

**T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI
ANABİLİM DALI**

**HİPERFENİLALANİNEMİLİ HASTALARDA KAN VE BEYİN
FENİLALANİN DÜZEYLERİNİN ÖLÇÜMÜ İLE FARKLI
TEDAVİ YÖNTEMLERİNİN ETKİNLİKLERİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

**YAN DAL UZMANLIK TEZİ
Uzm. Dr. AYNUR KÜÇÜKÇONGAR**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. FATİH SÜHEYL EZGÜ**

**ANKARA
KASIM 2012**

**T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI
ANABİLİM DALI**

**HİPERFENİLALANİNEMİLİ HASTALARDA KAN İLE BEYİN
FENİLALANİN DÜZEYİNİN ÖLÇÜMÜ VE FARKLI
TEDAVİ YÖNTEMLERİNİN ETKİNLİKLERİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

**YAN DAL UZMANLIK TEZİ
Uzm. Dr. AYNUR KÜÇÜKÇONGAR**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. FATİH SÜHEYL EZGÜ**

**ANKARA
KASIM 2012**

TEŞEKKÜR

Asistanlık ve yan dal asistanlık eğitimlerim boyunca bilgi, deneyim ve insani değerlere verdikleri önem ile meslek hayatım için çok önemli katkıları olan başta hocamız Prof. Dr. Alev Hasanoğlu olmak üzere, diğer hocalarım Prof. Dr. Leyla Tümer, Prof. Dr. Gürsel Biberoglu ve aynı zamanda tez hocam olan Prof. Dr. Fatih Süheyl Ezgü'ye, çalışma arkadaşlarım Uzm. Dr. Çiğdem Seher Kasapkara ve Uzm. Dyt. Gülden Demir'e ve Çocuk Beslenme ve Metabolizma Bölümünün diğer tüm personeline; ayrıca bu çalışma kapsamında Türkiye'de ilk kez uygulanan bir metodu kuran Radyoloji Bölümünden Doç. Dr. Yusuf Öner'e ve her daim yanımda olan değerli aileme teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	i
İÇİNDEKİLER	ii
KISALTMALAR	iv
TABLolar	v
ŞEKİLLER	vi
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Fenilalanin Metabolizması	3
2.1.1. Fenilalanin Hidroksilaz Eksikliği	5
2.1.1.1. Klinik Bulgular	5
2.1.1.2. Metabolik Bozukluk	5
2.1.1.3. Genetik	6
2.1.1.4. Tanısal Testler	7
2.1.1.5. Tedavi ve Prognoz	8
2.1.2. Hiperfenilalaninemi ve Biopterin Metabolizması Bozuklukları	10
2.1.2.1. Klinik Bulgular	11
2.1.2.2. Metabolik Bozukluk	11
2.1.2.3. Genetik	11
2.1.2.4. Tanısal Testler	12
2.1.2.5. Tedavi ve Prognoz	12
2.2. Beyin Fenilalanin Düzeyi	14
3. GEREÇ VE YÖNTEM	17
3.1. Olgular	17
3.2. Biokimyasal Analizler	17
3.3. Magnetik Rezonans Spektroskopi	18
3.4. BH ₄ Yükleme Testi	18
3.5. İstatistik	20
4. BULGULAR	21
4.1. Hastaların Demografik Özellikleri	21

4.2. BH ₄ Yükleme Testi	22
4.3. Olguların Beyin ve Kan Fenilalanin Düzeylerinin Karşılaştırılması	27
5. TARTIŞMA	33
6. SONUÇ	43
7. KAYNAKLAR	45
9. ÖZET	56
10. SUMMARY	58
11. EKLER	60
12. ÖZGEÇMİŞ	62



KISALTMALAR

μmol	: Mikromol
5-HIAA	: 5-hidroksiindolasetik asit
5-HT	: 5-OH triptofan
5-HT	: Serotonin
BH₂	: Dihidrobiopterin (quinone)
BH₄	: Tetrahidrobiopterin
BOS	: Beyin-omurilik sıvısı
DHPR	: Dihidropteridin redüktaz
dl	: desilitre
EEG	: Elektroensefalografi
GTP	: Guanozin trifosfat
GTPCH	: Guanozin trifosfat siklohidrolaz
HPA	: Hiperfenilalaninemi
HVA	: Homovalinik asit
kg	: Kilogram
L	: Litre
LNAA	: Geniş nötral aminoasitlerin 'large neutral amino acids'
mg	: Miligram
MRS	: Magnetik Rezonans Spektroskopi
NO	: Nitrik oksit
NOS	: Nitrik oksit sentaz
P	: Fosfat
PAH	: Fenilalanin Hidroksilaz
PCD	: Pterin-4a-karbinolamin dehidrataz
PHE	: Fenilalanin
PKU	: Fenilketonüri
PTPS	: Pürovil-tetrahidrobiopterin sentaz
SR	: Sepiapterin redüktaz
SSS	: Santral sinir sistemi
TrpH	: Triptofan hidroksilaz
TYR	: Tirozin
TyrH	: Tirozin hidroksilaz

TABLÖLAR

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 1. PAH eksikliği Sınıflandırılması	7
Tablo 2. Farklı Ülkelere Göre Diyet PHE Toleransı ve Hedef PHE Düzeyleri	8
Tablo 3. Biopterin Metabolizması Bozuklukları	12
Tablo 4. Biopterin Metabolizması Bozukluğunun Tedavisi	13
Tablo 5. Hastaların Demografik Özellikleri	21
Tablo 6. BH ₄ Yükleme Testi Sırasında Hastaların Aldıkları Toplam PHE miktarıyla, BH ₄ Sonrası Kan PHE Değerleri	22
Tablo 7. BH ₄ Yanıtsız ve Yanıtlı Olan Vakalarda Yaş, Tanı Yaşı, Tanı Anındaki PHE Düzeyi, Almakta Oldukları Toplam PHE Miktarı ve BH ₄ Yükleme Testi Boyunca Kan PHE Düzeylerinin Karşılaştırılması	24
Tablo 8. Tanı Anındaki PHE Değerinin, Diyetle Tolere Edilebilen ve Yükleme Testi Sırasındaki Toplam PHE Miktarlar, Yükleme testi Sırasındaki BH ₄ Sonrası PHE Değerleri ve PHE Düşüş Yüzdeleriyle Olan İlişkisinin Karşılaştırılması	26
Tablo 9. Yükleme Testi Öncesi Alınan Toplam PHE İle Test Sırasındaki PHE Düşüş Yüzdelerinin Karşılaştırılması	27
Tablo 10. Seçilen 10 Vakanın Tedavi Öncesi ve Sonrası Kan PHE Düzeyinin Karşılaştırılması	30
Tablo 11. Seçilen 10 Vakanın Tedavi Öncesi ve Sonrası Beyin PHE Düzeyinin Karşılaştırılması	31

ŞEKİLLER

Sayfa No

Şekil 1.	Fenilalanin Hidroksilasyon ve Pterin Sistemi	4
Şekil 2.	Kandan beyne PHE taşınma modeli. T Giriş ve T Çıkış, PHE'nin beyne ve beyin dışına taşınma hızı, Vmet, PHE'nin beyin içinde metabolizma hızı	15
Şekil 3.	BH ₄ 'e Yanıtlı Olan Bir Vakanın İlaç Tedavisine Başlanmadan Önceki Beyin PHE Düzeyinin Ölçüm	28
Şekil 4.	BH ₄ 'e Yanıtlı Olan Bir Vakanın İlaç Tedavisi Sonrası Beyin PHE Düzeyinin Ölçümü	29
Şekil 5.	BH ₄ 'e Yanıtsız Olan Bir Vakanın Kan PHE Düzeyi Yüksekken Beyin PHE Düzeyinin Ölçümü	29
Şekil 6.	BH ₄ 'e yanıtsız olan bir vakanın kan PHE düzeyi düşük iken beyin PHE düzeyinin ölçüm	30
Şekil 7.	Kan ve Beyin PHE Düzeylerinin Ortalamaları	31
Şekil 8.	Diyet Grubu ile İlaç (BH ₄) Grubunun Kan PHE Düzeyi Yüksek ve Düşük iken Kan ve Beyin PHE Düzeylerinin Karşılaştırılması	32

1. GİRİŞ

Hepatik fenilalanin hidroksilaz (PAH) enzimini ya da pterin metabolizmasında yer alan enzimleri kodlayan genlerdeki mutasyonlar hiperfenilalaninemi (HPA) ile sonuçlanır. Klasik fenilketonüride (PKU) ileri düzeyde enzim eksikliği olup, kan fenilalanin (PHE) düzeyi oldukça yüksektir ve tedavi edilmemeiş vakalarda ciddi beyin hasarlanması görülür (1). Vitamin, mineral ve diğer aminoasitlerin ilavesiyle birlikte PHE'den kısıtlı diyetle yaşamın ilk günlerinde başlanması, normal kognitif gelişim için oldukça önemlidir. Yaşamın ileri dönemlerinde de PHE kısıtlı diyet önerilse de, ileri yaşlarda diyetle uyum giderek azalmaktadır. Ancak entellektüel kapasitenin olumlu etkilenimi açısından, tedavinin devamlılığı önerilmektedir (2,3). Ayrıca özellikle doğurganlık çağında olan kız hastaların, gebelik süreci boyunca 'maternal PKU' riski nedeniyle, kan fenilalanin düzeylerinin kontrol altına alınması gerekmektedir. Bu nedenlerden dolayı, son yıllarda diyetle alternatif tedavi yaklaşımları gündeme gelmiştir (4). Çalışmalar, PAH enziminin aktifleşmesinin artırılmasını sağlayan kofaktör tedavisi (5), doğrudan enzim takviyesi tedavisi (6) veya gen tedavisi (7) doğrultusunda devam etmektedir.

Günümüzde PAH eksikliğine bağlı olarak gelişen HPA'da diyetle alternatif olarak yanıt veren olgularda kofaktör tedavisi uygulanmaya başlanmıştır. Bu tedavinin uzun dönemde olan etkilerinin değerlendirilmesine yönelik çalışmalar devam etmektedir. Yapılan çalışmalarla, kofaktör olan *tetrahidrobiopterin (BH₄)*'e yanıtı olan vakalarda bireysel farklılıklarla birlikte, diyetteki PHE toleransında

belirgin artış olduğu, gösterilmiştir (8). Türkiye’deki HPA’lı olguların kofaktöre yanıtlılığı konusunda veri çok azdır.

Son yıllarda Magnetik Rezonans Spektroskopi (MRS) kullanılarak santral sinir sistemi (SSS) PHE düzeylerinin invaziv olmaksızın belirlenmesi gerçekleştirilmiştir. Kan PHE düzeylerinin takibi ile ilacın etkinliği gösterilirken, ilaç tedavisi alan hastalarda ilacın santral sinir sisteminde (SSS) etkinliğini gösteren bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Bu çalışmanın amacı, kliniğimizde izlenen HPA’lı olguların BH_4 yanıtlılıkları ile, diyet ve kofaktör tedavileri uygulanan HPA’lı olgularda kan ve beyin PHE düzeylerinin belirlenip bunların korelasyonlarının değerlendirilmesidir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Fenilalanin Metabolizması

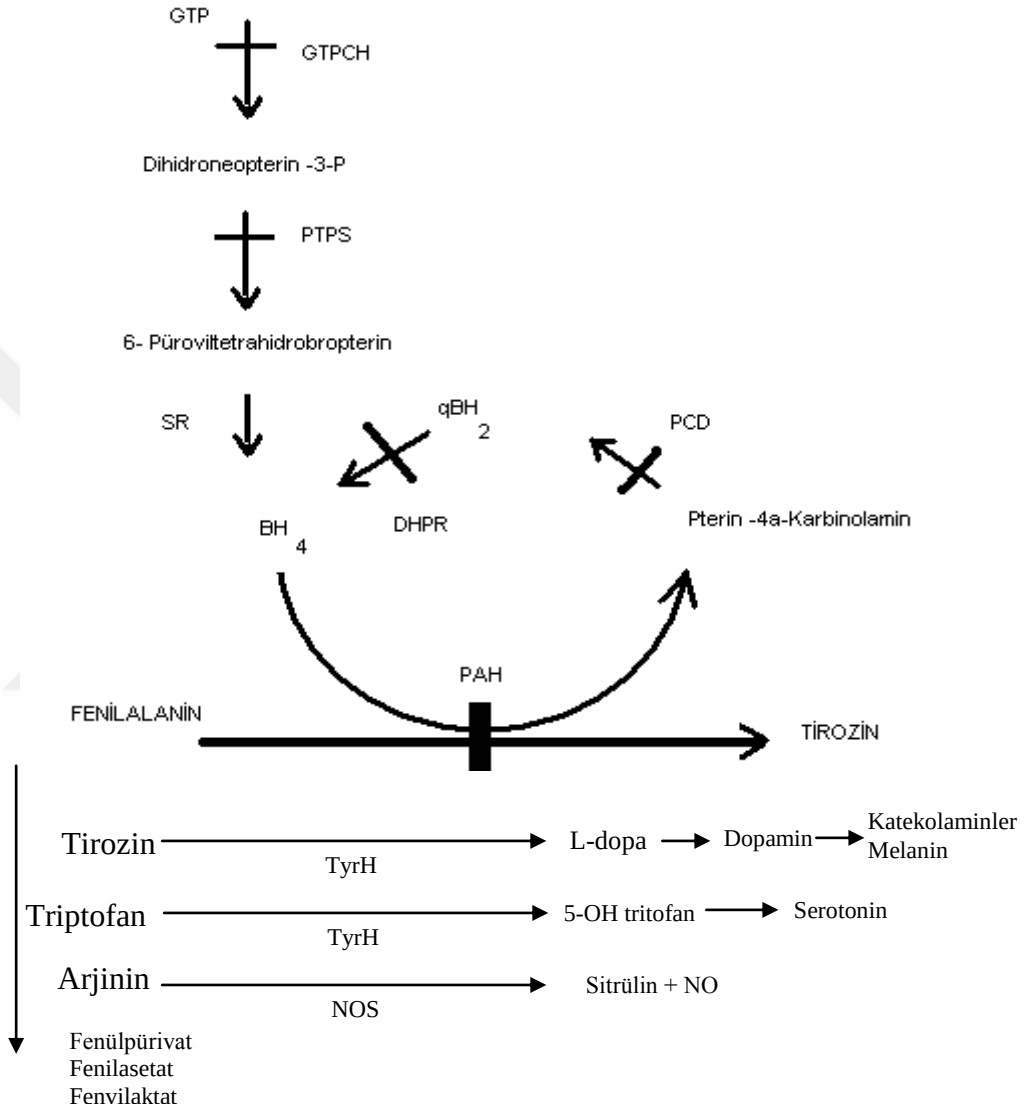
PHE, karaciğerde PAH enzim sistemi ile metabolize olan, esansiyel aromatik amino asittir. PHE katabolizmasının geri döşümsüz olan birinci basamağında, PHE tirozine (TYR) PAH enzimi tarafından hidroksillenir. Bu enzim, guanozin trifosfattan (GTP) üç basamakta oluşturulan ve aktif pterin olan BH_4 tarafından aktifleştirilir.

BH_4 , PHE'nin hidroksilasyonu sırasında inaktif form olan pterin-4a-karbinolamin'e dönüşür. Pterin-4a-karbinolamin dehidrataz (PCD) ve dihidropteridin redüktaz (DHPR) enzimleri ile de tekrar aktif forma dönüştürülür. BH_4 aynı zamanda, TYR hidroksilaz ve triptofan hidroksilaz enzimlerinin de kofaktörü olarak dopamin, katekolamin, melanin ve seratonin sentezinde gerekli olup, ayrıca nitrik oksit sentaz enziminin çalışması için de gereklidir (Şekil 1).

PAH enzimi ya da BH_4 metabolizmasında görev alan enzimlerle oluşan bozukluklar HPA ve aynı zamanda TYR, L-dopa, dopamin, melanin, katekolaminler ve 5-OH triptofanın (5HT) eksikliği ile sonuçlanır. PHE'nin TYR'ye hidroksilasyonunda yetersizlik olduğunda, PHE, fenilpürivik asit, fenilasetat ve fenillaktata dönüşerek idrarla atılır. 'Fenilketonüri' isimlendirilmesinde buradan yola çıkılmıştır (1).

Ciddi PAH eksikliğinde, PHE 20 mg/dl üzerine çıkar ve bu durum 'klasik PKU' olarak bilinmektedir. PHE değeri 10-20 mg/dl arasında ise 'Orta HPA', 2-10 mg/dl arasında ise 'Hafif HPA' olarak isimlendirilmektedir. BH_4 metabolizması

bozuklukları, eskiden ‘malign HPA’ olarak bilinirken, günümüzde eksik olan enzime göre isimlendirilmesi tercih edilmektedir (1).



Şekil 1. Fenilalanin Hidroksilasyon ve Pterin Sistemi

BH₂, dihidrobiopterin (quinone); BH₄, tetrahidrobiopterin; DHPR, dihidrobiopterin redüktaz; GTP, guanozin trifosfat; GTPCH, guanozin trifosfat siklohidrolaz; NO, nitrik oksit; NOS, nitrik oksit sentaz; P, fosfat; PAH, PHE hidroksilaz; PCD, pterin-4a-karbinolamin dehidrataz; PTPS, pürovil-tetrahidrobiopterin sentaz; SR, sepiapterin redüktaz; TrpH, triptofan hidroksilaz; TyrH, tirozin hidroksilaz.

2.1.1. Fenilalanin Hidroksilaz Eksikliği

2.1.1.1. Klinik Bulgular

PKU ilk kez 1934 yılında Fölling tarafından tanımlanmıştır (9). Hastalığın doğal hikayesi; etkilenmiş bireylerde; bebeklik ve çocukluk çağı sırasında ilerleyici, geri dönüşümsüz nörolojik hasar olup, eğer tedavi edilmezse mental, davranışsal, nörolojik ve fiziksel bozukluk şeklinde seyretmektedir. En sık bulgu ciddi mental geriliktir ($IQ \leq 50$) ve sıklıkla idrarda fenilasetik asit atılımına bağlı anormal koku, egzema (%20-40), melanin sentezinin etkilenmesine bağlı azalmış saç ve deri pigmentasyonu, büyümede gerilik, mikrosefali ve nörolojik bulgular (%25 epilepsi, %30 tremor, %5 ekstremitte spastisitesi, %80 elektroensefalografik (EEG) anormallikleri) eşlik eder. Tedavi edilmemiş PKU vakalarının beyin dokusunda, dendritik dallanmanın azaldığı, sinaptogenezin bozukluğu ve myelinizasyonun hasarlandığı gösterilmiştir (10). Diğer nörolojik bulgular, artmış kas tonusu ile birlikte piramidal belirtiler, hiperrefleksi, Parkinsonizm, yürüme ve tik bozukluklarıdır. Hemen hemen tedavi edilmeyen tüm hastalarda, hiperaktivite, amaçsız ve agresif hareketler, anksiyete ve sosyal içe dönüklük şeklinde davranış bozuklukları görülmektedir. Klinik bulgular, PAH enziminin eksiklik derecesine bağlı olarak kan PHE düzeyiyle koreledir (1).

2.1.1.2. Metabolik Bozukluk

Her ne kadar PKU'da beyin hasarlanmasının patogenezi tam olarak anlaşılmış değilse de kan PHE düzeyinin artmış olmasıyla ilişkilendirilmiştir. TYR yarı-esansiyel bir aminoasittir ve TYR'nin azalmış olması melanin, dopamin ve norepinefrin gibi diğer biyojenik aminlerin sentezinin de azalmasına neden

olmaktadır. PHE seviyesinin artması, diğer geniş nötral aminoasitlerin 'large neutral amino acids' (LNAA) beyine girişinde 'yarışmalı inhibisyonla' azalmasına yol açarak beyindeki seratonin ve TYR'nin konsantrasyonların düşmesiyle sonuçlanır. PHE seviyesinin kan/beyin oranı ortalama 4:1'dir. Ayrıca artmış PHE seviyesi, TYR'nin dopamine hidrosilasyonunu ve triptofanın seratonine dekarboksilasyonunu olumsuz etkilemektedir.

Fenilketon, fenilpürivat, fenillaktat ve fenilasetat anormal metabolitler değilse de, konsantrasyonları artarak idrarla atılmaktadır.

2.1.1.3. Genetik

PAH eksikliği otozomal resesif olarak kalıtılmaktadır. PAH geni, 12. kromozomun uzun kolunda yerleşmiştir. Bugüne kadar 600'e yakın mutasyon bildirilmiştir (<http://www.pahdb.mcgill.ca.>). PAH eksikliği olan pek çok olguda compound heterozigot mutasyonlar saptanmıştır. PAH eksikliğindeki insidans popülasyonlar arasında farklılıklar göstermektedir. Örneğin Finlandiya'da 1.000.000'da 1 iken, ülkemizde 6000'de 1'dir. Çok merkezli yapılan bir çalışmada yenidoğan döneminde taranan bölgelerde genel olarak ortalama görülme prevalansı 12.000'de 1'dir (11).

Hastalığın genotipi biokimyasal fenotiple doğrudan korele olmakla birlikte, klinik pratikte mutasyon analizin yapılmasına çoğunlukla gerek olmamaktadır. Ancak BH₄ yanıtı vakaların tespiti için moleküler çalışma yapılması gerekebilir(12).

2.1.1.4. Tanısal Testler

PKU'lu hastalarda kan PHE düzeyi, ilk doğum anında normal olup, hayatın ilk günlerinde hızlı bir şekilde artar. Pek çok ülkede yenidoğan bebeklerde hastalık taraması yapılmaktadır. Yenidoğan taraması öncelikle 'Guthrie mikrobiyolojik inhibisyon testi' ile yapılmıştır. Guthrie testi ilk kez 1961 yılında Dr. Robert Guthrie tarafından tanımlanmıştır. Günümüzde, enzimatik teknikler, tandem mass spektrometri ve kantitatif aminoasit analizi yöntemleri ile de tarama yapılabilmektedir (13, 14). Tarama programı ile 2mg/kg'ın üzerinde çıkan PHE değerler pozitif kabul edilmektedir.

Hiperfenilalaninemi olarak takibe alınan vakalarda, BH₄ metabolizması bozukluğunu dışlamak için kan ve idrarda pterin metabolitleri ve kanda DHPR aktivitesi araştırılmalıdır. Preterm ve hasta bebeklerde, parenteral beslenme ile aminoasit verilmesinden sonra ve karaciğer bozukluklarında bazen geçici hiperfenilalaninemi de görülebilir.

PAH eksikliği kan PHE konsantrasyonuna göre PAH eksikliği sınıflandırılır (Tablo 1).

Tablo 1. PAH eksikliği Sınıflandırılması

	Kan PHE düzeyi (mg/dl)	Rezidüel PAH aktivitesi
Klasik PKU	≥20	< %1
Orta Hiperfenilalaninemi	10-20	%1-5
Hafif Hiperfenilalaninemi	2-10	> %5
BH₄ yanıtı HPA/PKU	BH ₄ yükleme testinden sonra kan PHE düzeyinde düşme ve diyet PHE toleransında artma	

Prenatal tanı için, koryon villus örneklemesinde PAH aktivitesi ve/veya mutasyon çalışması yapılması da mümkündür.

2.1.1.5. Tedavi ve Prognoz

Diyet tedavisi:

PAH eksikliğinin tedavi prensibi, kan PHE değerinin, nöropatolojik etkiden korumak için güvenli aralığa düşürülmesidir. Kan PHE düzeyi, temel olarak, rezidüel enzim aktivitesi ve PHE alımı ile ilişkilidir. Tedavi edilmesi gereken kan PHE düzeyi merkezlere bazı farklılıklar içermektedir (15). Tablo2’de farklı merkezlere göre diyet PHE toleransı ve hedeflenen PHE değerleri gösterilmiştir (16, 17, 18, 19, 20). Merkezimizde tedavi programına alınması gereken vakalar için kan PHE değeri >6 mg/dl’ dir.

Tablo 2. Farklı Ülkelere Göre Diyet PHE Toleransı ve Hedef PHE Düzeyleri

Hasta yaşı	PHE tolerans (mg/gün)	Hedef kan PHE (μmol/l)				
		Almanya	İngiltere	ABD	Fransa	Hollanda
0-2 yaş	130-400	40-240	120-360	120-360	120-300	120-360
3-6 yaş	200-400					120-480
7-9 yaş	200-400		120-480			
10-12 yaş	350-800	40-900			<900	
13-15 yaş	350-800		120-700	120-600		
Adölesan/erişkin	450-1000	40-1200		120-900	<1500	120-600

Diyet tedavisinde, çok az (100 gr'da 30 mg'dan az) PHE içeren gıdalar (ör; karbohidrat, meyve ve bazı sebzeler), orta düzeyde(100 gr'da 30-100 mg) PHE içeren gıdalar (ör; patates, ıspanak, ekmek, makarna) ve PHE içermeyen özel aminoasit karışımları kullanılmaktadır. Yüksek oranda PHE içeren gıdaların (ör; et, balık, peynir, yumurta, yoğurt, krema, pirinç, mısır) alımları uygun değildir. Yenidoğanlara göre hazırlanmış özel formulalar, ihtiyaçlarına yönelik olarak esansiyel yağ asiti, mineral ve vitaminleri içermektedir. Anne sütünde düşük oranda PHE vardır ve anne sütünün günlük belli miktarlarda verilmesi gerekmektedir.

BH₄ Tedavisi:

PAH eksikliğine HPA'lı olgularda BH₄ tedavisinin farmakolojik dozlarındaki kullanımı ile kan PHE düzeyinde düşme olduğu görülmüştür (21). PAH eksikliği olan olgularda BH₄ yanıtılığı olma durumunun anlaşılabilmesi için yükleme testi yapılmaktadır ve PHE düzeyinde %30'dan fazla düşüş olması BH₄ yanıtılı olarak kabul edilmektedir (22). BH₄ yanıtılığı olan PAH eksikliğinde, rezidüel enzim miktarında artış veya enzimdeki olası katlanma bozukluğunu giderme şeklinde etki ettiği düşünülmektedir. Enzimin şekilsel bozukluğunun düzeltilmesi ile aktivitesinin artırılması '*şaperon etkisi*' olarak adlandırılmaktadır (5). Günlük 5-20 mg/kg'lık tedavi ile; kan PHE düzeyinde düşme veya diyetteki PHE toleransında artış beklenmektedir. Genotipik özellikler BH₄ yanıtılığı hakkında bilgi verse de, klasik PKU da dahil tüm hastalara BH₄ yükleme testi yapılmalıdır. Bugüne kadar ilaç ile ilgili önemli bir yan etki henüz bildirilmemiştir ancak gebelikte güvenli kullanımla ilgili yeterli veri olmamakla beraber, diyetle uyumsuz olan bazı vakalarda gebelikte denendiği bildirilmiştir (23).

Alternatif Tedaviler ve Deneysel Çalışmalar:

Uzun zamandan beri diyet tedavisiyle oldukça etkili bir şekilde kan PHE düzeyinde düşme sağlansa da, hastaların yaşı arttıkça diyetle olan uyumlarının azalma durumundan dolayı, alternatif tedaviler üzerinde çalışılmaktadır. PHE, TYR, triptofan, lözin, izolözin ve valin gibi (LNAA), SSS'e geçerken aynı taşıyıcı proteini kullanırlar. PHE'i içermeyen LNAA ilaçları kullanıldığında, PHE ile yarışmalı inhibisyona girerek, PHE'nin SSS'e geçişi engellenmiş olur (24). Bir diğer tedavi yöntemi henüz faz II ilaç çalışması devam etmekte olan Phenylalanine ammonia lyase enzim tedavisidir. *Rekombinan Anabaena variabilis phenylalanine ammonia lyase*'ın, fare modellerinde PHE'ni etkin bir şekilde düşürebildiği gösterilmiştir (25). PAH enzimi karaciğerde ekspresse olduğundan karaciğer nakli teorik olarak tedavi yöntemi görünse de, pratik uygulamada komplikasyonları açısından çok fazla tercih edilmemektedir. Son olarak gen tedavisi ile ilgili çalışmalar devam etmektedir (6).

Fenilketonüride prognoz, tanı alıp tedaviye başlandığı yaş ve hastalığa yol açan mutasyonun tipine bağlıdır.

2.1.2. Hiperfenilalaninemi ve Biopterin Metabolizması Bozuklukları

BH₄ metabolizması bozuklukları, HPA ile ilişkilidir ve GTPCH, PTPS, DHPR ve PCD gibi biojenik amin eksikliğini içermektedir (Şekil 1). GTPCH eksikliğinin dominant formu olan Dopa-yanıtlı distoni ve sepiapterin redüktaz enzim eksikliğinde de SSS'de amin eksikliği vardır, ancak burada kan PHE değerleri normaldir.

2.1.2.1. Klinik Bulgular

Olgular yenidoğan döneminde bulgu vermeyebilir ve yenidoğan taraması ile PHE yüksekliğinin tespiti ile tanı alabilir ya da PHE normal veya düşük bile olsa, yenidoğan döneminden itibaren nörolojik bulgular görülebilir. Yenidoğan taraması ile saptanıp da PAH eksikliğine bağlı HPA düşünülerek yalnızca diyet tedavisi uygulanan olgularda da nörolojik bulgular ortaya çıkabilir.

Bulgular yenidoğan dönemindeyken hafif olabilir, ancak kısa süre sonra belirgin hale gelebilmektedir. İntrauterin büyüme geriliğini çağrıştırır şekilde düşük doğum ağırlığı ve mikrosefali olabilir. Anormal kas tonusu, anormal hareketler, irritabilite, letarji, nöbetler, ısı kontrolsüzlüğü, ilerleyici gelişme geriliği ve mikrosefali görülmektedir. DHPR eksikliğinde serebral atrofi ve serebellar kalsifikasyon olabilmektedir.

2.1.2.2. Metabolik Bozukluk

Pterin sentez bozuklukları, PAH hidroksilaz, TYR hidroksilaz, triptofan hidroksilaz ve nitrik oksit sentaz aktivitesinde azalmaya neden olmaktadır (Şekil 1). Kan PHE konsantrasyonları normal değerden 30-35 mg/dl'ye varan değerlere ulaşacak şekilde oldukça değişkendir. Klinik bulgulardan SSS'deki amin eksiklikleri sorumludur. Beyin-omurilik sıvısındaki (BOS) homovalinik asit (HVA) ve 5-hidroksiindolasetik asit (5-HIAA) düzeylerinin düşük olarak saptanması, sırasıyla dopamin ve seratoninin turnover'nda azalma olduğunu gösterir (26).

2.1.2.3. Genetik

Tüm bozukluklar otozomal resessif olarak kalıtılmaktadır.

2.1.2.4. Tanısal Testler

Yenidoğan taramasında HPA saptanan tüm hastalarda İdrar ve kan pterin analizi ve kan DHPR ölçümü yapılmalıdır. BH₄ yükleme testi ile BH₄ yanıtıllığı saptanır. Bu teste göre; BH₄ verildikten sonra kan PHE düzeyleri ölçülerek ilaç sonrasında bu değerlerde düşme olup olmadığına göre BH₄ yanıtıllığı tespit edilir.

Tanısal çalışmanın önemli bir parçasını BOS'da HVA ve 5-HIAA gibi nörotransmitterlerin ölçümünün yapılmasıdır. DHPR ve PTPS aktiviteleri kanda ve fibroblast kültüründe ölçülebilir. GTPCH aktivitesi karaciğerde, fibroblast kültüründe ve lenfositlerde ölçülebilir. Mutasyon çalışmaları yapılabilir (Tablo 3).

Tablo 3. Biopterin Metabolizması Bozuklukları

Eksiklik	Kan PHE $\mu\text{mol/l}$	Kan veya idrar biopterin	Kan veya idrar neopterin	Kan veya idrar primapterin	BOS 5HIAA ve HVA	Kan DHPR aktivitesi
PAH	>120	↑	↑	-	N	N
GTPCH	90-1200	↓↓	↓↓	-	↓	N
PTPS	240-2500	↓↓	↑↑	-	↓	N
DHPR	180-2500	↓↓	N veya ↑	-	↓	↓
PCD	180-1200	↓	↑	↑↑		N

2.1.2.5. Tedavi ve Prognoz

GTPCH, PTPS ve DHPR eksiklikleri için amaç, kan PHE düzeylerinin normal aralıklarda tutulması ve SSS'de amin eksikliğinin giderilmesidir. SSS'de folat eksikliği riski açısından DHPR eksikliğinde folat desteği de yapılmalıdır. Folat desteği ayrıca GTPCH ve PTPS eksikliklerinde, L-dopa tedavisinin uzun dönemde, folat eksikliği riski nedeniyle de verilmelidir. PCD eksikliği çoğunlukla

tedavi gerektirmese de semptomatik olanlarda BH₄ desteği gerekebilir. SSS amin takviyesi; oral L-dopa/karbidopa (1/10 oranında) ve serotonin (5HT) ile yapılmaktadır. Bulantı, kusma, ishal ve irritabilite gibi yan etkilerinden dolayı düşük dozlarla başlanıp kademeli olarak artırılmalıdır (Tablo 4).

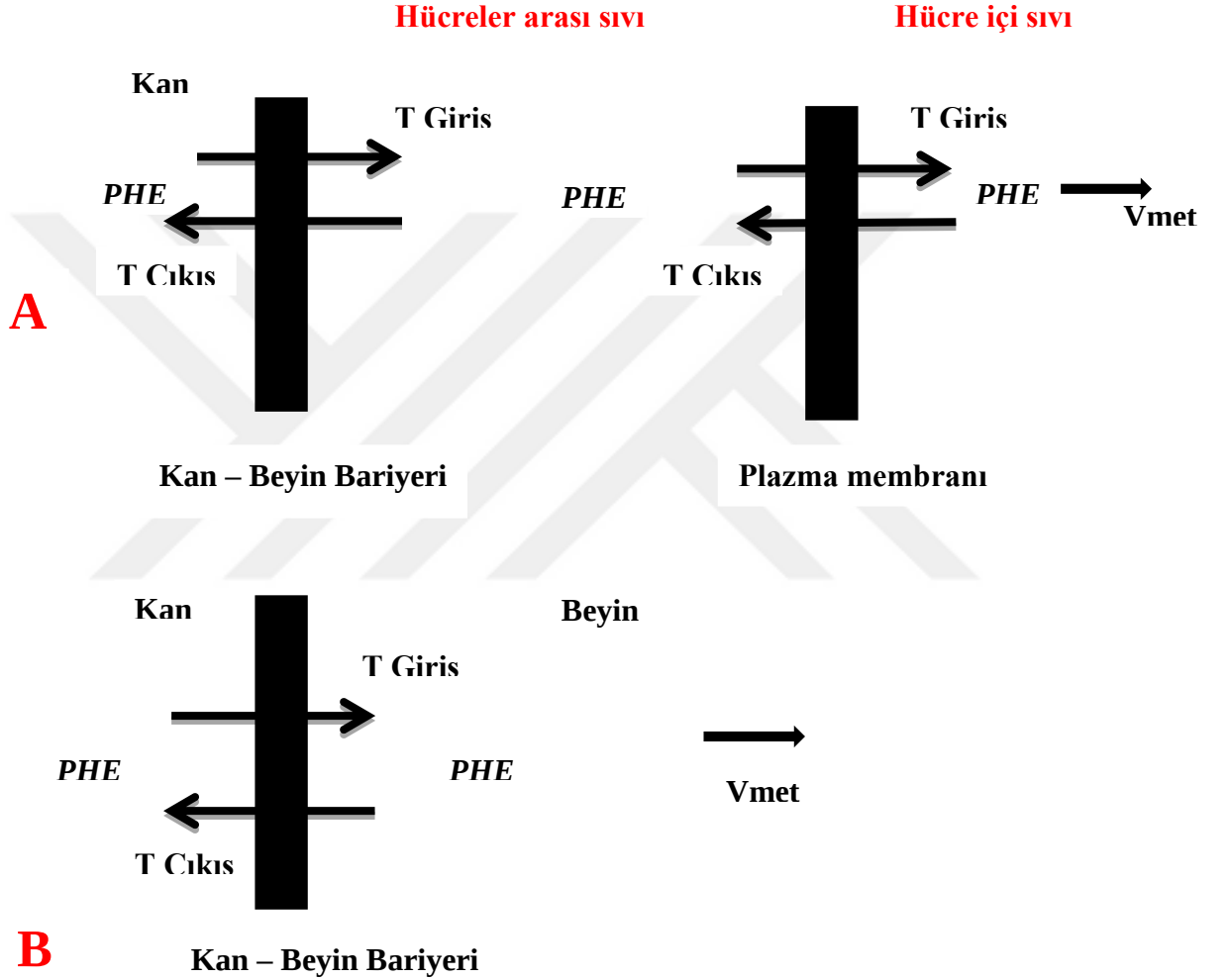
Tablo 4. Biopterin Metabolizması Bozukluğunun Tedavisi

İlaç	Doz (oral)	Sıklık	GTPCH	PTPS	PCD	DHPR
BH ₄	1-3 mg/kg/gün	Günde 1 kez	+	+	±	-
5HT	1-2 mg/kg/gün, günlük 1-2 mg/kg, 4-5 günde artırılarak ortalama doz olan 8-10 mg/kg/güne ulaşılır	4 bölünmüş dozda verilir	+	+	-	+
L-Dopa (karbidopa ile beraber)	1-2 mg/kg/gün, günlük 1-2 mg/kg, 4-5 günde artırılarak ortalama doz olan 10-12 mg/kg/güne ulaşılır	4 bölünmüş dozda verilir	+	+	-	+
Selegiline (L-deprenyl)	0.1-0.25 mg/gün	3 veya 4 bölünmüş dozda	±	±	-	±
Entacapone	15 mg/kg/gün	2 veya 3 bölünmüş dozda	±	±	-	±
Pramipexole	0.006 mg/kg/gün 0.035 mg/kg/gün'e çıkarılır	2 bölünmüş dozda	±	±	-	±
Kalsiyum folinat (folinik acid)	15 mg/gün	Günde 1 kez	±	±	-	±

2.2. Beyin Fenilalanin Düzeyi

Kan PHE düzeyinin güvenli aralıklarda tutulmasının, nörokognitif gelişim açısından önemi bilinen bir gerçektir. Ancak kan PHE konsantrasyonu ile beyin dokusunun etkilenmesinin kesin patogenezi, henüz tam olarak anlaşılmış değildir (27, 28). Beyin dokusunu, diğer dokulardan ayıran önemli özelliklerden biri kan-beyin bariyeridir. Bu bariyer sayesinde kandaki tüm içeriklerin aynı şekilde beyin dokusuna yansması engellenmiş olmaktadır. Kan PHE düzeyi açısından olaya baktığımızda, çok yüksek kan PHE düzeylerine rağmen, tedavisiz olan bazı PKU vakalarının, normal zekaya sahip olduğu gösterilmiştir (29, 30, 31, 32). Ayrıca beyin PHE düzeylerine bakıldığında, kandaki yüksek PHE değerine rağmen, beyinde düşük olduğu gösterilmiştir. Bu durum kan-beyin bariyerinin bireysel farklılığı ile açıklanmaya çalışılırken, geniş-nötral aminoasitleri taşıyan protein sistemini kodlayan genlerdeki polimorfizimin de etkili olabileceği düşünülmektedir (33). Klinik pratikte henüz rutin uygulamaya geçmediyse de, beyin PHE düzeyinin ölçümünün yapılmasının, tedavinin etkinliği ve hastalığın prognozu açısından klinisyenlere fikir sağlayabileceği düşünülmektedir. Bu anlamda magnetik rezonans spektroskopi (MRS) tekniği kullanılarak non-invaziv bir şekilde dokuların metabolik karakteri ortaya çıkarılabilir. İlk kez Avison ve arkadaşları hiperfenilalaninemik tavşan modelinde beyin MRS ile beyin PHE düzeyini ölçmüştür ve kan ile beyin dokusu arasında PHE düzeyi açısından farklılık olduğunu göstermiştir (34). Aynı grup diyet yapmayan beş PKU hastasının beyinde MRS ile artmış PHE düzeyini göstermiştir (35). İlerleyen zamanlarda da beyin PHE konsantrasyonlarını ölçen çalışmalar yapılmıştır (36, 37). Beyin PHE düzeyi ölçümü yapılırken, sağlıklı popülasyondaki beyin kreatin pikleri dikkate

alınarak oranlama yapılmaktadır (38, 39). Kan ile beyin PHE konsantrasyonları arasındaki ilişki, simetrik Michaelis-Menten modeli ile tanımlanmıştır (40) (Şekil 2)



Şekil 2. Kandan beyne PHE taşınma modeli. T Giriş ve T Çıkış, PHE'nin beyne ve beyin dışına taşınma hızı, V_{met} , PHE'nin beyin içinde metabolizma hızı

- A:** Kan-beyin bariyerinde ve plazma membranında iki doymuş taşıma sistemi; kandan hücreler arası boşluğa taşınma ve buradan da nöron ve astroglia hücrelerine taşınma
- B:** Kan-beyin bariyerinden hız kısıtlayıcı olarak PHE'nin taşıyıcı aracılıklı geçişi, hücre içi ve hücre arası PHE'nin dengesinin beyindeki PHE havuzuna kinetik etkisi

Her ne kadar kesin etiyopatogenez belli değilse de, kanda PHE düzeyinin yüksekliği ile nörotoksisite arasında yakın ilişki olduğu düşünülmektedir. Dolayısıyla HPA/PKU vakalarında tedavide temel hedef, kandaki PHE değerlerinin güvenli aralıklarda tutulmaya çalıŐılmasıdır. Ancak kan PHE düzeyi ile beyin düzeyi arasında da her zaman doğrudan bir ilişki olamayacağına dair de yorumlar zaman zaman gündeme gelmiştir. Ancak hastaların izleminde, kan düzeylerinin takibi daha pratik olduğundan, bu değer dikkate alınarak tedavi ve izlemin seyri belirlenmektedir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma ile, izlemekte olduğumuz vakalarımızın öncelikle tedavi seçeneğini belirleyebilmek amacıyla BH₄ yükleme testi yapılmıştır. Bu ilaca yanıtı kabul edilen vakalar ilaç tedavi programına alınmış olup diğer vakalar özel diyet tedavisi altında izlenmeye devam edilmiştir. Tedavi seçeneğinin belirlenmesinden sonra, seçilmiş bazı vakalarımızda uygulamakta olduğumuz tedavinin beyin üzerindeki etkilerini değerlendirebilmek üzere, eş zamanlı olarak kan ve beyin PHE düzeyleri ölçülmüştür.

3.1. Olgular

Bu çalışmaya Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Beslenme ve Metabolizma Bilim Dalı'nda, HPA/PKU tanıları ile izlenmekte olan 41 hasta alınmıştır. Hasta ve anne ve/veya babalarına çalışmanın amacı anlatılarak onam formları alınmıştır.

3.2. Biokimyasal Analizler

Kan PHE düzeyleri heparinli plazma örneklerinde yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) ile Gazi Üniversitesi Metabolizma Laboratuvarında çalışılmıştır. Yöntem prensip olarak deproteinizasyon işleminden sonra PHE 'nin HPLC de floresans dedektör ile ölçümü esasına dayanmaktadır. Sonuçlar kalibrasyon eğrisinden değerlendirilerek mg/dl olarak verilmiştir.

3.3. Magnetik Rezonans Spektroskopi

Bu 41 hastadan seçilen 10 vakaya, uygulanmakta olan tedavinin etkinliğini gösterebilmek için eş zamanlı kan ve beyin PHE düzeyleri de ölçülmüştür. Bu ölçüm her bir 10 hasta için; kan PHE düzeyleri yüksekken (BH_4 yanıtısızlarda yükleme testi sırasında, BH_4 yanıtı kabul edilenlerde ilaç tedavisine başlamadan önce) ve düşükken (BH_4 yanıtısızlarda özel diyet ile düşürüldükten sonra ve BH_4 yanıtılılarda ilaç tedavisine başlandıktan sonra) yapılmıştır. Beyin PHE düzeyi, MRS incelemesi ile, 3 Tesla ana magnet gücünde bir cihaz (Siemens, Verio, Erlangen-Almanya) ve çok kanallı kafa sargısı kullanılarak yapılmıştır. Bu amaçla farklı TE sürelerinde multivoksel spektroskopi ölçümleri sentrum semiovale düzleminden gerçekleştirilmiştir. İncelemeyi takiben ham veriler iş istasyonuna transfer edilerek Fourier transformasyonu tamamlanmıştır. Özel yazılım kullanılarak beyin parankiminden, çok noktada ve karşılaştırmalı olarak spektral eğri paternleri, metabolit oranları kaydedilerek karşılaştırılmıştır. Bu işlem, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Radyoloji Ana Bilim Dalı'nda gerçekleştirilmiştir.

3.4. BH_4 Yükleme Testi

Tüm hastalara BH_4 yükleme testi yapılmıştır. Bu test için Çocuk Beslenme ve Metabolizma Derneği'nin yapmış olduğu toplantıda alınan karar doğrultusunda oluşturulan ' BH_4 yükleme testi protokolü' uygulanmıştır (Ek 1). Bu protokole göre; hastaların ilk tanı anındaki PHE değerlerine hastalar, 'hafif HPA', 'orta HPA' ve 'klasik PKU' olarak sınıflandırılmıştır. Orta HPA ve klasik PKU olarak izlenen veya başlangıçta hafif HPA olup, izleminde kan PHE düzeyinde tedavi edilemesini gerektirecek düzeyde artış olan vakalarımıza BH_4 yükleme testi yapılmıştır. Test

yapılmasına karar verilen vakaların o andaki almakta oldukları diyetin PHE içeriği kilogram (kg) başına hesaplanmıştır. (Teste başlamadan önceki son üç gün boyunca tüm yedikleri dikkate alınarak günlük ortalama değer saptanmıştır). Test boyunca da diyetleri bu şekilde sabitlenmiştir. BH₄ yüklemesine geçmeden önce, kan PHE düzeyinde, her bir sınıf için belli bir hedef değer saptanmıştır. Bu değer; orta düzeyde HPA hastaları için 10-20 mg/dl olup, klasik PKU için 20 mg/dl olarak kabul edilmiştir. Hedef değerın altındakiler için en az bu değeri yakalamak üzere Phe toz yüklemesi yapılmıştır (O anki diyetlerinde hiçbir değışiklik yapmaksızın). PHE toz yüklemesine 5 mg/kg olarak başlanıp, günlük 5'er mg/kg olarak artışlar yaparak ve üç günde bir kan PHE düzeyi ölçümü yapılarak hedef değere ulaşılıp ulaşılmadığı kontrol edilmiştir. Hedef değere ulaştıktan sonra gün içerisinde PHE dalgalanması olup olmadığını görebilmek için, bir gün içinde 8 saatlik aralıklarla kan PHE düzeyi ölçümü yapılmıştır. Ölçülen PHE değeri birbiriine yakınsa (± 2 mg/dl) dalgalanma olmadığına karar verilerek BH₄ yüklemesine geçilmiştir. Eğer bir dalgalanma var ise, almakta olduğu PHE içeriği bir kez daha gözden geçirilerek ve gerekirse PHE toz artımı yapılarak, tekrar PHE düzeyleri ölçümleri yapılmıştır. BH₄ yüklenmesine karar verilen vakalardan ilaç öncesi (0. dakika) PHE ölçümü için kan alınmıştır. 20 mg/kg peroral BH₄ verdikten sonra; 8., 16., 24., 36., 48. saatlerde de kanlar alınarak PHE ölçümleri yapılmıştır. BH₄ sonrası ölçülen PHE değeri ile önceki değeri (0. dakika) karşılaştırıldığında; eğer %30 ve üzeri bir düşüş sağlandıysa hasta 'BH₄ yanıtlı', %30'dan daha az düşüş varsa veya hiç düşüş yoksa 'BH₄ yanıtız' olarak kabul edilmiştir. Yanıtız kabul edilen vakaların, PHE kısıtlı özel diyet ile tedavisi ayarlanırken, yanıtlı olan vakalara BH₄ tedavisi başlanmıştır.

İlaç başlanan vakaların haftalık kan PHE monitorizasyonu yapılarak diyetlerindeki PHE içeriği kademeli olarak artırılmıştır.

Tüm vakaların teste başlamadan önce BH₄ metabolizması ile ilgili her hangibir bozukluğu olup olmadığını anlamak için gerekli ileri düzey tetkikleri yapılmıştır (Kan DHPR aktivitesi, kan ve idrar pterin metabolitleri tayini).

3.5. İstatistik

Verilerin analizi için ‘Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) for Windows 16.0 programı kullanılmıştır. Tüm verilerin, ortalama ve standart sapma değerleri verilmiştir. Grup karşılaştırılmasında Mann-Whitney U testi yapılmıştır. Verilerin birbirleri olan ilişkilerinin değerlendirilmesinde Spearman korelasyon ve Willcoxon testleri kullanılmıştır. İstatistiksel olarak $p < 0.05$ değeri anlamlı kabul edilmiştir.

Çalışma, Fatih Üniversitesi Tıp Fakültesi Yerel Etik Kurulu tarafından değerlendirilmiş olup, 19 Ekim 2012 tarih ve B 30 2 FTH 0 20 00 00 / 1334 sayılı karar ile çalışmanın yapılmasında etik açıdan sakınca bulunmadığına ilişkin onay alınmıştır.

4. BULGULAR

4.1. Hastaların Demografik Özellikleri

Çalışmaya toplam 41 vaka alınmış olup, tanı yaşları; 11 ile 8030 gün arasındaydı (ortalama $429 \pm 1349,8$). BH_4 yükleme testi yapıldığında yaş aralığı; 11 ile 8395 gün arasında değişmekteydi (ortalama $1968,4 \pm 2042,8$). Vakaların 23'ü kız (%56,1), 18'i erkek (%43,9) cinsiyete sahipti. Olguların tanı anındaki PHE değerleri; 3,4-69 mg/dl arasındaydı (ortalama $23,4 \pm 17$) (Tablo 5, 6). Olguların; 23'ü 'Klasik PKU', 7'si 'Orta Düzeyde HPA' ve 11'i 'Hafif HPA' olarak sınıflandırılmıştır. Tanı PHE değeri 'Hafif HPA' sınırlarında olan 2 vakadan birinde 'DHPR Eksikliği' diğerinde 'PTPS Eksikliği' olmak üzere ' BH_4 Metabolizması Bozukluğu' saptanmıştır.

Tablo 5. Hastaların Demografik Özellikleri

Toplam hasta sayısı (n)		Kız (%)		Erkek (%)	
41		23	(%56,1)	18	(%43,9)
	Minimum	Maximum	Ortalama	Standart sapma	Ortanca
Yaş (Gün)	11	8395	1968,4	2042,8	2007,5
Tanı Yaşı (Gün)	11	8030	429	1349,8	105
Tanı anındaki PHE değeri (mg/dl)	3,4	69	23,4	27	26
Diyetteki PHE miktarı (mg/kg)	15	130	49,5	28,1	30

Hastaların izlemi sırasında diyetlerindeki toplam PHE içeriği 15 mg/kg ile 130 mg/kg arasında değişmekteydi (ortalama $49,5 \pm 28,1$ mg/kg). BH₄ yükleme testi yapılırken kan PHE düzeyinin artırılması için PHE toz ilavesi yapıldığından almakta oldukları toplam PHE içeriği en düşük 35 mg/kg en yüksek 140 mg /kg arasında değişmekteydi (ortalama $82,2 \pm 26,8$ mg/kg).

4.2. BH₄ Yükleme Testi

BH₄ yükleme testi yapılırken, 0. dakika ve ilaç verildikten sonra 8. saat, 16. saat, 24. saat, 36. saat ve 48. saatte ölçülen kan PHE düzeylerinin en düşük, en yüksek ve ortalama değerleri tablo 6’da belirtilmiştir.

Tablo 6. BH₄ Yükleme Testi Sırasında Hastaların Aldıkları Toplam PHE miktarıyla, BH₄ Sonrası Kan PHE Değerleri

	Minimum	Maximum	Ortalama	Standart sapma	Ortanca
Yükleme testi öncesi toplam PHE içeriği (mg/kg)	35	140	82,2	26,8	70
Yükleme testi sırasındaki 0. dakika kan PHE düzeyi (mg/dl)	4,5	44,1	21,8	8,5	25,2
8. saat kan PHE düzeyi (mg/dl)	0,6	39	17,3	10,4	24,1
16. saat kan PHE düzeyi (mg/dl)	0,3	40,6	16,6	10,8	22,9
24. saat kan PHE düzeyi (mg/dl)	0,6	42,7	18,5	9,4	24,1
36. saat kan PHE düzeyi (mg/dl)	0,4	44,6	17,2	10,5	24,4
48. saat kan PHE düzeyi(mg/dl)	1,9	31,5	16,2	9,6	23,4

Test sonucuna göre değerlendirme yapıldığında vakaların 16'sında BH₄ verildikten sonraki kan PHE değerlerinin en az birinde ilaç öncesi değerlere göre %30 veya daha fazla düşme olduğu görölmüşür. Diğer 25 vakada ilaç öncesi ve sonrası değerlerde düşme olmadığı görölmüşür. Bu sonuca göre bu 25 vaka BH₄ 'e yanıtız olarak kabul edilmiştir.

BH₄ yanıtız olarak kabul edilen vakalarla yanıtız kabul edilen vakalar arasında yapılan karşılaştırmaya göre; tanı yaşı, tanı anındaki PHE düzeyleri, test öncesi aldıkları toplam PHE miktarları (diyet + PHE toz) ve BH₄ yüklemesi sırasındaki kan PHE düzeyleri arasında belirgin farklılıklar saptanmış olup, yanıtız olan grupta, tanı anındaki PHE düzeylerinin istatıksel olarak anlamlı bir şekilde daha fazla olduğu görölmüşür ($p < 0,05$). Diyetle aldıkları PHE içeriği ve test boyunca verilen diyet PHE miktarları da yanıtız olan grupta daha düşük olarak saptanmıştır. Tablo 7'de her iki grup arasındaki karşılaştırılan bu parametrelerin değerleri verilmiştir.

Tablo 7. BH₄ Yanıtsız ve Yanıtlı Olan Vakalarda Yaş, Tanı Yaşı, Tanı Anındaki PHE Düzeyi, Almakta Oldukları Toplam PHE Miktarı ve BH₄ Yükleme Testi Boyunca Kan PHE Düzeylerinin Karşılaştırılması

	BH₄ Yanıtsız	BH₄ Yanıtlı	P
Sayı	25	16	
Yaş (gün) [Minimum-maximum (ortalama ± Standart sapma)]	11-8395 (2749,8 ± 2269,7)	135-4015 (900,6 ± 922,1)	
Tanı Yaşı (gün) [Minimum-maximum (ortalama ± Standart sapma)]	6-8030 (714,1 ± 1721,8)	4-105 (27,7 ± 24,6)	0,01
Tanı Anındaki PHE Düzeyi (mg/dl) [Minimum-maximum (ortalama ± Standart sapma)]	6,9-69 (31,6 ± 15,4)	3,4-54 (12,2 ± 12,2)	0,000
Diyetteki PHE İçeriği (mg/kg) [Minimum-maximum (ortalama ± Standart sapma)]	15-130 (42,9 ± 30,7)	20-100 (57,5 ± 21,4)	0,035
Teste Başlamadan Önceki Almakta Oldukları Toplam Bulunan PHE İçeriği (mg/kg) [Minimum-maximum (ortalama ± Standart sapma)]	35-130 (70,2 ± 20,5)	45-140 (100,3 ± 26,2)	0,001
Yükleme Testi 0. Dakika Kan PHE Düzeyi (mg/dl) [Minimum-maximum (ortalama ± Standart sapma)]	12-44 (25,3 ± 6,9)	4,5-38 (17,4 ± 8,4)	0,001
Yükleme Testi 8. Saat Kan PHE Düzeyi (mg/dl)	4-39 (23,5 ± 7,6)	0,6-25,6 (8,6 ± 7)	0,000
Yükleme Testi 16. Saat Kan PHE Düzeyi (mg/dl)	4-40,6 (22,9 ± 8,4)	0,3-24,7 (8 ± 7,1)	0,000
Yükleme Testi 24. Saat Kan PHE Düzeyi (mg/dl)	9,9-42,7 (24,1 ± 7,5)	0,6-22,9 (11,1 ± 5,3)	0,000
Yükleme Testi 36. Saat Kan PHE Düzeyi (mg/dl)	11,2-44,6 (24,4 ± 7,5)	0,4-23,3 (8,1 ± 5,8)	0,000
Yükleme Testi 48. Saat Kan PHE Düzeyi (mg/dl)	9,2-31,5 (23,4 ± 6,2)	2-22,9 (9,4 ± 6,6)	0,001

BH₄ yanıtı olan vakaların büyük kısmının başlangıçta hafif veya orta düzeyde HPA sınıfına ait olduğu yalnızca iki hastanın klasik PKU sınıfına girecek

kadar başlangıç PHE değerinin, birinde 22 mg/dl, diğerinde 54 mg/dl olmak üzere oldukça yüksek olduğu görülmüştür. Bu her iki olguda da BH₄ yükleme testi sırasında kan PHE düzeyinde ortalama %80 civarında düşüş olduğu görülmüştür. Tanı anındaki değeri 54 mg /dl olan vakanın, başlanan ilaç tedavisi ile diyeti tamamen normale dönebilmiş olup, hasta normal olarak beslenirken kan PHE düzeyi 2-3 mg / dl civarında seyretmektedir. Diğer vakanın ise kan PHE düzeyi, ancak 30 mg / kg PHE içeren diyet altındayken normal sınırlarda olup, başlanan ilaç tedavisi ile diyet PHE içeriği 80 mg / kg' a kadar çıkarılabilmektedir. Tanı anındaki PHE değeri 17 mg / dl olan bir olgunun, test sırasında en yüksek kan PHE değeri düşüşü 16. saatte %30 olup ilaç tedavisi sonrası 3 aylık izlem süresinde hastanın diyet PHE içeriği en fazla 35-40 mg/dl'ye çıkmıştır. Tanı anındaki PHE değeri 9,6 mg/ dl olan bir vakanın izleminde PHE değeri 14, 9' a yükseldiği dönemde BH₄ yükleme testi yapıldığında PHE değerindeki ilk düşüşün 36. saatte 5,4 mg / dl olarak ölçülmesiyle anlaşılmıştır ve bu vaka 'Geç Yanıtlı' olarak değerlendirilmiştir. İlaç tedavisi altında izlenen bu vakanın şu anda herhangi bir diyet ihtiyacı duymaksızın kan PHE değeri kontrol altında izlenmektedir. Diğer BH₄ yanıtı vakaların ilaç tedavisi uygulanırken diyetlerinin tamamen normale döndüğü gösterilmiştir. Bunlardan ikisinde BH₄ metabolizması bozukluğu vardı.

Hastaların tanı anındaki PHE değerleri ile diyetlerinde almakta oldukları PHE içeriği, yükleme testi sırasındaki aldıkları toplam PHE miktarı, yükleme testi sırasındaki PHE değerleri ve yükleme testi sırasındaki PHE düşüş yüzdeleri arasındaki ilişki ile ilgili veriler tablo 8'de verilmiştir. Bu verilere göre tanı anındaki PHE değeri ile diyetlerinde aldıkları PHE içeriği, test sırasındaki diyetlerinde olan toplam PHE miktarı ve yükleme testi sırasındaki BH₄ verildikten

sonra olan PHE düzeylerindeki düşme yüzdeleri arasında negatif korelasyon yükleme testi sırasındaki kan PHE değerleri ile pozitif korelasyon olduğu görülmüştür. Yükleme testi boyunca hastaların aldıkları toplam PHE miktarı ile, BH₄ verildikten sonra olan PHE düzeylerindeki düşme yüzdeleri arasında da yine pozitif korelasyon saptanmıştır (Tablo 9).

Tablo 8. Tanı Anındaki PHE Değerinin, Diyetle Tolere Edilebilen ve Yükleme Testi Sırasındaki Toplam PHE Miktarlar, Yükleme testi Sırasındaki BH₄ Sonrası PHE Değerleri ve PHE Düşüş Yüzdeleri ile Olan İlişkinin Karşılaştırılması

	P	R
Diyette tolere edilebilen PHE miktarı	0,004	-0,44
Yükleme testi öncesi alınan toplam PHE miktarı	0,024	-0,35
Yükleme testi sırasındaki PHE değerleri 0. saat	0,001	0,5
Yükleme testi sırasındaki PHE değerleri 8. saat	0,001	0,5
Yükleme testi sırasındaki PHE değerleri 16. saat	0,00	0,52
Yükleme testi sırasındaki PHE değerleri 24. saat	0,00	0,64
Yükleme testi sırasındaki PHE değerleri 36. saat	0,001	0,54
Yükleme testi sırasındaki PHE değerleri 48. saat	0,00	0,71
Yükleme testi sırasındaki BH ₄ sonrası PHE düşüş yüzdeleri 8. saat	0,001	-0,49
Yükleme testi sırasındaki BH ₄ sonrası PHE düşüş yüzdeleri 16. saat	0,02	-0,36
Yükleme testi sırasındaki BH ₄ sonrası PHE düşüş yüzdeleri 24. saat	0,00	-0,60
Yükleme testi sırasındaki BH ₄ sonrası PHE düşüş yüzdeleri 36. saat	0,002	-0,38
Yükleme testi sırasındaki BH ₄ sonrası PHE düşüş yüzdeleri 48. saat	0,00	-0,71

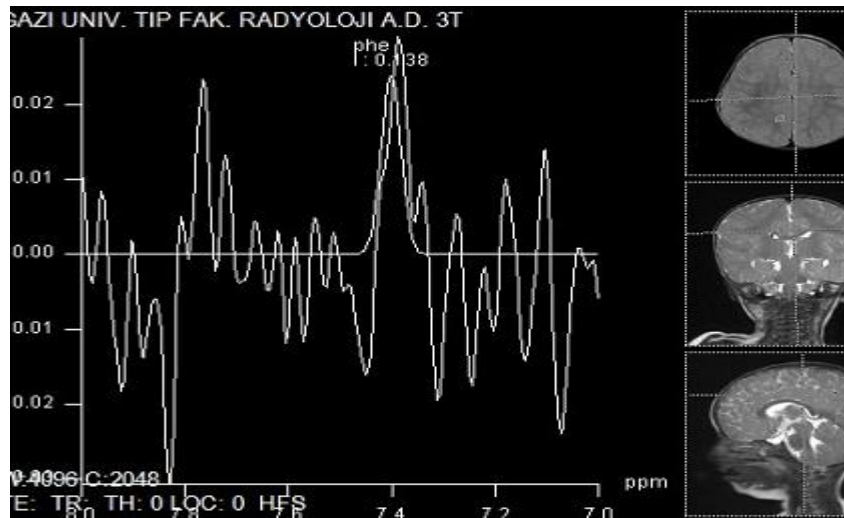
Tablo 9. Yükleme Testi Öncesi Alınan Toplam PHE İle Test Sırasındaki PHE Düşüş Yüzdelерinin Karşılaştırılması

	p	r
Yükleme testi sırasındaki BH ₄ sonrası PHE düşüş yüzdeleri 8. saat	0,00	0,56
Yükleme testi sırasındaki BH ₄ sonrası PHE düşüş yüzdeleri 16. saat	0,001	0,49
Yükleme testi sırasındaki BH ₄ sonrası PHE düşüş yüzdeleri 24. saat	0,01	0,45
Yükleme testi sırasındaki BH ₄ sonrası PHE düşüş yüzdeleri 36. saat	0,00	0,59
Yükleme testi sırasındaki BH ₄ sonrası PHE düşüş yüzdeleri 48. saat	0,01	0,51

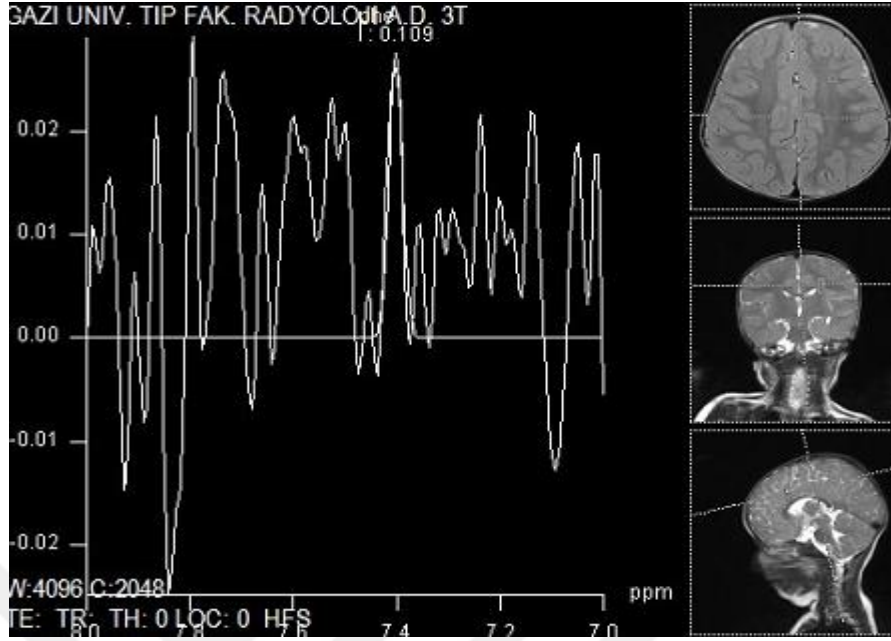
4.3. Olguların Beyin ve Kan Fenilalanin Düzeylerinin Karşılaştırılması

BH₄ ‘e yanıtıız kabul edilenlerden seçilen 6, yanıtılı kabul edilenlerden seçilen 4 hastanın, uygulanmakta olan tedavinin etkinliğini değeriendirebilmek amacıyla beyin PHE ölçümü, MRS yöntemi kullanılarak yapılmıştır. BH₄ yanıtıız olan vakalarda birinci işlem, BH₄ yükleme testi yapılırken, bu ilaca yanıtıız olduğu anlaşıldığı dönemde ve eş zamanlı kan PHE değeri sınıfına göre yüksekken yapılmıştır. İkinci işlem ise yüksek olan PHE değeriinin özel PHE kısıtlı diyet ile düşürüldüğü anda yapılmıştır. Yanıtılı vakalarda ise birinci işlem BH₄ tedavisine başlamadan önce, ikinci işlem ise tedavi ile kan PHE düzeyi kontrol altındayken yapılmıştır (Şekil 4, 5, 6, 7). Tüm vakaların birinci işlem ile ikinci işlem sırasındaki kan PHE düzeyleri kıyaslandığında istatıksel olarak anlamlı bir düşüş olduğu görülmüştür (p= 0,008). Kan PHE düzeyindeki bu değışikliğe iki ayrı grup olarak bakacak olursak; BH₄ yanıtıız olanlarda (diyet grubu) birinci ile ikinci işlem (MRS

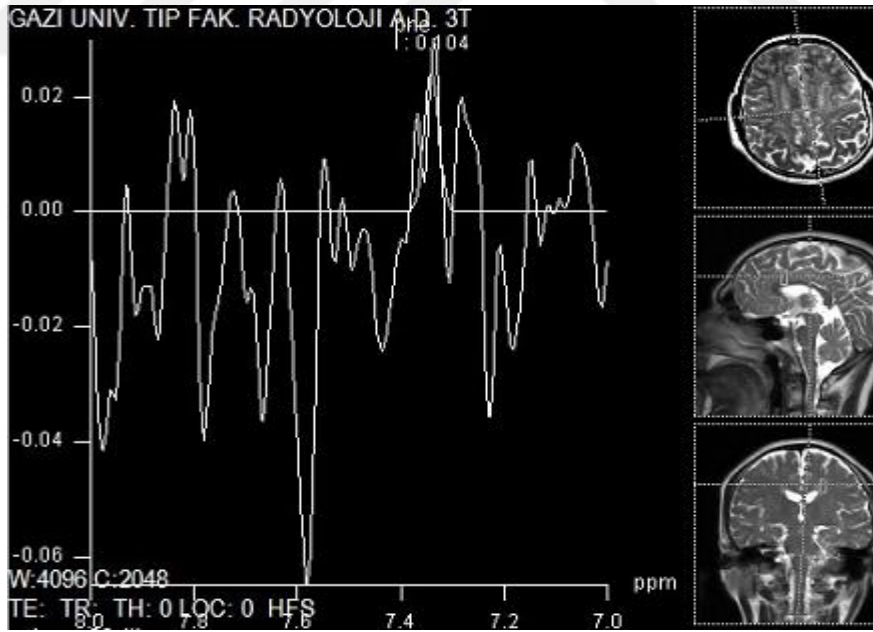
ile beyin PHE ölçümleri) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş varken ($p=0,028$), BH_4 yanıtı olanlarda (ilaç grubu) her iki durum arasında anlamlı bir farklılık görülmemiştir ($p=0,068$) (Tablo 10.). Beyin PHE düzeyi ölçümünde ise; ilaca yanıtı olmayan vakaların, tedavi öncesi ölçülen beyin PHE değeri ile tedavi sonrası ölçülen beyin PHE değerleri arasında anlamlı bir düşüş saptanmıştır ($p=0,027$). Ancak BH_4 'e yanıtı olan ve ilaç tedavisi alan dört hastanın, ilaç tedavisine başlamadan önceki beyin PHE değeri ile ilaç tedavisine başlandıktan sonra ölçülen beyin PHE düzeyleri arasında anlamlı bir farklılık saptanmamıştır ($p=0,068$) (Tablo 11). Şekil 8'de her iki grup için ölçülen ortalama PHE değerleri gösterilmiştir. Diyet grubunun, kan PHE düzeyleri yüksek ve düşükken ölçülen (tedavi öncesi ve sonrası) kan ve beyin PHE düzeyleri karşılaştırıldığında aralarında yüksek korelasyon olduğu görülmüştür. İlaç grubundaysa yalnızca beyin PHE düzeylerinin iki farklı ölçümü arasında yüksek korelasyon bulunmuştur, ancak istatistiksel olarak anlamlı değildir (Şekil 9).



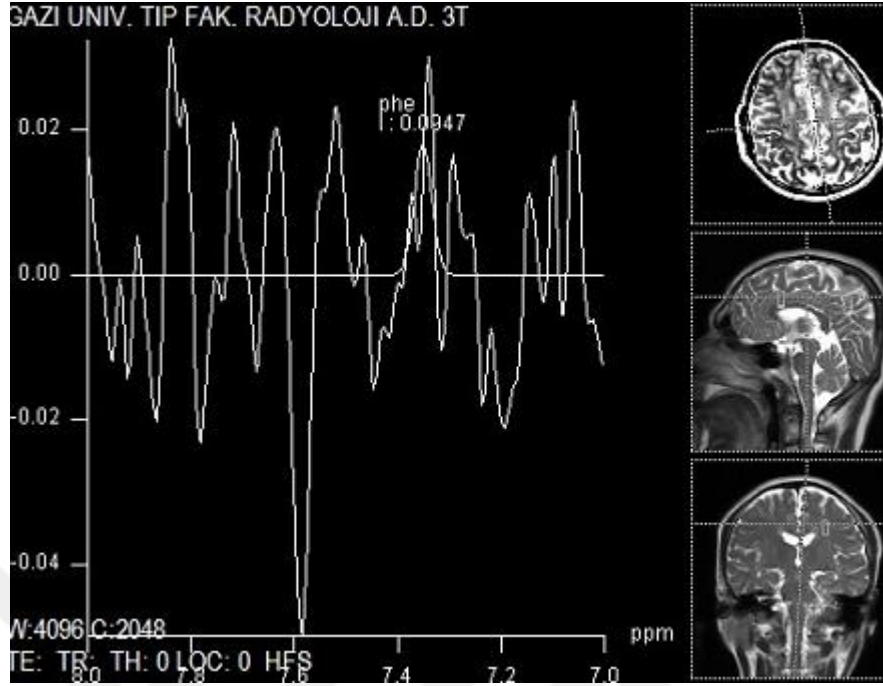
Şekil 3. BH_4 'e Yanıtı Olan Bir Vakanın İlaç Tedavisine Başlanmadan Önceki Beyin PHE Düzeyinin Ölçüm



Şekil 4. BH₄'e Yanıtlı Olan Bir Vakanın İlaç Tedavisi Sonrası Beyin PHE Düzeyinin Ölçümü



Şekil 5. BH₄'e Yanıtsız Olan Bir Vakanın Kan PHE Düzeyi Yüksekken Beyin PHE Düzeyinin Ölçümü



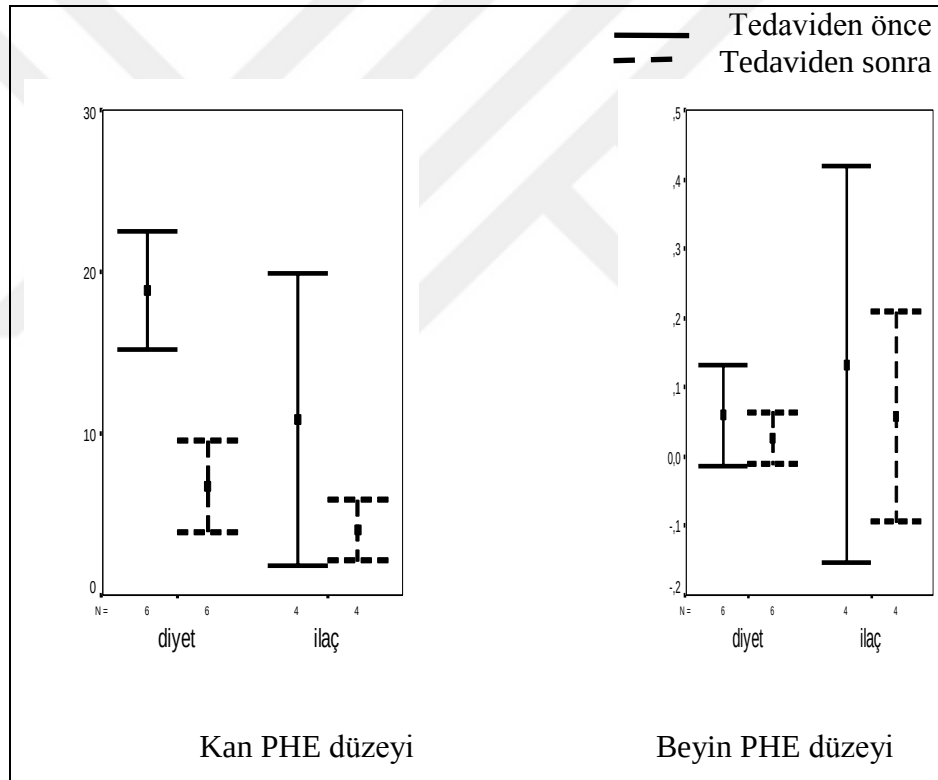
Şekil 6. BH₄'e yanıtı olmayan bir vakanın kan PHE düzeyi düşük iken beyin PHE düzeyinin ölçümü

Tablo 10. Seçilen 10 Vakanın Tedavi Öncesi ve Sonrası Kan PHE Düzeyinin Karşılaştırılması

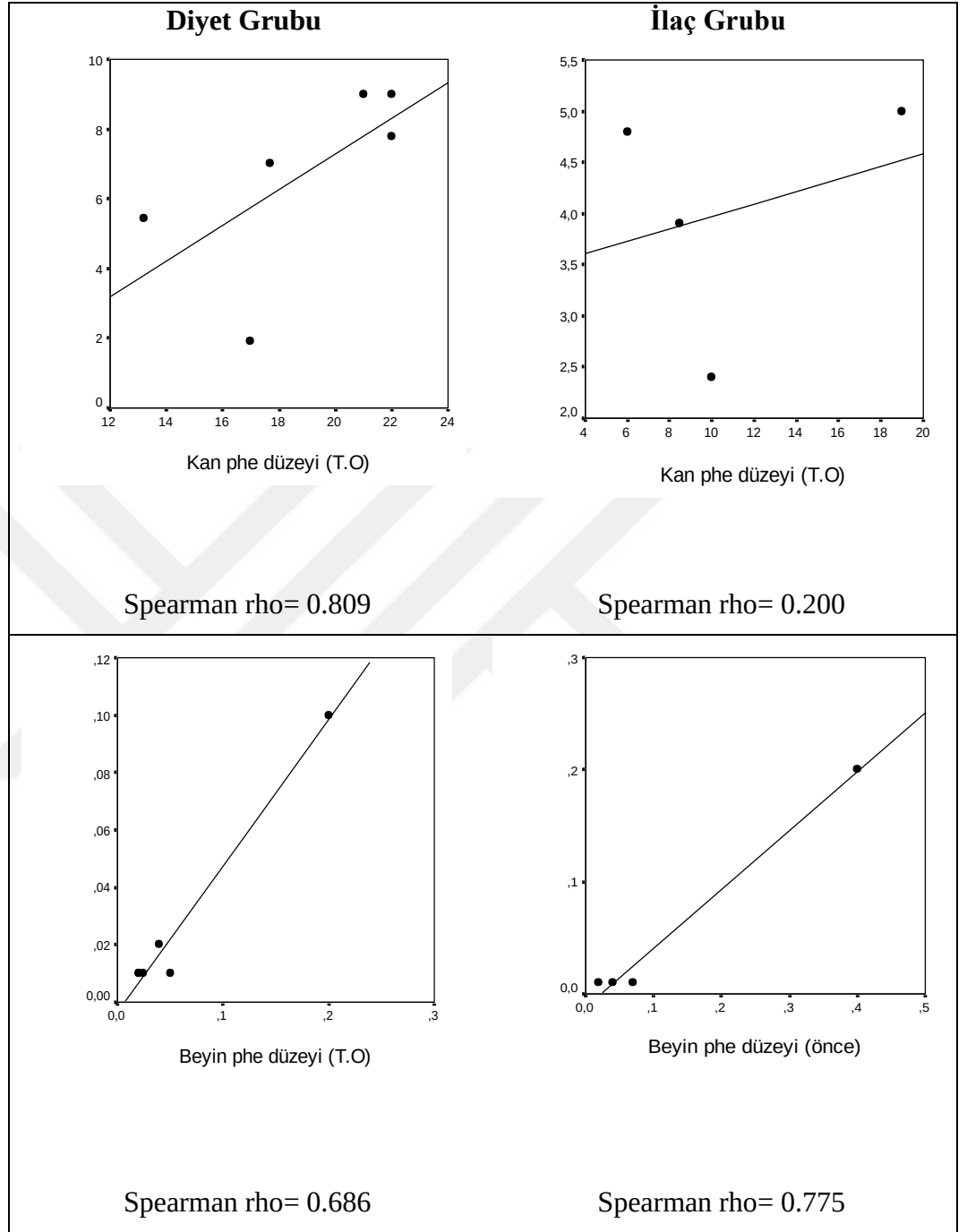
Grup	Kan PHE düzeyi		p	Ortalamanın %değişimi
	Tedavi öncesi	Tedavi sonrası		
Diyet	18.82 ± 3.49	6.69 ± 2.70	0.028	64.5
İlaç (BH ₄)	10.88 ± 5.66	4.02 ± 1.18	0.068	63.1
P	0.054	0.087		

Tablo 11. Seçilen 10 Vakanın Tedavi Öncesi ve Sonrası Beyin PHE Düzeyinin Karşılaştırılması

Grup	Beyin PHE düzeyi		p	Ortalamanın %değişimi
	Tedavi öncesi	Tedavi sonrası		
Diyet	0.06 ± 0.07	0.02 ± 0.03	0.027	66.7
İlaç (BH ₄)	0.13 ± 0.06	0.05 ± 0.09	0.068	61.5
P	0.449	0.999		



Şekil 7. Kan ve Beyin PHE Düzeylerinin Ortalamaları



Şekil 8. Diyet Grubu ile İlaç (BH₄) Grubunun Kan PHE Düzeyi Yüksek ve Düşük iken Kan ve Beyin PHE Düzeylerinin Karşılaştırılması

5. TARTIŞMA

PKU, otozomal resesif geçişli PAH genindeki mutasyonların sonucu PHE'nin tirozine hidroksilasyonundaki bozukluğuna bağlı kan ve dokularda PHE birikimi ve normal veya azalmış TYR ile karakterize bir kalıtsal metabolik hastalıktır (41) (PKU; OMIM ID: 261600 ve 261630). Hastalık bulgularının ortaya çıkışında, yüksek PHE düzeyinin nörotoksisite etkisinin önemli bir role sahip olduğu düşünülse de bu konuda kesin etiyopatogenez henüz netlik kazanmış değildir (41, 42). Yüksek plazma PHE konsantrasyonunun kan-beyin bariyerinden diğer nötral aminoasitlerin geçişini etkilediği bilinmektedir. Nötral aminoasit olan TYR ve triptofanın beyin konsantrasyonunun düşüklüğü, nörokognitif fonksiyonların normal bir şekilde idamesinde çok önemli rolü olan dopamin ve seratoninin yetersizliği ile sonuçlanır. PKU hastaların beyin ve beyin omurilik sıvısında bu nörotransmitterlerin azaldığı daha önce gösterilmiştir (43, 44). Klasik PKU'lu hastaların yanı sıra hafif veya orta düzeyde HPA'sı olan hastalarda da nörotransmitterlerle ilgili problemler olmaktadır. Ilımlı bir PHE yüksekliği olan orta düzeyde HPA'lı bir hastada, nörotransmitter ve TYR konsantrasyonları düşük saptanmış ve TYR, L-Dopa, 5-hidroksitriptofan tedavilerinin uygulanması ile hastanın var olan ataksi, rijidite gibi nörolojik bulgularının düzeldiği görülmüş (45). Dopamin eksikliğinin PKU'lu hastalarda beyin disfonksiyonunda yeri olduğu düşünülse de, ne HPA'lı fare modellerinde (46) ve ne de PKU'lu hastalarda (47, 48, 49) dopamin eksikliğinin nörofizyolojik etkisi net bir şekilde gösterilememiştir. Ayrıca PKU'lu hastaların tedavisine L-Dopa'nın da eklenmesinin nörofizyolojik fonksiyonlarda düzelme olduğuna dair de kesin veriler yoktur (50). Kognitif

fonksiyon bozukluklarına göre, psikiyatrik fonksiyon bozukluğunda, seratoninin eksikliğinin etkisinin daha çok olduğu düşünülmektedir (51). Dolayısıyla PKU'da beyin disfonksiyonun temelinde seratonin eksikliği tek başına yeterli değildir. Kan-beyin bariyerinin de yine klinik bulguların ortaya çıkmasında önemi olduğu düşünülmektedir. Çok yüksek kan PHE düzeyine rağmen beyin PHE düzeyinin normal olabildiği ve bu vakalarda klinik bulguların olmadığı gösterilmiştir (30). Kan-beyin bariyerinin bireysel farklılıklar gösterebileceği düşünülmektedir. Ayrıca PHE'nin beyne taşınırken kullandığı L-tipi taşıyıcı diğer nötral aminoasitleri de taşır ve bu taşıyıcının özellikle de en çok PHE'e affinite göstermesinden dolayı, kanda PHE'nin artması, beyne geçiş hızının artmasına yol açacaktır (52). Beyinde yüksek olan PHE'nin doğrudan olarak PHE hidroksilaz, TYR hidroksilaz'ın inhibisyonuna neden olabileceğine dair görüşler vardır (53, 54). Yüksek PHE konsantrasyonu ile, kolesterol sentezinde hız kısıtlayıcı enzimin de baskılandığı ve myelinin yapısının önemli bir kısmını oluşturan kolestreol sentezinin bozulduğu gösterilmiştir (55).

Oksidatif stresin bazı doğuştan metabolik bozuklukların temelinde rol alabileceğine dair çalışmalar mevcuttur (56, 57). Tedaviye uyumu iyi olmayan 10 erken tanılı, 10 geç tanılı ve kan PHE düzeyi yüksek olan PKU hastasında bakılan antioksidan belirteçlerin düşük olduğu gösterilmiştir (58). Bu çalışma ile uzun süre yüksek kan PHE düzeyinin etkisi altında kalan dokularda oksidatif hasar oluşabileceği ve PKU'nun etiyopatogenezinde oksidatif stresin de rolü olabileceği belirtilmiştir. Bütün bu örnekler doğrultusunda PHE toksisitesinin tek başına beyin disfonksiyonunda açıklanabilir bir neden olamayacağı anlaşılmaktadır (28).

PKU/HPA'da hastalık patogenezi ile ilgili çeşitli görüşler olsa da, tedavide yaygın olarak kabul edilen yaklaşım, kan PHE düzeyinin güvenli aralıklarda

tutulmasıdır. Güvenli PHE aralığı, farklı merkezlere göre değişkenlik göstermekle beraber, literatürde kabul edilen en üst düzey 10 mg/dl (600 µmol/L)'dir (59). Ancak 6mg/dl (360 µmol/L)'nin üzerindeki değerlerde de zeka seviyesinde ve kognitif fonksiyonlarda olumsuz etkilenimler olabildiği gösterildiği için tedavi edilmesi için gereken değerin 6mg/dl ve üzeri olması gerektiği daha kabul gören bir görüştür (60). Merkezimizde de tedaviye başlamak için sınır kabul edilen kan PHE değeri 6 mg/dl ve üzeridir.

Kan PHE düzeyinin düşürülmesinde uzun zamandır uygulanmakta olan en yaygın yöntem PHE kısıtlı beslenme şeklidir. Bu beslenmenin temeli; et, balık, yumurta, süt ve süt ürünleri gibi proteinden zengin yiyeceklerin olmadığı, eser element ve PHE'siz diğer esansiyel aminoasitleri içeren özel aminoasit karışımları ve düşük proteinli özel ürünlerin tüketilebileceği esasına dayanmaktadır. Beyin hasarı ve nörolojik bulguların ortaya çıkmasının engellenmesi için hayatın erken dönemlerinde tedavinin başlanması ve hayat boyu devam etmesi gerekmektedir. Özel diyet tedavileri uygulanması gereken hastalıklarda, sık karşılaşılan bir problem tedaviye uyum sorunudur. Bebeklik ve erken çocukluk döneminde diyetle uyum genellikle yeterli iken, adölesan ve erişkin dönemde PKU diyetinin yönetiminde zorluklar yaşanmaktadır (61). Sosyal yaşamın getirdiği zorluklar ve hastaların ömür boyu tedavi edilmesi gerekliliği konusundaki şüpheleri, tedaviye olan uyumun azalmasında önemli nedenlerdendir. Oysa ki tedaviye uyumsuz olan ve kan PHE düzeyleri kontrolsüz seyreden adölesan ve erişkinlerde de unutkanlık, agresif davranışlar, dikkatsizlik, iş performansında zayıflık, motor kontrol güçlüğü gibi bazı nörolojik sorunların olabileceği de gösterilmiştir (62). Kronik olarak PHE'nin yüksekliği, beynin beyaz cevherinin etkilendiği, nöbet ve yürüme

bozukluğu ile seyreden nörodejeneratif hastalığa neden olabilmektedir (63). Erken tanı ve tedavi altında olan PKU hastalarında bile, benzer kontrol grubu ile karşılaştırıldıklarında entellektüel kapasitede azalma olduğu gösterilmiştir (64). Tedavi edilmemiş maternal HPA vakalarının da, gebelikleri sırasında yüksek PHE değerlerinin fetus için teratojenik olduğu ve mikrosefali, mental gerilik doğumsal kalp ve gastrointestinal sistem bozukluklarına yol açan ve ‘maternal PKU’ olarak adlandırılan duruma neden olduğu bilinen bir gerçektir (65). Dolayısıyla tedavinin hayat boyu devam etmesinin yaşam kalitesi üzerine önemi büyüktür. Diyet tedavisinin getirdiği zorluklarla birlikte bazı komplikasyonlarının da olduğu bilinmektedir. Protein kısıtlı beslenme modeli karbohidrat ve yağ içeren ürünlerin dengesiz bir şekilde tüketilmesine ve buna bağlı olarak da obezite, kardiyovasküler hastalıklar gibi sorunların artmasına yol açabilmektedir (66).

Günümüzde yaygın olarak uygulanmakta olan bu diyet tedavisinin getirdiği zorluklardan dolayı alternatif tedavi yaklaşımları açısından çalışmalar yapılmıştır ve halen devam etmektedir. Bu alternatif tedaviler; kofaktör tedavisi, enzim yerine koyma tedavisi, gen tedavisi, hepatosit nakli gibi tedavileri içermekte olup, kofaktör dışındaki olanlar henüz deneysel çalışma aşamasındadır (67). Ancak kofaktör tedavisinin diyetle alternatif olarak kullanılabileceği 1999’lu yıllarda gündeme gelmiştir (21).

Sapropterin hidroklorid, PAH enziminin doğal kofaktörü olan BH₄ ‘ün sentetik formudur. 100 mg’lık tablet formları vardır ve oral yolla alınması gerekmektedir. Önerilen günlük farmakolojik dozu 5-20 mg/kg’dır. Gastrointestinal sistem şikayetleri dışında, şu ana kadar bildirilen önemli bir yan etkisi yoktur. Hastalar tarafından kullanılabilmesinde ve tolere edilebilmesinde ciddi sorun

olmayıp, gebelikte kullanım için C kategorisi altında değerlendirilmektedir. (68). PAH enziminin bazı mutant formlarında, farmakolojik dozdaki kofaktör tedavisinin, enzimin aktivitesinde iyileşmeye yol açacağına dair hipotezden yola çıkılarak, HPA'da 'BH₄ yanıtı' olan bir alt grup olduğu sonucuna varılmıştır. Bu enzim aktivitesindeki iyileşmenin, rezidüel enzim aktivitesinin artırılması, enzimin şekilsel bozukluğunun giderilmesi şeklinde olduğu düşünülmektedir (69). 'BH₄ yanıtı' vakaların tespiti için, BH₄ yükleme testi yapılması gerekmektedir. Bu test için Amerika'da kullanılan protokol ile pek çok Avrupa ülkelerinde uygulanmakta olan protokol arasında bazı farklılıklar vardır. Amerikada uygulanan protokole göre; hastaların test yapılacağı sıradaki diyet PHE içeriğinde herhangi bir değişiklik yapmaksızın, ilk hafta 10 mg/kg/gün BH₄ verip, kan PHE düzeyi başlangıç değeri ile değerlendirilmektedir. Eğer başlangıç değere göre en az %30 oranında düşme yoksa ikinci ve/veya üçüncü hafta 20 mg/kg/gün verildikten sonra kan PHE düzeyi kontrol edilir. Yeterli düşüş olamayan vakalar 'BH₄ yanıtı' olarak kabul edilir. Burada testin en az bir hafta sürüyor olmasının, bu süre boyunca diyetin stabil olması gerekliliği, enfeksiyon gibi kan PHE düzeyini etkileyebilecek durumların artmış riski gibi handikapları olabilir. Ancak ilaca geç yanıt verebilecek olan vakaların kaçırılmaması açısından da ilacın uzun dönemde etkisinin görülebiliyor olması önemli bir avantajdır. Avrupa ülkelerinde yapılan protokole göre ise; test yapılacağı sırada kan PHE değerinin belli bir miktar yükselmesi için diyetteki PHE içeriği artırılır. PHE değeri istenilen değere ulaştıktan sonra 20 mg/kg BH₄ verildikten sonra 8., 16., 24. saat kan PHE düzeyleri ölçülür. İkinci gün de bezer şekilde ilaç verildikten sonra kan PHE düzeyi ölçümü yapılır. İlaç sonrası yapılan

ölçümlerde en az %30 düşme olduğu görülürse 'BH₄ yanıtı' olarak kabul edilir (70).

Bu çalışmada hastaların 'BH₄ yanıtı'lığını saptamak için kendi oluşturduğumuz protokole göre, Avrupa çalışma grubununkine benzer şekilde, hastalarımızın test yapılacağı dönemde kan PHE düzeyinin belirlenen hedef değere ulaşması için diyetlerine dışarıdan PHE toz ilave edilmiştir ve yine benzer şekilde BH₄ verildikten sonra kan PHE düzeyi ölçümü yapılmıştır (Ek 1).

Test sonucuna göre, 16 hasta 'BH₄ yanıtı' olarak kabul edilmiştir. Tanı anındaki PHE düzeyleri yanıtsız olan grupta anlamlı olarak daha yüksekken, diyetlerinde aldıkları PHE içerikleri de düşük saptanmıştır. 'BH₄ yanıtı' vakaların büyük kısmı hafif/orta düzeyde HPA sınıfına girmektedir. Literatürde de benzer şekilde klasik PKU'lu hastalarda 'BH₄ yanıtı'lığı daha düşüktür. Orta düzeyde HPA'lı olan hastalarda 'BH₄ yanıtı'lığı yaklaşık %50-80 civarında iken, klasik PKU'da bu oran yaklaşık olarak %10 civarında olduğu daha önceki bir çalışmada gösterilmiştir (70). Brezilya'da yapılan bir çalışmada; 8'i klasik PKU, 10'u orta düzeyde HPA sınıfından olan 18 hastanın BH₄ yanıtılığı değerlendirilmiş. İki klasik PKU ve dört orta düzeyde HPA olmak üzere altı hasta BH₄ yükleme testine göre yanıtı kabul edilmiş ve bunların yanıtılığı genotipleri açısından da doğrulanmış (71). Ülkemizden bildirilen 20 HPA hastası üzerinde yapılan bir çalışmada, 12 hafif HPA'sı olan hastanın BH₄ yükleme testine göre yanıtı olduğu gösterilmiş. Bu çalışmada aynı genotipe sahip hastaların farklı düzeylerde yanıtılık oranı göstermiş olmasından dolayı, hastaların BH₄'e olan yanıtlarının uzun dönemde yapılması gerekliliği vurgulanmış (72).

‘BH₄ yanıtı’ olan ve şu anda hiç diyet yapmaksızın PHE düzeyi kontrol altında izlenen bir vakanın yükleme testi sırasında kan PHE düzeyindeki ilk yeterli düşme ilaç verildikten sonra 36. saatte olmuştur. Bu vaka geç yanıtı olarak kabul edilmiştir. Geç yanıtı vakaların tespiti için, ilaç sonrası kan PHE monitorizasyonun en az iki gün süreyle yapılması gerekliliği önerilmektedir. Teste göre yanıtı kabul edilen bir vakanın da başlanan ilaç tedavisine rağmen, diyet PHE içeriğinde belirgin artış yapılamadığından, hasta ‘BH₄ yanıtı’ kabul edilerek ilaç tedavisi kesilmiştir. Bu da ilaç tedavisi başlanan hastalara yakın aralıklarla kan PHE düzeyi monitorizasyonu yapılması gerektiğini düşündürmektedir.

Hastaların tanı anındaki PHE değerleri ile test sırasındaki aldıkları toplam PHE miktarı ve BH₄ verildikten sonra ölçülen kan PHE düzeylerindeki düşüş yüzdeleri arasında negatif korelasyon saptanmıştır. Bu durum, başlangıçtaki PHE değerinin, hastalığın seyri ve ‘BH₄ yanıtı’lığı hakkında ipucu verebileceğini düşündürmektedir. BH₄ verildikten sonra ölçülen kan PHE düzeylerindeki düşüş yüzdeleri ile test boyunca alınan toplam PHE miktarı arasında negatif korelasyon saptanmıştır. Bu sonuç BH₄ verilmeden önce istenen hedef değere ulaşmak için dışarıdan daha fazla PHE toz ilavesi yapılması gerektiğini göstermektedir. Bu da test süresinin uzamasına neden olmaktadır. BH₄ verilme aşamasına gelene kadar geçen sürenin uzamış olmasının BH₄ ‘e yanıtı’lık ihtimalinin yüksek olabileceğini gösterebilir. 116 PKU hastasından; yenidoğan taramasına göre BH₄ yanıtı kabul edilme, BH₄ yanıtı olduğu bilinen genotipe sahip olma ve orta düzeyde HPA sınıfından olma gibi kriterlerden en az ikisine sahip olan 23 hastanın 18’inde uzun dönemde BH₄ yanıtı’lığı gösterilmiş. Bu kriterlerin varlığına göre yenidoğan döneminden itibaren BH₄ yanıtı’lığının tahmin edilebileceği sonucuna varılmış (73).

HPA’de klinik bulgulara yol açan esas nedenin genel görüşe göre beyin PHE düzeyi yüksekliği olabileceğinden dolayı, seçtiğimiz bazı vakalarda beyin PHE düzeyi tedavi öncesi (kan PHE düzeyi yüksekken) ve tedavi sonrası (kan PHE düzeyi düşükken) ölçülmüştür. Diyet tedavisi uygulanan hastaların tedavi öncesi ve sonrası kan PHE değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir düşme vardı. Aynı grupta beyin PHE ölçümlerinde de tedavi öncesi ve sonrasında anlamlı bir düşme olduğu görüldü. BH₄ ilaç tedavisi uygulanan hastalardaysa, hem kan hem de beyin PHE düzeylerinde tedavi öncesi ve sonrasında düşme vardı ancak istatistiksel olarak anlamlı değildi. Bu gruptaki hastalardan biri klasik PKU, diğer üçü orta düzeyde HPA sınıfına aitti. Diyet tedavisi alan hastaların tamamı klasik PKU sınıfından olduğu için, tedavi öncesi dönemde kan PHE düzeyi ilaç tedavisi alanlara göre oldukça yüksekti. Dolayısıyla tedavi sonrası ölçülen PHE değerleri arasındaki fark anlamlı bulunmuştur.

Beyin PHE düzeyinin belirlenmesinde kan PHE düzeyi önemli bir etken olmakla birlikte, kan-beyin bariyerinin de önemi vardır. Pek çok çalışmada, benzer metabolik kontrole sahip PKU hastalarında farklı derecelerde entellektüel ve nöropsikiyatrik etkilenimler, beyaz cevher değişiklikleri ve EEG anormallikleri olduğu gösterilmiş (74, 75, 76). Literatürde klasik PKU sınıfına giren ve tedavisiz olmasına rağmen normal zekaya sahip olan vakalar bildirilmiştir (77). Klasik PKU’su olan 8 PKU hastasının (4 çift kardeş), beyin PHE düzeyinin değerlendirildiği bir çalışmada, kan PHE düzeyleri birbiriyle aynı iken MRS ile beyin PHE düzeyleri ölçülmüştür. Aynı genotipe sahip olan kardeşlerden beyin PHE düzeyleri daha yüksek olanların zeka seviyesinin düşük olduğu ve beyin beyaz cevherinde yüksek derecede anormallikler olduğu saptanmış. Aynı

genotipteki kardeşlerin kan PHE düzeyleri birbirine yakinken farklı beyin PHE düzeyleri ve buna bağlı olarak klinik fenotipteki farklılıklar dolayısıyla PHE'nin kan-beyin taşıma sisteminde çeşitlilik olduğunu düşündürmektedir (78). Genotipleri ve kan PHE düzeyleri ile klasik PKU olan 11 hasta, diyet ve klinik durumlarına göre 3 gruba ayrılmış ve kan-beyin karşılaştırılması için PHE konsantrasyonları ölçülmüş. Grup 1'de 3 hasta olup yaşamlarının hiçbir döneminde diyet tedavisi almamalarına rağmen normal zekaya sahiplermiş. Grup 2a'ya tedavi edilmemiş ve mental geriliğe sahip olan 4 hasta ve grup 2b'ye de erken dönemde tedaviye başlanıp 7-10 yıl öncesinde tedaviyi kesen ve zekası normal veya normale yakın olan 4 hasta alınmış. Grup 2a ve 2b'dekilerin beyin MR incelemesinde belirgin beyaz cevher anormallikleri saptanmış. Bu gruptakilerin kan-beyin PHE düzeyleri arasında fark yokken, birinci gruptaki hastaların beyin düzeyleri anlamlı olarak düşük saptanmış. Bu sonuçla PKU'da klinik fenotipi etkileyen en önemli parametrenin beyin PHE düzeyi olabileceği sonucuna varılmış (79).

Bizim çalışmamızdaki MRS ile beyin PHE düzeyi ölçtüğümüz vakalarda da kan-beyin bariyerinin ve PHE taşıma sisteminin bireysel farklılıklar göstermesinin sonuçlarımızı etkilediğini düşünmekteyiz (79). Ancak hastalarımızın uygulanan diyet tedavisi ile beyin PHE düzeyinin anlamlı olarak düştüğü yine ilaç tedavisi verilen hastaların da istatistiksel olarak anlamlı olmasa da beyin PHE düzeyinde düşme olduğu görülmüştür. Literatürde, PKU/HPA hastalarında uygulanan iki farklı tedavinin beyin PHE üzerine etkilerinin değerlendirildiği bezer başka bir çalışmaya rastlanmamıştır. Tedavilerin etkinliği konusundaki daha fazla sayıda vakanın olduğu çalışmaların yapılmasına ihtiyaç vardır. Yine beyin PHE ölçümlerinin yapılmasıyla yaşlara göre olması gereken normal beyin PHE

aralıklarının belirlenmesi gerekmektedir. Hastalar için en ideal tedavi seçeneğinin belirlenmesi ve tedaviye hayat boyu devam edilmesi veya kesilebilmesi durumunun tespiti için MRS yöntemi ile beyin PHE düzeylerinin ölçümünün yapılması yeni bir biyokimyasal belirteç olarak rutin uygulamada kullanılabilir.



6. SONUÇ

- Çalışmaya 23'ü kız, 18'i erkek olmak üzere 41 hasta alındı.
- Hastaların tanı anındaki PHE değerleri 3,4-69 mg/dl arasındaydı.
- Tanı anındaki bu PHE değerlerine göre hastaların; 23'ü klasik PKU, 7'si orta düzeyde HPA, 11'i hafif HPA sınıfına girmektedir.
- Hafif HPA grubundan olan iki hastanın birinde DHPR eksikliği, diğerinde PTPS eksikliği olmak üzere BH₄ metabolizması bozukluğu vardı.
- BH₄ yükleme testi sonucuna göre; 16 hasta 'BH₄ yanıtı' olarak saptanmıştır.
- BH₄ yanıtı olan hastaların; tanı anındaki PHE düzeyleri, BH₄ yükleme sırasındaki kan PHE düzeyleri, BH₄ yanıtı olmayan hastalara göre anlamlı olarak düşüktü ($p<0,05$).
- BH₄ yanıtı olan hastaların yükleme testi boyunca aldıkları toplam PHE miktarları BH₄ yanıtı olmayanlara göre anlamlı olarak daha yüksekti ($p<0,05$).
- BH₄ yanıtı olan hastalardan ikisinde BH₄ metabolizması bozukluğu vardı. İkisi klasik PKU sınıfına girmektedir, kalan 12 hasta hafif/orta düzeyde HPA sınıfındandı.
- Teste göre yanıtı kabul edilen tanı anı PHE değeri 17 mg/dl olan bir hastanın ilaç tedavisine başlandıktan sonraki izlemlerinde diyet PHE toleransında yeterli artış olmadığından hasta BH₄ yanıtı kabul edilerek ilaç tedavisi kesilmiştir.

- Bir hastada yükleme testine göre ilaç sonrası kan PHE düzeyindeki ilk düşme 36.saatte olduğu için hasta geç yanıtı olarak kabul edilmiştir.
- BH₄ yanıtı ve klasik PKU sınıfından olan altı hastaya (diyet grubu), BH₄ yanıtı ve biri klasik PKU, üçü orta düzeyde HPA sınıfından olmak üzere dört hastaya (ilaç grubu) beyin PHE ölçümü için MRS tetkiki uygulanmıştır. Tetkik kan PHE düzeyi yüksekken (1. işlem) ve düşükken (2. işlem) olmak üzere her bir hasta için iki kez tekrarlanmıştır.
- Diyet grubunda 2. işlem sırasındaki kan PHE düzeyi 1. işlem sırasındakine anlamlı olarak daha düşüktü ($p=0,028$).
- İlaç grubunda 2. işlem sırasındaki kan PHE düzeyleri daha düşüktü ancak istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p=0,068$).
- Diyet grubunda 1.işlem sırasında ölçülen beyin PHE düzeyi ikinci işlem sırasındaki değere göre anlamlı olarak daha yüksekti ($p= 0,027$).
- İlaç grubunda 2.işlem sırasındaki beyin PHE düzeyleri 1.işleme göre daha düşüktü ancak istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p=0,068$).

7. KAYNAKLAR

1. Walter JH., Lachmann RH., Burgard P. Hyperphenylalaninemia. In: Saudubray JM., Berghe G, Walter JH. editors. Inborn Metabolic Diseases. 5th ed. Germany: Springer, 2012; 253-263.
2. Moyle JJ., Fox AM., Arthur M. Bynevelt M., Burnett JR. Meta-Analyses of neuropsychological symptoms of adolescents and adults with PKU. *Neuropsychol Rew* (2007) 17:91-101
3. Di Ciono V, Forcella E, Contugno G. Living with phenylketonuria from the point of view of children, adolescents and young adults: a qualitative study. *J Dev Behav Pediatr*. 2012; 33 (3): 229-35.
4. Harding CO., Blau N. Advance and challenges in phenylketonuria. *J Inherit Metab Dis*. 2010; 33:645-8.
5. Sanford M., Keating GM. Sapropterin. A review of its use in the treatment of primary hyperphenylalaninemia. *Drugs*. 2009; 69 (4): 461-76.
6. Sarkissian CN, Kang TS, Gamez A, Scriver CR, Stevens RC. Evaluation of orally administered PEGylated phenylalanine ammonia lyase in mice for the treatment of phenylketonuria. *Mol Genet Metab*. 2011 104(3): 249-54.
7. Cerreto M, Mehdawy B, Ombrone D, Nisticò R, Ruoppolo M, et al. Reversal of metabolic and neurological symptoms of phenylketonuric mice treated with a PAH containing helper-dependent adenoviral vector. *Curr Gene Ther*. 2012 1;12(1):48-56.

8. Cunningham A, Bausell H, Brown M, Chapman M, DeFouw K., et al. Recommendations for the use of sapropterin in phenylketonuria. *Mol Genet Metab.* 2012; 106(3):269-76
9. Følling I. The discovery of phenylketonuria. *Acta Paediatr Suppl.* 1994;407:4-10.
10. Bauman ML, Kemper TL. Morphologic and histoanatomic observations of the brain in untreated human phenylketonuria. *Acta Neuropathol.* 1982; 58(1): 55-63.
11. Guldberg P, Rey F, Zschocke J, Romano V, François B, et al. A European multicenter study of phenylalanine hydroxylase deficiency: classification of 105 mutations and a general system for genotype-based prediction of metabolic phenotype. *Am J Hum Genet.* 1998; 63(1):71-9.
12. Sterl E, Paul K, Paschke E, Zschocke J, Brunner-Krainz M, et al. Prevalence of tetrahydrobiopterine (BH₄)-responsive alleles among Austrian patients with PAH deficiency: comprehensive results from molecular analysis in 147 patients. *J Inherit Metab Dis.* 2012. (Epub ahead of print).
13. Karamifar H, Ordoei M, Karamizadeh Z, Amirhakimi GH. Incidence of neonatal hyperphenylalaninemia in Fars Province, South Iran. *Iran J Pediatr.* 2010 20(2):216-20.
14. Schulze A, Mayatepek E, Hoffmann GF. Evaluation of 6-year application of the enzymatic colorimetric phenylalanine assay in the setting of neonatal screening for phenylketonuria. *Clin Chim Acta.* 2002 317(1-2):27-37.

15. Ahring K, Belenger-Quintana A, Dokoupil K, Gokmen-Ozel H, Lammardo AM, et al. Blood phenylalanine control in phenylketonuria: a survey of 10 European centres. *Eur J Clin Nutr*. 2011 65(2):275-8.
16. Anonymous (1993) Phenylketonuria due to phenylalanine hydroxylase deficiency: an unfolding story. Medical Research Council Working Party on Phenylketonuria. *BMJ* 306: 115-9.
17. Burgard P, Bremer HJ, Buhrdel P, Clemens PC, Mönch E et al. Rationale for the German recommendations for phenylalanine level control in phenylketonuria. 1997. *Eur J Pediatr*. 1999; 158(1):46-54.
18. American Academy of Pediatrics. Committee on Genetics. American Academy of Pediatrics: Maternal phenylketonuria. *Pediatrics*. 2001; 107(2):427-8.
19. Abadie V, Berthelot J, Feillet F, Maurin N, Mercier A, et al. Management of phenylketonuria and hyperphenylalaninemia: The French guidelines. *Arch Pediatr*. 2005;12(5):594-601.
20. Bekhof J, van Rijn M, Sauer PJ, Ten Vergert EM, Reijngoud DJ, et al. Plasma phenylalanine in patients with phenylketonuria self-managing their diet. *Arch Dis Child*. 2005;90(2):163-4.
21. Kure S, Hou DC, Ohura T, Iwamoto H, Suzuki S, et al. Tetrahydrobiopterin-responsive phenylalanine hydroxylase deficiency. *J Pediatr*. 1999;135(3):375-8.
22. Lindmer M, Gramer G, Garbade SF, Burgard P. Blood phenylalanine concentrations in patients with PAH-Deficient hyperphenylalaninemia off diet without and with three different single oral doses of tetrahydrobiopterin:

- assessing responsiveness in a model of statistical process control. *J Inherit Metab Dis.* 2009; 32 (4,9): 514-22.
23. Koch R, Trefz F, Waisbren S. Psychosocial issues and outcomes in maternal PKU. *Mol Genet Metab.* 2010; 99 Suppl 1: S68-74.
24. Schindeler S, Ghosh-Jerath S, Thompson S, Rocca A, Joy P, et al. The effect of large neutral amino acid supplements in PKU: An MRS and Neuropsychological Study. *Mol Genet Metab.* 2007; 91 (1): 48-54.
25. Sarkissian CN, Gamez A, Wang L, Charbonneau M, Fitzpatrick P, et al. Preclinical evaluation of multiple species of PEGylated recombinant phenylalanine ammonia lyase for the treatment of phenylketonuria. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2008; 30;105(52):20894-9.
26. Opladen T, Hoffmann GF, Blau N. An international survey of patients with tetrahydrobiopterin deficiencies presenting with hyperphenylalaninemia. *J Inherit Metab Dis.* 2012. [Epub ahead of print]
27. Scriver CR. The PAH gene, Phenylketonuria and a paradigm Shift. *Hum. Mutat.* 2007; 28: 831-45.
28. Van Spronsen FJ, Hoeksma M, Rejingoud DJ. Brain dysfunction in phenylketonuria: is phenylalanine toxicity the only possible cause?, *J Inherit. Metab. Dis.* 2009; 32: 46-51.
29. Möller LB, Paulsen M, Koch R, Moats R, Guldberg P, et al. Interindividual variation in brain phenylalanine concentration in patients with Pku is not caused by genetic variation in the 4F2hc/LAT1 complex. *Mol Genet Metab.* 2005; 86: 119-23.

30. Weglage J, Wiedermann D, Denecke J, Feldmann R, Koch HG, et al. Individual blood-brain barrier phenylalanine transport determines clinical outcome in phenylketonuria, *Ann Neurol*. 2001; 50: 463-7.
31. Koch R, Moats R, Guttler F, Guldberg P, JRM Nelson. Blood-brain phenylalanine relationships in person with phenylketonuria. *Pediatrics*, 2000; 106: 1093-6.
32. Moats RA, Koch R, Moseley K, Guldberg P, Guttler F, et al. Brain phenylalanine concentration in the management of adults with phenylketonuria. *J Inherit. Metab. Dis*. 2000; 23: 7-14.
33. Van Spronsen FJ, Enns GM. future treatment strategies in phenylketonuria. *Mol. Genet and Metab*. 2010; 99: 90-5.
34. Avison MJ, Herschkowitz N, Novotny EJ, Petroff OAC, Rothman DL, et al. Proton NMR observation of phenylalanine and an aromatic metabolite in the rabbit brain in vivo. *Pediatr Res*. 1990; 27: 566-70.
35. Novotny EJ, Avison MJ, Rothman DL, Seashore MR, Petroff OAC, et al. Detection of phenylalanine in the human brain. *Society Of Magnetic Resonance In Medicine*, 8th Annual Meeting, Amsterdam, P 441.
36. Kreis R, Pietz J, Penzien J, Herschkowitz N, Boesch C. Identification and quantification of phenylalanine in the brain of patients with phenylketonuria by Means of localized in vivo ^1H Magnetic-resonance spectroscopy. *J Magn Reson B*. 1995; 107: 242-51.
37. Möller HE, Vermathen P, Ullrich K, Weglage J, Koch HG, et al. In-vivo NMR spectroscopy in patients with phenylketonuria: changes of cerebral

- phenylalanine levels under dietary treatment. *Neuropediatrics*. 1995; 26: 199-202.
38. Kreis R, Ernst T, Ross B. Absolute quantitation of water and metabolites in the human brain. II. Metabolite concentrations. *J Magn Reson B*. 1993; 102: 9-19.
39. Michaelis T, Merboldt KD, Bruhn H, Hanicke W, Frahm J. Absolute concentrations of metabolites in the adult human brain in vivo: quantification of localized proton MR spectra. *Radiology*. 1993; 187: 219-27.
40. Möller HE, Weglage J, Wiedermann D, Vermathen P, Bick U, et al. Kinetics of phenylalanine transport at the human blood-brain barrier investigated in vivo. *Brain Res*, 1997; 778: 329-37.
41. Scriver CR, Kaufman S. Hyperphenylalaninemia: phenylalanine hydroxylase deficiency. In: McGraw-Hill editors. *The Metabolic and Molecular Bases Of Inherited Disease*, New York, 2001; 1667-724.
42. Van Spronsen FJ, Smit PG, Koch R. Phenylketonuria: tyrosine beyond the phenylalanine-restricted diet. *J Inherit. Metab. Dis.*, 2001; 24: 1-4.
43. Antoshechkin AG, Chentsova TV, Tatur VY, Naritsin DB, Railian GB, et al. Content of phenylalanine, tyrosine and their metabolites in CSF in phenylketonuria. *J Inherit Metab Dis*. 1991; 14: 749-54.
44. Burlina AB, Bonafe L, Ferrari V, Suppiej A, Zacchello F, et al. Measurement of neurotransmitter metabolites in the cerebrospinal fluid of phenylketonuric patients under dietary treatment. *J Inherit Metab Dis*. 2000; 23: 313-6.
45. Bonafe L, Blau N, Burlina AP, Romstadt A, Güttler F, et al. Treatable neurotransmitter deficiency in mild phenylketonuria. *Neurology*, 2001; 57: 908-11.

46. Cabib S, Pascucci T, Ventura R, Romano V, Puglisi-Allegra S. The behavioral profile of severe mental retardation in a genetic mouse model of phenylketonuria. *Behav Genet*, 2003; 33: 301-10.
47. Channon S, German E, Cassina C, Lee P. Executive functioning, memory, and learning in phenylketonuria. *Neuropsychology*, 2004; 18: 613-20.
48. Channon S, Mockler C, Lee P. Executive functioning and speed of processing of phenylketonuria. *Neuropsychology*, 2005; 19: 679-86.
49. Channon S, Goodman G, Zlotowitz S, Mockler C, Lee PJ. Effects of dietary management of phenylketonuria on long-term cognitive outcome. *Arch Dis Child*, 2007; 92: 213-8.
50. Ullrich K, Weglage J, Oberwittler J, Pietsch M, Fünders B, et al. Effect of L-dopa on pattern visual evoked potentials (P-100) and neuropsychological tests in untreated adult patients with phenylketonuria. *J Inherit Metab Dis*. 1994; 17: 349-52.
51. Anderson PJ, Wood SJ, Francis DE, Coleman L, Anderson V. Are neuropsychological impairments in children with early-treated phenylketonuria (PKU) related to white matter abnormalities or elevated phenylalanine levels? *Dev Neuropsychol* 2007; 32: 645-68.
52. Pardridge WM. Blood-brain barrier carrier-mediated transport and brain metabolism of amino acids. *Neurochem Res*. 1998; 23: 635-44.
53. Joseph B, Dyer CA. Relationship between myelin production and dopamin synthesis in the PKU mouse Brain. *J Neurochem*. 2003; 86: 615-26.

54. Ogawa S, Ichinose H. Effect of metals and phenylalanine on the activity of human tryptophan hydroxylase-2: comparison with that on tyrosine hydroxylase activity. *Neurosci Lett*. 2006; 401: 261-5.
55. Shefer S, Tint GS, Jean-Guillaume D. Is there a Relationship between 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase activity and forebrain pathology in the PKU mouse? *J Neurosci Res*. 2000; 61: 459-63.
56. Colome C, Serra C, Vilaseca MA. Congenital errors of metabolism: cause of oxidative stress? *Med. Clin*. 2000; 115: 111-7.
57. Wajner M., Latini A, Wyse AT, Dutra-Filho CS. The role of oxidative damage in the neuropathology of organic acidurias: insight from animal studies. *J Inherit. Metab. Dis*, 2004; 27: 427-48.
58. Sitta A, Barschak AG, Deon M, Barden AT, Biancini GB, et al. Effect of short and long term exposition to high phenylalanine blood levels on oxidative damage in phenylketonuric patients. *J of Dev Neuroscience*, 2009; 27: 243-7.
59. Blau N, Belanger-Quintana A, Demirkol M, Feillet F, Giovannini M. Management of phenylketonuria in Europe: survey results from 19 countries. *Mol Genet Metab*. 2010; 99: 109-15.
60. Campistol J, Gassio R, Artuch R, Vilaseca MA. Neurocognitive function in mild hyperphenylalaninemia. *Dev Med & Child Neurology*. 2011; 53: 405-8.
61. Ahring K, Belanger-Quintana A, Dokoupil K, Gökmen-Özel H, Lammardo AM, et al. Blood phenylalanine control in phenylketonuria: a survey of 10 European centres. *Eur J Clin Nutr*. 2011; 65: 275-8.

62. Moyle JJ, Fox AM, Arthur M, Bynevelt M, Burnett JR, et al. Meta-analysis of neuropsychological symptoms of adolescents and adults with PKU. *Neuropsychol Rev.* 2007; 17: 91-101.
63. Anderson PJ, Leuzzi V. White matter pathology in phenylketonuria. *Mol Genet and Metab.* 2010; 99 Suppl 1: 3-9.
64. Gonzalez MJ, Gutierrez AP, Gassio R, Fuste ME, Vilaseca MA, et al. Neurological complications and behavioral problems in patients with phenylketonuria in a Follow-up Unit. *Mol. Genet and Metab.* 2011; 1-7.
65. Levy HL, Waisbren SE, Güttler F, Hanley WB, Matalon R, et al. Pregnancy experiences in the woman with mild hyperphenylalaninemia. *Pediatrics*, 2003; 112: 1548-52.
66. Belanger-Quintana A, Martinez-Pardo M. Physical development in patients with phenylketonuria on dietary treatment: A retrospective study. *Mol. Genet and Metab.* 2011; 1-5.
67. Harding CO, Blau N. Advances and challenges in phenylketonuria. *J Inherit Metab.* 2010; 33: 645-8.
68. Sanford M, Keating GM. Sapropterin. A review of its use in the treatment of primary hyperphenylalaninemia. *Drugs.* 2009; 69: 461-76.
69. Blau N, Erlandsen H. The metabolic and molecular bases of tetrahydrobiopterin-responsive phenylalanine hydroxylase deficiency. *Mol Genet Metab*, 2004; 82: 101-11.
70. Blau N, Belanger-Quintana A, Demirkol M, Feillet F, Giovannini M. Optimizing the use of sapropterin (BH₄) in the management of phenylketonuria. *Mol Genet Metab*, 2009; 96: 158-63.

71. Nalin T, Perry ID, Sitta A, Vargas CR, Saraiva-Pereira ML, et al. Optimizing loading test to evaluate responsiveness to tetrahydrobiopterin (BH₄) in Brazilian patients with phenylalanine hydroxylase deficiency. *Mol Genet Metab.* 2011; 104 Suppl: 80-5.
72. Yıldırım Ş, Tokatlı A, Yılmaz E, Coşkun T. Assessment of tetrahydrobiopterin responsiveness in Turkish hyperphenylalaninemic patients. *Turk J Pediatr,* 2007; 49: 1-6.
73. Hennermann JB, Roloff S, Gebauer C, Vetter B, von Arnim Baas A, et al. Long-term treatment with tetrahydrobiopterin in phenylketonuria: Treatment strategies and prediction of long-term responders. *Mol Genet Metab.* 2012; 107(3):294-301.
74. Bick U, Ullrich K, Stöber U, Möller H, Schuierer G, et al. White matter abnormalities in patients with treated hyperphenylalaninemia: magnetic resonance relaxometry and proton spectroscopy findings. *Eur J Pediatr,* 1993; 152: 1012-20.
75. Pietz J, Schmidt E, Matthis P, Kobialka B, Kutscha A, et al. EEGs in phenylketonuria: I. follow-up to adulthood; II. Short-term diet-related changes in EEGs and cognitive function. *Dev. Med. Child Neurol,* 1993; 35: 54-64.
76. Ris MD, Williams SE, Hunt MM, Berry HK, Leslie N, et al. Early treated phenylketonuria: adult neuropsychologic outcome. *J Pediatr,* 1994; 124: 388-92.
77. Primrose DA. Phenylketonuria with normal intelligence. *J Ment Defic Res,* 1983; 27: 239-246.

78. Weglage J, Wiederman D, Denecke J, Feldman R, Koch HG. Individual blood-brain barrier phenylalanine transport in siblings with classical phenylketonuria. *J Inherit Metab. Dis.* 2002; 25: 431-6.
79. Möller HE, Weglage J, Wiedermann D, Ullrich K. Blood-brain barrier phenylalanine transport and individual vulnerability in phenylketonuria. *J Cereb Blood Flow Metab*, 1998; 18: 1184-91.



9. ÖZET

Hiperfenilalaninemili Hastalarda Kan ile Beyin Fenilalanin Düzeyinin Ölçümü ve Farklı Tedavi Yöntemlerinin Etkinliklerinin Değerlendirilmesi

Hepatik PAH enzimini veya pterin metabolizmasında yer alan enzimleri kodlayan genlerdeki mutasyonlar HPA ile sonuçlanır ve tedavi edilmediği takdirde beyin hasarına neden olabilir.

Günümüzde HPA'nın tedavisinde PHE kısıtlı diyet çok yaygın olarak uygulanmakta olup, diyetle alternatif tedaviler de gündeme gelmiştir. Bu anlamda PAH enziminin kofaktörü olan ve enzimin işlevselliğini artırdığı düşünülen BH₄ tedavisi diyetle alternatif olarak en sık uygulanan tedavidir. HPA hastalarının bu tedaviye yanıtılığının anlaşılabilmesi için BH₄ yükleme testi yapılması gerekmektedir.

Bu çalışmada bölümümüzde izlenen HPA hastalarımıza BH₄ yükleme testi yapılarak, hastalarımızın ilaca olan yanıtılığı tespit edilmiştir. Buna göre 41 hastadan 16'sının teste göre yanıtılı olduğu görülmüş ancak birinde ilaç tedavisi başladıktan sonra diyet PHE içeriğı yeterli düzeyde artırılamadığından, tedavi aşamasındayken hasta BH₄ yanıtısız olarak kabul edilmiştir. Yanıtılı vakalardan ikisinde BH₄ metabolizması bozukluğu vardı. Yanıtılı olan diğer vakaların büyük kısmı, literatür bilgileriyle uyumlu olarak hafif/orta düzeyde HPA sınıfındandı.

Hastalık patogeneğine bakıldığında esas nedeninin kesin olmamakla birlikte beyin PHE düzeyinin artmış olması düşünüldüğünden, bu çalışmada da seçilen bazı hastalarımızda beyin PHE düzeyi ölçümü yapılması için MRS yöntemi uygulanmıştır. Bunun sonucuna göre hastalara uygulanan tedavi ile beyin PHE

düzeyinde düşme olduğu görülmüştür. Diyet tedavisi alan hastalarda bu düşme istatistiksel olarak anlamlı iken, ilaç tedavisi alanlardaki düşmenin istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görülmüştür. Vaka sayısının azlığı, kan-beyin bariyerindeki bireysel farklılıkların bu sonuçları etkileyebileceği düşünülmektedir.

Sonuç olarak, hastalar için en ideal tedavi seçeneğinin belirlenmesi ve tedaviye hayat boyu devam edilmesi veya kesilebilmesi durumunun tespiti için MRS yöntemi ile beyin PHE düzeylerinin ölçümünün yapılması yeni bir biyokimyasal belirteç olarak rutin uygulamada kullanılabilir. Ancak bunun, hangi hastalara ne zaman uygulanması gerekliliği ve sonuçların ne şekilde değerlendirilmesi hakkında kesin bilgilerin olması için daha fazla hasta üzerinde yapılmış daha çok çalışmaya ihtiyaç vardır.

10. SUMMARY

The Measurement Blood and Brain Phenylalanine Level in Hyperphenylalaninemic Patients and Evaluation The Efficiency of The Difference Treatment

Defects in either PAH or the production of recycling of BH₄ may result in HPA and if left untreated, HPA can lead to profound brain damage. Today worldwide advocate lifelong adherence to a PHE-restricted diet to maintain blood PHE concentrations within recommended treatment ranges and nowadays the alternative treatment methods are very popular. One of them is the BH₄ treatment which is cofactor of PAH enzyme and is thought to be increased the activity and function of the enzyme. For determining response to BH₄ should be performed BH₄ loading test in HPA patients.

In this study, we determined the BH₄ responsive patients by using the BH₄ loading test. We determined significant decline in plasma PHE concentration after oral BH₄ administration in 16 of 41 patients but the PHE tolerance of one of this patients couldn't be increased adequately and this patient has been accepted as non-responsive in the treatment period. Two patients had the disorders of BH₄ metabolism. The other patients were in mild or moderate HPA classes generally similar to the literature knowledge.

The pathogenesis of brain dysfunction in HPA is still unknown, but it's believed that the most important reason is the brain PHE level. Therefore we investigated in our ten HPA patients the PHE level in the brain by using the MRS technique. According to the results the brain PHE levels were decreased after the

treatment. This reduction was statistically significant in the patients who are being treated with PHE-restricted diet, but this was not significant in the patients who are followed under BH₄ therapy. We thought that the numbers of patients and the individual differences of the blood-brain barrier can be affected tis result.

As a result, the assessment of under different dietetic conditions or following oral BH₄ therapy can provide a new biochemical parameter to be included among critaria for assessing patients with regard to discontinuation or continuation of therapy. Therefore, MRS investigations may have a potential for optimising individual treatment strategies. But we need ofcourse more extensive studies to standardize this method.

11. EKLER

Tetrahidrobiopterin Yükleme Testi Protokolü

BH₄'E YANITLI FENİLALANİN HİDROKSİLAZ EKSİKLİĞİNDE
SAPTOPTERİN İLE YÜKLEME TESTİ VE TEDAVİ PROTOKOLÜ

1. Bilişsel düzeyi normal ya da hafif mental retarde olan hastalara uygulanacaktır (IQ $\geq$ 50).
2. Başlangıçta 3 günlük besin tüketimi kaydı tutulacak ve fenilalanin toleransı belirlenecektir.
3. Bazal fenilalanin düzeyi alınacak, sonrasında,
Klasik fenilketonüride 20 $\pm$ 2 mg/dl
Hafif-orta fenilketonüride 15 $\pm$ 2 mg/dl
Hafif hiperfenilalaninemide 10 mg/dl üzerinde kan fenilalanin düzeyine ulaşıldığında teste başlanacaktır.
4. Hastanın kan fenilalanin düzeyini, istenen başlangıç düzeyine ulaştırmak için, birinci gün 5 mg/kg/gün toz fenilalanin diyetle eklenecek ve eklenen fenilalanin toz miktarı her gün 5 mg/kg/gün artırılacaktır (1. gün 5mg/kg/gün, 2. gün 10 mg/kg/gün, 3. gün 15 mg/kg/gün şeklinde devam edilecektir).
5. Toz fenilalanin kahvaltıda az miktarda su ya da meyve suyu içinde çözülerek alınacaktır.
6. Üç günde bir HPLC ile kan fenilalanin düzeyi izlenecektir.
7. Tüm kan fenilalanin düzeyleri, kahvaltıdan 2 saat sonra ve yaklaşık aynı saatte alınacaktır.

8. Yükleme için istenen başlangıç kan düzeyine ulaşıldığında, aynı gün 8., 16., 24. saatlerde kan düzeylerine bakılacaktır (gün içindeki dalgalanmayı görmek amacıyla).
9. Eğer kan düzeyleri sabit kalmıyor ve dalgalanıyorsa, en son verilen ek fenilalanin toz miktarı kadar toz fenilalanin 2–3 gün daha kullanılıp kontrole çağrılacaktır.
10. Teste başlanmasına karar verildiğinde, sabah en son alınan miktar kadar toz fenilalanin alınacak, kahvaltıdan 2 saat sonra BH4 (Kuvan®) 20 mg/kg/gündoza (maksimum 2gr) verilip teste başlanacaktır. Test tamamlanana kadar aynı miktarda toz fenilalanin kullanılmaya devam edilecektir.
11. BH4 sonrası 8., 16., 24. saatlerde kan fenilalanin düzeylerine bakılacaktır.
Kan fenilalanin düzeylerinde %30'un üzerinde düşüş, tam yanıt,
%20 – 30 arasında düşüş, kısmi -parsiyel- yanıt,
%20'nin altında düşüş, yanıtızlık olarak kabul edilecektir.
12. Test sonucu yanıtızlık olarak değerlendirildi ise, uygun biçimde fenilalanin boşaltıcı diyet verilerek eski diyete dönülecektir. Yanıt varsa BH4 tedavisine başlanacaktır.
13. BH4 tedavisine başlanan hastalarda, ilaca en az 6 ay süre ile devam edilecek ve tedavi sonuçları değerlendirilecektir.
14. Kuvana yanıt verdiği halde formulaya da devam etmesi gereken hastalarda Kuvan'ın olgunun fenilalanin toleransında en az %50'lik bir artış yapmış olması beklenir.

12. ÖZGEÇMİŞ

1. KİŞİSEL BİLGİLER

Adı-soyadı: Aynur Küçükçongar
Doğum tarihi ve yeri: 24.10.1977, Sivas
Görevi: Yandal Arş Gör.
Yazışma adresi: Buketkent Mah. Gülerkent Sitesi B-Blok No: 47 Çayyolu/Ankara
Telefon: 2401798
E-mail: aynurcon@yahoo.com

2. EĞİTİM

Derece	Okul	Mezuniyet yılı
İlkokul	Halil Rıfat Paşa İlkokulu	1989
Ortaöğrenim	Sivas Selçuk Anadolu Lisesi	1996
Lisans	Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi	2002
Doktora/Tıpta Uzmanlık	Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları	2009

3. AKADEMİK DENEYİM

GÖREV DÖNEMİ (YIL)	ÜNVAN	BÖLÜM	ÜNİVERSİTE
2009-	Yandal Arş. Gör.	Çocuk Beslenme ve Metabolizma	Gazi Üniversitesi