

Diagnostik og behandling af fenyلكetonuri

Allan Bayat¹, Lisbeth Birk Møller² & Allan Meldgaard Lund¹



KLINISK
PRAKSIS

STATUSARTIKEL

1) Klinisk Genetisk Klinik, Rigshospitalet
2) Medicinsk Genetisk Laboratorium, Center for Anvendt Human Molekylær-genetik, Kennedy Centret

Ugeskr Læger
2015;177:V07140383

Fenylalaninhydroxylase (PAH)-defekt med hyperfenylalaninæmi kan være primær eller sekundær. Primær PAH-defekt kaldes fenyلكetonuri (PKU) (PKU: Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM) 261600; PAH: OMIM 612349) eller tidligere Føllings sygdom og er en autosomal, recessiv, metabolisk lidelse, som er karakteriseret ved forhøjet koncentration af aminosyren fenylalanin (PHE) i blod hos afficerede personer. Ved PKU kan PHE ikke nedbrydes pga. en primær defekt i PAH, som katalyserer hydroxyleringen af L-PHE til L-tyrosin. PAH er afhængig af tetrahydrobiopterin (BH4), som er enzymets kofaktor, og defekter i syntese eller genanvendelse af BH4 kan medføre hyperfenylalaninæmi pga. en sekundær PAH-mangel (BH4; OMIM 261630).

I denne artikel er fokus på behandling af PKU, som i Danmark er centraliseret til Center for PKU, Kennedy Centret, Rigshospitalet; centret har ca. 400 registrerede patienter.

KLASSIFIKATION

Selvom PKU er den bedst studerede og blandt de oftest forekommende metaboliske lidelser med en hyppighed på 1:10.000 fødsler [1], er der ingen konsensus om klassifikation [2].

Der er overordnet to klassifikationer, som begge tager udgangspunkt i plasma-PHE-niveauer før påbe-

gyndelse af diæt. Den ene beskriver grupperne klassisk PKU (PHE-koncentration > 1.200 mikromol/l), mild PKU (600-1.200 mikromol/l) og mild hyperfenylalaninæmi (MHP) (< 600 mikromol/l) [3], mens den anden har fire fænotyper: klassisk PKU (> 1.200 mikromol/l), moderat PKU (900-1.200 mikromol/l), mild PKU (600-900 mikromol/l) og MHP (< 600 mikromol/l) [4, 5]. Center for PKU opererer med de fire sidstnævnte fænotyper.

PATOGENESE

Transporten af aminosyrer over blod-hjerne-barrieren er en dynamisk proces, der bl.a. faciliteres af *large neutral amino acid type 1 transporter* (LAT1), som er fælles transportør for alle store neutrale aminosyrer (LNAA) valin, isoleucin, leucin, metionin, treonin, tryptofan, tyrosin og PHE [6, 7]. Bindingen af LNAA til LAT1 foregår kompetitivt mellem PHE og de øvrige LNAA. LAT1 har forskellig affinitet, og K_m (denne konstant er den substratkoncentration, hvor halvdelen af den maksimale transporthastighed opnås) for de enkelte LNAA [6]. PHE har den laveste K_m og derved en stærkere binding til LAT1 end til de øvrige LNAA [6]. Da der samtidig for hver LNAA, som LAT1 transporterer over blod-hjerne-barrieren, tilsvarende transporteres en anden LNAA den modsatte vej, fører eleverede PHE-værdier i blodbanen til øget transport af PHE over blod-hjerne-barrieren og samtidig nedsat transport af non-PHE-LNAA [6]. Dette menes at føre til en nedsat neurotransmitter- og/eller proteinsyntese i hjernen og derved til de kognitive og neurologiske deficit, der observeres hos patienter med PKU. Ud over den påvirkede transport af LNAA over blod-hjerne-barrieren medfører PKU mangel på tyrosin (som bliver en semiessentiell aminosyre) og hæmmer omdannelsen af tyrosin til dopamin samt tryptofan til serotonin.

DIAGNOSTIK AF PKU

Alle nyfødte i Danmark screenes for PKU ved bestemmelse af PHE og tyrosin i filterpapirblodprøve (det såkaldte PKU-kort) vha. af tandemmassespektrometri med høj sensitivitet og populationsdækningsgrad [8]. For yderligere information refereres til **Tabel 1**. Neonatal screening er ikke indført i alle lande, hvorfor diagnosen bør overvejes hos patienter, som har idiopatisk mental retardering og stammer fra lande, hvor



FAKTABOKS

Primær fenylalaninhydroxylasedefekt, også kaldet fenyلكetonuri (PKU), er en autosomal, recessiv, metabolisk lidelse, som er karakteriseret ved forhøjet koncentration af aminosyren fenylalanin i blodet hos afficerede personer.

Sygdommen påvises i Danmark ved neonatal screening med høj sensitivitet.

Neonatal screening er ikke indført i alle lande, hvorfor diagnosen bør overvejes hos patienter, som har idiopatisk mental retardering og stammer fra lande, hvor screening ikke er indført, eller hos patienter, hvor screeningen af andre årsager ikke er udført.

De nuværende behandlingsprincipper består af en proteinfattig kost kombineret med kosttilskud, som indeholder alle aminosyrer fraset fenylalanin; anvendelse af store neutrale aminosyrer samt lægemidlet sapropterin er alternative behandlingstilbud.

Patienter, for hvem behandling har været iværksat tidligt, har normal IQ, men kan adfærdsmæssigt have problemer med eksekutive funktioner.

Gravide kvinder med PKU, herunder også kvinder med mild hyperfenylalaninæmi, skal tilbydes en klassisk PKU-diæt og monitoreres nøje for at hindre fødsel af et barn med komplikationer pga. forhøjet intrauterin fenylalaninkoncentration.



TABEL 1

Biokemisk og molekylærgenetisk diagnose af fenylketonuri.

Metode	Diagnose
Neonatalscreening	<p>Analysen foretages på blodspot fra alle nyfødte inden for 48-72 t. efter fødslen</p> <p>Præmature børn kan have forbigående forhøjet PHE-koncentration, og prøven bør gentages, når barnet har opnået en alder svarende til 32. uge</p> <p>I Danmark gennemføres analysen ved tandemmassespektrometri, og testen er positiv ved PHE-koncentration > 150 µmol/l og PHE-tyrosin-ratio > 1,5; en positiv prøve betyder, at barnet med stor sandsynlighed har PKU, og den positive prædiktive værdi er således opgjort til nær 100%</p> <p>Ved den tidligere anvendte Guthries metode var den positive prædiktive værdi lavere, og derudover udelukkede metoden analyse af antibiotikabehandlede børn</p> <p>Statens Serum Institut rapporterer straks positive prøver til Center for Medfødte Stofskiftesygdomme, Rigshospitalet, som herefter kontakter Center for PKU for videre udredning</p> <p>Center for PKU kontakter forældrene med henblik på at få foretaget bekræftende analyser og evt. påbegynde behandling</p>
Diagnostisk testning	<p>I internationale guidelines anbefales, at PHE-koncentrationen i plasma bestemmes for at konfirmere et eleveret niveau af PHE hos en screeningspositiv nyfødt [9]</p> <p>Blodprøven tages før indledning af diætetisk PHE-restriktion</p> <p>PHE-koncentrationen og PHE-tyrosin-ratio i plasma er et vigtigt udgangspunkt for klassifikation af den nyfødtes sværhedsgrad af PKU og valg af behandling</p>
Molekylærgenetisk testning	<p>Molekylærgenetisk testning af <i>PAH</i> benyttes i Danmark til endelig bekræftelse af diagnosen og udføres umiddelbart efter, at HPA er konfirmeret ved måling af PHE i plasma. <i>PAH</i> er lokaliseret på 12q23.1, dækkende over 100 kb og 13 exoner</p> <p>> 800 mutationer er beskrevet (se www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1504/)</p> <p>Genotype-fænotype-korrelationen er ikke entydig, men for mange genotyper er det muligt at bestemme den mest sandsynlige metaboliske fænotype [4, 9]</p> <p>Molekylærgenetisk testning af <i>PAH</i> er i Danmark også den primære test ved differentialdiagnosen; sekundær HPA pga. BH4-defekt, idet fravær af mutationer i <i>PAH</i> vil medføre yderligere udredning for BH4-defekter</p>
Kofaktortestning	<p>2-5% af alle PKU-screeningspositive har sekundært nedsat PAH-aktivitet pga. lidelser i BH4-metabolismen, som pga. afgørende forskellig behandlingsstrategi i forhold til patienter med PKU med mutationer i <i>PAH</i> er en vigtig differentialdiagnose [9]</p> <p>Ved mistanke om BH4-defekt vil der blive udført test af den nyfødtes respons på peroral BH4, og blod- og CSF-prøver vil blive analyseret mhp. måling af neurotransmittere [9]</p> <p>Samtidig iværksættes molekylærgenetisk udredning for relevante gener, som kan medføre BH4-defekt</p>

BH4 = tetrahydrobiopterin; CSF = cerebrospinalvæske; HPA = hyperfenylalaninæmi; PAH = fenylalaninhydroxylase; PHE = fenylalanin; PKU = fenylketonuri.

screening ikke er indført, eller hos patienter, hvor screeningen af andre årsager ikke er udført.

Figur 1 viser antallet af nye patienter, som har PKU og er diagnosticeret pr. år i perioden 1990-2014 ved neonatalscreening. Som det ses, fødes der 8-9 børn med PKU om året i Danmark.

For yderligere beskrivelse af den diagnostiske verifikation samt kofaktortestning og genetisk testning henvises til Tabel 1.

BEHANDLING

De nuværende behandlingsprincipper består af en proteinfattig kost kombineret med kosttilskud, som indeholder alle aminosyrer fraset PHE; anvendelse af store neutrale aminosyrer samt lægemidlet sapropterin er alternative behandlingstilbud. Der er store forskelle såvel internationalt som europæisk på, ved hvilken P-PHE-koncentration, der initieres behandling, og hvilke behandlingsmål (dvs. PHE-koncentration) man ønsker at opnå [10], om end der er både amerikanske og europæiske retningslinjer [9]. I Danmark er behandlingsmålet for PHE-koncentrationen

aldersafhængigt og er i de første leveår 120-360 mikromol/l.

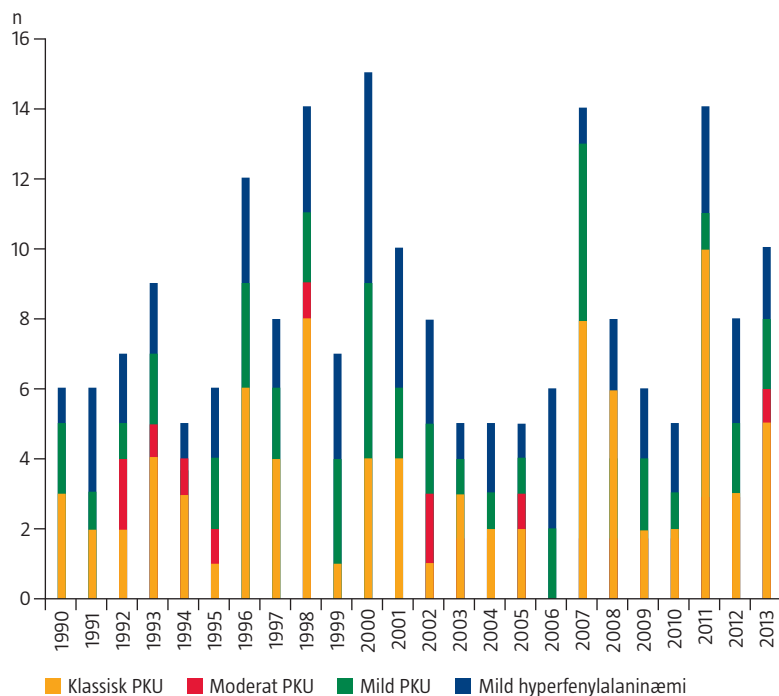
Der er international konsensus om, at patienter med P-PHE-niveauer < 360 mikromol/l før diætpåbegyndelse ikke har gavn af diætbehandling, mens patienter med værdier > 600 mikromol/l bør behandles [9, 11]. Der er forskellige behandlingsrekommandationer for patienter med PHE-værdier på 360-600 mikromol/l, og det er uklart, om sådanne værdier medfører normal udvikling, eller om der hos enkelte personer kan udvikles mild neurokognitiv defekt [9, 11].

Diæt

Påbegyndelse af behandling af patienter med PKU bør ske inden for den første leveuge med det mål at få PHE i terapeutisk niveau inden afslutningen af anden leveuge [9]. Princippet i behandlingen består i en begrænsning af proteinindtaget (og dermed også PHE) kombineret med specielt syntetisk fremstillet kosttilskud, som indeholder alle aminosyrer fraset PHE. Hos nyfødte med PHE-værdier > 1.000 mikromol/l pau-

FIGUR 1

Oversigt over antallet af nye patienter i perioden 1990-2013 diagnosticeret med fenylketonuri (PKU) i Danmark vha. neonatal screening. Figuren illustrerer, hvordan patienterne fordeler sig inden for de forskellige under typer af PKU.



seres amningen i få dage for dermed at reducere P-PHE-koncentrationen. I disse dage får barnet i stedet en PHE-fri modermælkserstatning. Ved PHE-værdier < 1.000 mikromol/l suppleres den specielle modermælkserstatning med amning, som tilbydes barnet, efter at den PHE-frie modermælkserstatning er indtaget. Hvis amningen er gået i stå, kan den PHE-frie modermælkserstatning suppleres med en almindelig modermælkserstatning. Baggrunden for at give et PHE-frit diætprodukt er, at indholdet af essentielle aminosyrer og mikronæringsstoffer i den proteinbegrænsede kost er utilstrækkeligt til at sikre normal vækst og udvikling. Diætpræparatet gives i form af et pulver (som kan opblandes til væskeform eller gel) eller senere i livet i form af tabletter. Behovet for diætpræparatet vil afhænge af barnets alder, vækststabilitet, aktivitet, sværhedsgraden af PKU og ikke mindst koncentrationen af P-PHE i de hyppige blodprøver, som forældrene selv tager fra barnets tå eller finger og sender til Center for PKU. I det første leveår skal der tages en blodprøve ugentligt, senere med længere intervaller.

Der er mange tidligere behandlede voksne, der får adfærdsmæssige og neuropsykologiske symptomer, når de ikke behandles diætetisk [12], hvilket indikerer, at den forhøjede PHE-koncentration i hjer-

nen også i voksenalderen har en toksisk effekt, hvilket er et argument for livslang behandling [9].

Der er tre patientgrupper, der kræver særlig opmærksomhed: tidligt behandlede patienter, hvor behandlingen af forskellige årsager er ophørt eller var mangelfuld, sent diagnosticerede patienter samt kvinder i den fertile alder. Inden for den førstnævnte gruppe af patienter med PKU er der mange, som ikke følges regelmæssigt, og nogle er ikke bevidste om, at de har en lidelse, der kræver livslang behandling [9]. Sent diagnosticerede med kognitive vanskeligheder kan også profitere af behandling, idet de kan opnå en delvis bedring af kognitive funktioner [13] samt især en gunstig effekt på adfærdsvanskeligheder, psykiatriske symptomer og antallet af epileptiske anfald [14]. Endelig bør gravide kvinder med PKU, deriblandt også kvinder, som har MHP og aldrig har været diætbehandlet, følge en diætbehandling, der er lige så restriktiv og intensiv som ved klassisk PKU, da et fosters udvikling er meget følsom for moderens høje koncentration af PHE. Ubehandlet vil der således hos fosteret være høj risiko for mikrocefali med retarderet udvikling i varierende grad og misdannelser såsom hjerte-fejl. Det anbefales, at diætbehandlingen allerede intensiveres tre måneder før graviditeten.

Farmakoterapi

The Food and Drug Administration i USA godkendte i 2007 det første lægemiddel, sapropterin, til behandling af PKU. Sapropterin er en syntetisk analog til den naturligt forekommende kofaktor BH4 [15]. Rationalet for behandling af PKU med sapropterin er, at PAH's aktivitet hos nogle kan øges af tilstedeværelse af store mængder BH4. Mekanismen for sapropterins virkning er uklar, men det forbedrer formentlig foldningen af og øger stabiliteten af det muterede PAH-protein [9]. To fase 3, randomiserede, placebokontrollerede studier for sapropterin viste, at sapropterin effektivt reducerede PHE-niveaue i blodet og øgede toleransen over for indtaget af PHE i kosten [15, 16]. Kun ca. 40% af patienterne med PKU vil have en effekt af sapropterin [15], da det kun er patienter med bestemte typer af mutationer i PAH (primært visse *missense-mutationer*), som vil respondere på sapropterin. Dette undersøges ved en BH4-test forud for påbegyndelse af behandling, og traditionelt fordres ≥ 30% reduktion af PHE-niveaue i blodet [9, 15, 17]. Sapropterin bruges også ved sekundær PAH-defekt pga. BH4-syntesedefekter med udtalt reduktion (ofte normalisering) af P-PHE til følge. Diæt indgår således ikke i behandlingen af disse patienter, men behandlingen vil ud over sapropterin inkludere tilførsel af neurotransmittere og folinsyre.

Ved PKU er en tæt sideløbende kontrol af PHE og



TABEL 2

Oversigt over nye behandlingsstrategier med biologiske lægemidler, deriblandt gen- og celleterapi samt enzymsubstitutionsterapi, der i fremtiden kan blive til rådighed for behandling af fenylketonuri.

Behandlingstype	Beskrivelse af behandlingen
Polyethylenglykolkonjugeret fenylalaninammoniumlyase	Tættest på klinisk brug Lyasen omdanner PHE til transkaneltsyre, som via glycinokjugering udskilles i urinen Administreres som daglige subkutane injektioner [22] Resultaterne er lovende [23], og et randomiseret, dobbeltblindet, placebokontrolleret fase 3-studie blev påbegyndt i 2013 og forventes afsluttet i 2015 (se www.clinicaltrials.gov/)
Syntetiske polymerer	En anden fremtidig behandlingsstrategi er peroralt indtag af syntetiske polymerer ved måltiderne Polymererne binder PHE, og bindingsproduktet udskilles med afføringen; derved optages PHE ikke, og strategien kunne således medføre, at der ikke er behov for en speciel PKU-diæt Der er opnået lovende resultater i dyreforsøg i et samarbejde mellem Institut for Biomedicin-Human Genetik på Aarhus Universitet og firmaet Mipsalus Et klinisk fase 1/2-forsøg forventes iværksat i løbet af de næste par år
Transplantation	I forsøg med PAH-deficiente mus har man forsøgt at genoprette hepatisk PAH-aktivitet ved at indsprøjte hepatocytter med normal PAH-aktivitet, og et studie har vist, at øgning af leverens PAH-aktivitet med blot 10% kan normalisere PHE hos musen [24] I et klinisk studie tester man p.t. effekten af indsprøjtning med PAH-positive donorhepatocytter på voksne patienter med PKU (se www.clinicaltrials.gov/), studiet forventes at være afsluttet i 2014
Genterapi	Genskabning af leverens PAH-aktivitet vha. genterapi har også været undersøgt i dyremodeller [25] En enkelt intravaskulær injektion af et rekombinant produkt af et normalt PAH i en viral vektor har hos PKU-mus vist at kunne reetablere leverens PAH-aktivitet og derved nedbringe PHE-koncentration til terapeutisk niveau [25, 26] Hidtil har man dog ikke kunnet påvise en permanent effekt på P-PHE-koncentration, der ofte stiger efter 1 år [27]
Antioxidanter	Patienter med PKU har formentlig pga. deres restriktive kost lavere niveauer af antioxidanter og er derved udsat for oxidativt stress [28] Den kendte association mellem oxidativt stress, fedme og hjerte-kar-sygdom taget i betragtning synes det at være tilrådeligt at være særlig opmærksom på, at patienter med PKU får et relevant tilskud af antioxidanter [29] Denne behandlings fremtidige plads er endnu ukendt, men måske kan antioxidanter i fremtiden benyttes som en adjuverende behandling [28]
Glykomakropeptid	GMP er egentlig et biprodukt ved osteoproduktion, et naturligt protein med minimalt indhold af PHE, som potentielt kan bruges ved diætbehandling af PKU [25] Pga. den restriktive kost udviser mange patienter med PKU mangelfuld kompliance over for den traditionelle diæt GMP åbner muligheden for fremstilling af et større udvalg af føde- og drikkevarer med en forbedret smag, og studier har vist, at GMP kan føre til en øget compliance til diæten og en forbedret ernæringstilstand [25] Studier har indikeret, at GMP kan øge BMD P.t. tester Center for PKU effekten af GMP i både PAH-deficiente mus og patienter med PKU, på compliance, ernæringstilstand, BMD samt eksekutive funktioner, sammenlignet med syntetiske traditionelle produkter med samme aminosyresammensætning

BMD = *bone mineral density*; GMP = glykomakropeptid; PAH = fenylalaninhydroxylase; PHE = fenylalanin; PKU = fenylketonuri; PEG-PAL = polyethylenglykolkonjugeret fenylalaninammoniumlyase.

det samlede indtag af protein og andre makro-/mikronæringsstoffer nødvendig for at sikre tilstrækkelig kontrol af PHE-niveauet i blodet og lødigheden af ernæringen. Da PKU eller BH4-defekter er kroniske tilstande, er sapropterin beregnet til langtidsbehandling. Der er imidlertid begrænsede data om sapropterins langtidseffekt og sikkerhed.

LNAA uden PHE kan anvendes til behandling af PKU, da de bl.a. påvirker de kinetiske forhold omkring transporten af PHE over blod-hjerne-barrieren via LAT1 [17]. Anvendelse af LNAA er især hyppig i Danmark, men er p.t. begrænset til voksne patienter. LNAA benyttes hos patienter med mangelfuld compliance over for konventionel diætbehandling og hos sendiagnosticerede og/eller hidtil ubehandlede patienter. Gravide bør ikke behandles med LNAA, da man ikke har tilstrækkelige data om effekten på fo-

strets vækst og hjerneudvikling, og fordi LNAA (som monoterapi) ikke kan nedbringe P-PHE-niveauet tilstrækkeligt under graviditeten til at sikre fostrets udvikling [9].

SYMPTOMER

Ubehandlet medfører PKU mental retardering [18], og der er en invers relation mellem IQ og P-PHE-niveau [18]. IQ hos personer med PKU er afhængig af deres alder på tidspunktet for behandlingens begyndelse og compliance [10]. Tidligt og kontinuerligt behandlede patienter med PKU har normal IQ, men scoren ligger 6-9 IQ-point lavere end hos raske søskende og forældre [12]. Derudover er der en hyppig forekomst af hovedpine, angst og depression [12, 19], og sværhedsgraden af symptomerne korrelerer med koncentrationen af P-PHE. Endelig har man i flere studier

beskrevet deficit i de eksekutive funktioner blandt tidligt behandlede patienter, som har PKU og en i øvrigt normal mental udvikling [20, 21]. Eksekutive funktioner indebærer f.eks. evnen til planlægning samt kontrol af adfærd og handlinger, dømmekraft, fleksibilitet i tankegang, evnen til at ændre strategier samt løbende at justere egen adfærd.

PERSPEKTIVERING

Nye behandlingsstrategier med biologiske lægemidler, deriblandt gen- og celleterapi samt enzymsubstitutionsterapi, kan i fremtiden blive til rådighed for behandling af PKU (se **Tabel 2**). Diætbehandling af PKU har vist sin effektivitet, men der er et behov for nye sikre og effektive lægemidler, som kan anvendes hos størstedelen af patienterne med PKU. Som udgangspunkt vil vi formentlig se en ibrugtagning af disse nye farmaka i kombination med traditionel eller delvis diætbehandling. Det er sandsynligt, at behandlingen af PKU vil ændres markant i ovenstående retning inden for det næste årti, men samtidig er det vigtigt, at vore monitoreringsværktøjer bliver bedre. Fokus for monitorering er i dag måling af P-PHE-niveauet, men en monitorering, der i højere grad afspejler den direkte effekt på hjernen, både biokemisk og i form af neurokognitiv udvikling, livskvalitet osv., er ønskværdig. En parallel proces er at udvikle mere entydige internationale guidelines, der er funderet i evidensbaserede data, og som bl.a. inkluderer data for neurokognitiv udvikling og livskvalitet.

SUMMARY

Allan Bayat, Libeth Birk Møller & Allan Meldgaard Lund:
Diagnostics and treatment of phenylketonuria
Ugeskr Læger 2015;177:V07140383

Primary phenylalanine hydroxylase deficiency, also known as phenylketonuria, results in accumulation of phenylalanine in the blood. Early identification and treatment prevents the majority of clinical sequelae to the disease, but psychological and neurodevelopmental problems can occur in some patients. This article reviews the symptoms, diagnosis, classification and strategies of treatment and management of phenylketonuria. Finally we review new pharmacological and non-pharmacological means of treatment.

KORRESPONDANCE: *Allan Bayat, Klinisk Genetisk Klinik, Rigshospitalet, Blegdamsvej 9, 2100 København. E-mail: bayabayabayat@hotmail.com*

ANTAGET: 29. september 2014

PUBLICERET PÅ UGESKRIFTET.DK: 16. februar 2015

INTERESSEKONFLIKTER: ingen. Forfatternes ICMJE-formularer er tilgængelige sammen med artiklen på Ugeskriftet.dk

LITTERATUR

- Steinfeld R, Kohlschütter A, Ullrich K et al. Efficiency of long-term tetrahydrobiopterin monotherapy in phenylketonuria. *J Inherit Metab Dis* 2004;27:449-53.
- Waisbren SE, Noel K, Fahrback K et al. Phenylalanine blood levels and clinical outcomes in phenylketonuria: a systematic literature review and meta-analysis. *Mol Genet Metab* 2007;92:63-70.

- Guttler F. Hyperphenylalaninemia: diagnosis and classification of the various types of phenylalanine hydroxylase deficiency in childhood. *Acta Paediatr Scand Suppl* 1980;280:1-80.
- Guldberg P, Rey F, Zschocke J 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.
- Guldberg P, Guttler F. Mutations in the phenylalanine hydroxylase gene: methods for their characterization. *Acta Paediatr Suppl* 1994;407:27-33.
- de Groot MJ, Hoeksma M, Blau N et al. Pathogenesis of cognitive dysfunction in phenylketonuria: review of hypotheses. *Mol Genet Metab* 2010;99(suppl 1):S86-9.
- van Spronsen FJ, de Groot MJ, Hoeksma M, Reijngoud DJ, van RM. Large neutral amino acids in the treatment of PKU: from theory to practice. *J Inherit Metab Dis* 2010 Dec;33(6):671-6.
- Chace DH, Hillman SL, van Hove JL et al. Rapid diagnosis of MCAD deficiency: quantitative analysis of octanoylcarnitine and other acylcarnitines in newborn blood spots by tandem mass spectrometry. *Clin Chem* 1997;43:2106-13.
- Vockley J, Andersson HC, Antshel KM et al. Phenylalanine hydroxylase deficiency: diagnosis and management guideline. *Genet Med* 2014;16:188-200.
- Blau N, Belanger-Quintana A, Demirkol M et al. Management of phenylketonuria in Europe: survey results from 19 countries. *Mol Genet Metab* 2010;99:109-15.
- Weglage J, Pietsch N, Feldmann R et al. Normal clinical outcome in untreated subjects with mild hyperphenylalaninemia. *Pediatr Res* 2001;49:532-6.
- Moyle JJ, Fox AM, Arthur M et al. Meta-analysis of neuropsychological symptoms of adolescents and adults with PKU. *Neuropsychol Rev* 2007;17:91-101.
- Grosse SD. Late-treated phenylketonuria and partial reversibility of intellectual impairment. *Child Dev* 2010;81:200-11.
- Lee PJ, Amos A, Robertson L et al. Adults with late diagnosed PKU and severe challenging behaviour: a randomised placebo-controlled trial of a phenylalanine-restricted diet. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2009;80:631-5.
- Levy HL, Milanowski A, Chakrapani A et al. Efficacy of sapropterin dihydrochloride (tetrahydrobiopterin, 6R-BH4) for reduction of phenylalanine concentration in patients with phenylketonuria: a phase III randomised placebo-controlled study. *Lancet* 2007;370:504-10.
- Trefz FK, Burton BK, Longo N et al. Efficacy of sapropterin dihydrochloride in increasing phenylalanine tolerance in children with phenylketonuria: a phase III, randomized, double-blind, placebo-controlled study. *J Pediatr* 2009;154:700-7.
- Burton BK, Grange DK, Milanowski A et al. The response of patients with phenylketonuria and elevated serum phenylalanine to treatment with oral sapropterin dihydrochloride (6R-tetrahydrobiopterin): a phase II, multicentre, open-label, screening study. *J Inherit Metab Dis* 2007;30:700-7.
- van Spronsen FJ, de Groot MJ, Hoeksma M et al. Large neutral amino acids in the treatment of PKU: from theory to practice. *J Inherit Metab Dis* 2010;33:671-6.
- Pietz J, Dunckelmann R, Rupp A et al. Neurological outcome in adult patients with early-treated phenylketonuria. *Eur J Pediatr* 1998;157:824-30.
- DeRoche K, Welsh M. Twenty-five years of research on neurocognitive outcomes in early-treated phenylketonuria: intelligence and executive function. *Dev Neuropsychol* 2008;33:474-504.
- Janos AL, Grange DK, Steiner RD et al. Processing speed and executive abilities in children with phenylketonuria. *Neuropsychology* 2012;26:735-43.
- Leuzzi V, Pansini M, Sechi E et al. Executive function impairment in early-treated PKU subjects with normal mental development. *J Inherit Metab Dis* 2004;27:115-25.
- Longo N, Harding CO, Burton BK et al. Single-dose, subcutaneous recombinant phenylalanine ammonia lyase conjugated with polyethylene glycol in adult patients with phenylketonuria: an open-label, multicentre, phase 1 dose-escalation trial. *Lancet* 2014;384:37-44.
- Longo N, Burton B, Harding C et al. A phase 2, open-label, dose-finding and the long term extension study to evaluate the safety, efficacy and tolerability of multiple subcutaneous doses of rAvPAL-PEG in patients with phenylketonuria. American College of Medical Genetics and Genomics 2012 Annual Meeting: Charlotte, NC, 2012.
- Hamman KJ, Winn SR, Harding CO. Hepatocytes from wild-type or heterozygous donors are equally effective in achieving successful therapeutic liver repopulation in murine phenylketonuria (PKU). *Mol Genet Metab* 2011;104:235-40.
- Camp KM, Parisi MA, Acosta PB et al. Phenylketonuria Scientific Review Conference: State of the science and future research needs. *Mol Genet Metab* 2014;112:87-122.
- Yagi H, Ogura T, Mizukami H et al. Complete restoration of phenylalanine oxidation in phenylketonuria mouse by a self-complementary adeno-associated virus vector. *J Gene Med* 2011;13:114-22.
- Rebuffat A, Harding CO, Ding Z et al. Comparison of adeno-associated virus pseudotype 1, 2, and 8 vectors administered by intramuscular injection in the treatment of murine phenylketonuria. *Hum Gene Ther* 2010;21:463-77.
- Vargas CR, Wajner M, Sitta A. Oxidative stress in phenylketonuric patients. *Mol Genet Metab* 2011;104(suppl):S97-S99.
- Rocha JC, Martins MJ. Oxidative stress in phenylketonuria: future directions. *J Inherit Metab Dis* 2012;35:381-98.