Obecný metabolismus aminokyselin

Reakce aminokyselin lze rozdělit na

- i. obecné reakce – transaminace, oxidační deaminace, dekarboxylace
- ii. speciální reakce – týkající se napojení aminokyselin do citrátového cyklu nebo na tvorbu ketolátek [11].

#### 2.1.1 Transaminace

Transaminační reakce jsou katalyzovány aminotransferázami za účasti koenzymu pyridoxalfosfátu. Pyridoxalfosfát je fosforylovaný derivát vitamínu B6 pyridoxalu. Transaminace jsou reakce, které jsou vratné a probíhají pouze u neesenciálních aminokyselin. Během reakce se vymění aminoskupina  $\alpha$ -aminokyseliny s oxoskupinou 2-oxokyseliny, z aminokyseliny se vytváří 2-oxokyselina a z původní 2-oxokyseliny vzniká aminokyselina [11].

#### 2.1.2 Oxidační deaminace

Při oxidativní deaminaci je aminokyselina oxidována za přítomnosti akceptorů vodíku jako jsou  $\text{NAD}^+$ , FAD nebo FMN. Během reakce se aminoskupina přemění na ketoskupinu, přičemž se současně uvolní amoniak, který se dále detoxikuje v ornithinovém cyklu. Ketokyseliny se dále odbourávají nebo metabolizují v organismu [10].

#### 2.1.3 Dekarboxylace

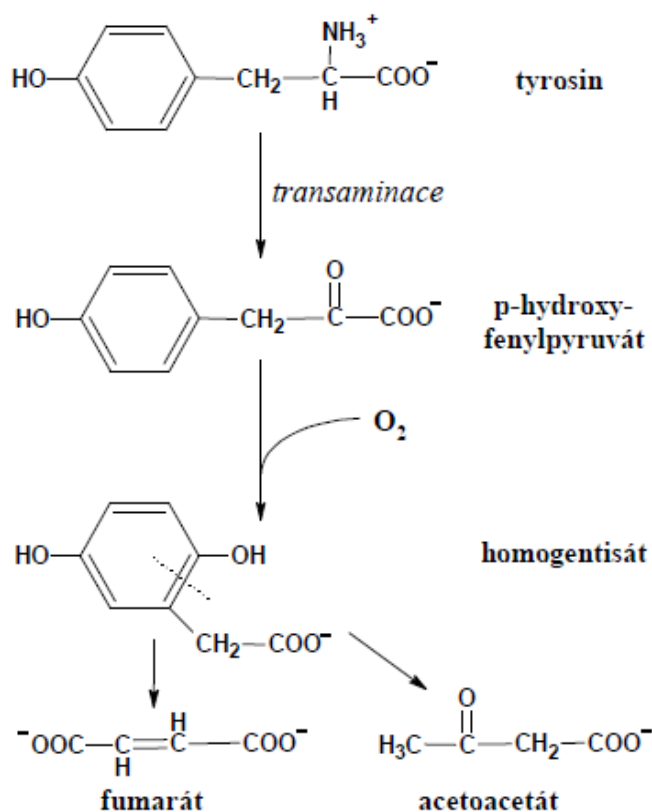
Dekarboxylací aminokyselin vznikají fyziologicky aktivní aminy zvané též biogenní aminy. Reakci katalyzují dekarboxylázy, které patří do třídy lyáz, koenzymem je

pyridoxalfosfát. Produkty dekarboxylace se uplatňují jako hormony, neurotransmitery, látky působící na tonus krevních cév nebo jako stavební kameny pro syntézu složitějších látek (např. fosfolipidy a CoA). Dekarboxylaci podléhají všechny aminokyseliny. Nadbytečné aminy jsou odbourávány pomocí monoaminoxidáz [10, 11].

## 2.2 Metabolismus aromatických aminokyselin

### 2.2.1 Fenylalanin, Tyrosin

Katabolismus aromatických aminokyselin začíná přeměnou Phe pomocí PAH na tyrosin. Dojde k hydroxylaci za účasti kofaktoru BH<sub>4</sub>. Vzniklý tyrosin je dále transaminován na p-hydroxyfenylpyruvát, ten se dále přeměňuje na homogentisát. Homogentisát se za přístupu kyslíku rozštěpí homogentisátoxygenázou a následně v několika krocích vzniká fumarát a acetoacetát (viz obr. 3). Z toho vyplývá, že aromatické aminokyseliny jsou jak glukogenní (produkt fumarát), tak ketogenní (produkt acetoacetát) [11].



**Obrázek 3** Schéma metabolismu fenylalaninu; převzato z [11]

Fenylalanin je přímým prekurzorem tyrosinu. Tyrosin je využíván pro syntézu látek, které jsou klíčové pro správnou funkci nervového systému a hormonální rovnováhu. Mezi tyto látky se řadí např. dopamin, epinefrin, thyroïdní hormony (T<sub>3</sub>, T<sub>4</sub>) nebo melanin [12, 13].

Dopamin je neurotransmitter, který ovlivňuje náladu, motivaci, odměny, pohyb a učení.

Nízké hladiny dopaminu jsou spojeny s nemocemi jako je Parkinsonova choroba, deprese nebo závislost [14, 15].

Epinefrin je hormon a neurotransmitter, začne se uvolňovat v reakci na stres nebo nebezpečí. Pomáhá tělu reagovat na akutní stresové situace tím, že zvyšuje srdeční frekvenci, krevní tlak, hladinu cukru v krvi, dilatuje dýchací cesty [16].

Thyroidní hormony jsou produkovány štítnou žlázou a mají zásadní význam pro regulaci metabolismu, růst a vývoj těla. Ovlivňují kognitivní schopnosti, kardiovaskulární funkce, termoregulaci a energetický výdej [12, 13].

### 2.2.2 Tryptofan

Tryptofan může být metabolizován různými metabolickými cestami:

- i. kynureninovou,
- ii. serotoninovou,
- iii. indolovou [17].

Prvním krokem kynureninové dráhy je rozštěpení indolového kruhu za přítomnosti enzymu tryptofanpyrolázy v cytosolu jaterních buněk a hydrolýze vzniklého produktu, tím vzniká kynurenin a formiát. Kynurenin je následně rozštěpen, hydroxylován a výsledný produkt je štěpen na alanin a 3-hydroxyanthranilát, ten se odbourává dvěma způsoby. Ve většině případů vzniká oxoadipát, který je následně přeměněn na acetyl-CoA, a v menší míře vzniká nikotinamid, který je dále využit k syntéze NAD(P)<sup>+</sup> [17].

Hydroxylací tryptofanu v poloze pět vzniká 5-hydroxytryptofan. Dekarboxylací 5-hydroxytryptofanu enzymem 5-hydroxytryptofandekarboxylázou vzniká 5-hydroxytryptamin, neboli serotonin [17].

### 3 HYPERFENYLALANINÉMIE

Hyperfenylalaninémie (HPA) je stav, při kterém jsou v krvi zvýšené hladiny aminokyseliny fenylalaninu. Může být způsobena různými faktory, včetně genetických poruch jako je PKU nebo onemocněním jater, ledvin a některými léky. Hlavní rozdíly, kterými se HPA odlišuje od PKU jsou shrnuty níže (viz tab. 1) [18].

**Tabulka 1** Shrnutí rozdílů mezi HPA a PKU; převzato z [18-20]

| Charakteristika | Hyperfenylalaninémie  | Fenylketonurie   |
|-----------------|---|--|
| Definice        | Zvýšené hladiny fenylalaninu v krvi z různých příčin                                    | Specifická genetická porucha způsobená nedostatkem fenylalaninhydroxylázy    |
| Příčiny         | Může být způsobena PKU, nedostatkem dihydropteridinredukázy (DHPR), nebo jinými faktory | Mutace v genu PAH vedoucí k nedostatku fenylalaninhydroxylázy                |
| Symptomy        | Neurologické problémy, mentální retardace, záchvaty                                     | Vážné neurologické problémy, mentální retardace, záchvaty, pokud není léčena |
| Léčba           | Dietní omezení fenylalaninu, léky jako sapropterin                                      | Přísná dieta s omezením fenylalaninu, léky jako sapropterin u některých typů |
| Genetika        | Může být genetická nebo ne, v závislosti na příčině                                     | Autozomálně recesivní genetická porucha                                      |

HPA je diagnostikována, když koncentrace fenylalaninu v krvi překročí normální rozmezí, které je obvykle do 120  $\mu\text{mol/l}$ , ale pro většinu případů HPA je horní hranice považována za 360  $\mu\text{mol/l}$  [18].

Hyperfenylalaninémie je širší pojem, který zahrnuje zvýšené hladiny fenylalaninu z různých příčin, zatímco fenylketonurie je specifická genetická porucha, jež vzniká v důsledku nedostatku fenylalaninhydroxylázy [18].

## 4 DIAGNOSTIKA FENYLKETONURIE

### 4.1 Historie poznání fenylketonurie

Fenylketonurie je genetické metabolické onemocnění, které bylo poprvé popsáno v roce 1934 norským lékařem Ivar Asbjørn Føllingem. Følling zkoumal dva sourozence s mentální retardací. Kromě opožděného vývoje děti nevykazovaly žádné jiné příznaky jejich moč a pot vydávaly zápach podobný myším. Lékař provedl u dětí vyšetření moči a přidal do ní chlorid železitý. Namísto obvyklého červenohnědého zbarvení měla moč zelenou barvu. Neznámý chromogen správně identifikoval a zjistil, že se jedná o fenylpyrohroznovou kyselinu, což vedlo k pojmenování *oligophrenia phenylpyruvica*. Tento objev byl významný, protože ukázal na metabolickou poruchu spojenou s dědičností [21].

Dr. George Jervis se významně podílel na výzkumu fenylketonurie zejména objasnění jejího biochemického základu. V roce 1953 jako první prokázal nedostatečnou aktivitu enzymu PAH v játrech pacientů s PKU, což bylo klíčové pro pochopení metabolické poruchy způsobující toto onemocnění. Fenylalaninhydroxyláza za normálních okolností hydroxyluje aminokyselinu fenylalanin na tyrosin. Pokud její funkce není dostatečná, dochází k hromadění fenylalaninu v těle, což má toxický účinek na mozek. Jervis experimentálně prokázal, že u zdravých jedinců se po podání fenylalaninu zvyšuje hladina tyrosinu v krvi, zatímco u pacientů s PKU tento proces neprobíhá. Na základě těchto zjištění potvrdil, že u pacientů s PKU je narušena hydroxylace fenylalaninu na tyrosin, což představuje základní enzymatický blok této poruchy [22, 23].

V padesátých letech minulého století se začalo zkoumat, jak snížení příjmu fenylalaninu může zlepšit zdravotní stav pacientů. Německý lékař Horst Bickel a jeho kolegové publikovali v roce 1954 první úspěšné výsledky dietní terapie zaměřené na snížení fenylalaninu v potravě [20].

Robert Guthrie byl americký lékař a mikrobiolog, který v roce 1961 vyvinul jednoduchý a účinný test na detekci zvýšené hladiny fenylalaninu v krvi pomocí bakteriální inhibiční metody. Screeningový test pro novorozence umožnil včasnou diagnostiku PKU a stal se základem pro celosvětové programy novorozeneckého screeningu. První národní screeningový program byl zaveden v Irsku v roce 1966 [24].

Fenylketonurii v České republice se významně zabývala doc. MUDr. Bohunka Blehová, CSc. na vinohradské Klinice dětí a dorostu již v roce 1958. Inspirovala se pokusem profesora Føllinga. V té době byl jediným dostupným vyšetřením klasický močový test (zelené zbarvení moči při reakci s chloridem železitým), zahájila tak vyhledávání dětí s PKU pomocí tohoto

testu. Roku 1975 se s profesorem Hyánkem zasloužila o zavedení celoplošného screeningu PKU pomocí Guthrieho testu [25].

## 4.2 Novorozenecký screening

Screening je systematické a cílené vyhledávání specifické choroby před jejím klinickým projevem, aby se včas předešlo jejím možným následkům [26].

Novorozenecký laboratorní screening (NLS) spočívá v diagnostice onemocnění pomocí měření koncentrace specifických látek nebo detekce genových mutací ve vzorku suché kapky krve na filtračním papírku. Tento vzorek, známý jako novorozenecká screeningová kartička, se odebírá všem novorozencům na území státu [26].

V České republice se od roku 2016 vyšetřuje osmnáct onemocnění (včetně PKU), mezi něž patří např.

- kongenitální hypotyreóza – vrozená snížená funkce štítné žlázy
- kongenitální adrenální hyperplazie – vrozená nedostatečnost tvorby hormonů v nadledvinách
- cystická fibróza – vrozená porucha tvorby hlenu
- argininémie
- citrulinémie I. typu
- homocystinurie z deficitu cystathionin beta-syntázy, pyridoxin non-responzivní forma
- homocystinurie z deficitu methylenetetrahydrofolátreduktázy
- leucinóza (nemoc javorového sirupu) vrozená porucha látkové výměny větvených aminokyselin atd.
- dědičné poruchy látkové výměny mastných kyselin
- dědičná porucha přeměny vitaminů deficit – biotinidázy [26].

Pravděpodobnost, že některé z uvedených onemocnění postihne právě jednoho konkrétního vyšetřovaného novorozence, je velmi nízká. K takové situaci dochází pouze u jednoho dítěte zhruba z 1150 narozených. Díky novorozeneckému screeningu však může být tomuto dítěti zachráněno zdraví, případně i život [26].

Test se provádí mezi 48. a 72. hodinou života novorozence a je nezbytné u všech s pozitivním screeninem neprodleně provést kontrolní vyšetření, aby se vyloučila možná chyba. V České republice se novorozenecký screening PKU provádí od roku 1969 na regionální úrovni a od roku 1975 probíhá plošně v celé zemi. Tento screening patří mezi nejstarší

v Evropě [25, 26].

Pro provedení screeningu musí být splněny následující body. Vyšetřovaná choroba musí být diagnostikovatelná, představovat významný zdravotně sociální problém. Choroba se často vyskytuje, má v dané populaci určitou incidenci. Chorobu je možné zachytit v jejím časném presymptomatickém stadiu, což umožňuje provést taková léčebná opatření, která mohou zásadně pozitivně ovlivnit její průběh nebo dokonce snížit úmrtnost. Existuje obecně uznávaný screeningový test. Tato opatření musí být dostupná a zajistitelná pro všechny jedince u nichž byla choroba odhalena [26].

V rámci odběru se používá kapilární krev ze zevní strany z patičky novorozence 3. až 4. den života dítěte, provede se povrchový vpich a krev je nasávána do speciálního papírku (viz obr. 4). Správně odebraný vzorek by měl vyplnit předtištěný kroužek na filtračním papírku (viz obr. 5).



**Obrázek 4** Odběr krve z paty novorozence; převzato z [27]



**Obrázek 5** Správně odebraný vzorek krve; převzato z [28]

Test se následně pošle do screeningové laboratoře nejpozději do 24 hodin. Phe je stanovován v suchých kapkách. U dítěte s PKU je už 72–96 hodin po narození zřetelně zvýšená hladina Phe a při screeningu je dítě zachyceno jako podezřelé z PKU. Po záchytu ihned probíhá podrobné vyšetření [28, 29].

### 4.3 Gutrieho test

Gutrieho test je bakteriální inhibiční test. Testování se provádí naočkováním *Bacillus subtilis* na agar a přidáním jeho kompetitivního inhibitoru ( $\beta$ -2-thienylalaninu). Inhibitor mívá obdobnou molekulární strukturu jako aminokyselina. Poté se přidá zaschlá kapka krve odebraná na filtračním papírku a vysoké hladiny Phe překonají inhibici, což vede k růstu bakterií kolem vzorku [29].

### 4.4 Tandemová hmotnostní spektrometrie

V klinické biochemii se tandemová hmotnostní spektrometrie (MS/MS) stala přední technologií a při použití v testech novorozeneckého screeningu se ukázala jako zvláště citlivá a specifická, je schopna odhalit desítky metabolických onemocnění z jediné kapky krve [30].

Metoda umožňuje detekovat metabolity v koncentracích pod 1  $\mu\text{mol/l}$  což snižuje výskyt falešně pozitivních výsledků oproti starším metodám. Princip MS/MS spočívá v kombinaci dvou hmotnostních analyzátorů. První analyzátor izoluje ionty specifických metabolitů (např. acylkarnitiny, aminokyseliny). Druhý analyzátor rozkládá tyto ionty na fragmenty, jejichž hmotnostní poměry identifikují konkrétní poruchy [30].

Tandemová hmotnostní spektrometrie použitá pro vyšetřování dědičných metabolických poruch může zachytit přibližně 20 onemocnění [26].

### 4.5 BH<sub>4</sub> senzitivita ve stanovení PKU

Tetrahydrobiopterin hraje zásadní roli při diagnostice a léčbě fenylylketonurie, protože umožňuje určit, kteří pacienti reagují na jeho suplementaci jako kofaktoru enzymu fenylylalaninhydroxylázy. Tato reakce může vést ke snížení hladin fenylylalaninu v krvi a zároveň usnadnit dietní režim [31].

Pro vyloučení deficitu BH<sub>4</sub> se používá metoda známá jako BH<sub>4</sub> zátěžový test. Dítěti se podává 20 mg/kg BH<sub>4</sub> rozpuštěno ve 20 až 30 ml vody po dobu jednoho až dvou dnů a monitoruje se hladina Phe v krvi po 8 až 24 hodinách, kdy se sleduje pokles hladiny Phe. Pro pacienty s nejasnými výsledky může být test prodloužen na 7 dní, aby se minimalizovalo riziko falešně negativních výsledků [32].

Výsledky zátěžového testu BH<sub>4</sub> umožňují rozdělit PKU na defekt PAH s BH<sub>4</sub> senzitivitou nebo na defekt PAH bez BH<sub>4</sub> senzitivity. V případě BH<sub>4</sub> senzitivity se poškození vyskytuje v oblasti syntézy a regenerace BH<sub>4</sub>. Senzitivita BH<sub>4</sub> se u zátěžového testu projeví poklesem koncentrace Phe v plazmě až o 30 % [33].

## 5 PATOGENEZE FENYLKETONURIE

Nedostatečná aktivita PAH vede ke dvěma hlavním patologickým stavům – zvýšené hladině fenylalaninu (hyperfenylalaninémii) a snížené hladině tyrosinu (hypotyrosinémii) [34].

Enzymatický deficit fenylalaninhydroxylázy způsobuje narušení přeměny fenylalaninu na tyrosin, to vede k akumulaci Phe v krvi na koncentrace přesahující 1200  $\mu\text{mol/l}$ . Tato hyperfenylalaninémie kompetitivně inhibuje transport velkých neutrálních aminokyselin (LNAA) přes hematoencefalickou bariéru prostřednictvím společného transportéru LAT1, čímž omezuje dostupnost Tyr, Trp a dalších prekurzorů neurotransmiterů v mozku. Akumulovaný Phe je metabolizován alternativními drahami na toxické ketolátky včetně fenylpyruvátu, fenylacetátu a fenyllaktátu, které poškozují CNS prostřednictvím inhibice enzymů podílejících se na syntéze neurotransmiterů a přímé neurotoxicity. Tyto látky způsobují charakteristický zápach po myšíně [6].

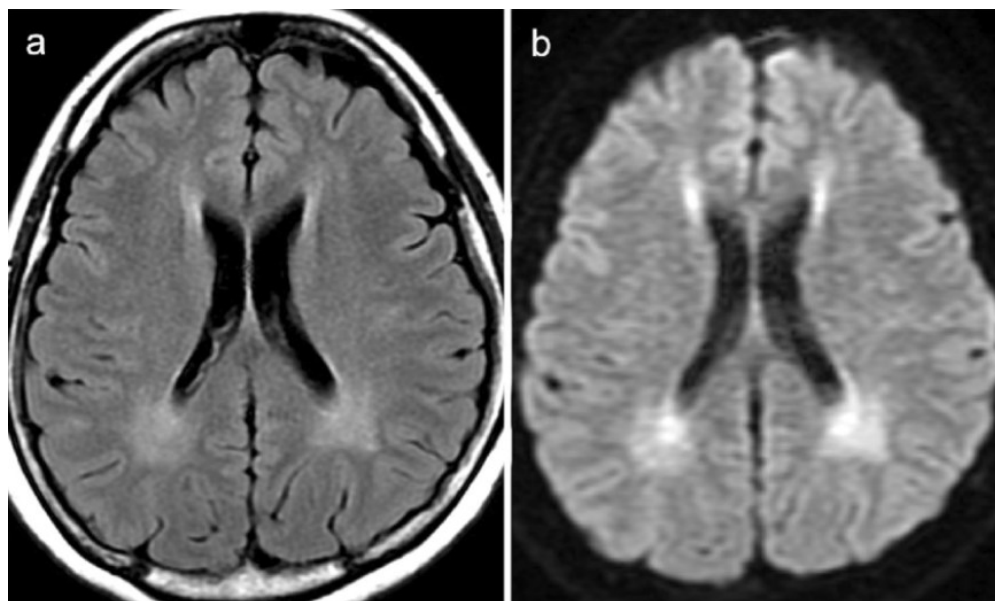
Oxidační stres u lidí s PKU vzniká při nerovnováze mezi tvorbou reaktivních forem kyslíku a dusíku a kapacitou antioxidačního systému. Tento stav může způsobit poškození proteinů, lipidů i DNA. Souvislost s rozvojem neurodegenerativních onemocnění jako Parkinsonova či Alzheimerova choroba, epilepsie nebo demyelinizační procesy je předmětem intenzivního výzkumu. Mozková tkáň je vůči tomuto jevu obzvláště citlivá kvůli vysoké spotřebě kyslíku, zvýšeným koncentracím železa, omezené antioxidační kapacitě, přítomnosti excitačních aminokyselin a metabolickým procesům dopaminu vedoucím k tvorbě peroxidu vodíku [35].

Studie na zvířecích modelech s hyperfenylalaninemií a analýzy biologických vzorků pacientů s PKU prokázaly, že zvýšené hladiny fenylalaninu jsou provázeny poškozením DNA, proteinů a lipidů. Toto poškození se projevuje například oxidací sulfhydrylových skupin, tvorbou karbonylových derivátů nebo zvýšenou koncentrací malondialdehydu a reaktivních látek reagujících s thiobarbiturovou kyselinou. Současně byla pozorována snížená aktivita klíčových antioxidačních enzymů katalázy, superoxiddismutázy a glutathionperoxidázy spolu s poklesem hladin beta-karotenu, koenzymu Q<sub>10</sub> a L-karnitinu. Narušení těchto ochranných mechanismů vytváří předpoklady pro rozvoj oxidačního stresu u osob s fenylketonurií [35].

U neléčené fenylketonurie dochází v důsledku chronicky zvýšené hladiny fenylalaninu k rozsáhlým strukturálním změnám v mozkové tkáni. Jedním z hlavních mechanismů poškození je negativní vliv na oligodendrocyty, buňky zodpovědné za tvorbu myelinu, čímž výrazně narušuje proces myelinizace axonů. Zvýšená hladina fenylalaninu inhibuje enzym HMG-CoA reduktázu a tím narušuje syntézu cholesterolu, jednoho z hlavních lipidů myelinové

membrány [34].

Důsledkem tohoto narušení je snížení integrity axonálních drah a abnormální vývoj bílé hmoty mozku. Tyto změny často vedou ke vzniku demyelinizačních lézí, které jsou typickým znakem postižení bílé hmoty u pacientů s PKU. Neurozobrazovací studie ukazují, že u většiny pacientů s PKU je v periventrikulární bílé hmotě patrná vysoká intenzita signálu (viz obr. 6), která se v těžších případech může rozšiřovat také do frontálních a subkortikálních oblastí [34, 36].



**Obrázek 6** MRI snímky pacientky s PKU se zvýšenou intenzitou signálu v periventrikulární bílé hmotě; převzato z [37]

Dalším důsledkem vysoké hladiny fenylalaninu je jeho abnormální inkorporace do proteinů. Fenylalanin se může posttranslačně začlenit do  $\alpha$ -tubulinu na místo, kde se normálně vyskytuje tyrosin. Tato změna v sekvenci  $\alpha$ -tubulinu ovlivňuje dynamiku mikrotubulů, klíčových komponent cytoskeletu odpovědných za buněčný tvar, transport a dělení. V buněčných kulturách bylo pozorováno, že tyto změny vedou ke zpomalení proliferace neuronů až o 30–40 % a k omezení retrakce neuritů, což může zásadně narušit vývoj nervové soustavy [38].

Mechanismus, kdy je syntéza proteinů a správná funkce cytoskeletu narušena, může vysvětlovat vznik mikrocefalie u dětí, jejichž matky trpěly neléčenou fenylketonurií během těhotenství. Nedostatečný růst a diferenciací neuronů v důsledku těchto biochemických změn vede ke sníženému objemu mozku a dalším neurologickým komplikacím [38].

## 5.1 Klinické projevy fenylketonurie

### 5.1.1 Mentální retardace a opožděný psychomotorický vývoj

U dětí s neléčenou fenylketonurií vede zvýšená koncentrace fenylalaninu k závažnému narušení mozkového vývoje. Nejzávažnějším důsledkem je těžká mentální retardace, hodnoty IQ často klesají pod 50, a to znamená těžké intelektuální postižení. Tento stav je nevratný a je spojen s trvalým poškozením mozkové tkáně. Kromě mentální retardace se u těchto dětí často objevuje mikrocefalie (zmenšení obvodu hlavy), epileptické záchvaty a výrazné potíže v oblasti řeči a intelektuálního rozvoje [39, 40].

Dalším častým projevem je opožděný psychomotorický vývoj. Děti dosahují motorických milníků (například sezení, chůze) později než jejich vrstevníci. Výrazné je také zpoždění v rozvoji řeči a potíže s učením. Podle zahraničních studií mají i děti s včas diagnostikovanou a léčenou PKU vyšší riziko poruch exekutivních funkcí, problémů s pozorností a sociálních obtíží. U neléčených pacientů je opoždění psychomotorického vývoje ještě výraznější a často přetrvává i v dospělosti [34, 41, 42].

Neurologické a psychiatrické symptomy zahrnují širokou škálu obtíží. Kromě motorických deficitů, jako jsou třes nebo zvýšené reflexy se mohou objevit autistické rysy, hyperaktivita, agresivita, úzkosti, deprese a další poruchy chování. Výzkumy ukazují, že až polovina dospělých s PKU trpí některou formou psychiatrických potíží, i když byli léčeni. Moderní zobrazovací metody potvrzují časté změny v bílé hmotě mozku, které souvisejí s kognitivními a behaviorálními poruchami. Patofyziologicky je poškození mozku způsobeno nejen přímou toxicitou fenylalaninu, ale také narušením metabolismu dalších důležitých aminokyselin a neurotransmiterů, což negativně ovlivňuje vývoj nervové soustavy [34, 41-43].

PKU významně ovlivňuje hladiny dopaminu a serotoninu prostřednictvím metabolických mechanismů spojených s akumulací fenylalaninu [23].

#### i. **Dopamin:**

Při vysokých hladinách Phe většinou nad 1500  $\mu\text{mol/l}$  dochází k bloádě enzymu PAH, který je zodpovědný za přeměnu Phe na Tyr. Tyr je následně prekurzorem pro tvorbu L-DOPA, což je klíčový mezikrok v biosyntéze dopaminu. Nedostatek Tyr vede k poklesu tvorby dopaminu, což se může projevit poruchami pozornosti, motorickými obtížemi (například hypotonie, dystonie) a výkyvy nálad [23, 44].

#### ii. **Serotonin:**

K inhibici tvorby serotoninu dochází již při nižších hladinách Phe kolem 485  $\mu\text{mol/l}$ . Phe soutěží s Trp o stejný transportér přes hematoencefalickou bariéru, to znamená, že zvýšená

koncentrace Phe snižuje dostupnost Trp v mozku. Trp je nezbytný pro syntézu serotoninu, protože je jeho přímým prekurzorem. Snížená dostupnost Trp vede ke snížení syntézy serotoninu, a to může způsobit depresivní stavy, úzkosti a poruchy spánku [44].

U forem PKU spojených s deficitem  $BH_4$  je syntéza neurotransmiterů omezena dvojnásobně, bez  $BH_4$  klesá exkrece dopaminu na 50 % a serotoninu na 10 % oproti zdravým jedincům [44].

### 5.1.2 Poruchy pigmentace

Při absenci nebo snížené aktivitě enzymu PAH dochází k hromadění Phe v organismu a současnému deficitu Tyr, zásadního prekurzoru pro tvorbu melaninu. Melanin jako hlavní pigment určující barvu kůže, vlasů a duhovky, vzniká z Tyr prostřednictvím enzymu tyrosinázy. Vysoké koncentrace Phe totiž brání transportu Tyr do melanocytů a zároveň blokuje aktivitu tyrosinázy, čímž narušují syntézu melaninu. Tato dvojí kolize vede k výraznému snížení produkce melaninu a rozvoji charakteristických pigmentových abnormalit [45].

Projevy poruchy pigmentace u PKU zahrnují světlou pleť, světlé vlasy (často blond) a modré zbarvení očí (viz obr. 7) zvláště patrné u neléčených jedinců. U pacientů s přirozeně tmavším fototypem vzniká nápadný kontrast mezi přirozenou pigmentací a projevy onemocnění. Snížená hladina melaninu zvyšuje citlivost kůže na UV záření, což predisponuje ke spáleninám a dalším komplikacím [46].



**Obrázek 7** Dítě diagnostikované s PKU; převzato z [47]

### 5.1.3 Kožní problémy pacientů s PKU

Chronický ekzém patří mezi nejvýraznější a nejtrvalejší kožní projevy neléčené fenylketonurie. U těchto pacientů se kůže stává suchou, drsnou a často pokrytou svědivými, zarudlými ložisky, která mohou přecházet až v šupinaté či popraskané plochy. Tyto obtíže často začínají již v dětství a mohou přetrvávat až do dospělosti, přičemž závažnost ekzému se liší podle míry nedodržování léčby a individuální citlivosti. Ekzém u PKU je důsledkem hromadění toxických metabolitů fenylalaninu, které narušují přirozenou ochrannou bariéru pokožky a vedou k jejímu vysušování a zánětlivým reakcím [48, 49].

V některých případech je ekzém natolik výrazný, že významně ovlivňuje kvalitu života pacienta, protože je nejen viditelný, ale i velmi nepříjemný doprovázený trvalým pocitem napětí, pálení a svědění. Celkově je pro fenylketonurii typická kůže nejen suchá a drsná na dotek, ale také citlivá, snadno podrážděná a náchylná k opakovaným kožním potížím, které vyžadují pravidelnou a šetrnou péči [48, 49].

Typickým doprovodným znakem je tzv. „myší zápach“ způsobený vylučováním fenylactové kyseliny prostřednictvím moči a potu [20].

## 5.2 Maternální fenylketonurie

*Syndromem maternální fenylketonurie (MPKU) nazýváme stav, při kterém dochází v důsledku vysokých hladin fenylalaninu v krvi matky k poškození plodu v době jeho vývoje v děloze. U takto narozených dětí se v 92 % objevuje mentální opoždění (retardace), v 73 % malý obvod hlavy (mikrocefalie), ve 40 % nízká porodní hmotnost a ve 12–15 % vrozené vývojové vady [50].*

### 5.2.1 Počátek diagnostiky MPKU

Dr. George Jarvis patří mezi průkopníky výzkumu fenylketonurie a jeho práce z roku 1937 má zásadní význam pro pochopení tzv. maternálního PKU syndromu. Jako první upozornil na to, že u žen s neléčenou PKU může docházet k poškození jejich dětí, které však samy touto chorobou nemusí trpět [51].

Jervis ve svých kazuistikách popsal, že pokud matka s PKU nedodrží dietu, dochází u jejích dětí často k mentálnímu postižení, mikrocefalii nebo dalším vrozeným vadám. Tyto komplikace přitom nevznikají kvůli genetické poruše dítěte, ale v důsledku působení vysokých hladin fenylalaninu během těhotenství. Zásadním přínosem jeho práce bylo zjištění, že zvýšená koncentrace fenylalaninu v krvi matky má teratogenní účinek na vyvíjející se plod. Tento poznatek vedl k pochopení, že je nutné, aby ženy s PKU v období těhotenství pečlivě

dodržovaly dietní opatření. Právě díky těmto zjištěním se později stala dieta s nízkým obsahem fenylalaninu standardem péče o těhotné ženy s touto diagnózou, aby se předešlo poškození dítěte [51].

### **5.2.2 MPKU**

Špatně léčená fenylketonurie u těhotných žen představuje významné riziko pro vývoj plodu. Nedostatečná kontrola hladin Phe v krvi matky zejména během prvních 8–10 týdnů těhotenství může vést k intrauterinní růstové restrikci, mikrocefalii, psychomotorické retardaci nebo vrozeným srdečním vadám u dítěte. Tyto komplikace se mohou objevit bez ohledu na to, zda plod sám nese genetickou mutaci pro PKU [6, 52].

Prevenčí je udržování koncentrace Phe v plazmě matky v rozmezí 120–360  $\mu\text{mol/l}$ , ideálně pod 240  $\mu\text{mol/l}$ . Studie ukazují, že při bazální hladině Phe přesahující 900  $\mu\text{mol/l}$  stoupá riziko vzniku vrozené srdeční vady (ICHS) u potomka na 14 %, zatímco hodnoty pod 900  $\mu\text{mol/l}$  toto riziko snižují pod 2 %. Ani mírná forma PKU u matky s hladinami Phe pod 500  $\mu\text{mol/l}$  nechrání před riziky, pokud není metabolická kontrola zahájena nejpozději v 8. týdnu těhotenství [6, 52].

Klíčovým faktorem je schopnost placenty koncentrovat Phe na fetální straně, což může ovlivnit vývoj plodu i při heterozygotním stavu dítěte. Nezralý jaterní enzymatický systém plodu navíc omezuje schopnost zpracovat přebytečný fenylalanin. V léčbě se u žen reagujících na  $\text{BH}_4$  postupně zavádí sapropterin, který zvyšuje toleranci Phe a nezpůsobuje nadměrné abnormality plodu [6].

Během 16.–22. týdne těhotenství je nutné upravit stravu tak, aby omezovala příjem Phe, ale zároveň zabránila hypofenylalaninémii plodu. Komplexní přístup zahrnuje dostatečný příjem bílkovin, suplementaci tyrosinu a kyseliny listové. Dosud však chybí systematický registr sledující vliv diety nebo terapie  $\text{BH}_4$  na výskyt fetálních abnormalit u matek s PKU [6].

### **5.3 Přejídná PKU**

Přejídná fenylketonurie je vzácná forma poruchy metabolismu Phe, která se od klasické PKU liší tím, že zvýšené hladiny Phe jsou pouze dočasné a obvykle se postupně normalizují bez nutnosti dlouhodobé léčby. Nejčastěji je tento stav způsoben nezralostí jaterních enzymů, především PAH, což se vyskytuje zejména u předčasně narozených dětí. U některých novorozenců může být přejídná hyperfenylalaninémie důsledkem dočasné inhibice enzymových systémů nebo jejich pomalejšího dozrávání. Další možnou příčinou je také dočasný nedostatek kofaktorů, například  $\text{BH}_4$ , jehož hladiny se mohou spontánně upravit [53].

Klinicky se přechodná PKU projevuje tím, že hladiny fenylalaninu se během několika týdnů až měsíců života spontánně vrací do normálních hodnot, a to často bez nutnosti dlouhodobé diety s omezením fenylalaninu. Pokud je stav včas rozpoznán a dítě je krátkodobě sledováno, neurologické komplikace se obvykle nevyskytují. Rozlišení mezi přechodnou a klasickou PKU je velmi důležité, protože zatímco klasická forma vyžaduje celoživotní dietní opatření, přechodná forma tuto léčbu nevyžaduje [53].

Diagnostika přechodné PKU je založena na opakovaném měření hladin fenylalaninu a sledování jejich vývoje v čase. Významnou roli hraje také genetická analýza a případné testování aktivity enzymu nebo jeho kofaktorů. V některých případech je vhodné dočasně zavést dietu s omezením fenylalaninu, dokud se nepotvrdí normalizace hodnot [53].

Závěrem lze říci, že přechodná fenylketonurie představuje vzácnou, avšak důležitou variantu hyperfenylalaninémie, která se spontánně upravuje a nevyžaduje celoživotní léčbu. Zahraniční studie doporučují pečlivé sledování novorozenců s mírně zvýšenou hladinou fenylalaninu, aby bylo možné předejít zbytečné dietní restrikci a zároveň nezmeškat případnou diagnózu klasické PKU [53].

## 5.4 Vliv PKU na vývoj a kvalitu života

### Děti a adolescenti

- i. **Kognitivní a psychosociální dopady:** I při včasné léčbě mohou mít děti s PKU horší výsledky v některých oblastech kognitivních funkcí, jako je pracovní paměť, pozornost a rychlost zpracování informací [54].
- ii. **Kvalita života:** Studie ukazují, že děti a adolescenti s PKU mají nižší skóre kvality života (QoL) v oblastech fyzického zdraví, psychosociálního fungování, emocí a školního výkonu ve srovnání se zdravou populací [54].
- iii. **Sociální omezení:** Dietní omezení, nutnost pravidelných kontrol a krevních odběrů, a odlišnost ve stravování mohou vést k sociální izolaci a stigmatizaci [55].

### Dospělí

- i. **Kognitivní a psychosociální dopady:** V dospělosti často dochází k uvolnění dietních restrikcí, což může vést ke zvýšení hladiny fenylalaninu a zhoršení kognitivních funkcí i kvality života [54, 56].
- ii. **Kvalita života, psychická zátěž:** Úzkost z kontroly hladin fenylalaninu, pocity viny při nedodržení diety, únava a emoční potíže patří mezi nejčastější negativní faktory ovlivňující kvalitu života dospělých s PKU [56].

- iii. **Sociální a pracovní omezení:** Dietní omezení a s tím spojené náklady, obtížnost stravování mimo domov, a nutnost celoživotního sledování ovlivňují sociální a pracovní začlenění [56-58].

Vliv PKU na kvalitu života (QoL) se liší podle věku pacienta. Mezinárodní přehledové studie ukazují, že děti a mladší pacienti často dosahují podobné úrovně kvality života jako jejich zdraví vrstevníci, a to s výjimkou některých oblastí, například sociálního fungování a školních výsledků, které mohou být u dětí s PKU mírně zhoršené. Naopak dospělí s PKU, zejména ti, kteří byli léčeni pozdě nebo mají nižší vzdělání, často uvádějí nižší kvalitu života. Nejčastěji se to projevuje v oblasti duševního a emočního zdraví. U dospělých pacientů je také častým problémem únava. Tyto poznatky naznačují, že děti mohou lépe zvládat nároky léčby díky podpoře rodičů, zatímco s přibývajícím věkem se mohou obtíže spojené s chronickým onemocněním a dodržováním léčby prohlubovat [59-61].

Kvalita života pacientů s PKU je úzce spojena s úrovní metabolické kontroly, tedy udržováním hladiny fenylalaninu v doporučeném rozmezí. Lepší kontrola hladin Phe vede k lepším kognitivním výsledkům i vyšší kvalitě života. Naopak špatná metabolická kontrola bývá spojena se zvýšenou úzkostí, emočním stresem a pocity viny, které souvisejí s obtížemi při dodržování dietních omezení nebo užívání doplňků stravy. Výzkumy využívající specifické dotazníky pro PKU (například PKU-QoL) ukazují, že přísná dieta a pravidelné sledování jsou zásadní pro udržení dobré kvality života, avšak dlouhodobá dietní omezení mohou negativně ovlivnit emoční pohodu a sociální život pacientů [59, 60].

Závažnost PKU, zejména v případě klasické formy onemocnění, znamená přísnější dietní omezení a větší zásah do každodenního života. Dospívající a dospělí s klasickou PKU často čelí větším obtížím při dodržování diety a uvádějí vyšší emoční i finanční zátěž ve srovnání s pacienty s mírnějšími formami PKU. I když některé studie neprokázaly přímou souvislost mezi závažností PKU a celkovou zátěží příznaky, potřeba užívat speciální aminokyselinové doplňky a omezení vyplývající z přísné diety jsou u klasické PKU výraznější. To vede k většímu dopadu na kvalitu života, zejména v oblasti emočního zdraví a sociálních vztahů [59, 60].

Souhrnně lze říct, že věk, úroveň metabolické kontroly a závažnost PKU jsou hlavními faktory ovlivňujícími kvalitu života pacientů s tímto onemocněním. Ačkoli mnoho pacientů s PKU uvádí celkově dobrou kvalitu života, přetrvávají specifické výzvy zejména v oblasti emočního zdraví, dodržování léčby a sociálního začlenění. Tyto obtíže jsou nejvýraznější u dospělých pacientů s horší metabolickou kontrolou a u těch s klasickou formou PKU [59, 60].

## 6 LÉČBA PKU

### 6.1 Nízkobílkovinná dieta

Nízkobílkovinná dieta je základním pilířem léčby pacientů s PKU, musí být zahájena co nejdříve po stanovení diagnózy (ideálně již v kojeneckém věku). Její princip spočívá v omezení příjmu bílkovin, zejména aminokyseliny Phe, aby nedocházelo k jeho hromadění v krvi a tím k poškození nervového systému. Dieta je velmi přísná a musí být dodržována celoživotně, protože vysoké hladiny Phe jsou škodlivé v jakémkoli věku. Přísnost dietního omezení se stanovuje individuálně podle tolerance pacienta, která se může v průběhu života měnit a často se s věkem zvyšuje. V období plánování těhotenství a během těhotenství je nutné dietu ještě zpřísnit, aby se zabránilo poškození vývoje plodu, například mentální retardaci nebo vrozeným vadám [62, 63].

U pacientů s PKU je potřeba výrazně omezit konzumaci bílkovin, protože všechny běžné bílkoviny obsahují esenciální aminokyselinu Phe. Proto je pro snížení příjmu Phe nezbytné omezit potraviny bohaté na bílkoviny, jako je maso, ryby, vejce, mléčné výrobky, luštěniny, ořechy a běžné pečivo [63, 64].

Dieta se skládá ze tří hlavních částí:

- i. přísné omezení příjmu Phe z běžných potravin,
- ii. nahrazení přirozených bílkovin speciálními přípravky bez Phe,
- iii. volný příjem potravin s velmi nízkým obsahem Phe [64].

Potraviny s velmi nízkým obsahem Phe (<30 mg/100 g) jako jsou cukr, tuky, oleje, některé druhy ovoce a zeleniny a speciální nízkobílkovinné potraviny, lze konzumovat bez omezení. Ovoce a zelenina obvykle obsahují 20–40 mg Phe na 1 g bílkovin. Mnoho druhů je možné jíst volně, pokud jejich obsah Phe nepřesáhne doporučený limit, který je většinou stanoven na 75 mg/100 g. Speciální nízkobílkovinné potraviny např. chleba, těstoviny a sušenky jsou vyráběny tak, aby obsahovaly minimum Phe a představují důležitou součást stravy pacientů s PKU [64, 65].

Potraviny se středním obsahem Phe (>30 mg/100 g) mezi které patří např. brambory, špenát, brokolice, některé běžné obiloviny a speciální chleba či těstoviny s vyšším obsahem bílkovin je nutné do jídelníčku zařazovat v přesně vypočteném množství podle individuální tolerance [64, 65].

U těchto potravin je třeba pečlivě sledovat jejich obsah Phe a započítávat jej do denního povoleného příjmu (viz tab. 2 níže), kde je přehled potravin s průměrným obsahem Phe v 1 g

bílkoviny [65].

Pro výpočet obsahu Phe v potravinách na základě množství bílkovin je nezbytné zjistit přesný obsah bílkovin a zvolit vhodný konverzní faktor podle typu potraviny. K efektivnímu sledování příjmu Phe je důležité znát jeho obsah v jednotlivých potravinách. Obecně se doporučuje, aby potraviny obsahující jeden gram bílkovin nebo více na porci byly přesně odměřeny a aby bylo zaznamenáno odpovídající množství přijatého Phe. Tradiční metoda odhadu obsahu Phe spočívá v tom, že se množství bílkovin v gramech vynásobí číslem 50. Tento způsob vychází z předpokladu, že Phe tvoří maximálně přibližně 5 % celkové hmotnosti bílkovin [66].

Jogurt (živočišná bílkovina): 4 g bílkovin  $\times$  51 mg/g = 204 mg Phe [67]

**Tabulka 2** Průměrný obsah Phe v různých druzích potravin; převzato z [66, 67]

| Potravina                     | Průměrný obsah Phe v 1 g bílkoviny (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                                      |
| Bílý jogurt                   | 180–200                                 |
| Žloutek                       | 49                                      |
| Bílek                         | 69                                      |
| Cukrovinky, čokoláda, sušenky | 50                                      |

Tolerance Phe u pacientů s PKU závisí nejen na míře zbytkové aktivity enzymu PAH, ale také na dalších faktorech, mezi které patří například věk, růst a úroveň fyzické aktivity. U většiny osob s klasickou formou PKU je denní tolerance Phe nižší než 500 mg (což odpovídá asi 10 g přirozené bílkoviny), zatímco pacienti s mírnějšími nebo středně těžkými formami PKU obvykle zvládnou přijmout méně než 1000 mg Phe denně (přibližně 20 g přirozené bílkoviny). Je známo, že schopnost organismu tolerovat bílkoviny se v průběhu života mění, proto je nutné pravidelně přehodnocovat toleranci Phe, aby bylo možné co nejlépe využít bílkoviny ve stravě pacientů [68, 69].

U většiny pacientů s PKU je příjem přirozených bílkovin výrazně omezen kvůli nízké toleranci Phe, a to vytváří výrazný nesoulad mezi jejich možnostmi stravování a celkovými výživovými potřebami (viz tab. 3). Bílkoviny hrají zásadní roli pro udržení svalové hmoty, zdraví kostí, imunitních funkcí, tvorbu hormonů i regulaci pocitu nasycení. Z tohoto důvodu je nezbytné zajistit dostatečný příjem bílkovin i přes tato omezení. Chybějící množství se nahrazuje pomocí speciálních léčebných přípravků, které pokrývají 75–85 % celkové denní potřeby bílkovin. Tyto přípravky slouží jako důležitý zdroj živin a kompenzují deficit způsobený nízkým obsahem přirozených bílkovin ve stravě, doporučuje se, aby bílkoviny tvořily přibližně 10–15 % celkového energetického příjmu [68, 70].

Tabulka ukazuje, že tolerance Phe výrazně roste s věkem, zatímco poměr mezi přirozeným proteinem a celkovou potřebou bílkovin se mění. U dospělých se doporučený denní příjem bílkovin pohybuje mezi 74–100 g, zatímco tolerance Phe zůstává stejná pro obě pohlaví (220–1100 mg/den) [68].

**Tabulka 3** Porovnání tolerance Phe a celkové potřeby bílkovin u osob s PKU lišící se podle věku; převzato a upraveno z [68]

| Věkové období   | Odhadovaná hmotnost (kg) | Tolerance Phe (mg/den) [přirozený protein] | Celková denní potřeba bílkovin (g) |
|-----------------|--------------------------|--|------------------------------------|
| 0 až <3 měsíce  | 5,0                      | 130–430 [2,6–8,6 g]                        | 15–17,5                            |
| 3 až <6 měsíců  | 7,2                      | 135–400 [2,7–8,0 g]                        | 21,6–25,2                          |
| 6 až <9 měsíců  | 8,4                      | 145–370 [2,9–7,4 g]                        | 21–25,2                            |
| 9 až <12 měsíců | 10,2                     | 135–330 [2,7–6,6 g]                        | 25,5–30,6                          |
| 1 až <4 roky    | 12,2                     | 200–320 [4,0–6,4 g]                        | ≥30                                |
| 4 až 8 let      | 21,0                     | 200–400 [4,0–8,0 g]                        | 23,9–27,9                          |
| 9 až 13 let     | 36,0                     | 220–500 [4,4–10,0 g]                       | 41,0–47,9                          |
| 14 až 18 let    | 61,0                     | 220–1100 [4,4–22,0 g]                      | 62,2–72,6                          |
| Dospělý muž     | 89,8                     | 220–1100 [4,4–22,0 g]                      | 86,2–100,6                         |
| Dospělá žena    | 77,4                     | 220–1100 [4,4–22,0 g]                      | 74,3–86,7                          |

Pacientům trpícím klasickou formou PKU jsou předepisovány diety s nízkým obsahem Phe, jež však výrazně omezují jejich jídelníček na úzký okruh povolených potravin. Mezi ty patří vybrané druhy ovoce, většina zeleninových plodů, jednoduché cukry, čisté tuky a speciálně upravené potraviny s minimálním podílem bílkovin. Naopak mléčné produkty, masité pokrmy, luštěniny, ořechy a běžné obiloviny se kvůli vysoké koncentraci Phe striktně vylučují, což vede nejen k nutričním mezerám, ale také k monotónnosti stravy postrádající chuťovou rozmanitost [65, 68].

Vyloučení těchto potravin s sebou nese vážné nutriční nedostatky, neboť právě v zakázaných surovinách se ukrývají hlavní zdroje životně důležitých minerálů vápníku, hořčíku, železa či zinku, ale také selenu, vitamínu B12 a vitamínu D. Stejně tak chybí esenciální mastné kyseliny a doplňkové aminokyseliny, jejichž absence narušuje křehkou rovnováhu organismu. Rostlinné potraviny povolené v rámci této diety sice poskytují určité množství bílkovin, avšak jejich aminokyselinové spektrum zůstává nevyvážené, což se projevuje například nedostatkem lysinu, klíčové stavební jednotky bílkovin [68, 71, 72].

Důsledkem je dvojitý problém – nedostatečný příjem kompletních bílkovin nejenže neuspokojuje pocit sytosti, ale zároveň ohrožuje optimální růst a vývoj u dětí či dlouhodobé zdraví dospělých. Strava, jež by měla být zdrojem vitality, se tak pro ně stává složitou výživovou hádankou, kde každé sousto musí být pečlivě zvažováno [68, 72].

## 6.2 Léčebné potraviny - Glykomakropeptid

U pacientů s PKU tvoří hlavní složku stravy speciální přípravky označované jako léčebné potraviny, které slouží jako náhrady bílkovin. Tyto produkty bohaté na aminokyseliny, zároveň obsahují tuky, sacharidy, vitaminy a minerální látky. Dříve byly aminokyseliny ve formě volných aminokyselin jediným zdrojem bílkovin v těchto náhražkách. V posledních letech se však začaly vyrábět i léčebné potraviny založené na přírodní bílkovině s nízkým obsahem Phe – glykomakropeptidu (GMP). Tento peptid, obsahující 64 aminokyselin se získává ze syrovátky vznikající při výrobě sýra. Produkty s GMP poskytují 60–70 % bílkovin ve formě samotného GMP, zatímco zbývajících 30–40 % tvoří doplňkové aminokyseliny (např. histidin, leucin, methionin, tryptofan a tyrosin), které v GMP chybějí a dále tuky a mikroživiny [68, 73, 74].

Užívání léčebných potravin, obzvláště těch založených na volných aminokyselinách s sebou přináší několik problémů, především fyziologického charakteru. Vzhledem k tomu, že tyto produkty představují hlavní zdroj živin je strava pacientů z velké části syntetická, což se obecně považuje za méně výhodné oproti přirozené, celistvé stravě. Vitaminy a minerály obsažené v těchto přípravcích nejsou navázány na bílkoviny či jiné makroživiny, čímž je snižována jejich biologická dostupnost a využitelnost v těle. Navíc syntetické náhražky postrádají fytonutrienty a antioxidanty, které v přírodních potravinách společně působí při ochraně zdraví a často v nich chybí také vláknina a prebiotika. Výzkumy ukazují, že i při dostatečném příjmu mikroživin prostřednictvím těchto přípravků může u pacientů přetrvávat jejich nedostatek, protože doplňky nejsou tak efektivní jako přirozené potraviny [68, 73, 74].

Dalším problémem je nižší efektivita vstřebávání a využití bílkovin z aminokyselinových náhražek. To dokazují studie zaměřené na dusíkovou bilanci, které ukazují, že tyto bílkoviny nejsou v těle využívány stejně dobře jako ty z přirozených zdrojů. Pacienti proto musí konzumovat větší množství bílkovin, aby dosáhli stejného efektu jako běžná populace, a to může přinášet zdravotní rizika a zvyšovat objem stravy. Kvůli rychlé oxidaci volných aminokyselin navíc tyto přípravky nedokáží potlačit působení hormonu ghrelinu, který stimuluje chuť k jídlu. Výsledkem může být častější hlad nebo zvýšený příjem potravy [68, 73, 74].

### 6.3 Léčba Sapropterinem

Sapropterin dihydrochlorid, obchodně známý jako Kuvan je syntetický analog přirozeného kofaktoru BH<sub>4</sub>. Tento přípravek se využívá v léčbě hyperfenylalaninémie, zejména u pacientů s PKU nebo deficitem BH<sub>4</sub>. U některých jedinců s částečně zachovanou funkcí enzymu PAH může sapropterin umožnit zmírnění přísného dietního režimu s omezeným příjmem Phe [6].

Mechanismus účinku sapropterinu spočívá v tom, že zvýšením dostupnosti BH<sub>4</sub> dochází k aktivaci reziduální aktivity enzymu PAH. Tento enzym katalyzuje přeměnu Phe na Tyr prostřednictvím oxidační reakce. Výsledkem terapie je zlepšený metabolismus Phe a následný pokles jeho hladiny v krvi [6].

Přestože může léčba sapropterinem přinést významné zlepšení u vybraných pacientů, její efektivita závisí na závažnosti poruchy a genetickém profilu. Zatímco pacienti s mírnějšími formami PKU často pozitivně reagují na léčbu u klasické formy onemocnění je odpověď na BH<sub>4</sub> terapii méně častá. Dále bylo zjištěno, že přítomnost specifických genetických variant, jako je například mutace p.Gln226Lys v genu PAH, může ovlivnit terapeutickou odpověď, což podporuje význam molekulárně-genetického vyšetření při individualizaci léčby [6, 75].

Navzdory terapeutickému potenciálu vyžaduje léčba sapropterinem i nadále dodržování diety s omezeným přísunem Phe a pravidelné sledování hladin aminokyselin v krvi, výživového stavu a psychomotorického vývoje. Udržení takto komplexního režimu je často obtížné a nonadherence zůstává běžným problémem. Mezi potenciální nežádoucí účinky léčby patří hypofenylalaninémie, která může vyžadovat úpravu dávkování nebo zvýšení příjmu Phe v potravě. Dále se mohou objevit symptomy jako bolesti hlavy, rýma, bolest v krku, gastrointestinální potíže (např. zvracení, průjem), nosní neprůchodnost a kašel [6, 76].

### 6.4 Enzymová substituční terapie

Enzymová substituční terapie (EST) představuje novou a slibnou možnost léčby PKU. Tradičně se PKU léčí celoživotní dietou s omezeným příjmem Phe, což je pro mnoho pacientů velmi náročné a zatěžující. EST přináší alternativní přístup, který by mohl výrazně zlepšit kvalitu života pacientů zejména těch, kteří mají potíže s dodržováním přísného dietního režimu nebo jejichž dieta nevede k dostatečné kontrole hladin Phe v krvi. V posledních letech se výzkum soustředil hlavně na využití enzymu fenylalanin-amoniak-lyázy (PAL) získané z bakterie *Anabaena variabilis*, která rozkládá Phe na netoxické metabolity a tím obchází poruchu enzymu PAH, která je typická pro PKU. PAL umožňuje přeměnu Phe na trans-cinamovou kyselinu a amoniak, čímž obchází defektní enzym PAH [77-80].

Jedním z největších pokroků v oblasti EST je vývoj pegvaliázy, rekombinantního PAL modifikovaného polyethylenglykolem, což zlepšuje jeho stabilitu a snižuje imunogenicitu. Pegvaliáza se podává subkutánně a její účinnost není závislá na zbytkové aktivitě PAH, což ji činí vhodnou i pro pacienty s klasickou formou PKU a minimální či žádnou vlastní enzymovou aktivitou. Klinické studie potvrdily, že pegvaliáza dokáže výrazně snížit hladiny Phe v krvi u pacientů s PKU včetně těch, kteří dietou nedosahují cílových hodnot. Terapie pegvaliázou umožnila mnoha pacientům zvýšit příjem přirozených bílkovin, a to vedlo ke zlepšení jejich nutričního stavu a kvality života. Pegvaliáza je schválena pro použití u dospělých a adolescentů od 16 let s hladinami Phe >600  $\mu\text{mol/l}$ , kteří nejsou dostatečně kompenzováni dietou či jinou léčbou. Dlouhodobé studie ukazují, že pegvaliáza může být účinná i při dlouhodobém podávání a většina pacientů dosahuje významného poklesu hladin Phe během několika měsíců léčby. Dávkování je individuálně titrováno podle odpovědi a tolerance jednotlivých pacientů, přičemž je nutné sledovat nejen hladiny Phe, ale i možné nežádoucí účinky. Hlavním limitujícím faktorem terapie pegvaliázou je riziko imunitních reakcí, včetně výskytu anafylaxe. Většina nežádoucích účinků se objevuje v prvotní fázi léčby a zahrnuje zejména hypersenzitivní reakce, bolesti hlavy, artralgie a kožní projevy. Proto je doporučeno zahajovat léčbu v nemocničním prostředí s možností okamžitého zásahu. U části pacientů je nutné léčbu přerušit kvůli závažným nežádoucím účinkům, zatímco u většiny lze dosáhnout dlouhodobé stabilizace onemocnění [77, 78, 81, 82].

Organizace péče o pacienty léčené EST vyžaduje multidisciplinární přístup, který zahrnuje metabolologa, dietologa, psychologa i alergologa. Pravidelné sledování hladin Phe a Tyr, spolu s kontrolou nutričního stavu a neuropsychologického vývoje, je zásadní pro optimalizaci léčby a prevenci komplikací. Nedílnou součástí péče je také edukace pacientů a jejich rodin o správném podávání léku, rozpoznání příznaků alergických reakcí a použití autoinjektoru s adrenalinem v případě potřeby [77, 81].

Kromě pegvaliázy probíhá výzkum i dalších forem enzymové terapie, včetně různých modifikací PAL a kombinací s dalšími terapeutickými přístupy, například velkými neutrálními aminokyselinami nebo genovou terapií. Ačkoli EST představuje významný pokrok v léčbě PKU, dlouhodobá bezpečnost, účinnost a vliv na kognitivní funkce pacientů zůstávají předmětem dalšího zkoumání. Dosavadní výsledky studií však naznačují, že EST může zásadně proměnit přístup k léčbě PKU a zlepšit prognózu pacientů, kteří nejsou dostatečně kompenzováni dietou nebo jinými dostupnými možnostmi léčby [83-85].

Přestože má EST významné benefity, je nutné zohlednit i některá její omezení. Patří mezi ně zejména nutnost pravidelného podávání injekcí, možnost vzniku protilátek proti

podávanému enzymu a riziko závažných alergických reakcí. Z tohoto důvodu je zásadní pečlivě vybírat vhodné kandidáty pro tuto léčbu a důsledně je sledovat během terapie. V budoucnu lze očekávat další zlepšení účinnosti a bezpečnostních parametrů EST díky novým formulacím a kombinovaným léčebným přístupům [77, 78].

## 6.5 Genová terapie

V poslední době se genová terapie PKU intenzivně vyvíjí a představuje naději na léčbu příčiny tohoto onemocnění. Hlavním cílem těchto metod je dodat tělu funkční kopii chybějícího nebo poškozeného genu PAH, případně přímo opravit samotnou mutaci v DNA pacienta. Přehledové články publikované v letech 2023 a 2024 přináší komplexní pohled na hlavní směry výzkumu, včetně zhodnocení přínosů a rizik [86-88].

Mezi často zkoumané přístupy, patří využití virových vektorů, zejména adenoasociovaných virů (AAV) a lentivirů. AAV vektory mají tu výhodu, že se nezačleňují do genomu hostitelských buněk, čímž se omezuje riziko náhodných mutací. Po jednorázové aplikaci se zvýší aktivita PAH v játrech a poklesne koncentrace Phe v krvi. Mezi hlavní slabiny tohoto postupu patří imunitní reakce organismu, která brání opakovanému podání, a také možné snížení účinnosti vlivem poškození vložené genetické informace. Lentivirové vektory se naopak integrují do DNA, což umožňuje dlouhodobý efekt, ale přináší riziko vzniku mutací a případného rozvoje leukémie, což omezuje jejich uplatnění v klinické praxi [89-92].

Velmi slibné výsledky v poslední době přináší neviróvé technologie, zejména přenos mRNA a komponent CRISPR/Cas systémů pomocí lipidových nanočástic (LNP). Tyto částice umožňují spolehlivé a bezpečné doručení genetického materiálu do jaterních buněk, kde dochází k expresi funkční PAH nebo k opravě genové mutace. Významná studie zveřejněná v Nature Communications v roce 2023 doložila, že jediná aplikace mRNA s bázovým editorem (ABE8.8) a guide RNA prostřednictvím LNP vedla u geneticky upraveného myšního modelu PKU ke kompletní a dlouhodobé normalizaci hladiny Phe během 48 hodin, přičemž tento efekt přetrvával nejméně 24 týdnů. Hlavní předností této metody je možnost opakovaného podání bez silné imunitní reakce a nižší pravděpodobnost vzniku nežádoucích genetických změn, protože nedochází k integraci cizí DNA [93-95].

Kromě technologických aspektů je důležité zohlednit i postoje pacientů, jejich blízkých a odborné veřejnosti. Kvalitativní výzkum z roku 2022 odhalil, že genová terapie bývá často vnímána jako naděje na „vyléčení“ PKU, ale zároveň vyvolává obavy z neznámých dlouhodobých dopadů a nejistoty ohledně účinku. Vyšší úroveň informovanosti vedla k větší opatrnosti a důrazu na bezpečnost, zatímco méně informovaní respondenti byli optimističtější.

Autoři studie proto zdůraznili nutnost vyváženého vzdělávání o výhodách a možných rizicích genové terapie a zapojení pacientů do rozhodovacích procesů [96, 97].

Souhrnná práce publikovaná v roce 2024 konstatuje, že aktuální genová terapie PKU zahrnuje jak virové, tak neviróvé přístupy, ať už formou editace genomu, nebo genové náhrady. Tyto metody jsou v různých fázích preklinických a klinických zkoušek a směřují k dosažení bezpečné a účinné léčby, která by pacientům umožnila žít bez dietních omezení a s minimálním rizikem komplikací [87].

Na závěr lze konstatovat, že genová terapie skýtá mimořádně slibné vyhlídky v léčbě PKU. Největší naděje se v současnosti upínají k neviróvým metodám, které využívají doručování mRNA a technologií CRISPR. Tyto přístupy se vyznačují rychlým nástupem účinku, možností opakovaného podávání a nižším rizikem vyvolání imunitní odpovědi. Nicméně přetrvávají otázky ohledně dlouhodobé účinnosti, bezpečnosti a také dostupnosti této léčby pro všechny pacienty. To, zda se genová terapie stane běžnou součástí léčebných možností PKU, bude záviset na výsledcích aktuálně probíhajících a plánovaných klinických studií v nadcházejících letech [86, 89, 95].

## 7 PREVALENCE ONEMOCNĚNÍ

Fenylketonurie je vzácné dědičné onemocnění metabolismu aminokyselin, které se vyskytuje po celém světě, přičemž jeho výskyt a četnost se výrazně liší podle geografické oblasti a etnickém původu. Celosvětová prevalence je odhadována na 1 případ PKU na 23 930 živě narozených dětí, což odpovídá přibližně 450 000 postiženým osobám, z nichž alespoň dvě třetiny potřebují léčbu. Nejčastěji se PKU vyskytuje mezi příslušníky bílé nebo východoasijské populace, kde je prevalence 1 na 10 000 až 15 000 dětí. Z hlediska geografického rozložení je PKU nejméně častá v asijských zemích (s výjimkou Číny) a naopak nejvíce případů je zaznamenáno v Evropě a na blízkém východě. Prevalence PKU se v Evropě odhaduje na přibližně 1 případ na 10 000 živě narozených dětí. V některých zemích, jako je Irsko nebo Itálie, je výskyt vyšší, zatímco v jiných je nižší. Ve Finsku je výskyt PKU extrémně nízký, dosahuje přibližně 1 případu na 100 000 narozených dětí [6, 84, 86].

Výskyt PKU je v České republice pečlivě sledován díky dlouhodobě fungujícímu systému novorozeneckého screeningu, který byl zaveden již v roce 1975. Tento screening umožňuje včasné zachycení onemocnění ještě před rozvojem příznaků, což je klíčové pro zahájení účinné léčby a prevenci nevratného poškození zdraví. PKU je metabolické onemocnění, které se v české populaci vyskytuje s incidencí vyšší než 1:7000 živě narozených dětí. Vzhledem k aktuální porodnosti to znamená, že každý rok je diagnostikováno přibližně 14 až 15 novorozenců s touto diagnózou. Díky propracovanému systému včasného zachytu mají tyto pacienti možnost zahájit speciální dietní režim ihned po potvrzení diagnózy, což výrazně zlepšuje jejich prognózu a kvalitu života [98].

## ZÁVĚR

PKU je dědičné metabolické onemocnění způsobené poruchou enzymu PAH, která vede k hromadění Phe v těle. Při jeho nadbytku dochází k toxickému působení na centrální nervový systém, což může vést k těžkému mentálnímu a neurologickému poškození. Phe se přirozeně vyskytuje téměř ve všech potravinách obsahujících bílkoviny, a právě to činí léčbu onemocnění velmi náročnou z hlediska každodenního života.

Zásadní význam v boji proti PKU má novorozenecký screening, díky němuž jsou případy onemocnění v České republice od roku 1975 diagnostikovány již v prvních dnech života. To umožňuje včasné zahájení léčby a výrazně snižuje riziko trvalého neurologického poškození. Moderní diagnostické metody, jako je tandemová hmotnostní spektrometrie, zajišťují vysokou přesnost a spolehlivost výsledků.

Základem léčby zůstává doživotní nízkobílkovinná dieta s omezením příjmu Phe. Ta vyžaduje přísnou kontrolu nad složením stravy a představuje významné omezení v běžném životě pacienta ať už jde o stravování mimo domov, společenské aktivity, nebo psychické zvládání dlouhodobého režimu. K dietní terapii se v posledních letech přidaly i nové možnosti léčby, jako je sapropterin, který zvyšuje toleranci Phe u části pacientů, a glykomakropeptid, jenž zlepšuje chuť a snášenlivost dietních směsí. I tyto metody však mají svá omezení, především v oblasti účinnosti, ceny a dostupnosti.

Velkým příslibem do budoucna je genová terapie, která se zaměřuje na opravu genetické informace zodpovědné za tvorbu funkčního enzymu PAH. Pokud se podaří tuto metodu úspěšně ověřit i v klinických studiích, mohla by nabídnout kauzální tedy příčinu řešící léčbu PKU a zásadně změnit život pacientů.

Závěrem lze konstatovat, že zavedení novorozeneckého screeningu a pokroky v léčbě PKU výrazně zlepšily prognózu i kvalitu života pacientů. I přesto však zůstává onemocnění náročné na každodenní zvládání a představuje dlouhodobou zátěž pro pacienta i jeho okolí. Nové terapeutické přístupy a výzkum v oblasti genové terapie dávají naději na další posun směrem k efektivnější a méně omezující léčbě.

## POUŽITÁ LITERATURA

- [1] F. J. van Spronsen, N. Blau, C. Harding, A. Burlina, N. Longo, a A. M. Bosch, „Phenylketonuria“, *Nat Rev Dis Primers*, roč. **7**, č. 1, s. 36, kvě. 2021, doi: 10.1038/s41572-021-00267-0.
- [2] H. Erlandsen a R. C. Stevens, „The Structural Basis of Phenylketonuria“, *Mol Genet Metab*, roč. **68**, č. 2, s. 103–125, říj. 1999, doi: 10.1006/mgme.1999.2922.
- [3] J. Vockley *et al.*, „Phenylalanine hydroxylase deficiency: diagnosis and management guideline“, *Genetics in Medicine*, roč. **16**, č. 2, s. 188–200, úno. 2014, doi: 10.1038/gim.2013.157.
- [4] S. F. Dobrowolski, J. Lyons-Weiler, K. Spridik, J. Vockley, K. Skvorak, a A. Biery, „DNA methylation in the pathophysiology of hyperphenylalaninemia in the PAH enu2 mouse model of phenylketonuria“, *Mol Genet Metab*, roč. **119**, č. 1–2, s. 1–7, zář. 2016, doi: 10.1016/j.ymgme.2016.01.001.
- [5] E. Kočárek, *Genetika*, 2. vyd. Praha, Scientia, 2008.
- [6] N. A. Elhawary *et al.*, „Genetic etiology and clinical challenges of phenylketonuria“, *Hum Genomics*, roč. **16**, č. 1, s. 22, pro. 2022, doi: 10.1186/s40246-022-00398-9.
- [7] PKU Maestro, „Fenylketonurie a dědičnost“. 25. březen 2025. [Online]. Dostupné z: <https://www.pkumaestro.cz/pku-dedicnost>
- [8] M. I. Flydal a A. Martinez, „Phenylalanine hydroxylase: Function, structure, and regulation“, *IUBMB Life*, roč. **65**, č. 4, s. 341–349, dub. 2013, doi: 10.1002/iub.1150.
- [9] M. I. Flydal *et al.*, „Structure of full-length human phenylalanine hydroxylase in complex with tetrahydrobiopterin“, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, roč. **116**, č. 23, s. 11229–11234, čer. 2019, doi: 10.1073/pnas.1902639116.
- [10] M. Holeček, *Regulace metabolismu a základních živin u člověka*, 2. vyd. Praha: Karolinum, 2016.
- [11] A. Stoklasová, J. Cerman, M. Ledvina, *Biochemie pro studující medicíny 1. díl*, 3. vyd. Praha: Karolinum, 2024.
- [12] J. D. Fernstrom a M. H. Fernstrom, „Tyrosine, Phenylalanine, and Catecholamine Synthesis and Function in the Brain2“, *J Nutr*, roč. **137**, č. 6, s. 1539S-1547S, čer. 2007, doi: 10.1093/jn/137.6.1539S.
- [13] A. Stoklasová, J. Cerman, M. Ledvina, *Biochemie pro studující medicíny 2. díl*, 2. vyd. Praha: Karolinum, 2019.
- [14] PATHBANK, „Tyrosine Metabolism“, National Center for Biotechnology Information, PubChem Pathway. 5. březen 2025. [Online]. Dostupné z:

<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/pathway/PathBank:SMP0000006>

- [15] R. Franco, I. Reyes-Resina, a G. Navarro, „Dopamine in Health and Disease: Much More Than a Neurotransmitter", *Biomedicines*, roč. **9**, č. 2, s. 109, led. 2021, doi: 10.3390/biomedicines9020109.
- [16] Cleveland Clinic, „Epinephrine (Adrenaline): What It Is, Function, Deficiency & Side Effects". 5. březen 2025. [Online]. Dostupné z: <https://my.clevelandclinic.org/health/articles/22611-epinephrine-adrenaline>
- [17] C. Xue *et al.*, „Tryptophan metabolism in health and disease", *Cell Metab*, roč. **35**, č. 8, s. 1304–1326, srp. 2023, doi: 10.1016/j.cmet.2023.06.004.
- [18] H. O. de Baulny, V. Abadie, F. Feillet, a L. de Parscau, „Management of Phenylketonuria and Hyperphenylalaninemia", *J Nutr*, roč. **137**, č. 6, s. 1561S-1563S, čer. 2007, doi: 10.1093/jn/137.6.1561S.
- [19] D. Bercovich *et al.*, „Genotype–phenotype correlations analysis of mutations in the phenylalanine hydroxylase (PAH) gene", *J Hum Genet*, roč. **53**, č. 5, s. 407–418, kvě. 2008, doi: 10.1007/s10038-008-0264-4.
- [20] R. A. Williams, C. D. S. Mamotte, a J. R. Burnett, „Phenylketonuria: an inborn error of phenylalanine metabolism.", *Clin Biochem Rev*, roč. **29**, č. 1, s. 31–41, úno. 2008.
- [21] L. I. Woolf a J. Adams, „The Early History of PKU", *Int J Neonatal Screen*, roč. **6**, č. 3, s. 59, čvc. 2020, doi: 10.3390/ijns6030059.
- [22] „Table of Contents", *J Pediatr*, roč. 193, s. A1–A6, úno. 2018, doi: 10.1016/S0022-3476(17)31671-2.
- [23] A. Chen, Y. Pan, a J. Chen, „Clinical, genetic, and experimental research of hyperphenylalaninemia.", *Front Genet*, roč. **13**, s. 1051153, 2022, doi: 10.3389/fgene.2022.1051153.
- [24] H. L. Levy, „Robert Guthrie and the Trials and Tribulations of Newborn Screening", *Int J Neonatal Screen*, roč. **7**, č. 1, s. 5, led. 2021, doi: 10.3390/ijns7010005.
- [25] „HISTORIE novorozeneckého screeningu v ČR". 29. březen 2025. [Online]. Dostupné z: <https://www.novorozeneckyscreening.cz/historie-ns-cr>
- [26] „Novorozenecký screening". 29. březen 2025. [Online]. Dostupné z: <https://www.novorozeneckyscreening.cz/historie-ns-cr>
- [27] L. Lei. WU, „The Real Reason Some Newborns Don't Get Screening for Deadly Diseases", *MedPage Today*, 2021, 29. březen 2025. [Online]. Dostupné z: <https://www.medpagetoday.com/pediatrics/generalpediatrics/96333>
- [28] „Odběr, kontrola správnosti odběru". 30. březen 2025. [Online]. Dostupné z: <https://www.novorozeneckyscreening.cz/kontrola-spravnosti-odberu>

- [29] W. B. Hanley *et al.*, „Newborn phenylketonuria (PKU) Guthrie (BIA) screening and early hospital discharge", *Early Hum Dev*, roč. **47**, č. 1, s. 87–96, led. 1997, doi: 10.1016/S0378-3782(96)01846-4.
- [30] D. Ombrone, E. Giocaliere, G. Forni, S. Malvagia, a G. la Marca, „Expanded newborn screening by mass spectrometry: New tests, future perspectives", *Mass Spectrom Rev*, roč. **35**, č. 1, s. 71–84, led. 2016, doi: 10.1002/mas.21463.
- [31] B. Fiege a N. Blau, „Assessment of Tetrahydrobiopterin (BH4) Responsiveness in Phenylketonuria", *J Pediatr*, roč. **150**, č. 6, s. 627–630, čer. 2007, doi: 10.1016/j.jpeds.2007.02.017.
- [32] A. M. J. van Wegberg *et al.*, „Does the 48-hour BH4 loading test miss responsive PKU patients?", *Mol Genet Metab*, roč. **129**, č. 3, s. 186–192, bře. 2020, doi: 10.1016/j.ymgme.2019.12.011.
- [33] A. C. Muntau, *Pediatrie*, 6. vyd. Grada, 2014.
- [34] K. Ashe *et al.*, „Psychiatric and Cognitive Aspects of Phenylketonuria: The Limitations of Diet and Promise of New Treatments", *Front Psychiatry*, roč. **10**, zář. 2019, doi: 10.3389/fpsy.2019.00561.
- [35] P. F. Schuck, F. Malgarin, J. H. Cararo, F. Cardoso, E. L. Streck, G. S. Ferreira „Phenylketonuria Pathophysiology: on the Role of Metabolic Alterations", *Aging Dis*, roč. **6**, č. 5, s. 390, 2015, doi: 10.14336/AD.2015.0827.
- [36] P. J. Anderson a V. Leuzzi, „White matter pathology in phenylketonuria☆", *Mol Genet Metab*, roč. **99**, s. S3–S9, 2010, doi: 10.1016/j.ymgme.2009.10.005.
- [37] M. Enokizono *et al.*, „Neuroimaging findings of inborn errors of metabolism: urea cycle disorders, aminoacidopathies, and organic acidopathies", *Jpn J Radiol*, roč. **41**, č. 7, s. 683–702, čvc. 2023, doi: 10.1007/s11604-023-01396-0.
- [38] Y. Ditamo, Y. M. Dentesano, S. A. Purro, C. A. Arce, a C. G. Bisig, „Post-Translational Incorporation of L-Phenylalanine into the C-Terminus of  $\alpha$ -Tubulin as a Possible Cause of Neuronal Dysfunction", *Sci Rep*, roč. **6**, č. 1, s. 38140, pro. 2016, doi: 10.1038/srep38140.
- [39] D. van Vliet *et al.*, „Can untreated PKU patients escape from intellectual disability? A systematic review", *Orphanet J Rare Dis*, roč. **13**, č. 1, s. 149, pro. 2018, doi: 10.1186/s13023-018-0890-7.
- [40] D. van Vliet *et al.*, „Untreated PKU Patients without Intellectual Disability: What Do They Teach Us?", *Nutrients*, roč. **11**, č. 11, s. 2572, říj. 2019, doi: 10.3390/nu11112572.
- [41] D. A. Bilder *et al.*, „Systematic Review and Meta-Analysis of Neuropsychiatric Symptoms and Executive Functioning in Adults With Phenylketonuria", *Dev Neuropsychol*, roč. **41**, č. 4, s. 245–260, kvě. 2016, doi: 10.1080/87565641.2016.1243109.

- [42] A. Sadek, M. H. Hassan, a N. A. Mohammed, „Clinical and neuropsychological outcomes for children with phenylketonuria in Upper Egypt; a single-center study over 5 years", *Neuropsychiatr Dis Treat*, roč. **14**, s. 2551–2561, říj. 2018, doi: 10.2147/NDT.S176198.
- [43] A. P. Burlina *et al.*, „The neurological and psychological phenotype of adult patients with early-treated phenylketonuria: A systematic review", *J Inherit Metab Dis*, roč. **42**, č. 2, s. 209–219, bře. 2019, doi: 10.1002/jimd.12065.
- [44] H. Ch. Curtius *et al.*, „Serotonin and Dopamine Synthesis in Phenylketonuria", 1981, s. 277–291. doi: 10.1007/978-1-4684-3860-4\_16.
- [45] G. Arnold a J. Vockley, *Phenylalanine Hydroxylase Deficiency*. 1993.
- [46] Y. Nagasaki *et al.*, „Reversal of Hypopigmentation in Phenylketonuria Mice by Adenovirus-Mediated Gene Transfer", *Pediatr Res*, roč. **45**, č. 4, Part 1 of 2, s. 465–473, dub. 1999, doi: 10.1203/00006450-199904010-00003.
- [47] „BIOMARIN PHARMACEUTICAL INC. PKU Parents & Care Team", Novato: BioMarin Pharmaceutical Inc. 29. duben 2025. [Online]. Dostupné z: <https://pku.biomarin.com/en-us/parents-and-care-team/>
- [48] A. M. Zuñiga Vinueza, „Recent Advances in Phenylketonuria: A Review.", *Cureus*, roč. **15**, č. 6, s. e40459, čer. 2023, doi: 10.7759/cureus.40459.
- [49] R. O. Fisch, M. Y. Tsai, a W. C. Gentry, „Studies of phenylketonurics with dermatitis", *J Am Acad Dermatol*, roč. **4**, č. 3, s. 284–290, bře. 1981, doi: 10.1016/S0190-9622(81)70029-X.
- [50] R. Puda, M. Lhotáková, M. Samková, *Můj průvodce fenylketonurií*, 2. vyd. Praha: Národní sdružení PKU a jiných DMP, 2017.
- [51] H. L. Levy, „Historical Background for the Maternal PKU Syndrome", *Pediatrics*, roč. **112**, č. Supplement\_4, s. 1516–1518, pro. 2003, doi: 10.1542/peds.112.S4.1516.
- [52] H. L. Levy a M. Ghavami, „Maternal phenylketonuria: A metabolic teratogen", *Teratology*, roč. **53**, č. 3, s. 176–184, bře. 1996, doi: 10.1002/(SICI)1096-9926(199603)53:3<176::AID-TERA5>3.0.CO;2-2.
- [53] B. Salamanca-Zarzuela, M. E. I. López, a C. A. Martín, „Transient phenylketonuria in premature infants", *Nutrition*, roč. **59**, s. 180–181, bře. 2019, doi: 10.1016/j.nut.2018.08.013.
- [54] L. Palermo, T. Geberhiwot, A. MacDonald, E. Limback, S. K. Hall, a C. Romani, „Cognitive outcomes in early-treated adults with phenylketonuria (PKU): A comprehensive picture across domains.", *Neuropsychology*, roč. **31**, č. 3, s. 255–267, bře. 2017, doi: 10.1037/neu0000337.
- [55] R. Jahja *et al.*, „Social-cognitive functioning and social skills in patients with early treated phenylketonuria: a PKU-COBESO study.", *J Inherit Metab Dis*, roč. **39**, č. 3, s. 355–362, kvě. 2016, doi: 10.1007/s10545-016-9918-0.

- [56] L. Aitkenhead *et al.*, „Long-term cognitive and psychosocial outcomes in adults with phenylketonuria", *J Inherit Metab Dis*, roč. **44**, č. 6, s. 1353–1368, lis. 2021, doi: 10.1002/jimd.12413.
- [57] R. Feldmann, U. Och, L. S. Beckmann, J. Weglage, a F. Rutsch, „Children and Adolescents with Early Treated Phenylketonuria: Cognitive Development and Fluctuations of Blood Phenylalanine Levels.", *Int J Environ Res Public Health*, roč. **21**, č. 4, dub. 2024, doi: 10.3390/ijerph21040431.
- [58] J. K. Gentile, A. E. Ten Hoedt, a A. M. Bosch, „Psychosocial aspects of PKU: Hidden disabilities – A review☆", *Mol Genet Metab*, roč. **99**, s. S64–S67, 2010, doi: 10.1016/j.ymgme.2009.10.183.
- [59] Z. Jahangiri, N. Rostampour, S. Hovsepian, R. Chegini, a M. Hashemipour, „Quality of Life in Patients with Phenylketonuria: A Systematic Review", *Adv Biomed Res*, roč. **13**, úno. 2024, doi: 10.4103/abr.abr\_238\_23.
- [60] W. Abd-Elwahab, *et al.* „The Effect of Phenylketonuria on the Quality of Life of the Affected children, Adolescents and their Parents at Minia Governorate.", 2. vyd., roč. **31**, 2020, s. 317–320. 27. duben 2025. [Online]. Dostupné z: [chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/https://mjmr.journals.ekb.eg/article\\_221092\\_d59777b7e6cf8ddda50b1bfbb575f836.pdf](chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/https://mjmr.journals.ekb.eg/article_221092_d59777b7e6cf8ddda50b1bfbb575f836.pdf)
- [61] J. I. Miranda, A. S. Carneiro, B. M. De Souza, R. A. M. Cardoso, A. da S. Barata, a P. S. de A. Corrêa, „Expansão, privatização e atuação escolar: cenário contemporâneo do curso de pedagogia em instituições de ensino superior públicas e privadas do Estado do Pará / Expansion, privatization and school performance: contemporary scenario of the pedagogy course in public and private higher education institutions in the State of Pará", *Brazilian Journal of Development*, roč. **8**, č. 5, s. 39291–39319, kvě. 2022, doi: 10.34117/bjdv8n5-428.
- [62] P. Kohout, E Havel, M. Matějovič, M. Šenkyřík, *Klinická výživa*, 1. vyd. Praha: Galén, 2021.
- [63] E. Jameson a T. Remington, „Dietary interventions for phenylketonuria", *Cochrane Database of Systematic Reviews*, roč. 2021, č. **4**, čvc. 2020, doi: 10.1002/14651858.CD001304.pub3.
- [64] J. C. Rocha a A. MacDonald, „Dietary intervention in the management of phenylketonuria: current perspectives", *Pediatric Health Med Ther*, roč. **7**, s. 155–163, pro. 2016, doi: 10.2147/PHMT.S49329.
- [65] A. MacDonald *et al.*, „Correction to: PKU dietary handbook to accompany PKU guidelines", *Orphanet J Rare Dis*, roč. **15**, č. 1, s. 230, pro. 2020, doi: 10.1186/s13023-020-01486-6.
- [66] J. Kim a M. Boutin, „New multipliers for estimating the phenylalanine content of foods from the protein content", *Journal of Food Composition and Analysis*, roč. **42**, s. 117–119, zář.

- 2015, doi: 10.1016/j.jfca.2015.03.001.
- [67] S. Štajnochrová, „Léčebná výživa při fenylketonurii“. 11. květen 2025. [Online]. Dostupné z: <https://www.vyzivaspol.cz/lecebna-vyziva-pri-fenylketonurii/>
- [68] N. McWhorter, M. K. Ndugga-Kabuye, M. Puurunen, a S. L. Ernst, „Complications of the Low Phenylalanine Diet for Patients with Phenylketonuria and the Benefits of Increased Natural Protein“, *Nutrients*, roč. **14**, č. 23, s. 4960, lis. 2022, doi: 10.3390/nu14234960.
- [69] R. H. Singh *et al.*, „Recommendations for the nutrition management of phenylalanine hydroxylase deficiency“, *Genetics in Medicine*, roč. **16**, č. 2, s. 121–131, úno. 2014, doi: 10.1038/gim.2013.179.
- [70] M. Gomes *et al.*, „Total Protein Intake in Patients with PKU: Adequacy Evaluation According to the European PKU Guidelines from 2017“, *Nutrients*, roč. **15**, č. 23, s. 4883, lis. 2023, doi: 10.3390/nu15234883.
- [71] A. M. Lammardo *et al.*, „Main issues in micronutrient supplementation in phenylketonuria“, *Mol Genet Metab*, roč. **110**, s. S1–S5, 2013, doi: 10.1016/j.ymgme.2013.08.008.
- [72] S. Pasiakos, S. Agarwal, H. Lieberman, a V. Fulgoni, „Sources and Amounts of Animal, Dairy, and Plant Protein Intake of US Adults in 2007–2010“, *Nutrients*, roč. **7**, č. 8, s. 7058–7069, srp. 2015, doi: 10.3390/nu7085322.
- [73] D. M. Ney *et al.*, „Nutritional management of PKU with glycomacropeptide from cheese whey“, *J Inherit Metab Dis*, roč. **32**, č. 1, s. 32–39, úno. 2009, doi: 10.1007/s10545-008-0952-4.
- [74] S. C. van Calcar a D. M. Ney, „Food Products Made with Glycomacropeptide, a Low-Phenylalanine Whey Protein, Provide a New Alternative to Amino Acid–Based Medical Foods for Nutrition Management of Phenylketonuria“, *J Acad Nutr Diet*, roč. **112**, č. 8, s. 1201–1210, srp. 2012, doi: 10.1016/j.jand.2012.05.004.
- [75] K. Klaassen *et al.*, „Functional Characterization of Novel Phenylalanine Hydroxylase p.Gln226Lys Mutation Revealed Its Non-responsiveness to Tetrahydrobiopterin Treatment in Hepatoma Cellular Model“, *Biochem Genet*, roč. **56**, č. 5, s. 533–541, říj. 2018, doi: 10.1007/s10528-018-9858-5.
- [76] „Kuvan, INN-sapropterin: EPAR – Product Information.“, *Evropská léková agentura.* , 2. červen 2025. [Online]. Dostupné z: [https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/kuvan-epar-product-information\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/kuvan-epar-product-information_en.pdf)
- [77] I. Scala, L. Brodosi, V. Rovelli, D. Noto, a A. Burlina, „Management of patients with phenylketonuria (PKU) under enzyme replacement therapy: An Italian model (expert opinion).“, *Mol Genet Metab Rep*, roč. **39**, s. 101065, čer. 2024, doi: 10.1016/j.ymgmr.2024.101065.

- [78] C. O. Harding *et al.*, „Pegvaliase for the treatment of phenylketonuria: Final results of a long-term phase 3 clinical trial program.", *Mol Genet Metab Rep*, roč. **39**, s. 101084, čer. 2024, doi: 10.1016/j.ymgmr.2024.101084.
- [79] F. N. Keskin, T. Ö. Şahin, R. Capasso, a D. Ağagündüz, „Protein substitutions as new-generation pharmanutrition approach to managing phenylketonuria", *Clin Exp Pediatr*, roč. **66**, č. 8, s. 320–331, srp. 2023, doi: 10.3345/cep.2022.00584.
- [80] H. L. Levy, C. N. Sarkissian, a C. R. Scriver, „Phenylalanine ammonia lyase (PAL): From discovery to enzyme substitution therapy for phenylketonuria.", *Mol Genet Metab*, roč. **124**, č. 4, s. 223–229, srp. 2018, doi: 10.1016/j.ymgme.2018.06.002.
- [81] J. C. Rocha *et al.*, „Expert Consensus on the Long-Term Effectiveness of Medical Nutrition Therapy and Its Impact on the Outcomes of Adults with Phenylketonuria", *Nutrients*, roč. **15**, č. 18, s. 3940, zář. 2023, doi: 10.3390/nu15183940.
- [82] K. C. Mahan, M. A. Gandhi, a S. Anand, „Pegvaliase: a novel treatment option for adults with phenylketonuria", *Curr Med Res Opin*, roč. **35**, č. 4, s. 647–651, dub. 2019, doi: 10.1080/03007995.2018.1528215.
- [83] M. Martinez, C. O. Harding, G. Schwank, a B. Thöny, „State-of-the-art 2023 on gene therapy for phenylketonuria", *J Inherit Metab Dis*, roč. **47**, č. 1, s. 80–92, led. 2024, doi: 10.1002/jimd.12651.
- [84] N. A. Bailey a L. Mackay, „Phenylketonuria—Past, Present, and Future Directions", *OBM Genet*, roč. **8**, č. 3, s. 1–21, srp. 2024, doi: 10.21926/obm.genet.2403256.
- [85] R. Matalon *et al.*, „Large neutral amino acids in the treatment of phenylketonuria (PKU).", *J Inherit Metab Dis*, roč. **29**, č. 6, s. 732–8, pro. 2006, doi: 10.1007/s10545-006-0395-8.
- [86] A. Hillert *et al.*, „The Genetic Landscape and Epidemiology of Phenylketonuria.", *Am J Hum Genet*, roč. **107**, č. 2, s. 234–250, srp. 2020, doi: 10.1016/j.ajhg.2020.06.006.
- [87] M. Martinez, C. O. Harding, G. Schwank, a B. Thöny, „State-of-the-art 2023 on gene therapy for phenylketonuria", *J Inherit Metab Dis*, roč. **47**, č. 1, s. 80–92, led. 2024, doi: 10.1002/jimd.12651.
- [88] P. Delbreil, S. Dhondt, R. M. Kanaan El Rahbani, X. Banquy, J. J. Mitchell, a D. Brambilla, „Current Advances and Material Innovations in the Search for Novel Treatments of Phenylketonuria", *Adv Healthc Mater*, kvě. 2024, doi: 10.1002/adhm.202401353.
- [89] J.-B. Arnoux *et al.*, „Health economic impact of patients with phenylketonuria (PKU) in France - A nationwide study of health insurance claims data.", *Mol Genet Metab Rep*, roč. **41**, s. 101134, pro. 2024, doi: 10.1016/j.ymgmr.2024.101134.
- [90] R. P. Harbottle, „Next-generation gene therapy vectors: alternative approaches to vector design and application", *Cell Gene Ther Insights*, roč. **3**, č. 2, s. 159–164, bř. 2017, doi:

- 10.18609/cgti.2017.015.
- [91] A. Kovač a Z. Ivics, „Specifically integrating vectors for targeted gene delivery: progress and prospects“, *Cell Gene Ther Insights*, roč. **3**, č. 2, s. 103–123, bře. 2017, doi: 10.18609/cgti.2017.013.
- [92] J. H. Wang, D. J. Gessler, W. Zhan, T. L. Gallagher, a G. Gao, „Adeno-associated virus as a delivery vector for gene therapy of human diseases“, *Signal Transduct Target Ther*, roč. **9**, č. 1, s. 78, dub. 2024, doi: 10.1038/s41392-024-01780-w.
- [93] D. L. Brooks *et al.*, „Rapid and definitive treatment of phenylketonuria in variant-humanized mice with corrective editing“, *Nat Commun*, roč. **14**, č. 1, s. 3451, čer. 2023, doi: 10.1038/s41467-023-39246-2.
- [94] D. L. Brooks *et al.*, „A base editing strategy using mRNA-LNPs for in vivo correction of the most frequent phenylketonuria variant.“, *HGG Adv*, roč. **5**, č. 1, s. 100253, led. 2024, doi: 10.1016/j.xhgg.2023.100253.
- [95] B. Liu, „Application of CRISPR Technology in the Treatment of Phenylketonuria“, *Highlights in Science, Engineering and Technology*, roč. **102**, s. 220–226, čvc. 2024, doi: 10.54097/ns9kpx27.
- [96] K. Ahring *et al.*, „Capturing the Full Picture: A Joint Policy Paper on Unmet Medical Need in Phenylketonuria (PKU)“, *E.S.PKU*, lis. 2024, 2. červen 2025. [Online]. Dostupné z: [https://www.espku.org/wp-content/uploads/2024/11/Capturing-the-Full-Picture\\_Joint-Paper-on-UMN-in-PKU-1.pdf](https://www.espku.org/wp-content/uploads/2024/11/Capturing-the-Full-Picture_Joint-Paper-on-UMN-in-PKU-1.pdf)
- [97] D. S. Regier, A. Bağ, H. Bausell, E. O'Reilly, a L. M. Cowser, „Starting the conversation on gene therapy for phenylketonuria: Current perspectives of patients, caregivers, and advocates“, *Mol Genet Metab Rep*, roč. **31**, s. 100855, čer. 2022, doi: 10.1016/j.ymgmr.2022.100855.
- [98] H. Krejčová (roz. Kolářová), „Fenylketonurie (PKU)“. 16. červen 2025. [Online]. Dostupné z: <https://sancedetem.cz/fenylketonurie-pku>