



## Consenso para o tratamento nutricional de fenilcetonúria

Sociedade Portuguesa de Doenças Metabólicas

### Resumo

A fenilcetonúria é uma doença hereditária do metabolismo das proteínas. Em cerca de 98% dos indivíduos afectados, a elevação da concentração da fenilalanina plasmática fica a dever-se ao défice hepático da enzima hidroxilase da fenilalanina. O diagnóstico precoce da doença, realizado pela detecção do aumento da concentração plasmática da fenilalanina, constitui o meio mais eficaz para a rápida implementação do tratamento, de modo a evitar a instalação das sequelas neurológicas. O tratamento assenta fundamentalmente numa dieta restrita em proteínas naturais e em fenilalanina, a qual deve garantir um bom desenvolvimento cognitivo, a par de um crescimento de acordo com o recomendado. As severas restrições alimentares que caracterizam o tratamento pressupõem uma atenção redobrada sobre o estado nutricional destes doentes. Neste sentido, é apresentado o consenso para o tratamento nutricional da fenilcetonúria.

**Palavras-chave:** Fenilcetonúria, fenilalanina, hidroxilase da fenilalanina, dieta, tratamento nutricional.

*Acta Paediatr Port 2007;38(1):44-54*

### Consensus for the nutritional treatment of phenylketonuria

#### Abstract

Phenylketonuria is an inborn error of protein metabolism. In most of the affected patients (98%), plasmatic phenylalanine concentration increase is caused by the hepatic deficit of the enzyme phenylalanine hydroxylase. Neonatal screening is based on the detection of raised plasmatic phenylalanine concentrations and is the best strategy to rapidly implement the treatment, in order to prevent all the neurological sequelae that can develop. Treatment consists on protein and phenylalanine restricted diet, which should allow a good cognitive evolution and an adequate growth according to reference guidelines. Taking into account the several food restrictions imposed by the treatment, every professional involved on the treatment of phenylketonuria, must pay a special attention to

the patient's nutritional status. For these proposes, this consensus for the nutritional treatment of phenylketonuria is published.

**Keywords:** Phenylketonuria, phenylalanine, phenylalanine hydroxylase, diet, nutritional treatment.

*Acta Paediatr Port 2007;38(1):44-54*

#### Definição

A fenilcetonúria (PKU; MIM # 261600) caracteriza-se por hiperfenilalaninemia (HFA) persistente, tendo sido descrita primeiramente em Oslo, na Noruega, por Asbjörn Fölling, em 1934, em duas crianças com atraso mental e que manifestavam presença de fenilcetonas na urina<sup>1,2</sup>. O tratamento com restrição em fenilalanina (FEN) foi iniciado em 1953 por Horst Bickel<sup>3</sup>.

A HFA verifica-se sempre que as concentrações plasmáticas de FEN excedem os limites da normalidade [(0,6-1,7mg/dL)<sup>4</sup> ou (1,3-2,0mg/dL)<sup>5</sup>] ou quando a relação fenilalanina/tirosina (FEN/TIR) é superior ou igual a 3<sup>6</sup>. A HFA é o resultado de um defeito no metabolismo responsável pela hidroxilação do aminoácido FEN. Em cerca de 98% dos casos, a HFA é consequência do défice hepático da enzima hidroxilase da fenilalanina (HF), embora também possam ocorrer defeitos no metabolismo do seu cofactor, a tetrahydrobiopterina (BH<sub>4</sub>)<sup>6</sup>.

Ao longo do texto, sempre que nos referirmos à PKU, estaremos a falar concretamente do défice em HF e não nos defeitos no metabolismo da BH<sub>4</sub>.

#### Genética

A PKU é uma doença de transmissão autossómica recessiva, constituindo o erro inato do metabolismo dos aminoácidos mais frequente na Europa<sup>7</sup>. A localização do gene *PAH*, responsável pela codificação da HF, encontra-se definida: 12q23.2<sup>4</sup>. De um modo geral, os indivíduos afectados são heterozigóticos compostos para diferentes mutações o que em parte explica a grande variabilidade genética e o correspondente espectro fenotípico<sup>6</sup>. A base de dados electrónica rela-

**Recebido:** 27.02.2007

**Aceite:** 28.02.2007

#### Correspondência:

Manuela Ferreira de Almeida  
Instituto de Genética Médica Jacinto de Magalhães  
Praça Pedro Nunes, N° 88  
4099-028 Porto, Portugal  
Telf.: +351 226 070 339  
manuela.almeida@igm.min-saude.pt

tiva às mutações descritas (<http://www.pahdb.mcgill.ca>) referia, em Agosto de 2006, a existência de 524 mutações causadoras de doença, estimando-se que cerca de 1 a 1,5% da população europeia seja portadora, em heterozigotia, de mutações responsáveis pela deficiência em HF<sup>7</sup>. Entre as mutações mais frequentes no nosso país temos a IVS10-11G>A, a R261Q e a V388M<sup>8,9</sup>. O estudo molecular dos doentes revela-se extremamente importante porque, com base no genótipo, poder-se-á prever o fenótipo metabólico<sup>10</sup>. Nos caucasianos, a prevalência da PKU varia entre 1:4000 e 1:40000<sup>6</sup>. Na Europa, a mesma situa-se normalmente entre 1:4400 e 1:10000<sup>7</sup>, embora haja países com prevalências da ordem de 1:15000<sup>11</sup>. Em Portugal, até ao final de 2006, a prevalência foi de 1:10914 recém-nascidos.

### Metabolismo

A HF é responsável pela conversão hepática do aminoácido essencial FEN em tirosina (TIR) (Figura 1)<sup>4</sup>. Deste modo, na PKU, verifica-se uma elevação dos níveis plasmáticos de FEN com uma eventual redução das concentrações de TIR<sup>6</sup>. Para contrariar as concentrações elevadas de FEN, são desencadeadas vias de degradação alternativas verificando-se a produção de metabolitos como os ácidos fenilpirúvico, fenil-láctico e fenilacético<sup>2</sup>. Para os doentes com PKU, a TIR assume um cariz de aminoácido essencial, na medida em que 70 a 90% deste aminoácido teria origem na FEN, caso não se verificasse o defeito na HF<sup>2</sup>. Esta HFA persistente acarreta um efeito adverso, uma vez que inibe competitivamente o transporte de outros aminoácidos neutros através de membranas celulares como a barreira hematoencefálica ou o plexo coróide<sup>6</sup>. Concentrações elevadas de FEN no cérebro parecem influenciar negativamente as taxas de síntese proteica, o que pode prejudicar a proliferação dendrítica e a mielinização, aumentar o *turnover* da mielina e inibir a síntese de serotonina, dopamina e noradrenalina<sup>6</sup>.

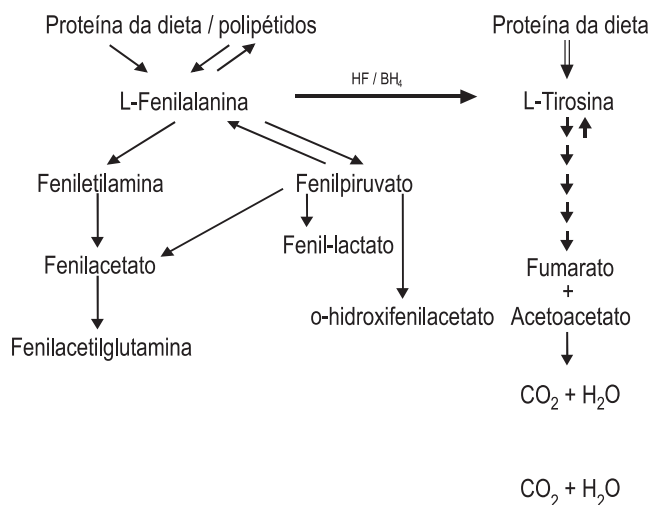
### Apresentação clínica e evolução

Ao nascimento, os fenilcetonúricos são clinicamente normais<sup>6</sup>, não sendo aparente uma relação entre a gravidade da doença e o peso ao nascer<sup>12</sup>. No entanto, na PKU não tratada, ou com diagnóstico tardio e HFA severa (valores de FEN plasmáticos superiores a 20mg/dL), a clínica poderá manifestar-se com atraso psicomotor, cheiro característico devido à excreção de ácido fenilacético, espasmos, alterações no electroencefalograma (EEG), microcefalia, eczema (em 20 a 40% dos indivíduos) e diminuição da pigmentação dos olhos, cabelo e pele<sup>6</sup>. Porém, o largo espectro de gravidade da doença ocasiona que, nem todos os doentes não tratados apresentem atraso mental profundo<sup>2</sup>. Mesmo nos que manifestam perturbações, motivadas por um diagnóstico tardio, a implementação do tratamento dietético demonstra-se importante na medida em que melhora a sua independência, a sua inserção socio-familiar e possibilidades de escolarização, com benefícios nítidos para a sociedade em que possam estar inseridos<sup>13,14</sup>.

Nos casos detectados precocemente, a manutenção do tratamento é importante para um bom prognóstico. É conveniente ter em conta que a sintomatologia pode surgir com o abandono do tratamento, justificando o quadro de alterações do comportamento, com excitabilidade e hiperactividade, comportamentos autistas, regressão intelectual e desmielinização<sup>6</sup>. Recentemente têm sido relatados, mesmo em doentes tratados, défices específicos, nomeadamente perturbações da organização temporo-espacial, da psicomotricidade fina, sensorio-motoras, do grafismo, verbais, bem como défices de atenção, que são agravados com graus crescentes de descontrolo metabólico e que podem, eventualmente, ser alvo de tratamento farmacológico<sup>15</sup>.

É incontestável que a qualidade de controlo metabólico é um factor preponderante para o prognóstico. Todavia, a vulnerabilidade às concentrações elevadas de FEN no plasma não é constante em todos os indivíduos, permitindo compreender os diferentes graus de défices neurológicos e intelectuais nos doentes, bem como as alterações variáveis na substância branca e nos resultados do EEG<sup>16</sup>. Como tal, o controlo metabólico é importante mas não definidor, na íntegra, do prognóstico do doente<sup>17</sup>. Este aspecto justifica-se na medida em que, determinados doentes, apresentam distintas concentrações cerebrais de FEN, para valores semelhantes do aminoácido no plasma<sup>17</sup>. A susceptibilidade individual é explicada pelo facto da FEN partilhar, com outros aminoácidos neutros, o mesmo transportador através da barreira hematoencefálica<sup>17,18</sup>. Como tal, e perante estes factos, parece lógico que a passagem da FEN para o meio cerebral está na base da evolução do prognóstico destes doentes.

Os défices no metabolismo da BH<sub>4</sub> também se manifestam através de elevações das concentrações plasmáticas da FEN, embora nestes casos, o tratamento dietético não se revele por si só eficaz<sup>2</sup>. Nestes doentes verifica-se uma desregulação da síntese de neurotransmissores, nomeadamente da dopamina, noradrenalina, adrenalina e serotonina<sup>5</sup>, necessitando como tal de uma terapêutica específica, como veremos adiante.



**Figura 1 – Metabolismo da FEN.** Adaptado de Scriver and Kaufman<sup>4</sup>.  
Legenda: HF – hidroxilase da fenilalanina; BH<sub>4</sub> – tetrahydrobiopterina.

### Diagnóstico

O diagnóstico da PKU é realizado através do rastreio neonatal, numa fase pré-sintomática, a partir de sangue colhido em papel de filtro <sup>6</sup>. Nos casos positivos verifica-se uma elevação da FEN, comprovando-se por vezes, valores de TIR baixos <sup>6</sup>. É igualmente crucial rastrear a ocorrência de defeitos no metabolismo das biopterinas <sup>2</sup>, especialmente quando se verificam valores plasmáticos de TIR normais <sup>6</sup>. Assim, recomenda-se a determinação das biopterinas e neopterinas urinárias e da reductase da dihidrobiopterina (DHPR) sanguínea (Figura 2) <sup>6</sup>.

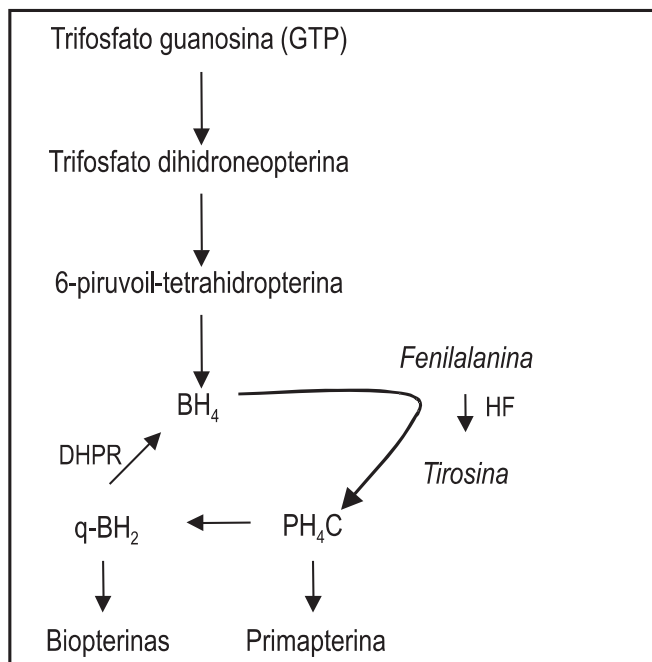


Figura 2 – Metabolismo das biopterinas. Adaptado de Scriver and Kaufman<sup>6</sup>.

Legenda: HF – hidroxilase da fenilalanina; DHPR – reductase da dihidropteridina; BH4 – tetrahydrobiopterina.

De acordo com os valores de rastreio poderemos falar em várias formas da doença. Assim, a Comissão Nacional de Diagnóstico Precoce considera que:

- [FEN]<sub>plasma</sub> entre 3mg/dL e 6mg/dL – HFA;
- [FEN]<sub>plasma</sub> entre 6mg/dL e 20mg/dL – PKU moderada ou atípica;
- [FEN]<sub>plasma</sub> superior a 20mg/dL – PKU clássica.

Se, por um lado, a nomenclatura é importante, por outro lado, não podemos esquecer que o grande objectivo será iniciar o tratamento, no sentido de evitar a instalação das sequelas neurológicas, que poderão surgir nas formas graves da doença, ou mesmo nas mais leves.

### Tratamento da fenilcetonúria

#### a) Princípios gerais do tratamento

O princípio geral do tratamento consiste no controlo rigoroso do aporte de FEN, instituindo-se para tal, uma dieta hipoproteica e pobre no referido aminoácido. Actualmente, o tratamento é implementado sempre que se verifiquem concentrações de FEN plasmática superiores a 6mg/dL <sup>6</sup>. Com valores de rastreio entre 3 e 6mg/dL, é desejável manter uma monitorização mensal dos valores de FEN plasmática, mantendo uma dieta sem quaisquer restrições, de acordo com as recomendações nutricionais para a idade e sexo. É conveniente ter em conta que as variações nas concentrações plasmáticas de FEN podem ser significativas, principalmente aquando da introdução de novos alimentos na diversificação alimentar <sup>6</sup>, pelo que se sugere nesta fase, um controlo metabólico rigoroso permitindo assim, melhor aferir a tolerância dos doentes à FEN. Esta tolerância dirá então respeito ao aporte máximo de FEN que o doente suporta, mantendo simultaneamente um controlo metabólico dentro dos parâmetros desejáveis, os quais veremos mais adiante.

#### b) Recomendações nutricionais

A FEN é um aminoácido essencial, sendo, como tal, crucial para assegurar bons índices de crescimento e maturação <sup>4</sup>. No entanto, quando em excesso nestes doentes, assume um carácter tóxico desencadeando mecanismos fisiopatológicos mais ou menos graves. Assim, recorre-se à substituição dos alimentos ricos em FEN por outros pobres ou mesmo isentos do referido aminoácido. Devemos, no entanto, ter em atenção que a substituição pelos referidos alimentos deve assegurar igualmente o correcto aporte nutricional adequado a cada faixa etária <sup>6</sup>. Assim, sugerem-se, como guia para a instituição do tratamento, as recomendações nutricionais descritas no Quadro I <sup>19</sup>.

Quadro I – Recomendações nutricionais para o tratamento da PKU. Adaptado de Elsas and Acosta<sup>19</sup>.

		<6 meses	6-12 meses	1-4 ano	4-7 anos	7-11 anos	11-15 anos	15-19 anos
<b>Energia</b>	<b>Kcal.kg<sup>-1</sup>.d<sup>-1</sup></b>	145-95	135-80	-	-	-	-	-
	<b>Kcal.d<sup>-1</sup></b>	-	-	1300	1700	2400	2200-2700	1800-2100
<b>Proteínas totais</b> (íntactas + mistura de aa)	<b>g.kg.d<sup>-1</sup></b>	3.0-3.5	2.5-3.0					
	<b>g/d</b>			30	35	40	50-55	50-65
<b>Glícidos</b>	<b>g/d</b>	30-35% VET				50-60% VET		
<b>Lípidos</b>	<b>g/d</b>	50% VET				35% VET		
<b>Fenilalanina</b>	<b>mg.kg<sup>-1</sup>.d<sup>-1</sup></b>	20-70	15-50	15-40	15-35	15-30	15-30	10-30
<b>Tirosina</b>	<b>mg.kg<sup>-1</sup>.d<sup>-1</sup></b>	300-350	250-300	230	175	140	110-120	110-120
<b>Água</b>	<b>mL.Kg<sup>-1</sup>.d<sup>-1</sup></b>	135-160	120-145	95	90	75	50-55	50-65

Legenda: aa – aminoácidos; VET – Valor energético total.

Convém notar que, a atenção dos nutricionistas e médicos está fundamentalmente voltada para as recomendações em FEN e em aminoácidos provenientes da mistura. No entanto, é importante ter em conta a ingestão energética destes doentes, dado que não está ainda completamente definido se as dietas semisintéticas acarretam um aumento das suas necessidades em energia <sup>20</sup>.

### c) Tratamento na fase aguda

As concentrações plasmáticas de FEN tendem a aumentar no decurso de intercorrências infecciosas, sempre que diminui a ingestão energética e/ou da mistura de aminoácidos, quando se verifica diminuição da velocidade de crescimento ou, de modo mais directo, quando há aumento do aporte em FEN. Nestas circunstâncias, embora não estejamos em presença de uma descompensação aguda, é conveniente reduzir o aporte de FEN, aumentando, por sua vez, a ingestão energética e da mistura de aminoácidos <sup>6</sup>. Da nossa experiência, é frequente a diminuição do aporte de FEN em cerca de 60 a 80mg. Por outro lado, sugere-se um aumento da ingestão energética à custa de glícidos e lípidos, de acordo com a aceitação do doente. Esta é normalmente baixa nestas circunstâncias, na medida em que, pode estar patente algum grau de anorexia.

O doseamento dos aminoácidos de cadeia ramificada poderá ser útil para detectar malnutrição proteica devida a processos catabólicos <sup>21</sup>.

### d) Tratamento a longo prazo

As vantagens da instituição precoce do tratamento nestas crianças encontram-se amplamente descritas e não suscitam quaisquer dúvidas. No entanto, a abordagem terapêutica inicial poderá ser ligeiramente diferente de acordo com os valores de FEN ao rastreio.

Assim, recomenda-se que, com valores de FEN ao rastreio superiores a 20mg/dL, se realize uma pausa no aporte do referido aminoácido, durante 2 dias <sup>6</sup>. Deste modo, a criança suspenderá provisoriamente o aleitamento materno (devendo ser retirado com bomba) ou a toma do leite ou fórmula que vinha a fazer. De realçar aqui o facto da suspensão ser mesmo provisória, na medida em que, o aleitamento materno nestas crianças parece trazer vantagens significativas, motivadas pelo contributo em ácidos gordos polinsaturados de cadeia longa (AGPCL) <sup>22</sup>. De forma a garantir as necessidades proteicas e energéticas, é introduzida, respectivamente, a mistura de aminoácidos isenta de FEN, bem como a glicose/maltodextrina e óleo de milho, ou uma mistura contendo ambas as fontes (glicídica e lipídica) e isenta de proteína e aminoácidos. Com esta intervenção prevê-se que os valores de FEN plasmática desçam rapidamente (entre 6 a 7mg/dL por dia <sup>6,23</sup>), permitindo que a criança atinja a estabilização dos seus valores de fenilalaninemia. Posteriormente, a reintrodução de FEN deve ser feita tendo sempre como base os valores plasmáticos da mesma, podendo atingir um máximo de 75mg.kg<sup>-1</sup>.dia<sup>-1</sup> <sup>6</sup>. No entanto, a prática clínica demonstra-nos que, na maior parte das vezes, estes teores são elevados, podendo a reintrodução

ser feita com cerca de 80mg de FEN por dia, com um aumento gradual até atingir a tolerância do doente.

Com valores de FEN ao rastreio até 20mg/dL, deve diminuir-se o aporte de FEN, reduzindo a ingestão do leite materno ou do leite/fórmula adaptados, introduzindo-se uma mistura de aminoácidos isenta no referido aminoácido. Do mesmo modo, o aporte energético é garantido através da adição de glicose/maltodextrina e de óleo de milho, ou fonte equivalente. Na prática clínica, é administrado o biberão com a mistura de aminoácidos e os suplementos energéticos, sendo que em seguida, o lactente poderá ser amamentado ao peito <sup>24</sup>. No entanto, caso surjam dificuldades em implementar este esquema de alimentação, mais fisiológico, por repartir o aporte em FEN, poder-se-ão discutir outros modos de alimentar o bebé, que igualmente garantam um bom controlo metabólico <sup>25</sup>. A ingestão média de leite materno, entre o terceiro e o quinto dia, ronda os 150mL por dia. O ajuste da tolerância à FEN poderá então ser feito modulando a ingestão, em volume, de leite materno e da mistura de aminoácidos <sup>26</sup>.

Independentemente do valor de rastreio da criança, quando o aleitamento materno não for possível, é desejável a administração de um leite ou fórmula enriquecido em AGPCL de modo a poder otimizar a acuidade visual <sup>27</sup> e o desenvolvimento neurológico <sup>28,29</sup>. A riqueza em AGPCL será ainda mais necessária quando a mistura de aminoácidos usada não fornecer ácidos gordos essenciais. Todavia, mesmo que os contenha, é necessário ter em conta a relativa ineficácia do processo de insaturação e alongação dos ácidos gordos essenciais no organismo <sup>30</sup>, o que os torna num alvo especial de atenção nos doentes com PKU <sup>28</sup>. A diminuição da síntese endógena dos ácidos araquidónico (20:4n-6) (AA) e docosahexanoico (22:6n-3) (DHA) a partir, respectivamente, do ácido linoleico (18:2n-6) e ácido  $\alpha$ -linolénico (18:3n-3), pode verificar-se nestes doentes. Esta diminuição parece justificar-se através da inibição de processos enzimáticos pelos metabolitos secundários formados, nomeadamente o fenilpiruvato e o fenil-lactato <sup>30</sup>. Por outro lado, já era sabido antes que, quanto mais restrita fosse a dieta, maior seria o risco dos doentes manifestarem níveis reduzidos de AGPCL <sup>31</sup>. Recentemente, e comparativamente a um grupo controlo, demonstrou-se que a suplementação da mistura de aminoácidos em AGPCL no primeiro ano de vida, atenua a redução das suas concentrações com o crescimento <sup>29</sup>, o que reforça a utilidade da suplementação para corrigir estas deficiências <sup>27</sup>. Em adolescentes e adultos com PKU há uma forte tendência para a presença de concentrações baixas de AA e DHA no plasma. Cumulativamente, as concentrações eritrocitárias de DHA encontram-se igualmente inferiores ao controlo, embora as de AA não. Neste sentido, mesmo em adolescentes e adultos, é desejável proceder à suplementação em AGPCL sempre que se constata analiticamente a sua necessidade <sup>32</sup>. No entanto, cessar a sua suplementação traduz-se no regresso dos níveis de AGPCL para os valores basais <sup>33</sup>.

A mistura de aminoácidos é crucial no tratamento destas crianças, uma vez que constitui uma preciosa fonte de azoto, sendo mesmo essencial para alcançar um bom controlo metabólico <sup>34,35,36</sup>. Nas formas clássicas da doença, a mistura de aminoácidos pode ser responsável pelo fornecimento de cerca de 50 a 90% do aporte proteico <sup>20</sup>.



Assim, Pietz *et al* demonstraram que a administração, em doses farmacológicas, de outros aminoácidos (tirosina, triptofano, metionina, leucina, isoleucina, valina, treonina e histidina) que partilhem o mesmo transportador através da barreira hematoencefálica poderá ser benéfica, na medida em que estes competem para o transporte da FEN para o meio cerebral, diminuindo a sua entrada<sup>18</sup>. Este trabalho, iniciado em 1985 no Instituto John F. Kennedy, na Dinamarca<sup>37</sup>, veio mais uma vez confirmar a plausibilidade do uso de todos aminoácidos que competem com a FEN em adolescentes e adultos, e não apenas do uso isolado de TIR, cujos resultados podem não ser suficientemente satisfatórios<sup>38</sup>. Em Portugal, esta terapêutica (PreKUnil – actualmente conhecido como NeoPhe) já foi testada em adolescentes e adultos, tendo apresentado resultados satisfatórios principalmente nos casos em que existia risco de abandono do tratamento dietético<sup>39</sup>. Como alternativa a este tratamento, não devemos esquecer que, a tradicional mistura de aminoácidos desempenha igualmente um pouco desta função, já que contém os referidos aminoácidos. Daí a importância da prescrição e toma das referidas misturas, nas doses adequadas e distribuídas ao longo do dia, como veremos mais adiante.

É conveniente dar especial atenção à composição nutricional das misturas de aminoácidos, de modo a conhecer com rigor o equivalente proteico que fornecem e assim melhor ajustar as quantidades de produto prescritas. Recomenda-se que a mistura de aminoácidos seja dada na quantidade de 3g.kg<sup>-1</sup>.dia<sup>-1</sup> até ao ano de idade, sendo que, a partir daí pode ser dada entre 1 a 2g.kg<sup>-1</sup>.dia<sup>-1</sup><sup>6</sup>. No entanto, a recomendação de 3g.kg<sup>-1</sup>.dia<sup>-1</sup> pode alargar-se mesmo até aos 2 anos de idade, mantendo-se posteriormente nos 2g.kg<sup>-1</sup>.dia<sup>-1</sup> depois desta idade<sup>40</sup>. De notar que estas recomendações são em g de aminoácidos por kg de peso e por dia, e não em g de pó da mistura. Nesse sentido, reforça-se a necessidade da avaliação criteriosa da composição de todas as misturas de aminoácidos existentes no mercado. A variação entre estas recomendações é compreensível, na medida em que a tolerância das crianças é sempre diferente, dada a elevada variabilidade genética da doença, o que proporciona que os aportes de FEN sejam bastante diferentes. Em resumo, quanto mais restrita em FEN for a alimentação da criança, em virtude da sua tolerância, mais dependente esta será do aporte proteico proveniente da mistura de aminoácidos.

Devemos no entanto ter em atenção que as misturas de aminoácidos não são utilizadas com a mesma eficácia pelo organismo, comparativamente a leites ou fórmulas com proteína intacta<sup>41</sup>, na medida em que a taxa de aparecimento no plasma dos aminoácidos livres é muito elevada, dificultando o seu direccionamento preferencial para processos de síntese<sup>20</sup>. Neste sentido, será importante:

- dividir o total da mistura de aminoácidos por pelo menos 3 refeições por dia<sup>20,42-44</sup>, com o intuito de baixar as perdas urinárias de azoto<sup>44</sup>; de modo ideal, a divisão deveria ser feita por todas as refeições diárias, melhorando a tolerância à FEN e mimetizando o padrão de aporte proteico em indivíduos saudáveis;
- garantir um adequado aporte energético, optimizando deste modo os processos anabólicos, especialmente nas intercorrências infecciosas<sup>42</sup>;

- utilizar o peso do doente como meio de aferir as necessidades em azoto e em energia apenas quando se verifica bom desenvolvimento ponderal<sup>43</sup>;
- adicionar uma fonte de proteína natural ou intacta à mistura de aminoácidos<sup>20,23,43</sup>.

Recentemente têm vindo a surgir novas formas de apresentação das misturas de aminoácidos<sup>35,36,45</sup>, nomeadamente, em saquetas, barras, comprimidos ou mesmo na forma líquida. Estas permitem maior flexibilidade da dieta, na medida em que são facilmente transportadas, podendo constituir uma boa alternativa na escola ou no trabalho. No entanto, é necessário ter em conta que muitas destas novas alternativas são desprovidas de micronutrientes o que deve reforçar a atenção na toma da suplementação vitamínica e mineral, bem como da sua monitorização sanguínea<sup>46</sup>.

A diversificação alimentar nestas crianças é realizada de acordo com as regras gerais adoptadas em nutrição pediátrica, excepto para os alimentos que não lhes são permitidos na dieta. É de salientar, no entanto, a importância da tabela de alimentos proibidos e permitidos que é entregue aos pais, para que o cumprimento do plano alimentar seja facilitado<sup>6</sup>. Nesta fase é introduzido o conceito de “parte de FEN”, a qual é utilizada para os alimentos permitidos. Uma parte de FEN corresponde ao peso do alimento que fornece 20mg de FEN. Com a utilização da tabela de partes há mais facilidade de escolha e de troca entre alimentos, impedindo a monotonia em que a dieta pode incorrer. A introdução gradual de alimentos hipoproteicos especiais [comparticipados a 100% pelo Ministério da Saúde, despacho N.º 25822/2005 (2ª série) de 15 de Dezembro de 2005] facilitará ainda mais a exequibilidade do plano alimentar, bem como a concretização das necessidades energéticas.

Com a diversificação alimentar, será prudente não esquecer duas questões que nos parecem importantes:

- não retirar completamente o leite ou fórmula adaptada que vinha sendo dada juntamente com a mistura de aminoácidos, permitindo desta forma a presença de alguma quantidade de proteína intacta, sem com isso prejudicar o controlo metabólico ou baixar a tolerância à FEN;
- ter em conta a quantidade e qualidade de gordura veiculada no plano alimentar destes doentes, no sentido de tentar optimizar a relação ácido linoleico/ácido  $\alpha$ -linoléico<sup>47</sup>.

A alternativa mais provável ao tratamento dietético na PKU, por défice da HF, será a administração de BH<sub>4</sub>, cujos mecanismos de resposta já foram explorados<sup>48</sup>. Em 1999, foi primeiramente descrito o potencial interesse da administração da BH<sub>4</sub> aos doentes portadores de formas suaves da doença, nomeadamente com valores de FEN ao rastreio até 16mg/dL<sup>49</sup>. Mais tarde, foi comprovado o interesse da BH<sub>4</sub> para esta gama de doentes<sup>50</sup>, sendo seguro o seu uso<sup>51-53</sup>. Num estudo envolvendo 64 doentes com PKU em tratamento, constatou-se que todos os doentes com valores FEN ao rastreio até 10mg/dL responderam à administração de BH<sub>4</sub>, bem como 75% dos doentes com valores entre 10 e 20mg/dL<sup>54</sup>. Em todo o caso, é ainda de realçar que 11% dos doentes com PKU clássica (FEN

ao rastreio superior a 20mg/dL) tiveram uma resposta favorável, ainda que em alguns casos parcial<sup>54</sup>. Assim, o uso da BH<sub>4</sub>, deve igualmente ser equacionado nos doentes com formas graves da doença, desde que respondam favoravelmente à prova de sobrecarga e que possuam pelo menos uma mutação mais suave. A referida terapêutica poderá deste modo aumentar a tolerância dos doentes à FEN<sup>49,51,55</sup>, ou mesmo eliminar as restrições alimentares. Em todo o caso, dados os custos relativamente elevados da BH<sub>4</sub>, é fundamental usar a menor dose possível, podendo mesmo manter-se um pouco da mistura de aminoácidos, de modo a garantir maior tolerância<sup>56,57</sup>. No entanto, em determinados doentes a evolução poderá ser tão favorável ao ponto de ser possível suspender a toma da mistura de aminoácidos<sup>51</sup>. As doses usadas no tratamento a longo prazo variam de acordo com os autores: 5 mg/kg/dia<sup>51</sup>, entre 8 e 10mg/kg/dia<sup>57</sup>, 10mg/kg/dia<sup>56</sup>, 10 a 20mg/kg/dia<sup>52</sup>. De realçar que a dose deverá também aumentar no decurso de períodos catabólicos<sup>57</sup>.

Nos défices relacionados com o metabolismo da BH<sub>4</sub>, quer de síntese ou de regeneração, o tratamento passará pela restrição em FEN, juntamente com uma terapêutica com neurotransmissores, BH<sub>4</sub> e ácido fólico<sup>5</sup>.

### e) Monitorização do tratamento

A periodicidade do seguimento deverá ser, no que respeita a consultas: mensal até aos 6 meses; bimestral dos 6 meses ao ano de idade; trimestral do primeiro aos 3 anos de idade; trianual dos 3 aos 12 anos; bianual após os 12 anos de idade.

Tal como noutras doenças crónicas, a monitorização do tratamento é crucial e determinante para o prognóstico. Assim, dado o efeito neurotóxico da FEN, os seus doseamentos a nível sanguíneo devem ser realizados segundo o seguinte protocolo, o qual se encontra de acordo com as recomendações do Consenso do National Institutes of Health<sup>58</sup>: semanalmente até ao ano de idade; quinzenalmente até aos 12 anos de idade; mensalmente a partir dos 12 anos de idade<sup>2</sup>; bimensalmente antes da concepção e durante a gravidez. Embora pareça consensual que, com a chegada da adolescência e com o avançar da idade, o bom controlo metabólico é mais difícil de manter<sup>59,60</sup>, no nosso país sempre foi seguida a política de manutenção do tratamento “para a vida”. Assim, até aos 12 anos será conveniente manter os valores séricos de FEN entre 2 e 6mg/dL, permitindo-se valores entre 2 e 8mg/dL a partir dos 12 anos<sup>6</sup>. Para além da FEN será também importante monitorizar os valores de TIR plasmática, na medida em que, nesta patologia, se torna um aminoácido essencial.

Os limites inferiores do intervalo admissível de [FEN] no plasma podem ser alvo de alguma contestação por alguns centros, na medida em que, partindo do princípio que as variações diurnas da concentração de FEN plasmática podem ser da ordem de 0,5 a 4,2mg/dL, será elevado o risco de défice de FEN<sup>6</sup>. Assim, dado tratar-se de um aminoácido essencial, podemos colocar em risco o desenvolvimento destas crianças<sup>61</sup>.

É importante realçar um aspecto crucial nos sucessivos controlos de FEN plasmática: o horário de realização das picadas deve ser sensivelmente o mesmo. São conhecidas as variações

circadianas das concentrações de FEN no sangue<sup>62</sup> de modo que, estas vão descendo durante o dia, subindo durante a noite até atingirem um valor máximo pela manhã<sup>63</sup>. Esta variação parece ficar a dever-se ao catabolismo verificado durante a noite, acarretando a referida subida dos valores de FEN no sangue. Deste modo, parece-nos desejável que as picadas de controlo metabólico sejam feitas logo pela manhã e em jejum. Todavia, a última refeição da noite deve sempre fornecer quantidades de energia suficientes, devendo ser composta pela mistura de aminoácidos, bem como por quantidades adequadas de proteína intacta, tal como já referimos acima. A quantidade da mistura de aminoácidos ingerida poderá situar-se nos 25% do total prescrito para o dia, podendo também incluir-se quantidades definidas de alimentos com teor conhecido em FEN, caso o doente o pretenda e a história alimentar o permita. Com estas estratégias pretendem-se minimizar os processos catabólicos verificados durante a noite<sup>63</sup>.

Para além do controlo metabólico, é importante efectuar uma exploração analítica global com estudo hematológico, bioquímico e das funções renal e hepática. Estes exames deverão ser realizados com uma periodicidade anual. Tendo em conta a evolução do doente, a primeira avaliação pondera-se a partir dos 12 meses. Estes doseamentos assumem grande importância, dadas as restrições alimentares implícitas ao tratamento, as quais podem colocar os doentes em risco nutricional para vitamina B<sub>12</sub><sup>20,64-67</sup>, selénio<sup>11,20</sup>, carnitina<sup>68</sup>, colesterol<sup>69</sup>, triglicérides<sup>32</sup>, AGPCL<sup>22,33,47,70,71</sup>, cálcio, fósforo, ferro, vitamina B<sub>6</sub>, zinco<sup>11,20</sup>, ácido fólico<sup>72,73</sup>. Neste sentido, estes parâmetros devem ser devidamente monitorizados, bem como o IGF1<sup>73</sup>, a pré-albumina<sup>20,7-76</sup>, a ureia e a creatinina. A escolha da pré-albumina tem por base a sua baixa semi-vida (2 a 3 dias), o que permite obter um reflexo da ingestão nutricional recente<sup>77</sup>. Os resultados deverão ser comparados com valores de referência definidos para a idade<sup>78-80</sup>. Os doentes que manifestem valores baixos de pré-albumina, bem como de outras proteínas de síntese hepática, deverão ser alvo de monitorização especial de modo a prevenir a deterioração do seu estado nutricional<sup>81</sup>.

A composição corporal, avaliada por bioimpedância eléctrica tetrapolar<sup>82</sup>, será igualmente útil para monitorizar a evolução destes doentes, em virtude das conhecidas influências do padrão alimentar e da actividade física nos compartimentos corporais. É importante ter a máxima atenção às condições da preparação e realização do exame de modo a poder conferir a máxima exactidão aos resultados obtidos<sup>83</sup>. O ângulo de fase é um dos parâmetros indicadores do estado nutricional ao qual dedicamos maior atenção, sendo de esperar uma evolução favorável com o crescimento<sup>84</sup>.

Tem sido recentemente descrito com maior insistência na literatura o risco de desenvolvimento de osteoporose nestas crianças, pelo que a avaliação da densidade mineral óssea se encontra aconselhada a partir dos 6 anos<sup>20,85,86</sup>. Convém igualmente monitorizar a idade óssea de acordo com o crescimento. Dentro dos parâmetros de crescimento, a evolução do perímetro cefálico relaciona-se com o aporte de proteína natural ingerida nos três primeiros anos<sup>87</sup>. Neste sentido, é de grande importância o ajuste da proteína total e da mistura de aminoácidos, mas também da proteína de alto valor biológico prescrita a estes doentes.

Todas as restrições dietéticas a que os PKU se submetem, devem estar sempre bem presentes na análise crítica dos dados analíticos realizados periodicamente. É igualmente fundamental ajustar a suplementação vitamínica e em ferro de acordo com esses mesmos resultados e com o grau de restrições dietéticas, apesar da mistura de aminoácidos já fornecer quantidades razoáveis de vitaminas e minerais. De notar que, todos os doentes que não cumpram a prescrição da mistura de aminoácidos estarão em risco acrescido de desenvolvimento de deficiências nutricionais, como a de vitamina B<sub>12</sub><sup>67</sup>. Toda esta monitorização deverá também ser complementada pela avaliação dos aspectos do desenvolvimento neuropsicológico do doente, incluindo o exame imagiológico nos casos de mau cumprimento da dieta.

### Tratamento da fenilcetonúria materna

A PKU materna traduz um exemplo de um erro inato do metabolismo em que o fenótipo metabólico da mãe interfere no desenvolvimento fetal. A HFA materna é prejudicial para o embrião e para o feto, dado constituir uma forma de teratogénese metabólica<sup>88,89</sup> fazendo lembrar a síndrome alcoólica fetal e a *diabetes mellitus* materna<sup>4</sup>. Os efeitos fetais da FEN em excesso, primeiramente descritos em 1956<sup>90</sup>, relacionam-se com microcefalia, atraso mental, cardiopatias congénitas, atraso de crescimento intrauterino, fâcies dismórfica, entre outras dismorfias, podendo inclusive ocorrer um aborto espontâneo<sup>4</sup>. A frequência das anomalias, maior nas mulheres com QI<83 e de baixo nível socio-económico<sup>91</sup>, parece relacionar-se directamente com o grau de elevação das concentrações de FEN plasmática<sup>88</sup>. Essas mulheres necessitarão mesmo de cuidados redobrados, incluindo visitas ao domicílio, de modo a ser possível alcançar os objectivos propostos<sup>92</sup>.

Através da barreira placentária verifica-se um transporte activo da FEN no sentido do feto, resultando em concentrações fetais superiores às verificadas na mãe<sup>89</sup>. A relação das concentrações fetais/maternas é de 1,5, embora exista uma elevada variação interindividual, o que nos remete para intervalos entre 1,1 e 2,9, com valores mais elevados no início do período gestacional. Há igualmente referência de que o valor médio seja mesmo 1,35<sup>5</sup>. No entanto, como questão de segurança, parece-nos importante adoptar como referência o valor 2. Assim, para que as concentrações fetais sejam mantidas abaixo de 500µmol/L (8,3mg/dL) parece ser necessário man-

ter as concentrações plasmáticas de FEN maternas entre 60µmol/L (1mg/dL) e 250µmol/L (4,2mg/dL)<sup>6,93</sup>. No entanto, um controlo metabólico entre 2 e 6mg/dL parece ser suficiente como garantia de uma boa evolução fetal<sup>58</sup>.

Como prudência deverá sugerir-se a adesão rigorosa ao tratamento pelo menos antes da suspensão das medidas de contraceção<sup>58,89,92,94</sup>. Quanto maior a idade gestacional no momento da implementação da dieta, maiores serão os riscos de prejuízos para o feto<sup>92</sup>, podendo a interrupção da gravidez ser ponderada, sempre que o controlo metabólico não for atingido nas primeiras semanas.

É importante ter em atenção que, nos casos de adesão perfeita à dieta, não é desejável manter o controlo metabólico permanentemente inferior a 2mg/dL dado o risco de hipofenilalaninemia<sup>92</sup>. Esta situação pode ocorrer mais facilmente nas mulheres com HFA. Todavia, nestas mulheres, desde que o controlo metabólico seja constantemente inferior a 10mg/dL, parece não haver um efeito teratogénico mensurável para o feto<sup>5,89,95</sup>, uma vez que a própria gravidez acarreta, nestes casos, uma redução das concentrações de FEN plasmática<sup>95</sup>. Nas mulheres com PKU clássica, a gestação também pode ser concluída sem complicações, desde que o tratamento tenha sido cumprido durante a adolescência e reforçado antes da concepção e durante a gravidez<sup>96</sup>. A terapêutica com BH<sub>4</sub> durante a gravidez parece ser bastante útil, sendo necessárias doses crescentes ao longo dos trimestres, podendo mesmo atingir 100mg/dia no último<sup>53</sup>.

A periodicidade de realização dos doseamentos para controlo metabólico é muito importante. Estes devem ser feitos duas vezes por semana, nunca podendo ser feitos menos de uma vez por semana<sup>58</sup>, especialmente nas mulheres que aderiram tardiamente à dieta e que revelam baixo QI<sup>92</sup>. Para além do controlo rigoroso das concentrações plasmáticas de FEN e TIR, será igualmente importante assegurar:

- o cumprimento das necessidades nutricionais de acordo com o índice de massa corporal à concepção, com a fase da gravidez e com a evolução de peso verificada e esperada<sup>97</sup>;
- a monitorização adequada da ingestão de ácidos gordos essenciais<sup>89,98</sup>;
- o cumprimento das necessidades em TIR e em proteína, recorrendo, nesta última, à mistura de aminoácidos (Quadro II)<sup>19</sup>.

**Quadro II – Recomendações nutricionais para o tratamento da PKU materna.** Adaptado de *Elsas and Acosta*<sup>19</sup>.

Trimestre e idade	Fenilalanina (mg/d)	Tirosina (mg/d)	Proteína (g/d)	Energia (kcal/d)
<b>Trimestre 1</b>				
15-19 anos	200 < 820	7600	76	1600 - 3400
19-24 anos	180 < 800	7400	74	2100 - 3200
≥ 24 anos	180 < 800	7400	74	2100 - 3400
<b>Trimestre 2</b>				
15-19 anos	200 < 1000	7600	76	1600 - 3400
19-24 anos	180 < 1000	7400	74	2100 - 3200
≥ 24 anos	180 < 1000	7400	74	2100 - 3400
<b>Trimestre 3</b>				
15-19 anos	330 < 1200	7600	76	1600 - 3400
19-24 anos	310 < 1200	7400	74	2100 - 3200
≥ 24 anos	310 < 1200	7400	74	2100 - 3400



Especificamente no que respeita à TIR, embora as suas concentrações antes e durante a gravidez pareçam não afectar o prognóstico do feto<sup>92</sup>, será de todo conveniente ter em atenção as recomendações para o aporte, as quais podem mesmo chegar aos 9000mg/dia, na segunda metade da gravidez, sempre com o intuito de manter os níveis plasmáticos entre 60 e 90µmol/L. No que respeita à FEN, a tolerância aumenta durante a gravidez, podendo, inclusive ser necessário aumentar o aporte de FEN da dieta especialmente no terceiro trimestre, dadas as maiores necessidades<sup>95</sup>.

Para além do controlo metabólico, outros factores nutricionais serão importantes na prevenção das sequelas fetais<sup>92</sup>. Especial atenção deverão merecer as grávidas com sintomas frequentes de náuseas, vômitos e perda de peso, na medida em que estarão em risco aumentado para desenvolverem deficiências nutricionais<sup>91,92</sup>. O aumento de peso durante a gravidez assume nestes casos uma preponderância ainda maior, na medida em que a incidência de microcefalia fetal é menor quando o ganho de peso é superior a 134% da recomendação<sup>99</sup>. O aporte energético, proteico e vitamínico, principalmente de vitamina B<sub>12</sub> e ácido fólico<sup>58,91</sup>, serão factores muito importantes para a diminuição do risco de doença cardíaca congénita<sup>2,91,92</sup>, independentemente do grau de controlo metabólico. Ressalta assim mais uma vez, a importância nutricional da mistura de aminoácidos<sup>98,99</sup>. Nas mulheres com dificuldade em manter as concentrações de FEN dentro dos intervalos aceitáveis, o aumento da ingestão da referida mistura poderá trazer vantagens<sup>98</sup>.

Para além de todos os indicadores de ingestão nutricional, outros factores poderão influenciar as concentrações plasmáticas de FEN, na medida em que, mulheres gémeas (mesmo genótipo) manifestam índices de controlo metabólico distintos durante a gravidez<sup>93</sup>.

A síndrome associada à PKU materna ainda ocorre, embora possa ser evitada. O seguimento apropriado destas mulheres, bem como a melhor compreensão da patogénese da PKU materna, permitirão futuramente otimizar os cuidados prestados nestas situações<sup>94</sup>.

### Conclusão

Passaram cerca de 50 anos desde que Bickel *et al* instituíram o início do tratamento dietético da PKU, o qual veio a manifestar-se eficaz na prevenção da instalação das sequelas neurológicas. A terapêutica com a BH<sub>4</sub>, parece ser segura, podendo mesmo atenuar ou eliminar as restrições alimentares impostas a estes doentes. No entanto, os custos relativamente elevados e as imposições burocráticas de alguns países ainda não tornaram possível a experimentação desta possibilidade para todos os doentes. Devemos também ter presente que esta possibilidade de tratamento pode não ser eficaz para todos os doentes. Entretanto, é desejável que dediquemos a máxima atenção à implementação adequada do tratamento nutricional, realçando-se a importância da monitorização cuidada do estado nutricional destes doentes e nunca ignorando as severas restrições alimentares que muito o podem condicionar.

### Consenso aprovado pela Sociedade Portuguesa de Doenças Metabólicas em Janeiro de 2007.

#### Grupo de Trabalho:

Júlio César Rocha, Instituto de Genética Médica Jacinto de Magalhães, Porto.

Laura Vilarinho, Instituto de Genética Médica Jacinto de Magalhães, Porto.

Aguinaldo Cabral, Presidente da Sociedade Portuguesa de Doenças Metabólicas.

Rui Vaz Osório, Presidente da Comissão Nacional de Diagnóstico Precoce.

Manuela Ferreira de Almeida, Instituto de Genética Médica Jacinto de Magalhães, Porto.

### Referências

- Centerwall SA, Centerwall WR. The discovery of phenylketonuria: the story of a young couple, two retarded children, and a scientist. *Pediatrics* 2000;105:89-103.
- Matalon KM. Developments in Phenylketonuria. *Top Clin Nutr* 2001;16:41-50.
- Bickel H, Gerrard J, Hickmans EM. Influence of phenylalanine intake on phenylketonuria. *Lancet* 1953;265:812-3.
- Scriver CR, Kaufman S. Hyperphenylalaninemia: phenylalanine hydroxylase deficiency. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, editors. *The Metabolic & Molecular Bases of Inherited Disease*. 8<sup>th</sup> ed. New York: McGraw-Hill; 2001;1667-724.
- Hanley WB. Adult phenylketonuria. *Am J Med* 2004;117:590-5.
- Smith I, Lee P. The Hyperphenylalaninaemias. In: Fernandes J, Saudubray, J-M, van den Berghe G, editors. *Inborn Metabolic Diseases*. 3<sup>rd</sup> ed. Heidelberg: Springer; 2000; 171-84.
- Krawczak M, Zschocke J. A role for overdominant selection in phenylketonuria? Evidence from molecular data. *Hum Mutat* 2003; 21:394-7.
- Rivera I, Cabral A, Almeida M, Leandro P, Carmona C, Eusébio F *et al*. The correlation of genotype and phenotype in Portuguese hyperphenylalaninemic patients. *Mol Genet Metab* 2000;69:195-203.
- Zschocke J. Phenylketonuria mutations in Europe. *Hum Mutat* 2003; 21:345-56.
- Guldberg P, Rey F, Zschocke J, Romano V, Francois B, Michiels L *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;63:71-9.
- Abadie V, Berthelot J, Feillet F, Maurin N, Mercier A, Ogier de Baulny H *et al*. Management of phenylketonuria and hyperphenylalaninemia: the French guidelines. *Arch Pediatr* 2005;12:594-601.
- Bianca S, Meli C, Barrano B, Mollica F. Hyperphenylalaninemia and birth weight. *Ann Genet* 2002;45:105-7.
- Cabral A, Portela R, Tasso T, Eusébio F, Fernandes MC, Almeida IT *et al*. Tratamento de Crianças Fenilcetonúricas: 27 anos de experiência do serviço de pediatria do H.S.M. *Rev Port Pediatr* 1993;24:55-9.
- Koch R, Moseley K, Ning J, Romstad A, Guldberg P, Guttler F. Long-term beneficial effects of the phenylalanine-restricted diet in late-diagnosed individuals with phenylketonuria. *Mol Genet Metab* 1999;67:148-55.



15. Arnold GL, Vladutiu CJ, Orlowski CC, Blakely EM, DeLuca J. Prevalence of stimulant use for attentional dysfunction in children with phenylketonuria. *J Inherit Metab Dis* 2004;27:137-43.
16. Koch R, Moats R, Guttler F, Guldberg P, Nelson M Jr. Blood-brain phenylalanine relationships in persons with phenylketonuria. *Pediatrics* 2000;106:1093-6.
17. Weglage J, Wiedermann D, Denecke J, Feldmann R, Koch HG, Ullrich K *et al*. Individual blood-brain barrier phenylalanine transport determines clinical outcome in phenylketonuria. *Ann Neurol* 2001;50:463-7.
18. Pietz J, Kreis R, Rupp A, Mayatepek E, Rating D, Boesch C *et al*. Large neutral amino acids block phenylalanine transport into brain tissue in patients with phenylketonuria. *J Clin Invest* 1999;103:1169-78.
19. Elsas II LJ, Acosta PB. Nutritional Support of Inherited Metabolic Disease. In: Shils ME, Olson JA, Shike M, Ross AC, editors. *Modern Nutrition in Health and Disease*. 9<sup>th</sup> ed. Baltimore: Williams & Wilkins; 1999;1003-56.
20. Przyrembel H, Bremer HJ. Nutrition, physical growth, and bone density in treated phenylketonuria. *Eur J Pediatr* 2000;159 Suppl 2:S129-35.
21. Illsinger S, Lucke T, Meyer U, Vaske B, Das AM. Branched chain amino acids as a parameter for catabolism in treated phenylketonuria. *Amino Acids* 2005;28:45-50.
22. Agostoni C, Verduci E, Massetto N, Radaelli G, Riva E, Giovannini M. Plasma long-chain polyunsaturated fatty acids and neurodevelopment through the first 12 months of life in phenylketonuria. *Dev Med Child Neurol* 2003;45:257-61.
23. Hendriksz CJ, Walter JH. Update on phenylketonuria. *Current Paediatrics* 2004;14:400-6.
24. Cockburn F, Clark BJ. Recommendations for protein and amino acid intake in phenylketonuric patients. *Eur J Pediatr* 1996;155 Suppl 1:S125-9.
25. Portnoi P, MacDonald A, Watling R, Clarke BJ, Barnes J, Robertson L *et al*. A survey of feeding practices in infants with phenylketonuria. *J Hum Nutr Diet* 1999;12:287-92.
26. Motzfeldt K, Lilje R, Nylander G. Breastfeeding in phenylketonuria. *Acta Paediatr Suppl* 1999;88:25-7.
27. Agostoni C, Massetto N, Biasucci G, Rottoli A, Bonvissuto M, Bruzzese MG *et al*. Effects of long-chain polyunsaturated fatty acid supplementation on fatty acid status and visual function in treated children with hyperphenylalaninemia. *J Pediatr* 2000;137:504-9.
28. Vlaardingerbroek H, Hornstra G, de Koning TJ, Smeitink JA, Bakker HD, de Klerk HB *et al*. Essential polyunsaturated fatty acids in plasma and erythrocytes of children with inborn errors of amino acid metabolism. *Mol Genet Metab* 2006;88:159-65.
29. Agostoni C, Harvie A, McCulloch DL, Demellweek C, Cockburn F, Giovannini M *et al*. A randomized trial of long-chain polyunsaturated fatty acid supplementation in infants with phenylketonuria. *Dev Med Child Neurol* 2006;48:207-12.
30. Infante JP, Huszagh VA. Impaired arachidonic (20:4n-6) and docosahexaenoic (22:6n-3) acid synthesis by phenylalanine metabolites as etiological factors in the neuropathology of phenylketonuria. *Mol Genet Metab* 2001;72:185-98.
31. Poge AP, Baumann K, Muller E, Leichsenring M, Schmidt H, Bremer HJ. Long-chain polyunsaturated fatty acids in plasma and erythrocyte membrane lipids of children with phenylketonuria after controlled linoleic acid intake. *J Inherit Metab Dis* 1998;21:373-81.
32. Moseley K, Koch R, Moser AB. Lipid status and long-chain polyunsaturated fatty acid concentrations in adults and adolescents with phenylketonuria on phenylalanine-restricted diet. *J Inherit Metab Dis* 2002;25:56-64.
33. Agostoni C, Verduci E, Massetto N, Fiori L, Radaelli G, Riva E *et al*. Long term effects of long chain polyunsaturated fats in hyperphenylalaninemic children. *Arch Dis Child* 2003;88:582-3.
34. Duran GP, Rohr FJ, Slonim A, Guttler F, Levy HL. Necessity of complete intake of phenylalanine-free amino acid mixture for metabolic control of phenylketonuria. *J Am Diet Assoc* 1999;99:1559-63.
35. MacDonald A, Lilburn M, Cochrane B, Davies P, Daly A, Asplin D *et al*. A new, low-volume protein substitute for teenagers and adults with phenylketonuria. *J Inherit Metab Dis* 2004;27:127-35.
36. Macdonald A, Daly A, Davies P, Asplin D, Hall SK, Rylance G *et al*. Protein substitutes for PKU: what's new? *J Inherit Metab Dis* 2004;27:363-71.
37. Koch R, Moseley KD, Yano S, Nelson M Jr, Moats RA. Large neutral amino acid therapy and phenylketonuria: a promising approach to treatment. *Mol Genet Metab* 2003;79:110-3.
38. Kalsner LR, Rohr FJ, Strauss KA, Korson MS, Levy HL. Tyrosine supplementation in phenylketonuria: diurnal blood tyrosine levels and presumptive brain influx of tyrosine and other large neutral amino acids. *J Pediatr* 2001;139:421-7.
39. Cabral A, Tasso T, Eusébio F, Gaspar A. Novo tratamento da fenilcetonúria em adolescentes e adultos. *Acta Paediatr Port* 2003;34:271-6.
40. Recommendations on the dietary management of phenylketonuria. Report of Medical Research Council Working Party on Phenylketonuria. *Arch Dis Child* 1993;68:426-7.
41. Gropper SS, Gropper DM, Acosta PB. Plasma amino acid response to ingestion of L-amino acids and whole protein. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1993;16:143-50.
42. Przyrembel H. Recommendations for protein and amino acid intake in phenylketonuria patients. *Eur J Pediatr* 1996;155 Suppl 1:S130-1.
43. Acosta PB. Recommendations for protein and energy intakes by patients with phenylketonuria. *Eur J Pediatr* 1996;155 Suppl 1:S121-4.
44. Monch E, Herrmann ME, Brosicke H, Schoffer A, Keller M. Utilization of amino acid mixtures in adolescents with phenylketonuria. *Eur J Pediatr* 1996;155 Suppl 1:S115-20.
45. MacDonald A, Lilburn M, Davies P, Evans S, Daly A, Hall SK *et al*. 'Ready to drink' protein substitute is easier for people with phenylketonuria. *J Inherit Metab Dis* 2006;29:526-31.
46. Rohr FJ, Munier AW, Levy HL. Acceptability of a new modular protein substitute for the dietary treatment of phenylketonuria. *J Inherit Metab Dis* 2001;24:623-30.
47. Rose HJ, White F, Macdonald A, Rutherford PJ, Favre E. Fat intakes of children with PKU on low phenylalanine diets. *J Hum Nutr Diet* 2005;18:395-400.
48. Blau N, Erlandsen H. The metabolic and molecular bases of tetrahydrobiopterin-responsive phenylalanine hydroxylase deficiency. *Mol Genet Metab* 2004;82:101-11.
49. Kure S, Hou DC, Ohura T, Iwamoto H, Suzuki S, Sugiyama N *et al*. Tetrahydrobiopterin-responsive phenylalanine hydroxylase deficiency. *J Pediatr* 1999;135:375-8.
50. Muntau AC, Roschinger W, Habich M, Demmelmair H, Hoffmann B, Sommerhoff CP *et al*. Tetrahydrobiopterin as an alternative treatment for mild phenylketonuria. *N Engl J Med* 2002;347:2122-32.
51. Lambruschini N, Perez-Duenas B, Vilaseca MA, Mas A, Artuch R, Gassio R *et al*. Clinical and nutritional evaluation of phenylketonuric patients on tetrahydrobiopterin monotherapy. *Mol Genet Metab* 2005;86 Suppl 1:S54-60.
52. Steinfeld R, Kohlschutter A, Ullrich K, Lukacs Z. Efficiency of long-term tetrahydrobiopterin monotherapy in phenylketonuria. *J Inherit Metab Dis* 2004;27:449-53.

53. Koch R, Moseley K, Guttler F. Tetrahydrobiopterin and maternal PKU. *Mol Genet Metab* 2005;86 Suppl 1:S139-41.
54. Perez-Duenas B, Vilaseca MA, Mas A, Lambruschini N, Artuch R, Gomez L *et al.* Tetrahydrobiopterin responsiveness in patients with phenylketonuria. *Clin Biochem* 2004;37:1083-90.
55. Hennermann JB, Buhner C, Blau N, Vetter B, Monch E. Long-term treatment with tetrahydrobiopterin increases phenylalanine tolerance in children with severe phenotype of phenylketonuria. *Mol Genet Meta* 2005;86 Suppl 1:S86-90.
56. Belanger-Quintana A, Garcia MJ, Castro M, Desviat LR, Perez B, Mejia B *et al.* Spanish BH4-responsive phenylalanine hydroxylase-deficient patients: evolution of seven patients on long-term treatment with tetrahydrobiopterin. *Mol Genet Metab* 2005;86 Suppl 1:S61-6.
57. Trefz FK, Scheible D, Frauendienst-Egger G, Korall H, Blau N. Long-term treatment of patients with mild and classical phenylketonuria by tetrahydrobiopterin. *Mol Genet Metab* 2005;86 Suppl 1:S75-80.
58. National Institutes of Health Consensus Development Conference Statement: phenylketonuria: screening and management, October 16-18, 2000. *Pediatrics* 2001;108:972-82.
59. MacDonald A. Diet and compliance in phenylketonuria. *Eur J Pediatr* 2000;159 Suppl 2:S136-41.
60. Walter JH, White FJ, Hall SK, MacDonald A, Rylance G, Boneh A *et al.* How practical are recommendations for dietary control in phenylketonuria? *Lancet* 2002;360:55-7.
61. Acosta PB, Yannicelli S, Singh R, Mofidi S, Steiner R, DeVincentis E *et al.* Nutrient intakes and physical growth of children with phenylketonuria undergoing nutrition therapy. *J Am Diet Assoc* 2003;103:1167-73.
62. MacDonald A, Rylance GW, Asplin D, Hall SK, Booth IW. Does a single plasma phenylalanine predict quality of control in phenylketonuria? *Arch Dis Child* 1998;78:122-6.
63. Ferguson C, Morris AM. Changes in serum phenylalanine after overnight fasts in youngsters with phenylketonuria. *J Hum Nutr Diet* 1999;12:213-8.
64. Hanley WB, Feigenbaum AS, Clarke JT, Schoonheydt WE, Austin VJ. Vitamin B12 deficiency in adolescents and young adults with phenylketonuria. *Eur J Pediatr* 1996;155 Suppl 1:S145-7.
65. Robinson M, White FJ, Cleary MA, Wraith E, Lam WK, Walter JH. Increased risk of vitamin B12 deficiency in patients with phenylketonuria on an unrestricted or relaxed diet. *J Pediatr* 2000;136:545-7.
66. Hvas AM, Nexø E, Nielsen JB. Vitamin B12 and vitamin B6 supplementation is needed among adults with phenylketonuria (PKU). *J Inherit Metab Dis* 2006;29:47-53.
67. Tavil B, Sivri HS, Coskun T, Gurgey A, Ozyurek E, Dursun A *et al.* Haematological findings in children with inborn errors of metabolism. *J Inherit Metab Dis* 2006;29:607-11.
68. Vilaseca MA, Briones P, Ferrer I, Campistol J, Riverola A, Castillo P *et al.* Controlled diet in phenylketonuria may cause serum carnitine deficiency. *J Inherit Metab Dis* 1993;16:101-4.
69. Colome C, Artuch R, Lambruschini N, Cambra FJ, Campistol J, Vilaseca M. Is there a relationship between plasma phenylalanine and cholesterol in phenylketonuric patients under dietary treatment? *Clin Biochem* 2001;34:373-6.
70. Giovannini M, Agostoni C, Biasucci G, Rottoli A, Luotti D, Trojan S *et al.* Fatty acid metabolism in phenylketonuria. *Eur J Pediatr* 1996;155 Suppl 1:S132-5.
71. Desviat LR, Perez B, Garcia MJ, Martínez-Pardo M, Baldellou A, Arena J *et al.* Relationship between mutation genotype and biochemical phenotype in a heterogeneous Spanish phenylketonuria population. *Eur J Hum Genet* 1997;5:196-202.
72. Acosta PB. Nutrition studies in treated infants and children with phenylketonuria: vitamins, minerals, trace elements. *Eur J Pediatr* 1996;155 Suppl 1:S136-9.
73. Dobbelaere D, Michaud L, Debrabander A, Vanderbecken S, Gottrand F, Turck D *et al.* Evaluation of nutritional status and pathophysiology of growth retardation in patients with phenylketonuria. *J Inherit Metab Dis* 2003;26:1-11.
74. Acosta PB, Yannicelli S, Marriage B, Steiner R, Gaffield B, Arnold G *et al.* Protein status of infants with phenylketonuria undergoing nutrition management. *J Am Coll Nutr* 1999;18:102-7.
75. Arnold GL, Kirby R, Preston C, Blakely E. Iron and protein sufficiency and red cell indices in phenylketonuria. *J Am Coll Nutr* 2001;20:65-70.
76. Arnold GL, Vladutiu CJ, Kirby RS, Blakely EM, Deluca JM. Protein insufficiency and linear growth restriction in phenylketonuria. *J Pediatr* 2002;141:243-6.
77. Mascarenhas MR, Zemel B, Stallings VA. Nutritional assessment in pediatrics. *Nutrition* 1998;14:105-15.
78. Lockitch G, Halstead AC, Quigley G, MacCallum C. Age- and sex-specific pediatric reference intervals: study design and methods illustrated by measurement of serum proteins with the Behring LN Nephelometer. *Clin Chem* 1988;34:1618-21.
79. Ritchie RF, Palomaki GE, Neveux LM, Navolotskaia O, Ledue TB, Craig WY. Reference distributions for the negative acute-phase serum proteins, albumin, transferrin and transthyretin: a practical, simple and clinically relevant approach in a large cohort. *J Clin Lab Anal* 1999;13:273-9.
80. Ritchie RF, Palomaki GE, Neveux LM, Navolotskaia O. Reference distributions for the negative acute-phase proteins, albumin, transferrin, and transthyretin: a comparison of a large cohort to the world's literature. *J Clin Lab Anal* 1999;13:280-6.
81. Fuhrman MP, Charney P, Mueller CM. Hepatic proteins and nutrition assessment. *J Am Diet Assoc* 2004;104:1258-64.
82. Kyle UG, Bosaeus I, De Lorenzo AD, Deurenberg P, Elia M, Gómez JM *et al.* Bioelectrical impedance analysis—part I: review of principles and methods. *Clin Nutr* 2004;23:1226-43.
83. Kyle UG, Bosaeus I, De Lorenzo AD, Deurenberg P, Elia M, Manuel Gómez J *et al.* Bioelectrical impedance analysis—part II: utilization in clinical practice. *Clin Nutr* 2004;23:1430-53.
84. Nagano M, Suita S, Yamanouchi T. The validity of bioelectrical impedance phase angle for nutritional assessment in children. *J Pediatr Surg* 2000;35:1035-9.
85. Al-Qadreh A, Schulpis KH, Athanasopoulou H, Mengreli C, Skarpalezou A, Voskaki I. Bone mineral status in children with phenylketonuria under treatment. *Acta Paediatr* 1998;87:1162-6.
86. Zeman J, Bayer M, Stepan J. Bone mineral density in patients with phenylketonuria. *Acta Paediatr* 1999;88:1348-51.
87. Hoeksma M, Van Rijn M, Verkerk PH, Bosch AM, Mulder MF, de Klerk JB *et al.* The intake of total protein, natural protein and protein substitute and growth of height and head circumference in Dutch infants with phenylketonuria. *J Inherit Metab Dis* 2005;28:845-54.
88. American Academy of Pediatrics. Maternal phenylketonuria. *Pediatrics* 2001;107:427-8.
89. Magee AC, Ryan K, Moore A, Trimble ER. Follow up of fetal outcome in cases of maternal phenylketonuria in Northern Ireland. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2002;87:F141-3.
90. Lee PJ, Lilburn M, Baudin J. Maternal phenylketonuria: experiences from the United Kingdom. *Pediatrics* 2003;112:1553-6.
91. Koch R, Hanley W, Levy H, Matalon R, Rouse B, Trefz F *et al.* Maternal phenylketonuria: an international study. *Mol Genet Metab* 2000;71:233-9.

92. Koch R, Hanley W, Levy H, Matalon K, Matalon R, Rouse B *et al.* The Maternal Phenylketonuria International Study: 1984-2002. *Pediatrics* 2003;112:1523-9.
93. Fox C, Marquis J, Kipp DE. Nutritional factors affecting serum phenylalanine concentration during pregnancy for identical twin mothers with phenylketonuria. *Acta Paediatr* 2000;89:947-50.
94. Lee PJ, Ridout D, Walter JH, Cockburn F. Maternal phenylketonuria: report from the United Kingdom Registry 1978-97. *Arch Dis Child* 2005;90:143-6.
95. Levy HL, Waisbren SE, Guttler F, Hanley WB, Matalon R, Rouse B *et al.* Pregnancy experiences in the woman with mild hyperphenylalaninemia. *Pediatrics* 2003;112:1548-52.
96. Guttler F, Azen C, Guldberg P, Romstad A, Hanley WB, Levy HL *et al.* Impact of the phenylalanine hydroxylase gene on maternal phenylketonuria outcome. *Pediatrics* 2003;112:1530-3.
97. Kaiser LL, Allen L. Position of the American Dietetic Association: nutrition and lifestyle for a healthy pregnancy outcome. *J Am Diet Assoc* 2002;102:1479-90.
98. Acosta PB, Matalon K, Castiglioni L, Rohr FJ, Wenz E, Austin V *et al.* Intake of major nutrients by women in the Maternal Phenylketonuria (MPKU) Study and effects on plasma phenylalanine concentrations. *Am J Clin Nutr* 2001;73:792-6.
99. Matalon KM, Acosta PB, Azen C. Role of nutrition in pregnancy with phenylketonuria and birth defects. *Pediatrics* 2003;112:1534-6.